

MEMORIAS
“VII CONGRESO DE LA RED
LATINOAMERICANA DE CIENCIAS
AMBIENTALES”

COMISIÓN CIENTÍFICA DE AGROFORESTAL

ISBN: 978-9968-641-26-5

Contenido

AF.1.O. Composición química del fruto de tomate cultivado en lodo industrial textil ..	13
RESUMEN.....	13
ABSTRACT.....	14
INTRODUCCIÓN.....	14
MATERIALES Y MÉTODOS	15
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	16
CONCLUSIONES.....	22
LITERATURA CITADA	23
AF.2.O. Caracterización edafológica de la franja costera de la región del Pacífico Norte de Costa Rica	27
RESUMEN.....	27
ABSTRACT.....	28
1. INTRODUCCION	28
2. METODOLOGÍA	29
3. RESULTADOS.....	29
Características físicas del suelo.....	29
Características químicas de suelo	30
Análisis de distribución espacial según las características químicas	32
Análisis de componentes principales.....	32
4. DISCUSIÓN	33
5. CONCLUSIONES	34
6. REFERENCIAS.....	35
AF.3.O. Búsqueda y sobrevivencia de <i>Brucella</i> spp. en el agua de Cuatro Lagos Cráter de Puebla, México.....	37
RESUMEN.....	37
ABSTRACT.....	38
INTRODUCCIÓN.....	38
MÉTODOS.....	40
RESULTADOS	41
DISCUSIÓN.....	43

BIBLIOGRAFIA.....	44
AF.4.O. Identificación de un híbrido de <i>Stevia sp</i> con mayor concentración de glucósidos totales y rebaudiósido A, del cultivar de Fundo América en Santa Rita de Sigwas (AQP), para su propagación a escala comercial.....	47
INTRODUCCIÓN.....	47
MÉTODOS.....	48
RESULTADOS.....	49
DISCUSIÓN.....	54
CONCLUSIONES.....	56
BIBLIOGRAFÍA.....	56
RESUMEN.....	58
INTRODUCCIÓN.....	59
MATERIALES Y MÉTODOS.....	60
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	62
CONCLUSIONES.....	68
REFERENCIAS.....	69
ANEXOS.....	71
AF.5.O. Efecto del EDTA sobre <i>Medicago sativa</i> L. y <i>Cynodon dactylon</i> L. en la extracción de metales pesados de suelo de Cuemanco, México.....	82
RESUMEN.....	82
ABSTRACT.....	83
INTRODUCCIÓN.....	83
OBJETIVO.....	84
MÉTODO.....	85
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	87
Concentración de metales pesados en suelo.....	87
Concentración de metales pesados en planta.....	89
Factor de Traslocación.....	91
CONCLUSIONES.....	92
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	92
AF.6.O. Efecto del Yodo sobre <i>Fusarium Oxysporum</i> aislado de papa (<i>solanum tuberosum</i>) “in vitro”.....	95

RESUMEN.....	95
ABSTRACT.....	96
INTRODUCCIÓN.....	96
MATERIALES Y MÉTODOS	97
RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	100
REFERENCIAS	104
AF.7.O. Evaluación de la respuesta bioquímica de adultos de <i>Cydia pomonella</i> (Lepidoptera: Tortricidae) expuestos a concentraciones subletales de clorpirifós....	106
RESUMEN.....	106
INTRODUCCIÓN.....	107
RESULTADOS	110
DISCUSIÓN.....	110
REFERENCIAS	111
RESUMEN.....	113
ABSTRACT.....	114
INTRODUCCIÓN.....	114
PARTE EXPERIMENTAL	117
Obtención de muestras de broza	117
Termogravimetría de la broza.....	117
Evaluación de la carbonización de la broza del café en el laboratorio	117
Evaluación del contenido calórico de los materiales.....	118
Evaluación del contenido de ceniza de la broza	118
RESULTADOS	118
DISCUSIÓN.....	121
CONCLUSIONES.....	122
FUENTES BIBLIOGRÁFICAS	123
AF.8.O. Actividad nematocida de extractos de <i>Quassia amara</i> y <i>Brugmansia</i> suaveolens sobre <i>Meloidogyne</i> spp. Asociado al tomate.....	125
RESUMEN.....	125
ABSTRACT.....	126
INTRODUCCIÓN.....	126

MATERIALES Y MÉTODOS	127
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	129
BIBLIOGRAFÍA.....	135
AF.9.O. Desempeño ambiental de la piscicultura en el estado de Hidalgo, México .	138
RESUMEN.....	139
ABSTRACT.....	139
INTRODUCCIÓN.....	139
METODOLOGÍA.....	140
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	141
BIBLIOGRAFÍA.....	145
AF.10.O. Sistema de gestión socioambiental para la producción sostenible de la piña	148
RESUMEN.....	148
ABSTRACT.....	149
INTRODUCCIÓN.....	149
METODOLOGÍA.....	150
CONCLUSIÓN.....	153
AF.11.O. Determinación del efecto fungicida de nanopartículas de plata sobre hongos fitopatógenos aislados del cultivo de cacao en tres departamentos de Colombia	154
RESUMEN.....	154
INTRODUCCION.....	155
METODOLOGÍA.....	156
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	157
CONCLUSIÓN.....	159
BIBLIOGRAFÍA.....	160
AF.12.P. Efecto del acondicionamiento hídrico en la germinación de semillas de dos especies de cactáceas en zonas áridas de México	162
RESUMEN.....	162
INTRODUCCIÓN.....	163
MATERIAL Y MÉTODOS	163
RESULTADOS	164
DISCUSIÓN.....	165

CONCLUSIÓN	165
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	166
AF.13.P. Sostenibilidad ambiental de explotaciones ganaderas ecológicas y convencionales en agro-ecosistemas mediterráneos de alto valor ecológico: un estudio comparado basado en indicadores agroambientales	168
1. INTRODUCCIÓN	168
MATERIAL Y MÉTODOS	169
2.1. Descripción del área de estudio	169
2.2. Recogida de datos	170
2.3. Evaluación de la sostenibilidad	171
2.4. Selección de indicadores mediante un enfoque participativo	171
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	172
4. CONCLUSIONES	175
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	175
AF.14.P. Evaluación de la morfología aérea y de raíces proteoideas de <i>Lupinus albus</i> en un sustrato arenoso y un sistema aeropónico con diferente disponibilidad de fósforo.....	177
RESUMEN	177
ABSTRACT	178
INTRODUCCIÓN	178
METODOLOGÍA	179
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	180
CONCLUSIONES	183
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	184
AF.15.P. Tolerancia de semillas de dos especies de cactáceas a tratamientos de cortas exposiciones a 50°C previos a la siembra.....	185
INTRODUCCIÓN	185
MATERIALES Y MÉTODOS	186
RESULTADOS	187
DISCUSIÓN	189
CONCLUSIONES	189
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	190

AF.16.P. Aislamiento y capacidad lignocelulolítica de micromicetos en compostas de bagazo de caña de azúcar y bagazo de agave.....	191
RESUMEN.....	191
INTRODUCCIÓN.....	191
METODOLOGÍA.....	192
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	193
CONCLUSIONES.....	194
BILBIOGRAFÍA.....	194
AF.17.P. Influencia de la calidad del recurso hídrico para riego en la sostenibilidad de los productores de la sabana de Bogotá, Colombia.....	196
RESUMEN.....	196
ABSTRACT.....	197
INTRODUCCIÓN.....	197
MATERIALES Y MÉTODOS.....	199
RESULTADOS.....	199
DISCUSIÓN.....	203
CONCLUSIONES.....	206
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	206

AF.1.O. Composición química del fruto de tomate cultivado en lodo industrial textil

Chemical composition of tomato fruit cultivated in textile sludge

Benavides-Mendoza, Adalberto¹; Narváez-Ortíz, Willian-Alfredo¹; Fuentes-Lara, Laura Olivia¹; Reyes-Sánchez, Laura Bertha².

¹*Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Horticultura, 00-52-844-411-0303;* ²*Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Departamento de Ciencias Agrícolas 00-52-55-1113-2614, abenmen@uaaan.mx; williamnarvaezo@hotmail.com; loflara@yahoo.com.mx; lbrs@unam.mx*

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de lodos residuales textiles aplicados en un sustrato de peat moss y perlita sobre la producción y composición química del fruto del tomate. Los lodos fueron caracterizados con la NOM-004-SEMARNAT-2002 y NOM-021-RECNAT-2000. El tomate de la variedad Rio Grande fue trasplantado a macetas de plástico de 14 litros con sustrato de peat moss y perlita (70:30 en volumen) en donde se mezcló el lodo textil en concentraciones de 0, 5, 10, 15 y 20% con base en volumen. La nutrición se hizo con la solución Steiner. Los lodos mostraron características adecuadas para su uso agrícola según la NOM-004-SEMARNAT-2002. La concentración de elementos minerales en los frutos aumentó en un 0.14% para el Na y en 15 y 223 mg kg⁻¹ para el Zn y Fe, respectivamente. En cambio para el K disminuyó en 0.58% al igual que para el Mn con un valor menor en 22 mg kg⁻¹. El contenido de N, P, Ca, Mg y Cu no mostró cambios significativos. El pH de los frutos no fue distinto entre los tratamientos, mientras que la vitamina C y los sólidos solubles totales mostraron aumentos hasta de 36% y 52%, respectivamente, en los tratamientos con lodos, efecto atribuido a la aportación de sales solubles de los lodos. No se encontró evidencia de transferencia de metales pesados y coliformes fecales del lodo textil a los frutos más allá de los valores permitidos por las normas ambientales y de salud. En cambio sí se detectó la presencia de huevos de helmintos en valor mayor al permitido por la norma en los frutos de plantas tratadas con la mayor concentración de lodos.

Palabras Clave: Residuos industriales, fertilizantes, biosólidos, producción de hortalizas.

ABSTRACT

The aim of this work was to determine the effect of sewage textile sludge applied in the plant substrate on chemical composition of tomato fruit. The textile sludge was characterized with the NOM-004-SEMARNAT-2002 and NOM-021-RECNAT-2000. Tomato plants of the variety Rio Grande was transplanted to plastic pots of 14 liters with peat moss and perlite (70:30 on volume). The textile sludge was mixed to the substrate in concentrations of 0, 5, 10, 15 and 20% in volume basis. Fertilizers were applied with a Seiner nutrient solution. The sludge showed adequate characteristics for agricultural use according to the NOM-004-SEMARNAT-2002. The concentration of mineral elements in fruits increased by 0.14% for Na. For Zn and Fe the concentration increased 15 and 223 mg kg⁻¹, respectively. On the other hand, K decreased by 0.58% and Mn showed a value smaller by 22 mg kg⁻¹. The level of N, P, Ca, Mg and Cu had not significant changes. The pH of the fruit did not vary due to the application of sewage sludge, while the vitamin C and total soluble solids showed an increase up to 36% and 52 %, respectively, in the treatments with sludge, effect attributed to the contribution of soluble salts of the sewage sludge. No evidence was found for transfer of heavy metals and fecal coliform from the textile sludge to fruits beyond those permitted by the environmental and health standards. Furthermore, we detected the presence of helminth eggs in value greater than allowed by the standard in the fruits of plants treated with the highest concentration of sludge.

Keywords: Industrial sludges, fertilizers, biosolids, vegetable production.

INTRODUCCIÓN

El aumento en la producción de lodos residuales vuelve más difícil encontrar sitios para el confinamiento de estos materiales (Mectalf & Eddy, 1995). Aunque la adecuada disposición de los lodos recibe gran atención (Campos-Medina *et al.*, 2011), otras alternativas como su aprovechamiento agrícola pueden ser opciones atractivas (Benavides-Mendoza *et al.*, 2007). Sin embargo, es necesario tomar en cuenta que los lodos pueden aportar microorganismos patógenos (Miralles *et al.*, 2002) y metales pesados (Walter *et al.*, 2002) a los suelos y plantas en donde se aplican.

La estabilización de los biosólidos municipales y de los lodos industriales es una alternativa para aminorar los inconvenientes antes mencionados además de evitar la presencia de malos olores (Aravena *et al.*, 2007). En el caso específico de los lodos textiles se esperan menos problemas relacionados con olores, contenido de metales pesados o carga microbiológica patogénica (Benavides-Mendoza *et al.*, 2007), por ello es posible plantear el uso de estos lodos en crudo, es decir, sin tratamiento previo,

disminuyendo el costo asociado al compostado u otros tratamientos lo cual facilitaría el uso agrícola.

En la actualidad se dispone de poca información sobre el uso agrícola de los lodos crudos, por lo que los objetivos de este trabajo fueron determinar si la aplicación de lodos textiles crudos al sustrato origina cambios negativos en la producción y composición química de fruto de plantas de tomate y si, por otra parte, si el fruto cosechado presenta transferencia de metales pesados o patógenos por parte del lodo, bajo la hipótesis que los lodos crudos sea una fuente positiva de fertilizantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se efectuó en un invernadero de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Saltillo, Coahuila, México, en la latitud Norte de 25° 23' y longitud Oeste 101° 02', con una altitud de 1743 msnm. Se emplearon lodos textiles de la empresa Fábrica La Estrella, S.A. de C.V. productora de mezclilla, situada en el municipio de Parras de la Fuente, Coahuila. Los lodos crudos fueron recolectados del centro de confinamiento de la empresa y se analizaron en el laboratorio Intertek Testing Services de México, S. A de C. V. acreditado para la NOM-004-SEMARNAT-2002 para verificar la presencia de coliformes fecales, *Salmonella spp*, huevos de helmintos, metales pesados y metaloides arsénico, cadmio, cromo, cobre, plomo, mercurio, níquel y zinc. Adicionalmente se determinó la salinidad, sodicidad, las características físicas y de fertilidad según la NOM-021-RECNAT-2000. Los lodos fueron combinados con sustrato de peat moss y perlita (70:30 en volumen) en concentraciones de 0, 5, 10, 15 y 20% en volumen. Las mezclas fueron colocadas en macetas plásticas color negro de 14 L.

Como material biológico se utilizó tomate (*Solanum lycopersicum*) de la variedad "Rio Grande" que fue sembrado en charolas de 200 cavidades utilizando como sustrato peatmoss y perlita (70:30). 30 días después de la siembra las plántulas fueron trasplantadas a las macetas que contenían las mezclas de sustrato y lodo. Para la nutrición del cultivo se aplicó solución nutritiva Steiner (Steiner, 1961) al 25, 30, 50, 75 y 100% de acuerdo a la etapa de crecimiento, mediante un sistema de riego por goteo con un gasto de 4 litros por hora. Se realizaron cinco cosechas de fruto y, en los frutos del tercer corte (97 ddt), cuarto corte (104 ddt) y quinto corte (114 ddt), en la etapa seis - rojo (USDA, 1997) se midió el contenido de vitamina C usando el método volumétrico de la AOAC (1990). En un macerado de los mismos frutos se determinó el pH con un potenciómetro de la marca HANNA modelo COMBO y el contenido de sólidos solubles

totales con un refractómetro pocket PAL-1. El contenido de minerales fue determinado en frutos obtenidos en los mismos cortes antes mencionados. Para la determinación del nitrógeno total se usó el método del micro Kjeldahl (AOAC, 1980a), mientras que para el fósforo se utilizó un método colorimétrico (AOAC, 1980b), el potasio, calcio, magnesio, sodio, hierro, manganeso, cobre y zinc se determinaron por medio de un espectrofotómetro de absorción atómica de la marca Varían AA-1275 (Fick *et al.*, 1976). El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con 15 repeticiones siendo la unidad experimental una maceta con una planta, sobre los datos se realizaron análisis de varianza y pruebas de Tukey ($p=0.05$), en el Statistical Analysis System versión 9,0 (SAS 2002).

Se determinó la presencia de microorganismos y metales pesados en los frutos, para ello se tomó un kilogramo de muestra de frutos de tomate en la etapa seis (USDA, 1997) durante el transcurso del primer corte y se analizó en un laboratorio acreditado para la NOM-004-SEMARNAT-2002. Los resultados reportados se consideraron como un índice de la transferencia de microorganismos y metales del lodo a los fruto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis microbiológico del lodo textil. El lodo textil mostró 2.7×10^3 coliformes fecales por gramo de peso seco. De acuerdo a la NOM-004-SEMARNAT-2002 se clasificó como tipo C siendo posible su uso con fines agrícolas. *Salmonella* spp. Se encontró ausente y el contenido de huevos de helminto (0.5 por gramo en base seca) fue mucho menor al límite indicado por la norma ($<1\text{HH/gST}$).

Análisis de metales pesados y fisicoquímico del lodo industrial textil. Según la NOM-004-SEMARNAT-2002 los lodos textiles se clasificaron como excelentes porque en todos los casos los metales pesados y metaloides estuvieron por debajo de los límites máximos permisibles (Cuadro 1).

Cuadro 1. Contenido de metales pesados y metaloides del lodo textil crudo proveniente de la Fábrica La Estrella, S. A. de C. V. (FLESA).

Límite máximo permisible NOM-004-SEMARNAT-2002					
Parámetro	Resultados	Excelentes mg Kg ⁻¹	Parámetro	Resultados	Excelentes mg kg ⁻¹
Arsénico	0.165	41	Plomo	17.6	300
Cadmio	2.56	39	Mercurio	7.991	17
Cromo	66	1 200	Níquel	22	420
Cobre	323	1 500	Zinc	285.7	2,800

Análisis físico del lodo textil. El lodo textil presentó una textura franco arcilloso, con una densidad aparente 1.052 g cm⁻¹ y un 58% de porosidad. El lodo presentó un contenido 4.69% de materia orgánica y un 3% de carbonatos.

Análisis de salinidad y sodicidad en extracto de saturación de los lodos textiles.

Los lodos presentaron una conductividad eléctrica extremadamente alta y pH alcalino (NOM-021-RECNAT-2000). Valores altos de cloruros y bicarbonatos, moderadamente bajos los sulfatos, muy bajo potasio, una presencia media de sodio y sin presencia de carbonatos (Richards, 1980) (Cuadro 2). Precisamente por el gran aporte salino de los lodos fue necesario utilizarlos en mezcla con peat moss para diluir las sales presentes. Estudios anteriores indicaron que el máximo contenido de lodos textiles en base a volumen es de 25% (Benavides-Mendoza *et al.*, 2007).

Cuadro 2. Análisis de salinidad y sodicidad de los lodos textiles aplicados al sustrato de las plantas de tomate.

Parámetro	Resultado	Parámetro	Resultado
Conductividad eléctrica	20.8 mS cm ⁻¹	Bicarbonatos	5.12 meq L ⁻¹
pH	8.4	Sulfatos	21.95 meq L ⁻¹
Cloruros	15.5 meq L ⁻¹	Carbonatos	0.0
Sodio	3.7 meq L ⁻¹	Potasio	0.97 meq L ⁻¹

Análisis de fertilidad del lodo textil. La concentración de elementos minerales se encontraron muy bajas y moderadamente bajas para el N, P y S. Mientras que para el Ca, Zn, Fe y Mg presentaron valores muy altos (NOM-021-RECNAT-2000) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Contenido mineral en base seca y clasificación de acuerdo al contenido de los lodos textiles aplicados al sustrato de las plantas de tomate.

Parámetro	Resultados	Parámetro	Resultados
	mg kg ⁻¹		mg kg ⁻¹
Nitrógeno	0.1 muy bajo	Zinc	56 muy alto
Fosforo	4 muy bajo	Hierro	7 muy alto
Azufre	7 moderadamente bajo	Magnesio	1412 muy alto
Calcio	11500 muy alto	Manganeso	14 moderadamente alto

Contenido de minerales en el fruto. Los resultados de minerales en el fruto se muestran en el Cuadro 4. El N, P, Ca, Mg y Cu no sufrieron cambios asociadas con la aplicación de los lodos. La única excepción se presentó con la concentración de Ca en el quinto corte en donde este elemento disminuyó en los tratamientos de mayor concentración de lodos. Por su parte, el Na, Zn y Fe mostraron tendencia a incrementarse en presencia de los lodos. La concentración de Na en los frutos depende directamente de la cantidad de sodio en la solución nutritiva (Dorai *et al.*, 2001). El caso del Fe puede suponerse que la absorción se viera aumentada por la materia orgánica del lodo (Romheld and Nikolic, 2007), mientras que la mayor concentración de Zn se observa en condiciones de salinidad, al parecer para promover mayor actividad enzimática antioxidante (Tavallali *et al.*, 2010). Por su parte el K y Mn se acumularon en menor cuantía en los tratamientos con lodos. Es posible que la disminución en el K se deba a la competencia con Mg (Merhaut, 2007), elemento aportado en gran cantidad por los lodos. En cuanto al Mn se ha reportado que su acumulación en los tejidos disminuye en condiciones de salinidad (Aktas *et al.*, 2005). Si bien se menciona que los lodos constituyen una fuente de macro y micronutrientes (Ortiz-Hernández *et al.*, 1995), al verificar los resultados del contenido de minerales en el lodo textil, no parece haber correlación entre estos y lo obtenido en los frutos. Es posible que esto se deba por una parte a que las plantas recibieron aportes de minerales de una solución nutritiva, no requiriendo exclusivamente de los minerales del lodo para la absorción de nutrientes y, por otro lado, al hecho de que los nutrientes minerales de los lodos se liberen lentamente o estén poco disponibles (Cogger *et al.*, 2004), o bien que su concentración sea baja como normalmente ocurre para el N (Roberts *et al.*, 1988) y el K (Ozores-Hampton *et al.*, 2005).

Cuadro 4. Resultados de la prueba de medias de Tukey (0.05) para el contenido de minerales en fruto en diferentes cortes en plantas de tomate en donde se aplicaron lodos textiles en diferente concentración al sustrato.

Trat.	N	P	K	Ca	Mg	Na	Zn	Cu	Mn	Fe
				%			mg kg ⁻¹			
Tercer corte										
0%	1.64 a	0.58 a	2.4 bc	0.11 a	0.22 a	0.15 b	34.1 a	6.3 a	19.05 a	197.2 a
5%	1.66 a	0.4 ab	2.9 ab	0.12 a	0.29 a	0.14 b	28.5 a	5.3 a	14.7 ab	51.08 d
10%	1.93 a	0.4 ab	3.23 a	0.17 a	0.29 a	0.23 ab	36.2 a	6.7 a	15 ab	92.8 c
15%	1.96 a	0.4 ab	2.04 c	0.13 a	0.26 a	0.17 ab	32.5 a	5.7 a	14.4 b	73.4 cd
20%	1.69 a	0.34 b	3.2 ab	0.17 a	0.29 a	0.29 a	24.9 a	4.7 a	13.5 b	132.7 b
Cuarto corte										
0%	1.59 a	0.53 a	2.87 a	0.07 a	0.2 a	0.12 b	28.8 b	7.0 ab	29.8 a	220.0 c
5%	1.52 a	0.39 a	2.4abc	0.10 a	0.19 a	0.19 ab	44.09 a	9.6 a	25 b	26.05 d
10%	1.90 a	0.42 a	2.8 ab	0.10 a	0.23 a	0.23 a	26.4 b	6.1 ab	10.9 c	333.2 b
15%	1.98 a	0.45 a	2.29 c	0.14 a	0.23 a	0.17 ab	31.1 b	5.6 b	8.3 c	263.2 c
20%	1.64 a	0.36 a	2.4b c	0.06 a	0.24 a	0.12 b	28.23 b	4.7 b	7.7 c	443.1 a
Quinto corte										
0%	1.76 a	0.52 a	3.17 a	0.19 a	0.28 a	0.16abc	31.9 ab	6.9 a	14.5 a	85.3 bc
5%	1.61 a	0.39 a	3.23 a	0.1 ab	0.29 a	0.22 ab	22.7 c	4.7 ab	10.8 b	169.6 a
10%	1.88 a	0.44 a	3.13 a	0.04 b	0.26 a	0.08 c	40.1 a	4.4 b	14.7 a	69.02 c
15%	1.75 a	0.43 a	3.02 a	0.03 b	0.23 a	0.23 a	32.7 ab	5.6 ab	11.3 b	80.9 bc
20%	1.84 a	0.38 a	2.7 a	0.03 b	0.23 a	0.13 bc	29.3 bc	5.0 ab	11.6 ab	103.0 b

Medias con la misma letra, son estadísticamente iguales (Tukey $P \leq 0.05$).

Contenido de vitamina C en frutos. Solo en uno de los cortes se presentaron diferencias significativas en el contenido de vitamina C en los tratamientos con lodos (Figura 1). Las plantas tienen la habilidad para acumular antioxidantes como la vitamina C y los ácidos orgánicos en presencia de salinidad (Krauss *et al.*, 2006), se esperaría por ello que en todos los cortes se tuviera mayor contenido de vitamina C. Sin embargo, la respuesta también es dependiente de otros factores como la temperatura y la irradiancia (Fanasca *et al.*, 2007), lo cual pudiera explicar la ausencia de diferencias en los otros cortes.

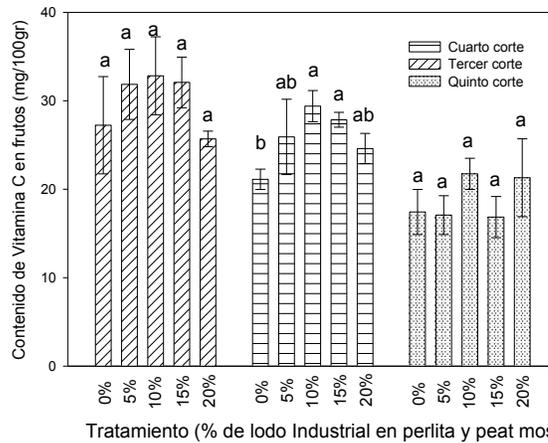


Figura 1. Efecto de la aplicación de lodos industriales textiles en el contenido de vitamina C en fruto de tomate. Los promedios con la misma literal no fueron estadísticamente diferentes según Tukey ($P \leq 0.05$).

pH en frutos. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. El valor más alto se observó en el tratamiento al 20% de lodo textil con un pH de 4.68 y el más bajo en el tratamiento 5% con un pH de 4.13. Resultados similares fueron obtenidos usando aguas residuales en la producción de tomate (Al-Lahham et al., 2003). Los valores de pH del fruto se encontraron dentro de los estándares publicados (Cantwell, 2006).

Sólidos solubles totales en frutos. Se encontraron diferencias significativas tanto para el tercero como el cuarto corte obteniendo el porcentaje más alto de sólidos solubles con el tratamiento al 20% de lodo textil. Es muy posible que este efecto esté dado por la salinidad aportada por los lodos, ya que se sabe que la conductividad eléctrica de la solución presenta un impacto positivo sobre los sólidos solubles en el fruto (Dorai et al., 2001).

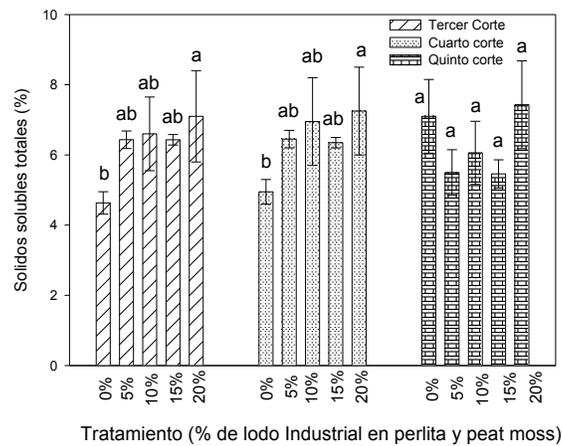


Figura 2. Efecto de la aplicación de lodos industriales textiles en los sólidos solubles totales de frutos de tomate. Los promedios con la misma literal no fueron estadísticamente diferentes según Tukey ($P \leq 0.05$).

Cantidad de microorganismos patógenos y metales pesados en frutos de tomate.

La cantidad de coliformes fecales en los frutos se encontró dentro de los límites permisibles establecidos por la NOM-093-SSA1-1994 (Cuadro 7). Un resultado parecido fue obtenido para los huevos de helmintos, a excepción del tratamiento con lodo textil al 20% el cual rebasó la cantidad recomendada por la NOM-004-SEMARNAT-2002. Esta última aunque no es una norma aplicada a alimentos, constituye un indicador de la posibilidad de transferencia de los patógenos del lodo hacia los frutos.

En todos los frutos analizados se encontró *Salmonella*, a pesar de que el análisis del lodo y del agua de riego mostró ausencia de la misma. Los resultados apuntan a una fuente de contaminación diferente a los lodos, ya que las esporas de estas bacterias pueden alojarse en estomas u otras estructuras (Sturz *et al.*, 2000).

Cuadro 7. Análisis microbiológico de los frutos de tomate sometidos a lodos textiles crudos provenientes de la Fábrica La Estrella, S. A. de C. V. (FLESA).

Parámetro	Testigo (0%)	5 %	10 %	15%	20%	Límites permisibles	Fuente
Coliformes fecales (NMP/Gst)	< 3.0	< 3.0	< 3.0	< 3.0	< 3.0	<3.0	NOM-093-SSA1-1994
Salmonella (NMP/Gst)	< 3.0	< 3.0	< 3.0	< 3.0	< 3.0	Ausente/25gr	RTCA (2009)
Huevos de Helminthos HH/gST	< 0.5	< 0.5	0.5	0.5	1.5	< 1.0	NOM-004-SEMARNAT 2002

NMP= Numero más probable HH= Huevos de helminto

Los análisis de metales pesados en los frutos de tomate resultaron en que el testigo y el tratamiento al 5% de lodo textil presentaron contenidos altos de Cd (Codex 1995). Los valores de 42.5 y 27.5 mg kg⁻¹, respectivamente, son inclusive mayores a los encontrados en experimentos con aplicación controlada de CdCl (Grãtao et al., 2008). La presencia de Cd en los frutos del tratamiento testigo indica una posible fuente externa de contaminación (Benavides *et al.*, 2005). El Ni apareció como detectable en los tratamientos al 5, 15 y 20% de lodo textil con un rango de concentración entre 32 y 61 mg kg⁻¹, reportados como valores normales (Brown, 2007), sin mostrar asociación con la concentración del lodo en el sustrato. Para el caso de As, Cr, Cu, Pb y Hg no hubo presencia detectable de estos metales en los frutos.

CONCLUSIONES

La aplicación de lodos industriales textiles crudos al sustrato no provocó efectos estadísticamente diferentes en el contenido de minerales de los mismos.

La vitamina C en frutos presento un incremento estadísticamente significativo al aplicar lodos industriales textiles al 10%, el pH de los frutos no se ven modificados por la presencia de lodos textiles y el contenido de sólidos solubles totales del fruto se incrementaron significativamente al aplicar un 20% de lodo industrial al sustrato.

No se encontró evidencia de transferencia de metales pesados por parte de los lodos textiles.

Se observó presencia de coliformes fecales y salmonella por debajo del límite permisible en los frutos de tomate tanto en los tratamientos testigo como en los tratamientos con lodos.

Se encontró presencia de huevos de helmintos con niveles por encima del límite máximo permisible en frutos de tomate en el tratamiento con 20% de lodo industrial textil.

LITERATURA CITADA

Aktas, H., L. Karni, D.C. Chang, E. Turhan, A. Bar-Tal, B. Aloni. 2005. The suppression of salinity-associated oxygen radicals production, in pepper (*Capsicum annuum*) fruit, by manganese, zinc and calcium in relation to its sensitivity to blossom-end rot. *Physiol. Plant.* 123(1):67-74.

Al-Lahham, O.; El Assi, N. M. and Fayyad, M. 2003. Impact of treated wastewater irrigation on quality attributes and contamination of tomato fruit. *Agricultural Water Management.* 61(1): 51-62.

Aravena, C. R.; Valentin, C.; Diez, M. C.; Mora, M. L. y Gallardo, F. 2007. Aplicación de lodos de planta de tratamientos de celulosa: efecto en algunas propiedades físicas y químicas de suelos volcánicos. Temuco, Chile. *Journal Soil Science Nutrition* 7(1): 1-14.

Association of official analytical chemiste (AOAC). 1990. Official Methods of Analysis of AOAC.1 15th edition. Vol. II. Association of Official Analytical Chemist. Washington, D.C. USA. pp: 829–830.

Association of official analytical chemiste (AOAC). 1980a. Official Methods of Analysis 13th edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC., USA. pp 547 -562.

Association of official analytical chemiste (AOAC). 1980b. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 30th edition. Association of Official Analytical Chemist. Washington, D.C. USA. pp 39.

Benavides-Mendoza, A.; Ramírez, H.; Ruiz-Torres, N.; Perales-Huerta, A.; Cornejo-Oviedo, E.; Ortega-Ortiz, H. y Dávila-Salinas, R. V. 2007. Aplicación de subproductos industriales de la Compañía Industrial de Parras, S.A. de C.V. en sustratos para la siembra y crecimiento de plantas. *En: Tópicos Selectos de Botánica.* M. González-Álvarez, S.M. Salcedo Martínez (eds). Universidad Autónoma de Nuevo León, México. pp. 147-162.

Benavides, M. P.; Gallego, S. M y Tomaro, M. L. 2005. Cadmium toxicity in plants. Brazil. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17(1):21-34.

- Brown, P. H. 2007. Nickel. In: Handbook of Plant Nutrition. A.V. Barker, D.J. Pilbeam (eds). CRC Press, Boca Raton, USA. pp:395-409.
- Campos-Medina, E.; Velázquez-Rodríguez, A.; Gómez-Hinojos, A. M. 2011. Predicción y comparación de transferencia de nutrientes de dos tipos de vermicomposteo de lodos residuales a suelos forestales. *Quivera* 13(1): 1-15
- Cantwell, M. 2006. Report to the California tomato commission tomato variety trials: Postharvest evaluation for 2005. UCCE Fresh market tomato statewide report. California USA. 14 p.
- Cogger, C. G.; Bary, A. I.; Sullivan, D. M.; Myhre, E. A. 2004. Biosolids processing effects on first- and second-year available nitrogen. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68(1): 162-167.
- Comisión del Codex alimentarius (CODEX). 1995. Norma general del CODEX para los Contaminantes y las Toxinas Presentes en los Alimentos y Piensos (codex stan 193). Secretaria del programa conjunto de la organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación y la organización mundial de la salud. 48 p.
- Dorai, M.; P. Athanasios; P. Papadopoulou and A. Gosselin. 2001. Influence of electric conductivity management on greenhouse tomato yield and fruit quality. *Agronomie* 21(4):367-383.
- Fanasca, S.; Martino, A.; Heuvelink, E.; Stanghellini, C. 2007. Effect of electrical conductivity, fruit pruning, and truss position on quality in greenhouse tomato fruit. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 82(3): 488-494.
- Fick, K. R.; Miller, S. M.; Funk, J. D.; McDowell, L. R. and Houser, R. H. 1976. Methods of mineral analysis for plant and animal tissues. University of Florida institute of food and agriculture. Sciences, Department of Animal Sciences, Gainesville, F L. USA. 81 p.
- Krauss, S.; Schnitzler, W. H.; Grassmann, J. and Voitke, M. 2006. The influence of different electrical conductivity values in a simplified recirculating soilless system on inner and outer fruit quality characteristics of tomato. *J. Agric. Food Chem.* 54(2): 441-448.
- Merhaut, D. J. 2007. Magnesium. In: Handbook of Plant Nutrition. A.V. Barker, D.J. Pilbeam (eds). CRC Press, Boca Raton, USA. pp: 146-181
- Miralles, R.; Beltrán, E.; Porcel, M. A.; Beringola, M. L.; Martín, J. V.; Calvo, R. and Delgado, M. M. 2002. Influencia de tres tipos de biosólidos de estaciones

depuradoras en el desarrollo de estaquillas de olivo. *Revista Internacional de Contaminacion. Ambiental.* 14(4): 163–169.

Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994. 1995. Bienes y servicios. Buenas prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. *Diario Oficial de la Federación*, miércoles 04 de octubre de 1995.

Norma oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002. 2003. Protección ambiental lodos y biosólidos especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. *Diario Oficial de la Federación*, viernes 15 de agosto del 2003.

Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000. 2002. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios Muestreo y análisis. *Diario Oficial de la Federación*, martes 31 de diciembre del 2002, segunda sección.

Ortiz-Hernández, L.; Gutiérrez-Ruiz, M.; Sanchez-Salinasi, E. 1995. Propuesta de manejo de los lodos residuales de la planta de tratamiento de la ciudad industrial del valle de Cuernavaca, estado de Morelos, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental.* 11(2):105-115.

Ozores-Hampton, M., A. R. Stansly, P. McSorley, and T. A. Obreza. 2005. Effects of long-term organic amendments and soil solarization on pepper and watermelon growth, yield, and soil fertility. *Hort. Sci.* 40(1):80-84.

Reglamento Técnico Centro Americano (RTCA). 2009. Criterios Microbiológicos par la Inocuidad de Alimentos. *Reglamento Técnico Centroamericano.* RTCA 67.04.50:08. 36 p.

Richards, L. A. 1980. *Suelos salinos y sódicos.* Editorial Limusa, México. pp: 169.

Roberts, J. A.; Daniels, W. L.; Bell, J. C.; Burguer, J. A. 1988. Early stages of mine soil genesis in Southwest Virginia spoil Lithosequence. *Soil Sci. Soc. J.* 52(3):716-723.

Romheld, V; Nikolic. M. 2007. Iron: *Handbook of Plant Nutrition.* A.V. Barker, D.J. Pilbeam (eds). CRC Press, Boca Raton, USA. pp: 329-350.

Steiner, A. A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant Soil.* 15(2):134-154.

ISBN: 978-9968-641-26-5

Sturz, A. V.; Christie, B. R. and Nowak, J. 2000. Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable systems of crop production. *Crit. Rev. Plant Sci.* 19(1):1-30.

Tavallali, V., M. Rahemi, S. Eshghi, B. Kholdebarin and A. Ramezani. 2010. Zinc alleviates salt stress and increases antioxidant enzyme activity in the leaves of pistachio (*Pistacia vera* L. 'Badami') seedlings, *Turk. J. Agr. Forest* 34(4):349-359.

United States Department of Agriculture. (USDA) 1997. United States standards for grades of fresh tomatoes. United States Department of Agriculture, Agricultural Marketing Service, Fruits and Vegetable Division, Fresh Products Branch. Washington, D.C., USA. 13 p.

Walter, I.; Martínez, F.; Alonso, L.; De Gracia, J. and Cuevas, G. 2002. Extractable soil heavy metals following the cessation of biosolids application in agricultural soil. *Environ. Pollution.* 117(2): 315–321.

AF.2.O. Caracterización edafológica de la franja costera de la región del Pacífico Norte de Costa Rica

Coastal soil characterization of three beaches of the North Pacific coast of Costa Rica

Paola Brenes¹; Wagner Peña²; Mery Ocampo¹; Oscar Chacón¹; Aarón Fallas¹.

¹Vicerrectoría de Investigación. Escuela de Ciencias Exactas y Naturales. UNED.
pbrenes@uned.ac.cr; mocampo@uned.ac.cr; ochachon@uned.ac.cr;
afallas@uned.ac.cr. Tel.:2202-1870

²Programa de Doctorado en Ciencias Naturales para el Desarrollo. UNED.
wpeña@uned.ac.cr

Universidad Estatal a Distancia. Apartado Postal 474-2050. San Pedro, San José.
Costa Rica.

RESUMEN

Los suelos de la costa Pacífica y su formación están condicionados a los procesos geomorfológicos y biológicos según su área y su material parental, por lo que su caracterización es de vital importancia para la fortalecer los programas de restauración de las zonas costera, para el establecimiento de material vegetal. Los suelos del litoral son analizados en los primeros metros de costa de la franja de las playas de Callejones, Venado y Marbella en Santa Cruz, Guanacaste (NW, Costa Rica).

En cada uno de estos tres sitios, se muestreó de forma estratificada y aleatoriamente en la línea de costa, colocando transectos de 50 metros de largo. En cada transecto se ubicaron tres parcelas circulares de 5 metros de diámetro en las cuales se extrajeron 4 submuestras de suelo, a las cuales se les caracterizó en el laboratorio para determinar la distribución edáfica, según la distancia con respecto al mar. Las condiciones edáficas del área en estudio evidenciaron un patrón en su distribución espacial. Dicha gradiente es generada por las características físicas y químicas del suelo, como lo son: textura (arenas, arcillas y limos, densidad, pH calcio, magnesio, fósforo, cobre, cinc y hierro; además de las relaciones catiónicas como: C/Ce, Ca/K, Mg/K y Ca+Mg/K y la presencia de microorganismos, principalmente los actinomicetos que son relacionados con los procesos de mineralización y la regeneración de cobertura vegetal. Para el caso del potasio, la relación Ca/Mg, así como las bacterias, los hongos y la materia orgánica no se vieron relacionados con la composición de la zona costera. Con este trabajo se integra la etapa de caracterización edafológica de las zonas costeras del pacífico norte, que servirá de fundamento para programas de restauración costera posteriores que se comienzan en relación con el uso y manejo sostenible del ecosistema costeros.

Palabras claves: Suelos, litoral, restauración costera.

ABSTRACT

The soils of the Pacific coast and its formation are conditioned to geomorphological and biological processes according to the area and parental material, so its characterization is vital for strengthening programs for restoration of coastal areas. Coastal soils are analyzed in the first 50 meters of Venado, Marbella y Callejones beaches, Santa Cruz, Guanacaste (NW, Costa Rica). In each of these three sites was sampled randomly stratified in the shoreline, placing transects 50 meters long. Each transect have three circular plots of 5 m diameter in which four sub-samples were placed to extract soil samples. Each transect was characterized to determine the soil distribution, according to the distance from the sea. The soil conditions in the study area showed a pattern in their spatial distribution. Such gradient is generated by the physical and chemical characteristics of the soil, such as: texture (sand, clay and silt, density, pH, calcium, magnesium, phosphorus, copper, zinc and iron, as well as cationic relations: ICC, Ca / K, Mg / K and Ca + Mg / K and the presence of microorganisms, particularly actinomycetes are related mineralization processes and regeneration of vegetation. Potassium and the relation between Ca / Mg as well as bacteria, fungi and organic matter were not related to the composition of the coastal zone. This paper integrates soil characterization stage of the northern Pacific coastal areas, which will serve as the basis for subsequent coastal restoration programs that will begin in connection with the use and sustainable management of coastal ecosystem.

Keywords: Soil, coast, coastal restoration.

1. INTRODUCCION

Las franjas costeras son ecosistemas insustituibles en sus funciones biológicas, y estos representan la zona de transición entre el ecosistema marino y terrestre. Son zonas extremadamente frágiles y vulnerables, atribuido a su dinamismo y dependencia a la formación, desarrollo y evolución de procesos naturales. Sin embargo en la actualidad, la mayoría de estos ecosistemas se encuentran degradados debido a su sensibilidad frente a la acción humana (Odum y Barret 2006).

En Costa Rica, la franja de costa presenta características geológicas y condiciones climáticas muy particulares, en especial la costa pacífica, la cual se caracteriza por abundante variedad de ecosistemas (MINAE y PNUMA 2002). Este tipo de vegetación se caracteriza por presentar condiciones ambientales limitantes para su desarrollo, lo cual configura un hábitat específico según su cercanía al mar y las características geomorfológicas, edáficas y ambientales propias de las zonas (Gallego *et al.* 2003).

Diferentes estudios y observaciones han expuesto que la cobertura vegetal responde a las propiedades físicas y químicas de los suelos (Alfaro *et al.* 2001), por lo tanto el conocimiento de las características edáficas de las zonas costeras representa de mucha importancia para establecer una línea base de información que permita un plan de restauración integral para la zona costera.

2. METODOLOGÍA

La investigación se realizó en la región del Pacífico Norte, en la franja costera de los 50 metros públicos (zona marítima terrestre, ZMT) de las playas Callejones (10°11'11" N, 85°49'30" W), Venado ((10°08'07" N, 85°47'51" W) y Marbella (10°05'18" N, 85°46'44" W), del cantón de Santa Cruz, provincia de Guanacaste, Costa Rica

La investigación se llevó a cabo bajo la modalidad de un diseño no experimental. Se definieron la instalación de 8 transectos de 50 m de longitud, perpendiculares a lo largo de la línea de costa. El inicio de los transectos se ubicó desde el punto de marea alta, hasta 50 metros, en cada uno de los transectos se instalaron 3 parcelas circulares de muestreo, se colectaron 8 muestras de suelo de cada distancia. A las cuales se les analizó la textura, el pH, la materia orgánica, conductividad eléctrica y los elementos esenciales (N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu), mediante las técnicas estandarizadas de Cervantes y Mojica (2003).

Con los datos obtenidos a partir del análisis de suelo, se efectuó un análisis de varianza y posteriormente se realizó un análisis de *Spearman*. Para el análisis de componentes principales se utilizó las variables de mayor peso en las correlaciones de *Spearman*, determinado mediante el programa *Infostat versión 2011* (Di Rienzo *et al.* 2003).

3. RESULTADOS

Características físicas del suelo

De forma general, los suelos muestran características físicas muy similares. Son arenosos en los primeros 30 metros de distancia con respecto al mar y conforme se aleja del área intermareal se encuentran texturas franco arenosas. Según el análisis de varianza encontramos diferencias en los contenidos de arena y limo de los suelos entre A y B, no así para B y C. Existe una diferencia estadística en la densidad del suelo, según el análisis de varianza, entre la distancia A ($1,54 \pm 0,24^a$ con respecto a B ($1,14 \pm 0,25$) y C ($1,06 \pm 0,79$) El comportamiento de los datos presentados está relacionado con las texturas encontradas en los sitios; en los primeros metros se encontraron suelos mayormente arenosos (93 % de arena en promedio) con

densidades 1,62 g/cm³, hasta variar a suelos franco arcillosos con contenidos mayores de arcillas (22 % en promedio).

Características químicas de suelo

Los suelos analizados muestran valores de pH próximos a la neutralidad. Existe una variación según la ubicación de las distancias, donde el promedio más alto (8,47) se observa en el área más cercana al mar, disminuyendo conforme se aleja de éste(7,14) Según el análisis regresión, se puede observar una significancia estadística negativa, ($r = 0,87$, $p < 0,05$). La acidez de los suelos estudiados es bastante estable en cada sitio (0,1 cmol(+)/L) y no varía significativamente conforme la distancia con respecto al mar.

Los cationes de los suelos, presentan según el análisis de varianza, diferencias significativas en los elementos de calcio, y magnesio, no así para potasio. En el análisis de regresión, el calcio y magnesio presentan una regresión positiva (Ca: $r = 0,87$ y $p < 0,05$ y Mg: $r = 0,81$ $p < 0,05$). Las diferencias en calcio y magnesio se centran en la distancia A con B no; así para los valores ubicados en C. El magnesio y el calcio varían en valores medianos y altos. El potasio presenta valores altos en todas las distancias (Cuadro 1).

La CICE y la relación entre calcio, magnesio y potasio tienen valores estadísticamente significativos ($p < 0,05$), para las tres localidades en las primeras dos distancias.

Cuadro 1. Cationes intercambiables de los suelos (cmol (+)/L), Santa Cruz, Guanacaste, Costa Rica, Enero 2011

Elementos (cmol(+)/L)	Distancia*	Valores medios	ANDEVA	Referencia** Valores medios
Ca	A	3,87±1,67a		
	B	20,60±6,33b	f=39,73; p<0,05	4-6
	C	24,61±3,54b		
Mg	A	1,98±1,44a		
	B	4,87±1,93b	f=15,79; p<0,05	1-3
	C	6,15±0,27b		
K	A	0,84±0,43		
	B	0,66±0,21	f=0,54, p=0,59	0,2-0,5
	C	0,70±0,36		

**Comparación con la guía de interpretación del MAG de forma general, Fuente: Bertsch, 1987.

Datos con letra diferente = $p < 0,05$.

Los microelementos Cu, Fe y P presentan diferencias estadísticas significativas según el análisis de varianza. Para Mn y Zn los suelos no presentan diferencias estadísticas significativas. Para el caso del análisis de regresión los elementos de Cu y Fe presentan funciones positivas; Cu ($r=0,91$, $p<0,05$); Fe ($r=0,72$, $p<0,05$). Los elementos manganeso y el cinc no fueron significativos. En fósforo presenta una función negativa significativa ($r=0,81$, $p<0,05$) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Microelementos contenidos en las tres localidades muestreadas, Santa Cruz, Guanacaste, Costa Rica, Enero 2011

Elemento	Distancia*	Valores medios ppm	ANDEVA	Referencia ** Valores medios
P	A	4,15±0,72a	f= 14,90, p<0,05	12-20
	B	2,90±0,64b		
	C	2,30±0,48b		
Cu	A	0,33±0,45a	f=43,69, p<0,05	0,5-1
	B	1,83±0,80a		
	C	4,00±0,63b		
Zn	A	0,26±0,80	f=1,75, p=0,20	2-3
	B	0,81±0,71		
	C	0,87±0,58		
Mn	A	1,16±0,57	f=0,56, p=0,58	5-10
	B	1,66±0,49		
	C	1,33±0,67		
Fe	A	4,38±2,54a	f=10,34, p<0,05	5-10
	B	15,33±8,35b		
	C	18,00±3,03b		

Comparación con la guía de interpretación del MAG de forma general, Fuente: Bertsch, 1987.

***Datos con letra diferente = $p<0,05$*

El análisis de varianza demostró que la conductividad eléctrica no se relaciona con la distancia del mar; así mismo el análisis de la regresión demostró no ser significativa. Sin embargo son valores altos para todo el perfil (A=50,70±25,22, B 60,29±28,23 y C 48,47±23,87). Según las valoraciones de la carga microbiana de los suelos y el análisis de varianza, no se observa una diferencia estadística significativas en la cantidad de bacterias y hongos, no así para los actinomicetos, los cuales presentaron una diferencia conforme la distancia al mar (A=2,15 x10⁵±2,72 x10^{5a}, B=5,02 x10⁵±3,05 x10^{5b}, C=6,37 x10⁵±1,96 x10⁵). Así mismo la materia orgánica no evidencio diferencias significativas

Análisis de distribución espacial según las características químicas

Se aprecia una relación significativa ($p < 0,05$) entre las variables físicas, como la densidad y las variables granulométricas (arcilla, limo y arenas) conforme la distancia con respecto al mar. Las arcillas y los limos tienen una correlación positiva con la distancia, en cambio la arena tiene una correlación negativa. En cuanto a los elementos del complejo de cambio, los cationes de calcio y magnesio presentaron correlaciones positivas significativas estadísticamente. Por otro lado el cobre y el cinc y el hierro presentaron correlaciones significativas positivas, el caso del fósforo presentó una correlación significativa pero de función negativa. En cuanto a las relaciones catiónicas, CICE, Ca/K, Mg/K y Ca+Mg/K tuvieron correlación significativa con la distancia y esta fue una correlación positiva.

Análisis de componentes principales

El análisis de componentes principales realizado estimó que con el primer componente, se explica el 92 % de la varianza. Según su distancia, las variables relacionadas con la textura del suelo y los elementos de las relaciones de intercambio iónico y el contenido de fósforo fueron las que caracterizaron de mejor forma la zona A; así mismo el elemento del fósforo. Por otro lado, los otros elementos como el calcio, magnesio, los microelementos del cobre y del cinc y las relaciones iónicas son los que caracterizan en su mayoría tanto a B como C.

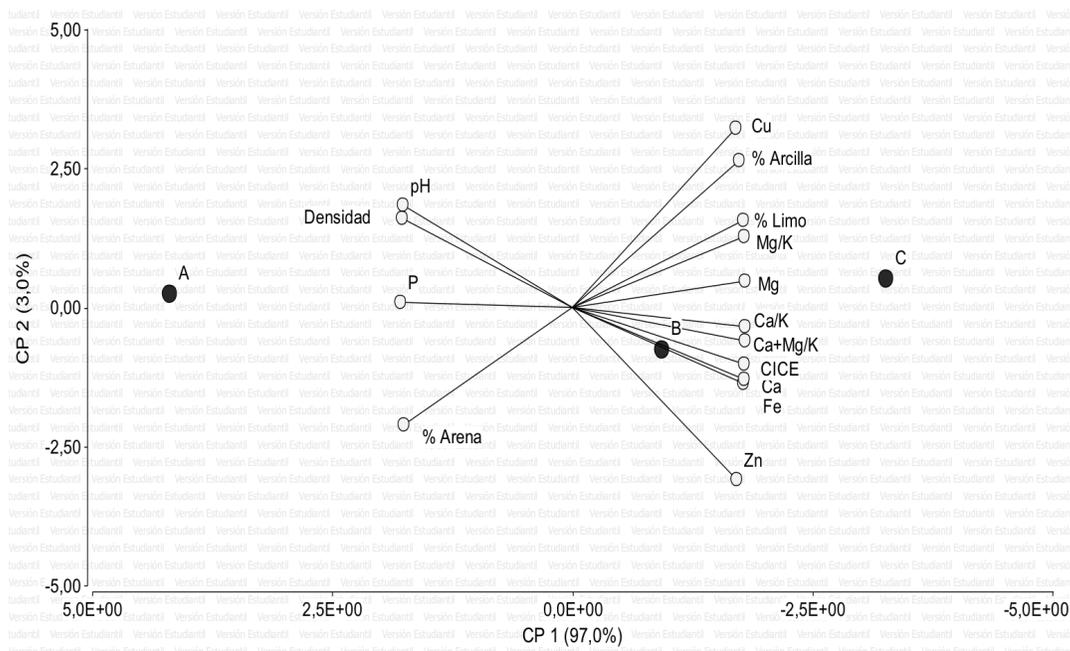


Figura 1. Matriz de análisis de los componentes principales según la distancia al mar.

4. DISCUSIÓN

Las condiciones edáficas del área en estudio evidenciaron un patrón en su distribución espacial. Dicha gradiente es generada por las características físicas y químicas del suelo, como lo son: textura (arenas, arcillas y limos, densidad, pH calcio, magnesio, fósforo, cobre, cinc y hierro; además de las relaciones catiónicas como: C/Ce, Ca/K, Mg/K y Ca+Mg/K y los actinomicetos. Para el caso del potasio, la relación Ca/Mg; así como las bacterias, los hongos y la materia orgánica no se vieron relacionados con la composición de la zona costera.

En cuanto a la textura se pudo diferir que conforme se aleja del mar, los contenidos de arcillas y limos aumentan debido a su influencia de terrenos francos aldeaños y a la acción de la meteorización del material mineral parental. Los valores de pH neutros son comunes en las zonas costeras debido a las altas cantidades de carbonato de calcio presentes en el material de partida, donde los contenidos de materia orgánica son muy bajos y por ende no contribuyen a la acidificación del suelo (Bojórquez *et al.* 2008). Las condiciones alcalinas que no permiten la absorción de todos los minerales disueltos como por ejemplo, el aluminio y el manganeso y al mismo tiempo aumentan la disponibilidad de sodio y boro que, dependiendo de su concentración en el medio, pueden ser tóxicos para el desarrollo de las plantas (Kass 1998).

El calcio y el magnesio se comportan normales teniendo en cuenta que se encuentran en una zona de un clima con precipitaciones anuales abundantes y la presencia de un suelo arenoso de alta permeabilidad, donde parte del carbonato disuelto por el agua de lluvia es arrastrado hacia el interior del suelo, produciendo una subida del pH y la igualación de su valor en todo el perfil (Cortés 1996 y Alfaro *et al.* 2001). Por otro lado Lindquist 2003 y Romero *et al.* 2006 también revelan una gradiente positiva en los valores de los elementos de Ca y Mg conforme estos se acercan a la influencia de suelos con más contenidos de arcillas y limos. Para el caso del potasio, este se presenta en valores altos en toda la gradiente, dicha afirmación se atribuye al origen del material parental del área y en conjunto con el arrastre de los componentes orgánicos por el efecto marea, los cuales contribuyen a los altos contenidos de potasio en la zona marítima (Romero *et al.* 2006 y Sparks 1981).

El aumento de la C/Ce está muy relacionado con la meteorización de los minerales y, sobre todo, con la disponibilidad de arcillas cristalinas y la formación de coloides en los suelos. La tendencia en subir de valores en la C/Ce provoca que aumente la fertilidad del suelo, factor que se podría observar con la abundancia de la vegetación o la agresividad en cuanto a la presencia de una flora especializada (Hughes y Styles 1984).

Los micro elementos en las zonas costeras son al parecer escasos y por su condición limitante e interrelación con otros elementos pueden ser parte de los condicionantes para el desarrollo de especies flora en estas zonas; especialmente los micro elementos que bloquean la absorción de otros, si no están en un correcto balance. Dicha situación es característica de las zonas costeras, debido a que por la presencia de arenas y

continua lixiviación estas no tienen grandes contenidos de nutrientes (Gallego *et al.* 2003). Tal es el caso de la relación de la escases de cinc y manganeso en suelos calcáreos (altos contenidos de calcio) por la elevación de pH debido a la producción de carbonatos al disociar el carbonato de calcio (Alfaro *et al.* 2001).

A nivel biológico del suelo, se puede atribuir a la estabilidad de los microorganismos en el suelo debido a que no hay no hay diferencias en las cantidades de materia orgánica. Ahora para los actinomicetos se puede indicar que el aumento de estos se puede atribuir a que en los ecosistemas terrestres, la salinidad conduce a una menor proliferación de actinomicetos relacionados de forma directa con la amonificación de la arginina y la mineralización del nitrógeno, según Sánchez *et al.* (2010).

En términos generales podemos hablar de que los suelos útiles se desarrollan en paisajes aledaños a la zona de estudio generando meteorización y acumulaciones de sedimentos en las zonas costeras, esto provoca que la heterogeneidad topográfica y físico química del suelo a escalas del estudio dificultaron mucho el análisis especialmente los no edáficos a pesar de que si hay evidencia de que los cambios de suelo y su fertilidad afectan la distribución espacial de especies y su diversidad (Swaine1996), pero probablemente sea que este tipo de variación florística se de en espacios más amplios como rescata Veblen *et al.* (2004).

5. CONCLUSIONES

En general se presentó un patrón de distribución edáfica; que se explica mediante los cambios en las texturas de suelo conforme se alejan del mar, densidad aparente del suelo y especialmente con el pH, y el complejo de cambio del suelo entre ellos calcio, potasio, magnesio y sus relaciones catiónicas. Es importante detallar que es evidente un aumento en la fertilidad de los suelos con forme se aleja del mar, situación que se atribuyen al cambio de texturas del suelo a lo largo del transecto; especialmente un aumento de las partículas de menor tamaño (arcillas) lo que provoca un aumento de la capacidad de intercambio iónico del suelo y por lo tanto mayor disponibilidad de elementos esenciales para la vegetación. Sin embargo si es importante detallar que la capacidad de intercambio catiónico es el principal causante de desbalance nutricional en las áreas. En cualquiera de las áreas es importante tomar en cuenta que es un sistema frágil que si se altera el medio y cambia algunas de sus propiedades edáficas podrían verse afectadas especies florísticos de importancia ecológica.

6. REFERENCIAS

- Alfaro, E., Alvarado, A., & Chaverri, A. (2001). Cambios edáficos asociados a tres etapas sucesionales de bosque tropical seco en Guanacaste, Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 25 (1), 7-20.
- Bertch, F. 1986. Manual para interpretar la fertilidad de los suelos de Costa Rica. San José, Universidad de Costa Rica. 76 p.
- Bojórquez, I., Hernández, A., García, D., Nájera, O., Flores, F., Madueño, A., y otros. (2008). Características de los suelos de llanura costera norte del estado de Nayarit, México. *Cultivos Tropicales*, 29, 37-42.
- Cervantes, C. (2003). *Manual de laboratorio de edafología*. Heredia, CR: EDUNA.
- Chacón, D. (1999). Anidación de la tortuga *Dermochelys coriacea* (Testudines Dermochelyidae) en playa Gandoca, Costa Rica (1990 a 1997). *Revista Biología Tropical*, 47, 225-236.
- Chang, R. (1996). *Principios Esenciales de Química General. Cuarta edición*. Madrid, España: McGraw-Hill.
- Cortés, R. (1996). *La Formación de suelos sobre las dunas costeras. IV Reunión de geomorfología*. Recuperado el 24 de Abril de 2011, de Universidad de Málaga: <http://ruc.uds.es/dspace/bitstream/2183/6261/1/CA-21-46.pdf>
- Devlin, R. (1989). *Plant physiology*. New York: Reinhold.
- Di Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini, M., González, L., Tablada, M., & Robledo, C. (2011). *Grupo InfoStat, FCA*. Recuperado el 15 de Abril de 2012, de Universidad Nacional de Córdoba, Argentina: <http://www.infostat.com.ar>
- Gallego, J., García, M., & Ley, C. (2003). *Restauración de dunas costeras*. Sevilla, España: Universidad de Sevilla.
- Gilliespie, T., Grijalva, A., & Farris, C. (2000). Diversity, composition and structure of tropical dry forest in Central America. *Plant Ecology* (147), 37-47.
- Hughes, C., & Styles, B. (1984). Exploration and seed collection of multipurpose dry zone trees in Central America. *The International Tree Crops Journal* (3), 1-31.
- Kass, D. (1998). *Fertilidad de Suelos*. San José, CR: EUNED.

Lindquist, E. (2003). *Patterns of coastal composition, structure and recruitment, Costa Rica: Functions of an environmental gradient, seed rain distribution and crab predation pressure*. . Georgia, USA: University of Georgia.

MINAE (CR), & PNMUNA (MX). *Geo Costa Rica: una perspectiva del Medio Ambiente*. San José: UCR.

Odum, E., & Barrett, G. (2006). *Fundamentos de Ecología*. D.F, México: Thomson.

Romero, L., Leon, J., Pérez, J., & De la Cruz , G. (2006 de Diciembre de 2006). *Estructura y composición de la vegetación de la barra costera*. Recuperado el 7 de Abril de 2012, de Boletín de la Sociedad bitánica de México: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/57707903.pdf>

Sánchez, L., Paolini, J., & Rodríguez, J. (2010). Dinámica de las propiedades del suelo en bosque de *Rhizophora mangle* L. (Rhizophoraceae) en Isla Margarita, Venezuela. *Revista Biología Tropical* , 58.

Sparks, D. (1981). El químico del potasio en suelos arenosos. *Ciencia del suelo: Revista de la Potasa* , 1-7.

Swaine, M. (1996). Rainfall and soil fertility as factors limiting forest species distribution in Ghana. *Ecology* (84), 419-429.

Veblen, T., Kitzberger, T., & Villalba, R. (2004). *Nuevos Paradigmas en ecología y su influencia sobre el conocimiento de la dinámica de los bosques del sur de Argentina y Chile*. Recuperado el 18 de Agosto de 2012, de Universidad de Colorado: USA: <http://www.uv.mx/personal/tcarmona/files/2010/08/Veblen-et-al-.pdf>.

AF.3.O. Búsqueda y sobrevivencia de *Brucella* spp. en el agua de Cuatro Lagos Cráter de Puebla, México

Search and survival of *Brucella* spp. in the water of four Crater Lakes of Puebla, Mexico

Juan Ricardo Cruz Aviña^{1*}, Elsa Iracena Castañeda Roldán¹, Eduardo Torres Ramírez¹,
Miroslav Macek²

¹*Posgrado en Ciencias Ambientales, Instituto de Ciencias, Laboratorio de Patogenicidad Microbiana, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, C.P. 72570, Puebla, Méx.
Tel: (01-222) 2-29-55-00 ext 2538, * ambystomag@hotmail.com*

²*FES-Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, Méx.*

RESUMEN

La brucelosis es la zoonosis más importante a nivel mundial. Su persistencia se debe a la capacidad de adaptación y distribución geográfica de la bacteria. Su supervivencia está determinada por mecanismos entre hospederos. *Brucella* spp. está cambiando su ecología, resultando en nichos con poblaciones vulnerables (peces y anfibios) por exposición. En 1921, se reportó en Puebla, Méx. como endémica y reemergente, provocando efectos deletéreos en la calidad de vida de sus habitantes. Investigadores de la BUAP-ICUAP estudian la interacción *Brucella*-ambiente en comunidades con alta prevalencia del ENT. Sin embargo, el ambiente acuático sigue sin ser estudiado. En este trabajo se determinaron los factores fisicoquímicos que influyeron en la sobrevivencia de *Brucella* spp. En los Axalapascos: Alchichica, Atexcac, Quechulac y La Preciosa de Puebla, como pH (8-9), (T°C) 15-20°C, (OD) 5-8 mg L⁻¹ y (PPT) entre 0.5 y 8.5 gL⁻¹. *Brucella* spp. se presentó en todos los Axalapascos con Índice de Sobrevivencia (IS) de 11 días promedio. Siendo notable el IS en agua atalosalina ALCHICHICA, pH > 9 (halotolerante y alcalinotolerante). Se utilizó el concepto de sistema complejo aplicado a microorganismos (MO) y al enfoque medioambiental. Se implementaron y actualizaron diversas técnicas MO para el estudio de estos sistemas naturales. Se estableció que el (ICA) enterococos, coliformes totales (CT) y fecales (CF) fue insuficiente, en esta zona de estudio. Los valores estuvieron por arriba del (LMP) de la normatividad vigente. Se generó conocimiento con un enfoque integral sobre la problemática de la brucelosis en la Región de los Llanos perteneciente al Eje Neovolcánico (ENT) de Puebla, Méx. Se difundió en diferentes foros, como información nueva, así como recomendaciones a los diferentes actores vinculados, de los Municipios de Guadalupe Victoria y Tepeyahualco, dentro de la Región Terrestre Prioritaria (CONABIO RTP 122) y Región Hidrológica Prioritaria (CONABIO RHP 70).

Palabras clave: *Brucella* spp., Axalapascos, Agua salina.

ABSTRACT

Brucellosis is the most important zoonoses worldwide. Its persistence is due to the adaptive capacity and geographical distribution of the bacteria. Their survival is determined by mechanisms between hosts. *Brucella* spp. is changing its ecology, resulting in niches with vulnerable (fish and amphibians) populations exposure. In 1921, brucellosis was reported in Puebla, Mex., as endemic and re-emerging zoonosis, causing deleterious effects on the quality of life of its inhabitants. Researchers from BUAP-ICUAP study the *Brucella*-environment interaction in communities with a high prevalence of the ENT. However, the aquatic environment is still being studied. In this work were determined physicochemical factors influencing the survival of *Brucella* spp. in Axalapascos: Alchichica, Atexcac, Quechulac and La Preciosa, Puebla, such as pH (8-9), (T°C) 15-200°C, (DO) 5-8 mg L⁻¹ and (Parts Per Thousand) between 0.5 and 8.5 gL⁻¹. *Brucella* spp. occurred in all Axalapascos with 11-day average of Survival Index (SI). Being remarkable SI on Alchichica atalosaline water, pH > 9 (halotolerant and alkalintolerant). Complex System concept was used and it was applied to microorganisms (MO) and the environmental approach. Various MO techniques were implemented and updated for the study of these natural systems. WQI was established, enterococcus, total coliforms (TC) and fecal coliform (FC) were not enough, in this study area. Values obtained were above the regulations (MPL). This study, generated knowledge with a comprehensive approach to the problem of brucellosis in Region de los Llanos belonging to Eje Neovolcanico (ENT) of Puebla, Mex. This information has been spread in different forums, such as new information, as well as recommendations to stakeholders linked, at Guadalupe Victoria and Tepeyahualco towns, within Priority Terrestrial Regions (CONABIO RTP 122) and Priority Hydrological Regions (CONABIO RHP 70).

Keywords: *Brucella* spp., Axalapascos, Saline water.

INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una zoonosis que se ha extendido en todo el mundo. En Puebla, México, esta enfermedad se detectó hace 92 años, y a la fecha no se ha logrado controlar ni erradicar de la zona endémica de los Llanos de San Juan en el Eje Neovolcánico (ENT) (Castro *et al.*, 2005). Castañeda *et al.*, en 2005, reportó a *B. melitensis* en agua estancada y pluvial en el Municipio de San Nicolás Buenos Aires, Puebla y Ramos (2009) aisló a *B. melitensis* en agua marina de Nayarit, México (Ver Tabla1). Para 2010, se reporta la diseminación de *Brucella* spp. hacia nuevos hospederos dulceacuícolas tales como los peces (*Oncorhynchus mykiss*), (*Clarias gariepinus*), y en 2011 el anfibio (*Lithobates catesbeianus*) (Gelev y Gelev., 2010; El-

Tras, 2010 y O'Callaghan y Whatmore, 2011). Información que significó un hito epistemológico. Esto comprobó la complejidad del problema, así como la evolución constante del patógeno y su migración y colonización hacia nuevos hospederos, una explicación evolutiva y filogenética (Moreno y Moriyón, 2006) es que *Brucella* spp. es capaz de sobrevivir y replicarse dentro de las células fagocíticas (Gorvel, 2008).

Por lo tanto, tiene que adaptarse a una variedad de ambientes hostiles. Adicionalmente se ha sugerido una relación estrecha de *Brucella* con bacterias del suelo del grupo *Rhizobium* y *Agrobacterium*, microorganismos asociados al suelo y a bacterias antiguas y por esta razón se especula, que pueden tolerar ambientes extracelulares y permanecer metabólicamente activas (Paulsen, 2002; Moreno *et al.*, 2002; O'Callagan y Whatmore, 2011).

Tabla 1. Supervivencia de *Brucella* spp. en diferentes tipos de agua.

Material	Tiempo de supervivencia
Agua mineral ** Agua a 08 °C y pH 6.5 Agua de lluvia	12 meses Mas de 57 días
Agua dulce red municipal	7 días 2 días
Agua marina a 37 °C y pH 7.5*	Menos de 1 día

Se indica la supervivencia de *Brucella* spp., en diferentes tipos de agua, desde bebible hasta agua estancada de lluvia. Tomado de: Castañeda, 2004;*Ramos, 2009;**Falensky *et al.*, 2011.

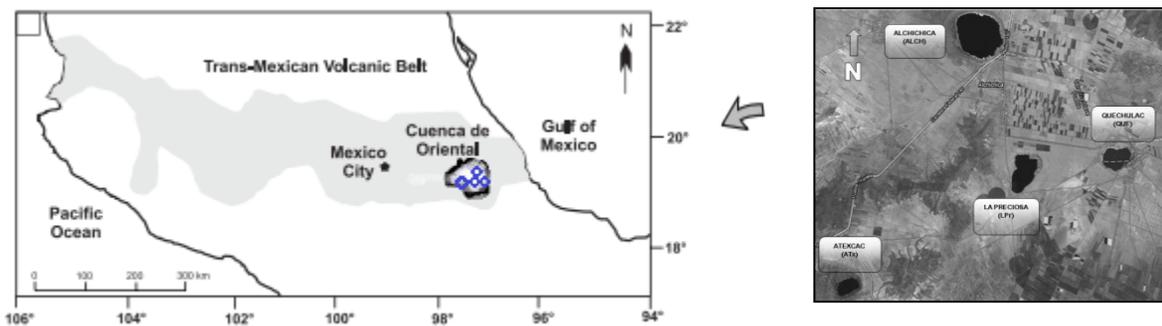


Figura 1. Vista de la zona de estudio, Lagos Cráter o Axalapascos: Alchichica (ALCH), La Preciosa (LPr), Quechulac (QUE) y Atexcac (ATx) pertenecientes a los Municipios de Tepeyahualco y Guadalupe Victoria, de la región de los Llanos de San Juan en Eje Neovolcánico (ENT) de Puebla, México.

Axalapascos (Maars) o Lagos Cráter

Los lagos donde se realizó este trabajo (Figura 1) pertenecen a los Lagos Cráter, Maars o de tipo 11, (Wetzel, 1981). Reciben el nombre Náhuatl de “Axalapascos”: Alchichica (ALCH), Quechulac (QUE), Atexcac (ATx), y La Preciosa (LPr), (19°24'N, 97°24'W 2,350 msnm). Se les considera únicos a nivel mundial, por su profundidad (39-62 m), y biodiversidad destacando, las especies microendémicas: *Ambystoma taylori*, *Poblana alchichica*, *Leptodiptomus garciai*, *Cyclotella alchichicana*, *Poblana lethophis* y *Lithobates chichicuaula*, *Cylindropuntia sp*, *Agave horrida var perotensis*) (Méndez *et al.*, 1986; Oliva *et al.*, 2009; CONABIO, 2012).

MÉTODOS

Análisis microbiológico del agua de los Axalapascos y aislamiento de *Brucella spp.*

Se trabajó mensualmente durante un ciclo anual, (feb 2012-feb 2013), con toma de muestras de agua por triplicado, para cada uno de los Lagos Cráter, ALCH, LPr, QUE, ATx según lo referido por (Wetzel y Likens, 2000; Wetzel 2001; Luna *et al.*, 2004). Asimismo cada punto de muestreo se georreferenció con un equipo GPS GARMIN XL12. La calidad microbiológica de los Lagos Cráter se determinó a través de indicadores de calidad de agua que fueron: Enterococos (ENT), coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF) en donde se utilizó la técnica del número más probable (NMP 100 mL⁻¹) y EVA, métodos empleados dentro del marco de la normatividad nacional e internacional. Para la búsqueda de *Brucella spp.* en agua natural de los Axalapascos se utilizó lo referido en Alton, 1991 y Castañeda, 2004. Se utilizaron las cepas de referencia *Brucella abortus* RB51 y *Brucella melitensis* M16 como controles para la prueba de sobrevivencia posterior a la postinoculación y el medio selectivo BRUCELLA BUAP® con violeta de etilo y antibióticos en la parte microbiológica, para la búsqueda de *Brucella* en agua natural a diferentes diluciones, así como tinción de Gram, de aglutinación y bioquímicas (Catalasa, TSI, Citrato y LIA) Ver Tabla 3.

Parámetros fisicoquímicos en el agua de los Lagos Cráter

Todos los parámetros fisicoquímicos (OD, pH, Temperatura y salinidad) fueron analizados mensualmente *in situ*, para los primeros 5 m de profundidad, por Lago Cráter conforme a los métodos limnológicos para estos ambientes acuáticos. (Hutchinson, 1993; De la Lanza 2002, Luna *et al.*, 2004 y Armenta *et al.*, 2008; APHA, 2012); con un Equipo HANNA, modelo H9828 y una sonda multiparamétrica Hydrolab modelo Datasonde 4 conectado a un analizador de datos Hydrolab modelo Surveyor 4 ambos con una precisión de 0.01 unidades (Ver Tabla 2 y Figura 2).

RESULTADOS

Tabla 2 Parámetros ambientales promedio obtenidos de un ciclo anual y sus rangos en cada una de las estaciones del agua superficial de los Lagos Cráter estudiados 2012-2013.

Lago	ALCH	ATx	LPr	QUE
Temp °C	15-20 °C	15-20 °C	15-21 °C	15-21 °C
pH	8 ≥ 9	8.5-8.9	8.5-8.7	8-8.5
Salinidad (ppt)*	8.5-9 gL ⁻¹	6-7 gL ⁻¹	1.0-1.5 gL ⁻¹	0.5-0.8 gL ⁻¹
OD mgL ⁻¹	6-12 mgL ⁻¹	6-9 mgL ⁻¹	6-8 mgL ⁻¹	5-9 mgL ⁻¹

*Unidades de salinidad practica

ALCH, ATx, LPr y QUE en general fueron similares en cuanto a su pH (aprox 9 básicos o alcalinos) aunque ALCHI presento hasta 9.2, OD aprox 6-9, sin embargo, Alchichica y Atexcac, presentaron aguas hiposalinas con una halinidad por arriba de los demás Lagos, LPr presentó interface iónica 1.0-1.5 gL⁻¹ y QUE <1 gL⁻¹ agua con poco contenido de sales.

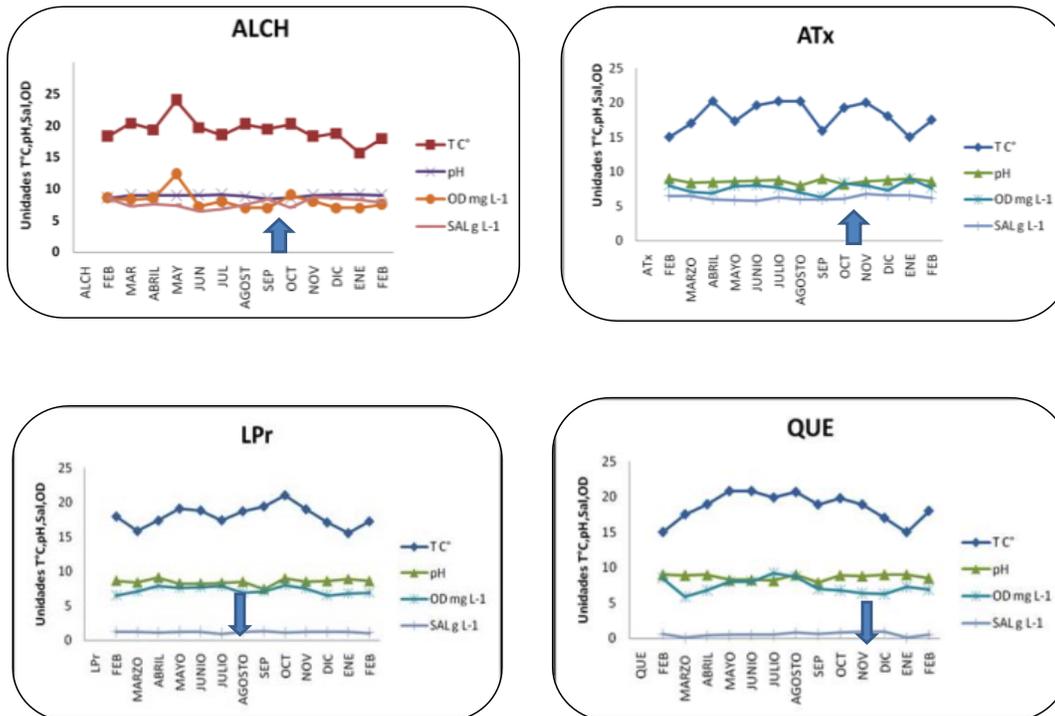


Figura 2. Parámetros ambientales en las Estaciones de cada Lago durante Feb. 2012 a Feb. 2013. (ALCH) es un Lago monomítico cálido, atalasalino, presentó aguas hiposalinas (aprox 8 gL⁻¹) y con un pH básico (aprox 9), sus características variaron poco en el año, solo destacó el mes de mayo con respecto al OD que fue de aprox 12 mgL⁻¹. El Lago Atexcac (ATx) también es un Lago monomítico cálido, presentó aguas hiposalinas (aprox >= 6 gL⁻¹), en este estudio su variación fue mínima, destacando la temperatura (16.5-22 °C) y OD presentándose un pico negativo (aprox 5 mgL⁻¹) para el mes de septiembre. La Preciosa (LPr) presentó aguas limítrofes entre agua dulce e hiposalinas (1-1.5 gL⁻¹), existe evidencia que ha habido un aumento de su salinidad en los últimos años. (QUE) es un Lago monomítico cálido, presentó agua dulce (aprox <1 gL⁻¹), en este estudio, destacó la T°C, ya que fue el Lago Cráter del estudio con el rango más alto de temperatura (aprox 15-22 °C) y el oxígeno disuelto (OD mg L⁻¹) presentó un pico notable para el mes de julio.

Tabla 3 Aislamiento de *Brucella* por mes en los Lagos Cráter (Feb 2012-Feb 2013)

Lago y Mes	F	M	A	M	J	Ju	A	S	O	N	D	E	F
ALCH						■	■	■	■	■			
LPr						■	■	■	■	■	■		
ATx							■	■	■			■	
QUE							■	■	■				

Sobrevivencia de *Brucella abortus* S19 en los Axalapascos

*Brucella*S19 sobrevivió por 11 días (11 D) promedio en agua de los Axalapascos, por otra parte en cada lago la variación fue diferente, siendo para (ATx) de 19D, con una vida media de 228 h para (ALCHI) de 14D con una vida media de 168 h, (LPr) de 12.5D con una vida media de 120 h y (QUE) de 11D con una vida media de 144 h, a diversos rangos fisicoquímicos de pH, Temperatura, Oxígeno Disuelto, y salinidad atalosalina. En el caso del Control I (Pool Axalapascos) fue de 9D con una vida media de 108 h, mientras que por el contrario el Control II (agua de garrafón) fue de 5D. Ver Figura 3.

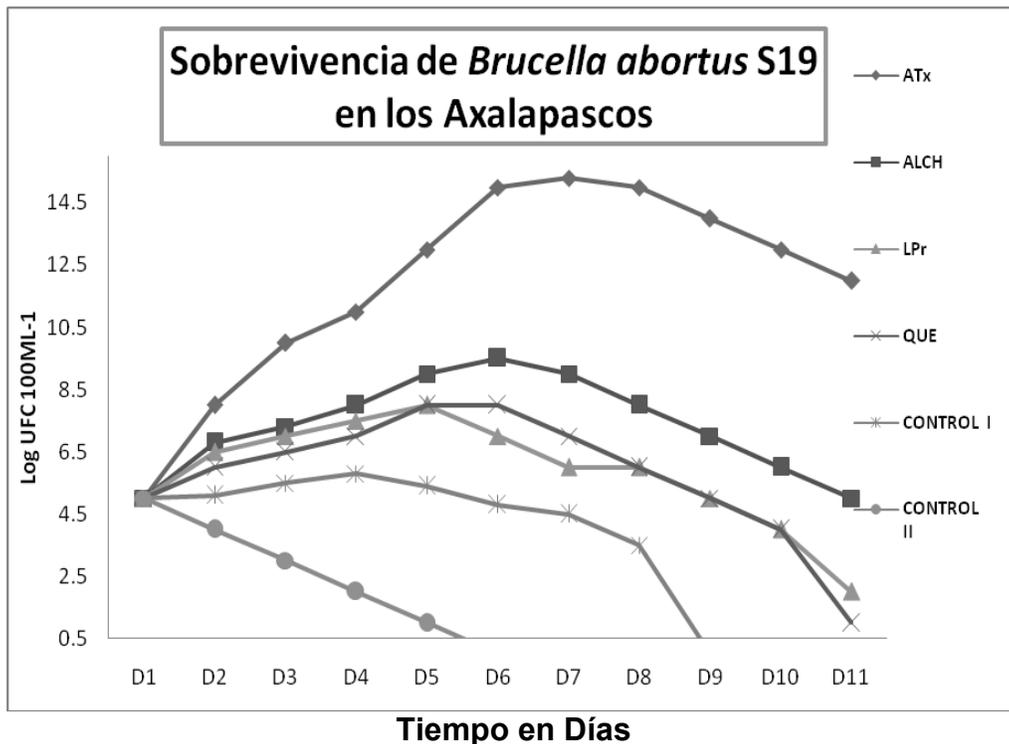


Figura 3. Resultados de la sobrevivencia de *Brucella abortus* S19 en los Lagos Cráter o Axalapascos. *Brucella abortus* sobrevivió por mas tiempo en el Lago de Atexcac, las (UFC X 100 mL⁻¹) fueron menores para QUE. La prueba de sobrevivencia fue a temperatura ambiente y la incubación se realizó a 37 °C y por triplicado. El promedio de sobrevivencia fue de 11 días para los cuatro Axalapascos: (ALCH), (LPr), (QUE) y (ATx).

DISCUSIÓN

Un sistema acuático evoluciona con sus componentes estrechamente interconectados: aguas atmosféricas, superficiales y subterráneas que se intercambian en distintas escalas temporales y espaciales, agua, sustancias químicas, minerales así como organismos. La compleja liga entre aguas atmosféricas, aguas superficiales y aguas subterráneas está determinada por el clima y la estructura geológica de una cuenca de drenaje, los flujos de energía y nutrientes que atraviesan el continuum geohidráulico y los organismos que los habitan. En una macroescala, los procesos hidrológicos y geomorfológicos en una cuenca determinan las propiedades y distribución de las aguas superficiales y los acuíferos. El medio ambiente superficial, representado por las formas terrestres, su cobertura vegetal y sus sistemas hidrológicos superficiales, ejercen también un control primario sobre los flujos de un hidrosistema. Los sistemas de aguas subterráneas (los flujos y sus acuíferos) reciben desde la atmósfera y la superficie, pulsos climáticos y materia orgánica que son elementos esenciales para la evolución de la vida en la Tierra (Gilbert *et al.*, 1994). Una mesoescala comprende procesos controlados por la dinámica hidrológica, los flujos de materiales y energía y los efectos de las actividades humanas. A este nivel, los acuíferos son influidos por diferentes tipos de perturbaciones naturales, flujos, sequías e inundaciones y por procesos de sedimentación y erosión. A esta escala los efectos de las actividades antropogénicas suelen ser importantes por la sobreexplotación de los acuíferos para satisfacer necesidades humanas directas (agua potable) e indirectas (irrigación para cultivos e industriales). Los efectos tienen que ver con el agotamiento y la contaminación de acuíferos; la contaminación biológica, la eutrofización, la obstrucción de intersticios, la alteración de la productividad y la pérdida de resiliencia de los ecosistemas y a una microescala comprende eventos que ocurren en periodos anuales y a escalas espaciales de poros, fisuras y canales. En este sentido, la búsqueda de *Brucella* spp. representó un hito de carácter epistemológico, al pensarse con anterioridad que *Brucella* solo sobreviviría dentro de las células de sus hospederos animales (nicho intracelular). Cabe señalar que en todos los Axalapascos de este estudio *Brucella* spp. estuvo presente (Tabla 3), siendo más evidente en el ALCH y LPr durante 4 meses (frecuencia 33 %), seguida de ATx con 3 meses (frecuencia 25 %) y QUE con 2 meses (frecuencia 16 %) de un ciclo anual. Siendo Agosto el mes común en todos los casos de este ciclo anual.

Factores fisicoquímicos de los Axalapascos.

Los ecosistemas acuáticos de origen volcánico tipo “Maars” o Axalapascos se consideran como ecosistemas frágiles debido a sus características morfométricas. Asimismo sus condiciones endorreicas hacen que sean muy susceptibles a los impactos de contaminación incluida la microbiológica (Sánchez *et al.* 2007). En este sentido cualquier aporte de materiales, residuos, fauna y flora aloctona, puede producir cambios nocivos en su evolución natural. Estos cambios se manifiestan a diferentes escalas espaciales y temporales en cada sistema (Williams *et al.*, 1990; Alcocer *et al.*, 2004). Además que pueden presentarse de manera vertical u horizontal, existe adicionalmente información reciente, que menciona que dentro del circuito bacteriano de un lago natural, los microorganismos de menor tamaño tienden a estar en el

epilimnion (capa superficial, primeros 5 m) (Hernández *et al.*, 2012), hecho relevante ya que las muestras fueron tomadas a nivel superficial conforme a los procedimientos estándar (APHA, 2005; APHA, 2012). Todos los lagos cráter analizados en este estudio mostraron una alcalinidad elevada. Los valores de pH estuvieron en rangos de 8 y 9 e incluso hasta 9.2 para el caso del Lago de Alchichica, lo que denota una dominancia de los hidróxidos de Na⁺ y Mg²⁺ sobre Ca²⁺, siendo por tanto subsalinos. Por otra parte La Preciosa presentó condiciones limítrofes de agua dulce y subsalina (1.0-1.5 gL⁻¹), característica que hace suponer un proceso de salinización constante y continuo tal vez por cambios climáticos de la región, como ya se ha referido esta cuenca presenta un proceso de “desertificación histórica” (Alcocer *et al.*, 2004; Rodríguez *et al.*, 2012). En el caso de Quechulac aún encontrándose en una zona climática similar (subárida) presenta agua dulce, muy probablemente al aporte subterráneo de manantiales de la Sierra Madre Oriental. A pesar de estas condiciones ambientales en los lagos cráter, *Brucella* spp. estuvo presente en el agua de todos estos Axalapascos, es probable que esta aportación o contaminación a los Lagos Cráter se realice por el arrastre de agua contaminada, arroyos y pozos en época de lluvia de material biológico infeccioso (excretas, orina, pelo, placentas, suero, leche, semen, paja, polvo contaminado, etc.) o de manera directa ya que el ganado, sobre todo caprino pasta y bebe en estos cuerpos de agua (Vega, 2006), como se puede constatar en el anexo fotográfico. Vale la pena enfatizar el hecho que la presencia de *Brucella* en los cuatro Lagos Cráter no se vio influenciada por algún factor ambiental específico mientras que la sobrevivencia de este patógeno estuvo más relacionado con 2 factores de los 4 estudiados, que fueron la temperatura y salinidad.

BIBLIOGRAFIA

- Alcocer, J. y F. Bernal, B. (2010). *Limnology in Mexico*. Hydrobiologia. 644:15-68
- Alcocer, J. y A. Filonov (2007). *A note on the effects of an individual large rainfall event on saline Lake Alchichica, México*. Environmental Geology. 53:777-783
- Alcocer, J., O. Escolero, A. y L. Marín (2004). “*La Problemática del Agua de la Cuenca Oriental, Estados de Puebla, Veracruz y Tlaxcala*” 57-77 En :*El agua en México vista desde la Academia*. B. Jiménez, y L. Marín, (Ed), Academia Mexicana de las Ciencias. 411p
- Alcocer, J., y Hammer, U. T. (1998b). *Saline lake ecosystems of Mexico*. Aquatic Ecosystem Health and Management. 1(3):291-315
- APHA, (2012). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. (Ed) Eugene W. Rice, Rodger B. Baird, Andrew D. Eaton, Lenore S. Clescer, 22Ed. 1498p

- Armienta, M. A., G. Vilaclara, S. De la Cruz R., S. Ramos, N. Cenicerros, O. Cruz, A. Aguayo, F Arcega C. (2008). *Water Chemistry of lakes related to active and inactive Mexican volcanoes*. J. Volcanol. Geotherm. Res. 178:249-258
- Arredondo, J. L. (2002). "Los Axalapascos de la Cuenca Oriental, Puebla" 81-106, En: *Lagos y presas de México*. De la Lanza y García (Ed.), AGT EDITOR. 680p
- Arriaga, L.; Sierra, V. A. y Durand, J. A. (2000). *Aguas continentales y diversidad biológica en México*. CONABIO. 45p
- Bricker, B. J. (2002). *PCR as a diagnostic tool for brucellosis*. Veterinary Microbiology. 90(1):435-446
- Castro H. A., González S. R. y Prat, M. I. (2005). *Brucelosis: una revisión práctica*. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. 39(2):203-216
- CCME, Canadian Council of Ministers of the Environment (1993). *Guidance manual on sampling analysis and data management for contaminated sites*. Main Report. 70p
- Can Chulim, A. (2011). *Calidad de las aguas para riego en la Cuenca de Oriental y Sierra Norte, estados de Puebla, Tlaxcala y Veracruz*. Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco. México. 229p
- Carabias J y Landa R. (2004). *Agua , medio ambiente y sociedad, hacia la gestión de los recursos hídricos en México*. UNAM, El Colegio de México, Fundación Gonzalo Rio Arronte. 220p
- Cadenas, E. J. P. y Camacho, U. (1995). *Introducción a la Microbiología Ambiental*. Perú, OPS. 45p
- Castañeda, R. E. I. (2004). *Condiciones ambientales que influyen en la sobrevivencia de Brucella*. Tesis de Doctorado en CA, BUAP, Puebla, México. 108p
- Castañeda, R. E., Avelino F., Espinosa, A. y E. Chávez, (2005). *Determinación de B. melitensis en una red, agua residual, agua de lluvia, suelo de una comunidad de alta morbilidad en el estado de Puebla*. Enfermedades Infecciosas y Microbiología. 25:4-15
- Castro, H. A., González, S. R., Prat, M. I., Blanca, B. P. (2005). *Brucelosis: A practical review*. Acta Bioquím Clín Latinoam. 39(2):203-216
- Carrasco-Núñez, G., Ort, M. H., y Romero, C. (2007). *Evolution and hydrological conditions of a maar volcano (Atexcac crater, Eastern Mexico)*. Journal of volcanology and geothermal research, 159(1):179-197
- Chain, P. S., Comerci, D. J., Tolmasky, M. E., Larimer, F. W., Malfatti, S. A., Vergez, L. M., y García, E. (2005). *Whole-genome analyses of speciation events in pathogenic Brucellae*, Infection and immunity. 73(12):8353-8361

ISBN: 978-9968-641-26-5

Corbel, M. J. (2006). *Brucellosis in humans and animals*. World Health Organization in collaboration with the Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Organization for Animal Health. 90p

Daminova, L. F. (1967). *The viability of Brucella in soil, water and animal shelters*. Veterinarnyya. URSS. 44(8):103-105

Del Veccio, V. G. (2001). *The genome sequence of the facultative intracellular pathogen Brucella melitensis*. Revista Microbiology. 99(1):443-448

De la Lanza G. y J .L. García (2002). *Lagos y presas de México*. AGT EDITOR SA DE CV. México. 680p

El-Tras, W. F., Tayel, A. A., Eltholth, M. M., y Guitian, J. (2010). *Brucella infection in fresh water fish: Evidence for natural infection of Nile catfish, Clarias gariepinus, with Brucella melitensis*. Veterinary Microbiology. 141(3):321-325

Escobar, E. y J. Alcocer, 2002. *Caecidotea williamsi (Crustacea:Isopoda: Asellidae), a new species of isopod from a saline crater-lake in the Central Mexican Plateau*. Hydrobiologia 477:93-105

AF.4.O. Identificación de un híbrido de *Stevia sp* con mayor concentración de glucósidos totales y rebaudiósido A, del cultivar de Fundo América en Santa Rita de Sigwas (AQP), para su propagación a escala comercial

Dr. Gonzalo Dávila del Carpio. Profesor Principal del Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas de la Universidad Católica de Santa María de Arequipa – Perú. Tel. 5154251210-Anexo 1106. gdavilad@ucsm.edu.pe

Q.F. David Zanabria Yucrad. Programa Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica de Santa María de Arequipa – Perú, davidzy_aqp@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

Las semillas de Sacha Inchi constituyen un alimento proveniente de la selva amazónica, que es utilizado por los pueblos indígenas desde hace siglos. Se le conoce también como el inchi, sachá maní, maní del Inca o maní jibaro.

La primera mención científica de Sacha Inchi fue hecha en 1980 a consecuencia de los análisis del contenido graso (45%) y proteicos (33%), realizados en la Universidad de Cornell en USA.

La *Plukenetia volubilis* L. es una planta rústica de la familia de las euforbiáceas que se cultiva principalmente en ceja de selva, crece en suelos ácidos francos y aluviales planos y la encontramos desde los 1000 hasta los 1500 m.s.n.m. siempre y cuando haya disponibilidad permanente de agua y buen drenaje o cerca de los ríos.

Al abrir las semillas están los cotiledones a manera de almendras y cubiertas de una película blanquecina. Tienen un sabor agradable con sabor a nuez ligeramente diferente al maní o almendras que tiene sabor único. El atractivo real de las semillas es el aceite que contiene.

El aceite de Sacha Inchi por su alto contenido en ácidos grasos insaturados como el ácido linolénico y el ácido linoleico es de relevante importancia en la alimentación y en la salud, ya que puede controlar los niveles de grasa en la sangre; estos ácidos omega-3 y omega-6 forman parte de las membranas celulares e influyen en su permeabilidad, reconociéndoseles efectos benéficos sobre enfermedades cardiovasculares como la hipertensión y la isquemia. Además contiene proteínas, aminoácidos, antioxidantes y un menor porcentaje de grasas saturadas.

Los diversos métodos de extracción como el uso de solventes y la expresión en frío permiten obtener rendimientos promedio del orden de 34% de aceite de Sacha Inchi a partir de las semillas, existiendo referencias en otras especies vegetales de mejores rendimientos con la extracción por fluidos supercríticos.

La técnica de extracción con FSC utilizando un gas inerte como el CO₂, es novedosa y no genera contaminación del producto obtenido; trabaja directamente con la matriz vegetal previa molienda y el comportamiento del CO₂ como fluido supercrítico se logra

por encima de su punto crítico, que corresponde a 72,8 atm de presión y 31°C, estado en el cual adquiere el poder de solvatación de un líquido y el de difusibilidad de un gas.



Figura N° 1: Semillas de Sacha Inchi

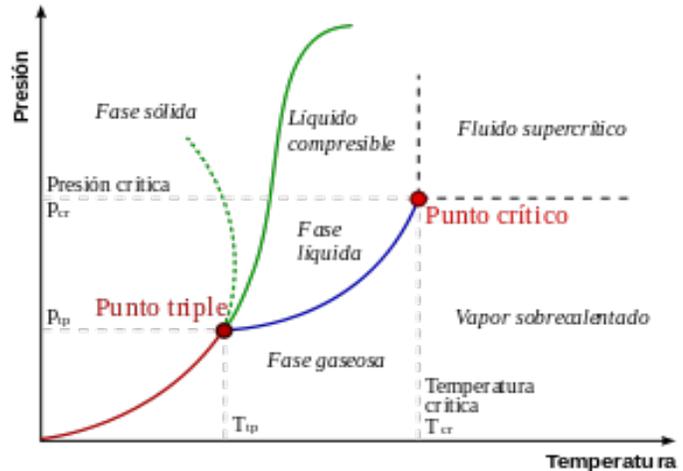


Figura N° 2: Diagrama de fases del CO₂
(Wikipedia org.es)

MÉTODOS

En base a estos antecedentes nos propusimos estandarizar los parámetros de extracción con Fluidos Supercríticos (temperatura, presión, flujo de CO₂ y tiempo de saturación) para obtener el aceite de las semillas de *Plukenetia volubilis* L. (Sacha Inchi) provenientes del Valle del río Apurímac y Ene (VRAE), para luego evaluar sus características físicoquímicas y cuantificar por HPLC los ácidos grasos insaturados: Linolénico, Linoleico y Oleico en el aceite obtenido.

Las semillas fueron recolectadas en la zona de San Francisco-Ayacucho y correspondieron a la cosecha de febrero del 2012. Fueron sometidas al proceso de descascarado, selección, triturado (molienda) y finalmente pesado.

Luego se colocó la muestra en el equipo de Extracción con Fluidos Supercríticos Modelo SFT-100 Super Critical Technologies, INC., donde se procedió a la extracción siguiendo las etapas de: presurización, ajuste de temperatura, saturación de la muestra, extracción y etapa de separación.

Con el aceite extraído se realizaron los análisis cualitativos y cuantitativos de los ácidos linolénico, linoleico y oleico utilizando un Cromatógrafo Líquido de Alta Performance marca Merck Hitachi, modelo Elite Lachrom, equipado con un organizador modelo L-2000, serie 17E16-034; un detector de arreglo de diodos (DAD) modelo L-2450, serie 1726-011; una bomba cuaternaria modelo L-2130, serie 17E01-036 provista de un

inyector loop de 20 ul; los datos fueron procesados con el software EZChrom Elite. El método fue validado en nuestro laboratorio y las condiciones y parámetros cromatográficos fueron:

- Columna: Lichrocart 250-4, 6 Purospher Star RP-18 (5um).
- Fase móvil: Acetonitrilo, Metanol, solución acuosa de ácido acético al 1 % (85: 5: 10).
- Temperatura ambiente.
- Velocidad de flujo: 1.5 ml.
- Volumen de inyección. 20 ul.
- Detección: Detector DAD a una longitud de onda de 205 nm.

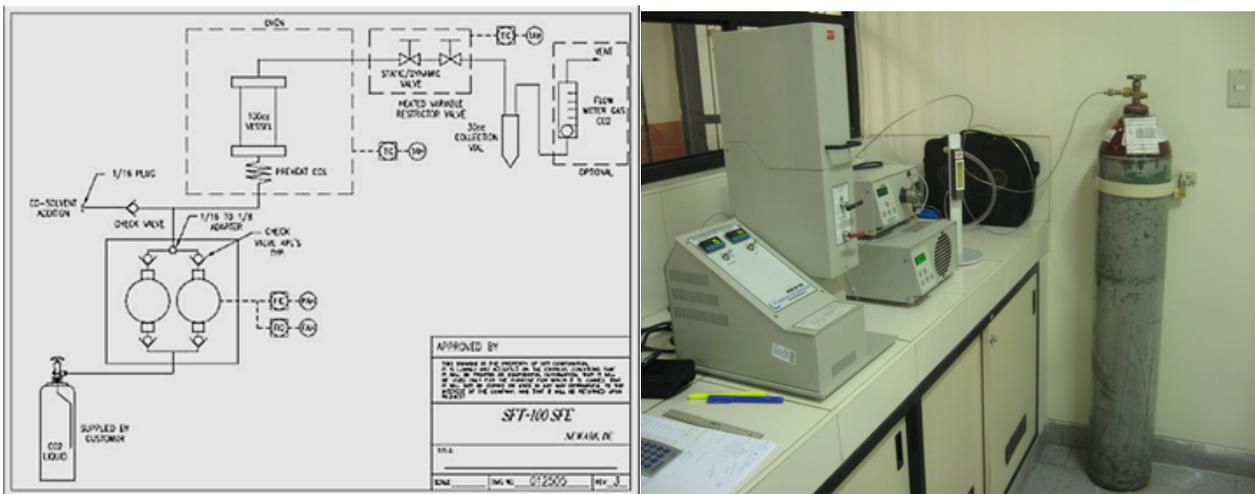


Figura N° 3: Esquema y foto del equipo de extracción con FSC

RESULTADOS

Se realizó un análisis físicoquímico proximal de las semillas de Sacha Inchi, lo que nos permitió tener una referencia del contenido graso a extraer de la muestra de semillas de Sacha Inchi.

Tabla N° 1: Análisis Físicoquímico de las semillas de *Plukenetia volubilis* L. (Sacha Inchi)

DETERMINACION	CON CASCARA (%)	SIN CASCARA (%)
ALIMENTOS DETERMINACION DE PROTEINAS (%) FOODS DETERMINATION OF PROTEINS NMX-F-068-S1980. Factor 6.25	20.20	32.10
DETERMINACION DE GRASA (%) Alimentos cocidos de reconstitución instantánea. Determinación de grasa. método gravimétrico NTP 209.263.2001	10.59	34.40
DETERMINACION DE HUMEDAD (%) Método Rápido de la Termo balanza NMZ-F-428 1982	7.86	5.90
DETERMINACION DE FIBRA CRUDA (%), alimentos cocidos de reconstitución instantánea adaptado de cereales y menestras determinación de fibra cruda, NTP 205-003:1980	32.07	4.79
DETERMINACION DE CENIZAS (%) Alimentos cocidos de reconstitución instantánea. Determinación de cenizas. método gravimétrico NTP 209.265:2001	2.00	2.50

Para la estandarización de las condiciones de extracción se variaron diferentes parámetros, determinándose que las mejores condiciones de extracción fueron 50°C de temperatura, 450 bar de presión, 15 minutos de tiempo de saturación y 8 ml/s de velocidad de flujo, lo que nos permitió extraer en promedio un 39,29% de aceite, muy por encima del valor de 34,40% determinado por extracción con solventes (ver tabla N° 2).

El aceite obtenido fue de color amarillo claro, limpio, traslucido sin ninguna partícula ni resto de solvente o agua, con ligero olor a frijol y característico de la variedad; sabor agradable y característico a almendras frescas, propio de la variedad. Transcurridos 60 días después de su extracción, una evaluación organoléptica nos permitió determinar que el aceite mantenía sus características propias, no hubo alteración enzimática (ranciado), no se enturbió, no cambio de coloración, ni hubo residuos, evidenciando lo óptimo de esta técnica de extracción.

Tabla N° 2: Rendimiento de aceite a las diferentes condiciones de extracción

MUESTRA (g)	TEMPERATURA (°C)	PRESION (bar)	t EXTRACCIÓN (h)	FLUJO (ml/s)	t SATURACIÓN (min)	ACEITE (%)
30	40	350	4	4	15	18.47
30	40	400	4	4	15	16.02
30	40	450	4	4	15	20.46
30	50	350	4	4	15	17.61
30	50	400	4	4	15	18.30
30	50	450	4	4	15	20.97
30	60	350	4	4	15	17.34
30	60	400	4	4	15	20.36
30	60	450	4	4	15	22.82
30	50	350	4	8	15	31.19
30	50	400	4	8	15	34.74
30	50	450	4	8	15	39.29
30	60	450	4	8	15	33.78
30	50	450	4	8	20	36.60

Los gráficos que se muestran a continuación permiten evaluar la relación entre los parámetros estandarizados para la extracción. La relación establecida en la figura N° 4 nos permite determinar que a la presión de 450 bar se obtiene el mejor rendimiento de extracción, manteniendo la velocidad de flujo y temperatura constantes; mientras que la N° 5, nos indica que manteniendo constante la velocidad de flujo y la presión, al aumentar la Temperatura mejora el rendimiento, sin embargo, al no haber diferencias significativas entre el porcentaje de extracción de aceite a los 50 y 60°C, y con el objeto de preservar la estabilidad de los principios termolábiles contenidos en el aceite, se eligió la temperatura de 50°C para el proceso; la figura N° 6, nos muestra que la velocidad de flujo de 8 ml/s da mejores resultados de rendimiento de extracción a presión y temperatura constantes. En la figura N° 7 se aprecia el comportamiento de la cantidad de aceite extraído en tres muestras procesadas en condiciones similares, en las que el pico de extracción se produce a las dos horas, donde se obtiene el mayor rendimiento.

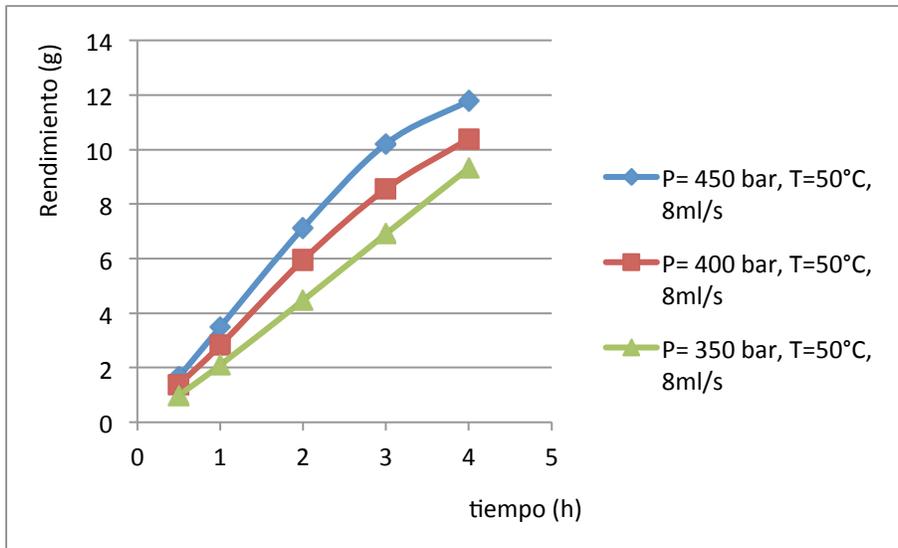


Figura N° 4: Rendimiento de aceite extraído en función de t, a diferentes P y T constante

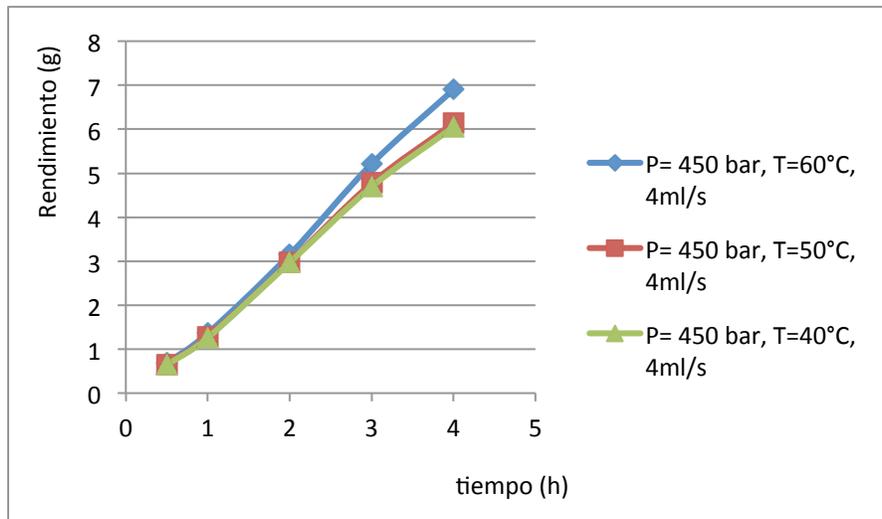


Figura N° 5: Rendimiento de aceite extraído en función de t, a diferentes T y P constante

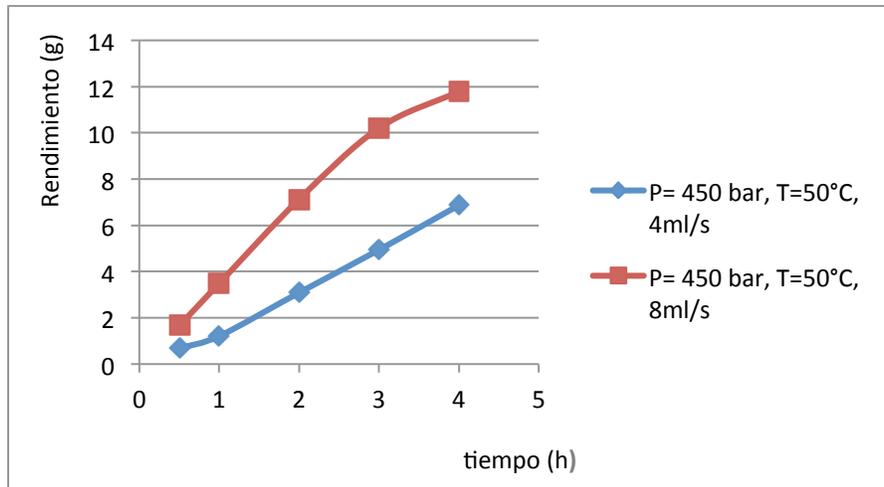


Figura N° 6: Rendimiento de aceite extraído en función de t, a diferentes flujos y T y P constantes

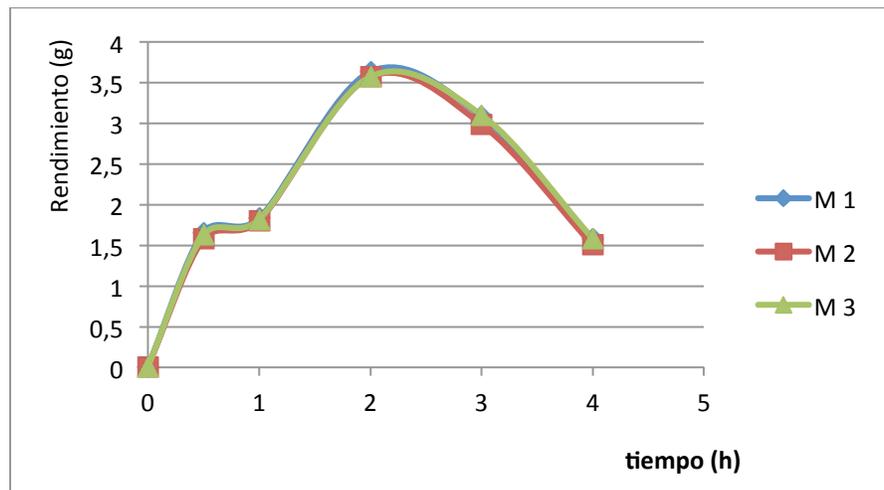
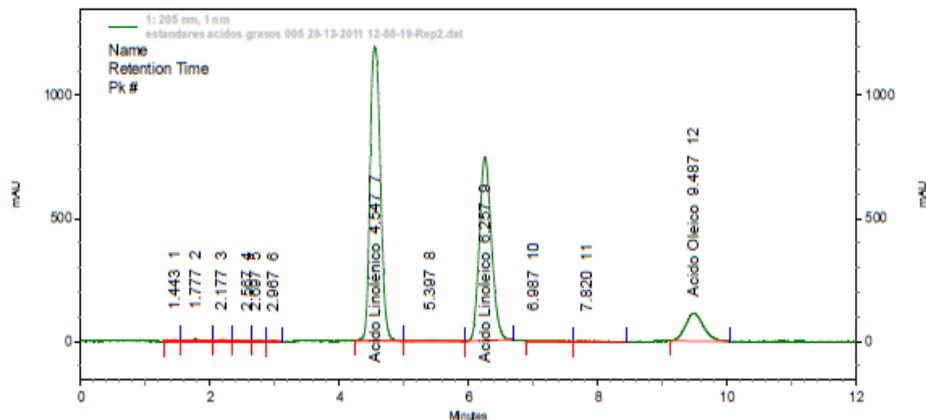


Figura N° 7: Curva de extracción de aceite en función de t, a P= 450 bar, T= 50°C y 8ml/s

El análisis por HPLC nos permitió determinar el contenido de ácidos grasos insaturados

Tabla N° 3: Datos experimentales del contenido en ácidos grasos en el aceite extraído de las semillas de Sacha Inchi

Condiciones de extracción (°C/bar)	TY (%)	Ácido Oleico C _{18:1} (mg/kg)	Ácido Linoleico C _{18:2} (mg/kg)	Ácido Linolénico C _{18:3} (mg/kg)
SC-CO ₂ 50 / 450	39,42	7,71	0,35	1,06

**Figura N° 9:** Cromatograma de un estándar conteniendo ácido linolénico (384,69 ppm), ácido linoleico (452,57 ppm) y ácido oleico (662,19 ppm)

Se puede apreciar una adecuada resolución de los componentes en el cromatograma, lo que se puede notar claramente con picos separados, bien definidos, con una línea base óptima y limpia, con un tiempo de retención medio de 4,57 min para el ácido linolénico, 6,29 min para el ácido linoleico y 9,56 min para el ácido oleico, tal como se aprecia en la figura N° 9.

DISCUSIÓN

La extracción del aceite de las semillas de Sacha Inchi a través de la técnica de fluidos supercríticos nos permitió obtener un aceite de alta pureza, con un mayor rendimiento (alrededor de 5% más) que los procesos por expresión en frío y extracción por solventes, además de estar libre de humedad y residuos de solventes, ya que el CO₂ utilizado en estado supercrítico es una sustancia inerte y al salir a las condiciones atmosféricas se vuelve gas y se separa fácilmente del aceite extraído. Si bien es cierto el CO₂ es un compuesto con enlaces covalentes polares, la simetría de la molécula hace que su momento dipolar sea muy cercano a cero, lo que permite que disuelva y extraiga fácilmente sustancias de carácter lipofílico, como los ácidos grasos insaturados y otros componentes de baja polaridad.

Trabajando por encima de 31°C se llega al punto crítico del CO₂, por lo que este hecho permite trabajar a temperaturas próximas a ese valor, preservando la estabilidad de las sustancias termolábiles, además que ofrece una gran ventaja en poder trabajar con muestras en sus matrices en estado natural, sin tratamientos previos, salvo la molienda.

Los componentes del aceite se mantienen estables por las condiciones del método de extracción, lo cual fue demostrado a través de la cuantificación de los ácidos grasos insaturados oleico, linoleico y linolénico, utilizando una técnica por HPLC estandarizada y validada en nuestro laboratorio. La existencia de estos componentes avala las propiedades del Sacha Inchi como reductor del riesgo de enfermedades cardiovasculares.

La selección de la fase estacionaria se hizo utilizando una columna de fase reversa con grupos octadecilo (RP-18) de baja polaridad, los cuales muestran teóricamente afinidad con las extensas cadenas hidrocarbonadas de los ácidos oleico, linoleico y linolénico (18 átomos de carbono), a través de interacciones dipolo inducido - dipolo inducido (fuerzas de London), lo que permite que las moléculas de los ácidos grasos sean retenidas por la fase estacionaria, permitiendo separar estos componentes de otras sustancias presentes en el aceite de Sacha Inchi; igualmente se pudo notar una adecuada separación entre las moléculas de los ácidos grasos analizados, debido al grado de insaturación de los mismos, ya que el ácido linolénico (omega-3) al presentar tres dobles enlaces presenta una mayor polaridad, lo que permite que eluya primero teniendo un menor tiempo de retención; luego se separa el ácido linoleico (omega-6) ya que presenta 2 dobles enlaces, por lo tanto tiene mayor polaridad que el ácido oleico (omega-9) que es el de mayor tiempo de retención por su menor polaridad.

Para seleccionar la fase móvil adecuada se buscó una mezcla que pudiera eluir sin dificultades los ácidos grasos omega 3, 6 y 9 de, que químicamente corresponden a ácidos carboxílicos de 18 átomos de carbono con 3, 2 y 1 dobles enlaces respectivamente; el ácido oleico, por ejemplo, es de baja polaridad, presentando un momento dipolar de 1,18 y una $\epsilon = 2,46$, mientras que en los ácidos linoleico y linolénico esta polaridad aumenta al aumentar su grado de insaturación, por lo tanto se necesitaba una mezcla de un solvente de mediana a baja polaridad como el acetonitrilo en una alta proporción, 85% (momento dipolar de 3.84 y una $\epsilon = 37,5$), que por su polaridad puede disolver una amplia gama de compuestos, entre ellos los ácidos carboxílicos en estudio, ya que estos si bien es cierto tienen una extensa cadena hidrocarbonada no polar, presentan en su extremo un grupo carboxilo de naturaleza polar; se le asoció un solvente como el metanol en proporción de 5% y para evitar que los ácidos carboxílicos se ionizaran perdiendo su protón de H⁺, se usó una solución acuosa de ácido acético al 1% en una proporción de 10%.

Esta técnica de extracción con FSC tiene muchas perspectivas y se abren grandes horizontes en relación a la extracción de esencias de especies y oleorresinas, aceites esenciales: aromas y fragancias, extracción o fraccionamiento de aceites comestibles, principios activos con aplicación en medicina natural, colorantes y preservantes, pesticidas naturales, tratamiento de residuos orgánicos industriales, etc.

CONCLUSIONES

- La técnica de extracción con fluidos supercríticos utilizando CO₂ nos permitió obtener en promedio 39,42% de aceite de semillas de Sacha Inchi, con excelentes caracteres organolépticos.
- Las condiciones óptimas de extracción estandarizadas fueron: T= 50°C, P= 450 bar, Flujo= 8 ml/seg, tiempo de saturación de 15 minutos y 4 horas como tiempo de extracción total.
- Se determinó en promedio la existencia de 1,06 mg/kg de ácido linolénico, 0,35 mg/kg de ácido linoleico y 7,71 mg/kg de ácido oleico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Altar-Bashi N. M., Li D., Sinclair A. (2004). Acido alfa-linolénico y el riesgo de cáncer de próstata. *Lípidos*, 39 (9): 929-32.
2. Anaya Yábar, J. (2005). Investigación, Cultivo, Industria y Comercio del Sacha Inchi. Agroindustrias Amazónicas S.A. Tarapoto – Perú.
3. Bakkali F, et.al. (2008), Biological effect of essential oil Aserview. *Food and Chemical Toxicology*, Volume 46.
4. Balachandran C. et.al. (2008). An ecofriendly approach to process rice bran for high quality rice bran oil using supercritical carbon dioxide for nutraceutical applications. *Bioresource Technology*: 99: 2905-2912.
5. Bliesner D.M. (2006). *Validating Chromatographic Methods: A Practical Guide*. Wiley Interscience. USA.
6. Chao-Rui Chen et.al. (2008). Supercritical carbon dioxide extraction and deacidification of rice bran oil. *Journal of Supercritical Fluids*: 45: 322-331.
7. Cseke L. et. al. (2006). *Natural products from Plants*. Second Edition. Taylor & Francis Group, USA.
8. De Almeida Meireles María Ángela (2007). *Processos de Obtencao de Productos naturais a partir de Tuberosos Tropicais (UNICAMP-Brasil)*.
9. Esquivel F. Angélica, Vargas Pedro (2007). *Uso de aceites esenciales extraídos por procesos supercríticos en la elaboración de alimentos*. Tesis de Post-grado en Ciencias de los Alimentos. Universidad de Costa Rica – San Pedro.
10. Follegatti R. L., Piantino, C., Romero-Grimaldi, Cabral R (2009). Supercritical CO₂ extraction of omega-3 rich oil from Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds, *J. of Supercritical Fluids* 49:323-329.
11. Hanson J. (2003). *Natural Products: the secondary Metabolites*. Royal Society of Chemistry. Great Britain – UK.
12. Kromidas S. (2006). *HPLC made to measure, a Practical Handbook for optimization*. Wiley-VCH. Germany.

13. Manco Céspedes Enma I. (2006), Cultivo de Sacha Inchi. Instituto Nacional de investigación y Extensión Agraria INIA. San Martín-Perú.
14. Meyer V. (2004). Practical High Performance Liquid Chromatography. Fourth Edition. Wiley Ed. Germany.
15. Otto S J. Houwelingen A C. (1997). Maternal and neonatal essential fatty acid status in phospholipids: an international comparative study. Eur J Clin Nutr. 51(4):232-42.
16. Pascual, G. y Mejía M. (2003). Extracción y Caracterización de Aceite de Semilla de Sacha Inchi. Anales Científicos de la Universidad Nacional Agraria de La Molina Lima-Perú.
17. Prado Juliana (2011). Apuntes del Curso Internacional Teórico Práctico de extracción de Fluidos Supercríticos Diseño y Aplicaciones. UCSM-UNICAMP Sao Paulo- Brasil.
18. Shige H., Pomeroy S., Cehun M., Abbey M., Raederstorff D. (2002). The n-3 fatty acids eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid increase systemic arterial compliance in humans. Am. J. Clin. Nutr.76:326-30.

AF.7.O. Cambios en la densidad poblacional, estructura gremial y funcional de las comunidades microbianas en un suelo tratado con estiércol de vacuno y enmiendas químicas
Changes in population density, guild and functional structure of microbial communities in soil treated with cattle manure and chemical amendments.

Carmen Leonor Hernández^{1,2,3}, María Del Pino Rodríguez², Danilo López-Hernández³ y Jesús Ramos Oropeza^{†2}

¹ *Universidad Nacional Experimental Marítima del Caribe. Coordinación de Ciencias Ambientales, Catia La Mar Venezuela.*

carmen.hernandez@ciens.ucv.ve, ingenieriaambientalumc@gmail.com.

Telf.: 00584142501686.

²*Universidad Central de Venezuela. Instituto de Zoología y Ecología Tropical. Centro de Ecología Aplicada. Laboratorio de Microbiología Ambiental.*
maria.rodriguez@ciens.ucv.ve, maridelpino@gmail.com

³ *Universidad Central de Venezuela. Instituto de Zoología y Ecología Tropical. Centro de Ecología Aplicada. Laboratorio de Estudios Ambientales.*
danilo.lopez@ciens.ucv.ve.

[†] *Fallecido*

RESUMEN

El estudio de las comunidades microbianas del suelo, ha cobrado interés, dentro de los procesos de transformación de la materia orgánica, debido a su funcionalidad. En este sentido, se determinó la densidad poblacional de hongos y bacterias, además se evaluó la capacidad que tienen para degradar distintos sustratos frecuentes en el suelo (carbohidratos simples y complejos, compuestos nitrogenados, compuestos recalcitrantes y fósforo orgánico), para estudiar los cambios en su estructura gremial y funcional, en un suelo bajo cuatro tratamientos: 1) sin tratamiento (ST); 2) enmiendas químicas (F); 3) tres años de abonado con estiércol (AB) y 4) otro igual a AB, pero reabonado de nuevo (RB), sembrados con pasto (*Cynodon dactylon*). Las muestras de suelo se tomaron en cuatro períodos de crecimiento del pasto: inicio (I) 0 días, crecimiento medio (CM) 44 días, máximo (PM), 98 días y postcosecha (PC) 144 días. La acción degradativa de las comunidades microbianas se midió a través del

aislamiento de cepas y siembra en medios con sustratos específicos: celulosa, pectina, lignina, glucosa, lactosa, inositol hexafosfato, urea, nitrato y almidón. Para caracterizar dichas comunidades se utilizó el análisis funcional como herramienta fundamentada en criterios con bases ecológicas logrando conocer su diversidad a través de un índice de diversidad funcional (IDF). Se encontró que: -los patrones de distribución gremial se diferencian tanto por tipo de manejo como por tiempo de desarrollo del pasto; -las comunidades de hongos y bacterias presentan un mayor potencial para la degradación de proteínas, pectinas y reducción de nitratos y liberación de fósforo orgánico, por lo que estos patrones señalan diferencias en los diferentes tratamientos. El análisis funcional revela que la comunidad fúngica es mucho más diversa que las bacterianas; sin embargo, la funcionalidad del sistema es mantenida por ambos tipos de microorganismos, garantizando la disponibilidad de los nutrientes para la vegetación. Puede concluirse que el tipo de enmienda y el desarrollo de la vegetación inducen la diferenciación de las comunidades microbianas.

Palabras claves: comunidades microbianas; estructura gremial y funcional; estiércol de vacuno, índice de diversidad funcional.

INTRODUCCIÓN

Se ha evidenciado que la alteración de los restos vegetales y su transformación en sustancias húmicas es el resultado de la acción conjunta de asociaciones de microorganismos que poseen funciones bioquímicas multifacéticas (Zak et al., 1994; Donnison et al., 2000). En relación a estas funciones, está la biodegradación de polímeros estructurales de las plantas, proceso especialmente crítico en los ambientes terrestres y entre los polímeros biogénicos reciclados principalmente por la actividad microbiana se encuentra la celulosa, la hemicelulosa de origen vegetal y la quitina de origen animal. En este sentido, Garcia (2013) señala que el tipo de microorganismo y la actividad de la biomasa microbiana son importantes en la determinación de la cantidad y calidad (definida como composición estructural) de la materia orgánica acumulada en el suelo. Al respecto, Martyniuk y Wagner (1978) y Acea y Carballas (1999) coinciden en señalar la importancia de caracterizar las comunidades de hongos y bacterias, y su funcionalidad como claves en la relación fertilidad y crecimiento de las plantas. Los trabajos de Dilly y Munch (1998), Yao, et al. (2000) y O'Donnell, et al. (2001), Galende (2013) indican, que los cambios en el patrón de la actividad de las comunidades microbianas pueden tener efectos notables sobre el funcionamiento de los ecosistemas, y plantean que una alternativa para examinar los componentes de la biodiversidad es detectar patrones que son biológicamente significativos, tal es el caso de la diversidad funcional, proponiendo un procedimiento basado sobre sistemas de identificación biológica, que sea rápido, efectivo, fijando aspectos como: el número y tipo de sustrato utilizado por las comunidades microbianas, así como los niveles de actividad de varios sustratos y patrones de desarrollo temporal. Igualmente se conforman datos ricos en información que establecen cuales fijan la diversidad funcional. En base a lo expuesto, la contribución de este trabajo, es 1) tratar de entender cómo el manejo que se le da al

suelo afecta la densidad poblacional y la estructura gremial de las comunidades que se establecen, en función de su capacidad de aprovechar los distintos substratos del medio, 2) realizar el análisis funcional de las diferentes comunidades y establecer cómo es su evolución en el tiempo y en el espacio bajo diferentes tipos de manejo agroecológicos.

El análisis funcional constituye una herramienta en ecología, que permite determinar cambios espacio-temporales que ocurren en las comunidades microbianas y hacer un enlace entre los procesos del ecosistema y los microorganismos activos en los mismos, abriendo una ventana al conocimiento del funcionamiento del ecosistema, que permitan de esta manera formular estrategias de manejo sustentables (Zamora y Malaver, 2012).

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la finca ganadera “Las Morochas”, unidad de producción con más de 30 años de establecida, dedicada a la cría de bovinos de doble propósito (carne, leche y derivados), desde el año 1997 ha instrumentado la técnica del uso del estiércol de ganado como fuente de abono para las pasturas cultivadas (*Cynodon dactylon*, *Cynodon plestostachyum*). La misma está ubicada en el Estado Falcón – Venezuela, localizada a 10°47′08″ LN y a 68°22′54″ LO, con una altitud de 14 msnm. Los suelos se identificaron como Molisoles, de textura franco arenosa, con una moderada capacidad de absorción y retención de agua con valores promedios de pH, entre 5,8 y 7,1. El ensayo se hizo bajo cuatro tipos de tratamientos (c/u con parcelas de 25x25 m²): sin tratamiento (ST); antiguamente (3 años) abonado con estiércol de vacuno (AB); otro igual a AB pero nuevamente reabonado con estiércol (RB = 0,5 Kg m⁻²) y uno fertilizado (F) con dosis de N:P:K (0,01 Kg m⁻² de N:P:K (2:0,6:2)) cuyo contenido es equivalente a las aportadas por las excretas. Cada parcela fue sembrada con *Cynodon dactylon*, el desarrollo del mismo se usó como patrón para la toma de muestras de suelo, realizándose seguimientos en cuatro períodos, coincidiendo con períodos de lluvia y sequía: inicio (I=0 días época seca), crecimiento medio (CM=44 días, época de lluvia), máximo (PM=98 días, salida de lluvia) y postcosecha del pasto, sin cobertura vegetal (PC=144 días época seca). En cada parcela se tomaron tres puntos de muestreo aleatorizados, entre 0-10 cm de profundidad. Para realizar los análisis microbiológicos las muestras fueron tomadas asépticamente y procesadas el mismo día en laboratorio de campo.

Determinación de abundancia de hongos y bacterias

Para estimar la población microbiana, se preparó el cultivo del suelo (10 g de suelo: 100 ml de solución salina estéril), atendiendo las técnicas microbiológicas estándar (Standard Methods, 2005; Mac Faddin, 1978 y Merck, 1982), para la siembra y el conteo directo de organismos cultivables en placas en medio de agar nutritivo para bacterias y agar malta para hongos. Esto permitió determinar la densidad microbiana

(UFC/g = Unidades Formadoras de Colonias por gramo de suelo). Obtenido el crecimiento de las cepas: fúngicas y bacterianas, se realizó su aislamiento y purificación para obtener los respectivos ceparios correspondiente a cada tratamiento. Se caracterizaron macro y micromorfológicamente, se realizaron microcultivos para la identificación de hongos (observación de estructuras reproductivas al microscopio) y uso de claves taxonómicas. En el caso de las bacterias, observación microscópica de diferentes formas celulares (tinción de Gram). Los resultados se expresaron en logUFC/g y para el tratamiento de los datos se empleó el análisis de varianza de dos vías ($p \leq 0,05$), utilizando el programa estadístico STATISTIC (V.5.0).

Capacidad degradativa de hongos y bacterias

Las cepas microbianas cultivables y su caracterización bioquímica de manera individual, permite obtener un registro bioquímico comparable con los demás aislados de la misma muestra. En este sentido, las pruebas bioquímicas, para determinar en forma indirecta el potencial degradativo de los diferentes aislados (fúngicos y bacterianos) fueron: - carbohidratos simples (glucosa y lactosa, prueba de agar de hierro de Kligger), - polisacáridos (celulosa y pectina, prueba de agar celulosa y agar pectina), - capacidad de degradar enlaces peptídicos (prueba de la licuefacción de la gelatina), - degradación de compuestos estructurales recalcitrantes (lignina, prueba agar lignina), capacidad solubilizadora de P orgánico (prueba descomposición de inositol-hexafosfato), - mineralización de la urea (prueba de la urea), capacidad de degradar restos de exoesqueletos (prueba de quitina), azúcares complejos (agar almidón), nitrato y lípidos (Mac Faddin 1978, Merck 1982). El perfil de utilización de sustratos proporciona información relacionada con las tasas de utilización de los mismos, la capacidad de utilización total o parcial, y además, puede ser determinado a través de un número finito de sustratos potenciales (Ramos 1996; Zamora y Malaver 2012) Con el resultado de este análisis se creó una base de datos y se empleó el análisis multivariado ("Cluster de Datos) programa MVSP (V.5.0), lo cual permite el análisis de la diversidad funcional, por medio de un índice de diversidad funcional (IDF = No. de grupos funcionales o cluster / No. total de aislamientos) propuesto por Ramos (1998) y Antia (1995), logrando así, establecer comparaciones entre comunidades microbianas y/o seguir una evolución de una comunidad en particular frente a las variaciones de parámetros ambientales y por otro lado permite establecer equivalentes funcionales entre los organismos pertenecientes a grupos taxonómicos diferentes y de algún modo explicar la estabilidad funcional de las comunidades microbianas naturales.

Aspectos metodológicos para delimitar la estructura de gremios microbianos

La estructura de gremios de la comunidad se determinó a partir del patrón de respuesta de cada aislado microorbiano ante un conjunto de sustratos o fuentes de carbono. Así, para cada sustrato se determina la proporción de cepas que lo utilizan como fuente de carbono y energía, obteniendo finalmente un valor de frecuencia relativa (N° cepas que utilizan el sustrato/ N° total de cepas). Estos valores podrían ser comparados con los aislados de diferentes comunidades, o utilizados para establecer los procesos en los

cuales los microorganismos están involucrados (Bastardo 2005; Torres y Lizarazo 2006; Malaver 1996 y Ramos 1996).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comunidades microbianas

La densidad de hongos y bacterias (Cuadro 1 y 2) presentó variaciones significativas luego del inicio de los ensayos, observándose una mayor densidad para los períodos donde el suelo tiene cobertura vegetal (CM, PM) y hay una mayor humedad en el suelo, siendo la excepción los hongos en el tratamiento F, para el que no se presentaron variaciones (Cuadro 1). Sin embargo, para el caso de las bacterias (Cuadro 2), se observa que al inicio de los tratamientos F presenta la mayor densidad, esto puede ser atribuido, no al efecto de enmienda química, sino al contenido de humedad de este suelo (datos no publicados es este trabajo), que resultó ser mayor, aun cuando no significativos en relación a los otros sistemas. Al respecto, Casanova (2005), García (2010) y López (2012), señalan que la mejor condición de humedad para las plantas en el suelo, están asociadas igualmente con las mejores condiciones hídricas para la mayoría de las bacterias. En relación a los tratamientos, para el caso de los hongos, es el tratamiento RB en el período de inicio, el que se diferencia significativamente con la menor población encontrada en el suelo: control, abono orgánico y fertilizado y de los períodos de estudio: CM y PM, lo cual es atribuido a la perturbación causada con la nueva adición del estiércol, que bien puede causar un desequilibrio en la microflora ya establecida. Diferencias que desaparecen entre los períodos de desarrollo del pasto (CM y PM).

Los resultados, permiten señalar que la presencia de la cobertura vegetal y las variaciones de humedad (sequia y lluvia) podrían estar induciendo el aumento, de hongos y bacterias, aunado con los cambios en la dinámica estructural de estos suelos para los mismos períodos (datos no presentados en este trabajo), especialmente para el de CM, donde los análisis reflejan un aumento de los agregados de menor tamaño (0,500-0,850 mm) y microagregados (0,150-0,25 mm), a expensas de una desagregación de los agregados de mayor tamaño 0,850 - 2mm. Estudios más detallados, donde relacionan los microorganismos asociados al tamaño de los diferentes agregados del suelo, corroboran que las poblaciones bacterianas están más asociadas a los agregados más pequeños del suelo, los microagregados, considerados por como los menores a 0,250 mm Oades (1984).

Características morfológicas: hongos y bacterias

En este estudio, se logró aislar un total de 195 cepas de hongos, identificados a nivel de género y 1200 cepas bacterianas, identificadas a nivel micromorfológico (Gram⁺, Gram⁻). **Características de los morfotipos de hongos**

Las observaciones realizadas agruparon los morfotipos en 10 géneros: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Syncephalastrum*, *Eurotium*, *Absidia*, *Curvularia*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Scopulariopsis* y levaduras. Alexander (1980), Atlas y Bartha (2002), coinciden en señalar que los géneros de hongos aislados con mayor frecuencia en los suelos son: *Aspergillus*, *Geothichum*, *Penicillium* y *Trichoderma* (hongos filamentosos) e igualmente levaduras.

Se puede apreciar en los resultados (Cuadro 3) que los géneros de: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y las levaduras, fueron los que aparecieron en mayor proporción y los que se expresaron siempre en los tratamientos y períodos de muestreo, siendo la excepción el tratamiento F, que luego del inicio del estudio, disminuyó la diversidad morfológica para los períodos CM y PM, expresándose sólo los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* (respectivamente).

Ahora bien, el hecho de que algunas especies de hongos del suelo se expresen o no, en ciertos períodos y tratamientos, se debe a que la mayoría de los hongos son oportunistas (zimógenos), crecen y llevan a cabo un metabolismo activo cuando las condiciones le son favorables, lo cual supone una humedad y aireación adecuada y unas características relativamente altas de sustratos utilizables. Igualmente, Atlas y Bartha (2002) indican que se ha documentado mucho sobre el letargo, lo cual es una condición típica de los hongos del suelo, que en ausencia de sustratos disponibles se inactivan, conservando su plasticidad genética. Estos autores señalan que las poblaciones oportunistas del suelo se ajustan muy bien al concepto de estrategias *r* (relacionado con la ecuación logística de crecimiento de una población), dado que estos organismos cuentan con una elevada tasa de reproducción por su supervivencia continua en la comunidad, y sus poblaciones autóctonas (degradadoras de humus) se ajustan al concepto de estrategia *K* (utilización óptima (conservación) de recursos ambientales).

Estos resultados indican que existen especies de hongos que independientemente de las variaciones temporales, logran permanecer en el sistema; pero la aparición esporádica de otras especies, en menor proporción confiere al mismo un comportamiento y respuesta particular. Puede evidenciarse, que en las comunidades fúngicas surgen cambios en su estructura que dependen de los tratamientos aplicados; y guarda relación con la calidad de las enmiendas (orgánica Vs química). Sin embargo, dichos microorganismos siguen realizando las mismas funciones degradativas como se evidenciará más adelante.

Características micromorfotípicas de las bacterias

Los resultados de las observaciones micromorfotípicas de las cepas bacterianas (Cuadro 4), en forma general señalan dominancia de los morfos que corresponden a los bastones Gram⁺ y Gram⁻, seguido de cocos Gram⁺ y Gram⁻, y en menor proporción los

consorcios, entre ellos se tienen: Bastones ⁺ y ⁻, bastones ⁻ y cocos ⁻, cocobastones⁺ cocos ⁺, cocobastones ⁻, cocobastones⁺, cocos ⁺ bastones⁺, entre otros. Esto se observa a lo largo de los períodos de muestreo.

En este estudio, se encontraron en igual proporción bacterias Gram⁺ y Gram⁻ y en pocas proporciones, se encuentran en asociación o formando consorcios. En condiciones naturales, los miembros de la microflora dependen uno de otro para obtener ciertas sustancias de crecimiento, pero al mismo tiempo pueden establecer relaciones negativas, por lo que se evidencian efectos sinérgicos y autogénicos, pudiendo ocurrir diversos tipos de interacciones: competencia, mutualismo, simbiosis, protocoperación, amensalismo, comensalismo, parasitismo y predación. En esta investigación no se tiene basamento para decir que tipo de interacción existe entre los microorganismos, simplemente serán referidas como consorcios.

En el Cuadro 4, se observa cómo cambia la proporción y la diversidad de los morfos de bacterias para los tratamientos en los períodos de estudio. También se aprecia como para el período de PM, los tratamientos RB y AB son los más diversos en comparación con ST y F, sin embargo estos últimos presentan una mayor proporción de bastones Gram⁺. Vale la pena destacar la diferencia que existe entre la diversidad encontrada para los morfos de bacterias en el suelo F en relación a la observado para los morfotipos de hongos. Se deduce que estos cambios están relacionados con el tipo de manejo del suelo, las enmiendas, el crecimiento del pasto y su enraizamiento y los cambios en cuanto a las variaciones de humedad y agregados estables de los suelos estudiados y a la capacidad de adaptación de los microorganismos. Igualmente López (2012), en su estudio sobre cambios en sucesión bacteriana, señala comportamientos similares relacionados con cambios en las propiedades del suelo.

Capacidad degradativa de las comunidades microbianas

Hongos

Los resultados obtenidos (Figs.1,2,3,4), de la actividad degradativa de las comunidades de hongos, muestran diferencias en los patrones de distribución gremial, tanto por tipo de manejo (tratamientos) como por desarrollo del pasto (períodos muestreados). Observándose que todas las comunidades presentan un mayor porcentaje (entre 60-80%) en la capacidad de degradar proteínas, carbohidratos simples (glucosa, a diferencia de las bacterias que degradan mas lactosa) y complejos (polisacáridos: pectina, celulosa y almidón), reductores de nitratos, lberadores y solubilizadores de fósforo, y a diferencia de las bacterias una mayor capacidad de degradar material recalcitrante. En menor proporción (30-40%) se expresaron comunidades de hongos capaces de degradar disacáridos (lactosa), fuente de nitrógeno no proteico (urea), realizar actividad lipolítica y quitinolítica.

Se observa que las comunidades de hongos presentaron una menor diferencia en el patrón de distribución gremial; sin embargo existen cambios tanto en los tratamientos como en los períodos de estudio.

Bacterias

La actividad degradativa de las comunidades bacterianas, al igual que los hongos, señalan que los patrones de distribución gremial se diferencian tanto por tipo de manejo como por el desarrollo del pasto (Figs.1,2,3,4). No obstante, se observa que todas las comunidades presentan un mayor potencial para la degradación de proteínas (entre un 60-80 %), carbohidratos simples (lactosa) y complejos (polisacáridos pectina, celulosa), reducción de nitratos y liberación de fósforo. En menor proporción (30-40%) se expresaron bacterias capaces de degradar materiales recalcitrantes (lignina), mineralizar fuentes de nitrógeno no proteico (urea) y polisacáridos (almidón). Por otra parte se observaron proporciones muy bajas y en algunos casos no se detectaron, bacterias capaces de realizar funciones lipolíticas (prueba de Tween) y quitinolíticas.

Ahora bien, los cambios observados en la estructura comunitaria desde el punto de vista morfológico, permiten asegurar que las comunidades microbianas (hongos y bacterias) sufren cambios en el tiempo a medida que ocurren los distintos procesos del suelo, como cambios en el pH, humedad y la disponibilidad de sustratos, entre otros. Lo cual se evidencia en los patrones gremiales observados en el tiempo para cada una de las parcelas. Igualmente, los tratamientos también provocan diferencias en los patrones gremiales, los cuales son más acentuados en los períodos del desarrollo del pasto (CM y PM), donde puede notarse, que aunque las parcelas con abono orgánico presentan una menor variabilidad en su distribución gremial, en comparación con la parcela bajo enmienda química, son las parcelas donde los estudios del desarrollo del pasto obtuvo un mayor crecimiento y productividad. Estos resultados coinciden con lo señalado por otros autores, con investigaciones afines (Vargas-Machuca, 2010, López, 2012, Galande, 2013)

Análisis funcional

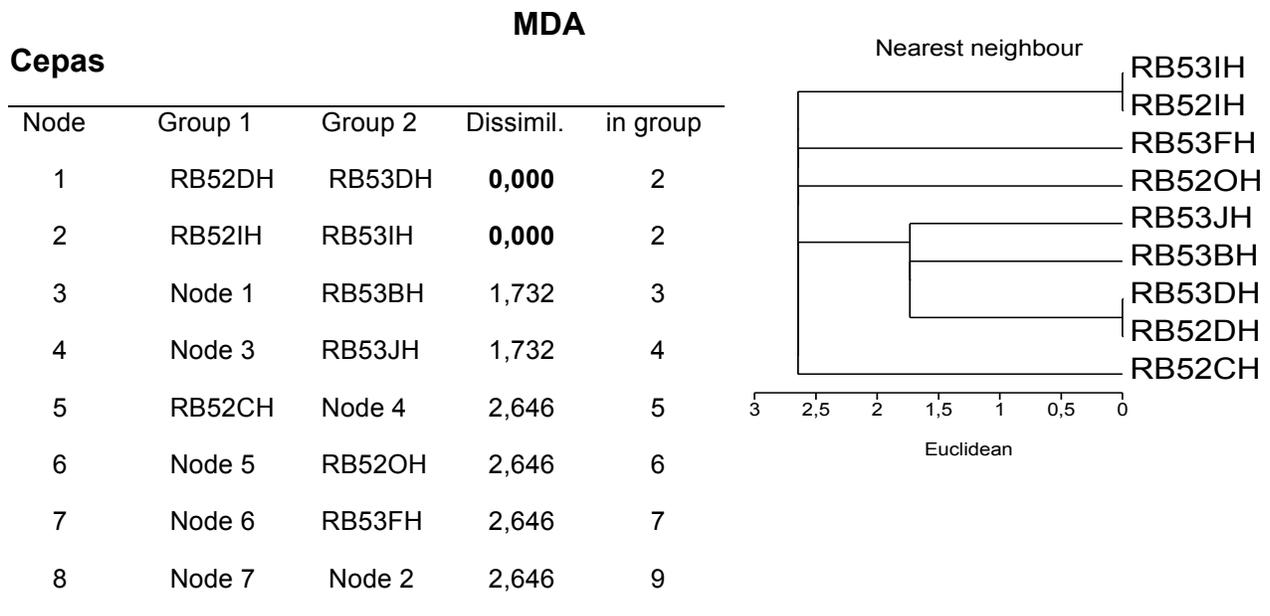
Los resultados obtenidos en las pruebas bioquímicas permitieron crear una base de datos donde cada cepa o aislados tiene un código binario que lo representa para el análisis y para ello se emplea la técnica de análisis multivariado "Cluster de datos". El Cluster tal como lo indica Ramos (1998) puede registrar la información bioquímica de cada cepa y traducirla a un hiperespacio "N" dimensional (No. De pruebas realizadas), donde la ubicación de cada una de las cepas será dada por cada una de las pruebas, de aquí que dos o más cepas funcionalmente equivalentes (**NGI**), capaces de degradar los mismos sustratos, tendrán los mismos valores y se ubicaran en un mismo punto en el hiperespacio, cuya distancia entre ellas será cero (en el ejemplo del cluster dado, se observa que las cepas RB53IH y RB52IH y las cepas RB53DH y RB52DH son las

únicas que presentaron equivalencias funcionales = 0). De aquí que pueda establecerse el número de grupos funcionales (**NGF**) dentro de la comunidad, el índice de importancia de cada uno de ellos y la diversidad funcional de la comunidad (**IDF**). En este estudio, los análisis de los cluster obtenidos para cada tratamiento en función de los períodos de muestreo se reportan tomando en cuenta:

- el número de grupos funcionales (**NGF**)
NGF= Total de cepas aisladas (casos) – No. de grupos funcionalmente idénticos (disimilitud=0) (**NGI**)
- número de grupos de identidad (**NGI**),
NGI= No. de grupos funcionalmente idénticos que tienen la misma capacidad de degradar los substratos (disimilitud =0)
- índice de diversidad funcional (**IDF**)
IDF = $\text{NGI} / \text{Total de cepas aisladas (casos)}$ - máxima distancia de amalgamiento (**MDA**)
MDA = Máxima distancia de amalgamiento o máxima distancia en la cual todas las cepas se agrupan.

Dado que no se pueden mostrar todos los cluster obtenidos, debido a lo denso de los mismos, se presenta un ejemplo que muestra un cluster realizado a las cepas de hongos, aisladas de la parcela RB durante el período de postcosecha del pasto (144 días) y como se realizaron los cálculos

Cluster obtenido para el tratamiento RB, en la época de postcosecha del pasto (PC), para las 14 variables analizadas en las pruebas bioquímicas y las 9 cepas de hongos aisladas.



MDA= 2,646

NGF= 9 - 2 = 7

IDF= 2/9=0,22

NGI= 2 grupos (RB 52DH – RB53DH y RB 53IH-RB53IH)

Análisis funcional para las bacterias y los hongos

Los resultados para la bacterias (Cuadro 5) señalan que el No de grupos funcionales (NGF) es similar en todos los tratamientos y en el desarrollo del experimento, lo que implica que la diversidad funcional (IDF) tampoco arrojó diferencia, pero los valores encontrados son altos varían entre 0 y 1, manteniéndose cercano a 1 lo que indica que en todos los tratamientos hay grupos capaces de llevar a cabo la actividad metabólica de substratos orgánicos y producción de nutrientes y esto está condicionado a las características particulares de cada uno de los suelos en los ensayos.

En cuanto a la máxima distancia de amalgamamiento (MDA), que establece la relación entre los diferentes grupos funcionales pude verse que también es parecida a los largo del experimento y entre los diferentes tratamientos, notándose una mayor homogeneidad en la época de postcosecha, revelando que la presencia de vegetación es un condicionante de la actividad microbiológica. Esto es corroborado con los resultados de NGI el cual alcanza valores altos en el período de postcosecha y los menores valores durante el crecimiento medio (CM) y máximo (PM) del pasto.

En el caso de los hongos (Cuadro 6), ellos presentaron hasta el período de PM el mayor índice de diversidad funcional. Sin embargo en la época de PC los suelos con enmiendas tienen una restricción en el número de géneros que se expresan, además

aparecen los grupos de identidad funcional (NGI), lo que induce a una disminución de la diversidad fúngica reflejada en el IDF. Puede ocurrir entonces que la ausencia de cobertura vegetal represente una restricción para la expresión fúngica y que en este período las bacterias tienen un mayor peso en el mantenimiento de la funcionalidad del sistema, es decir liberación y ciclaje de nutrientes producto de la degradación de la materia orgánica.

CONCLUSIONES

Se evidencia que la degradación de la materia orgánica del suelo, es debida a la acción en conjunto de las comunidades de hongos y bacterias, dado que los sustratos que no son degradados por una comunidad son degradados por la otra. Se aprecia que las comunidades bacterianas tienden a degradar en menor proporción la glucosa que la lactosa, lo cual es compensado por la acción degradativa de los hongos que degradan más glucosa que lactosa; lo último, es un ejemplo claro de la sincronía y el rol que presentan las comunidades microbianas en la descomposición de la materia orgánica. Puede decirse que los análisis micro y macromorfológicos y gremial dan evidencias de cambios en la estructura de las comunidades que están íntimamente relacionadas con los diferentes sustratos presentes en el suelo y su aporte para el crecimiento de la vegetación.

La actividad microbiana no solamente depende de la actividad gremial del suelo, sino también de otras variables que la condicionan como la calidad de la materia orgánica del suelo y otros factores que pueden restringir o potencial su actividad.

El análisis funcional revela que la comunidad fúngica es más diversa que las bacteriana y tienen una amplia capacidad degradativa de los sustratos en el suelo indistintamente de la época de muestreo, dado que son capaces de realizar potencialmente las mismas funciones y pueden ser agrupados como equivalentes funcionales. Lo anterior no se observó en las comunidades bacterianas, donde no se formaron equivalentes funcionales, pero si se observaron grupos capaces de llevar a cabo la actividad metabólica de sustratos orgánicos y producción de nutrientes lo que está condicionado a las características particulares de cada uno de los suelos tratados.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento al apoyo financiero del Fondo Nacional para la Ciencia, Tecnología e Innovación - FONACIT Proyecto N° S1-200000651 y al apoyo logístico de los Laboratorios: de Estudios Ambientales y de Microbiología Ambiental del Instituto de Zoología y Ecología Tropical de la Universidad Central de Venezuela (UCV) Facultad de Ciencias.

REFERENCIAS

- Acea, M.J., y Carballas, T. (1999). Microbial fluctuations alter soil heating and organic amendment. *Bioresource technology*. 67:65-71.
- Alexander, M. 1980 Introducción a la microbiología del suelo. Segunda edición. AGT Editor, S.A. 491 p.
- Atlas. R. M., y Bartha, R. (2002). Ecología microbiana y ecología ambiental. Pearson Education, S.A. Madrid. 677 p.
- Antia, A. (1995). Estudio ecológico de las comunidades microbianas heterotróficas de un suelo en condiciones naturales y sometidas a manejo agrícola. Tesis Doctoral. Postgrado en Ecología. Facultad de Ciencias. UCV. 145 p.
- Bastardo, H. (2005). Algunos aspectos del proceso de decomposition y la microbiología ambiental. *Acta Biológica Venezolana* 25(1-2):91-97.
- Casanova, E.O. (2005). Introducción a la Ciencia del suelo. Universidad Central de Venezuela. Tercera Edición. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) Caracas –Venezuela 379p.
- Dilly, O. y Munch, J.C. (1998). Ratios between estimates of microbial biomass content and microbial activity in soils. *Biol. Fertil. Soil* 27:374-379.
- Donnison, M. L., Griffith, G. S., Hedger, J. P., Hobbs, J. y Bardgett, R. D. (2000). Management influences on soil microbial communities and their function in botanically diverse haymeadows of northern England and Wales. *Soil. Biol. Biochem.* 32:253-263.
- Garcia, E.L. (2013). Estrategias para la recuperación de suelos degradados en ambientes semiáridos: adición de dosis elevadas de residuos orgánicos de origen urbano y su implicación en la fijación de carbono. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. Departamento de Química Agrícola, Geología y Edafología Agrícola. 362 pp. Disponible en: <http://digitum.um.es/jspui/bitstream>. Consultada el 10/09/13.
- Garcia. E. A. (2010). Efecto sobre la conversión de ecosistemas naturales en agroecosistemas sobre las comunidades microbianas del suelo en los andes venezolanos. Tesis Doctoral. Universidad de los Andes- Facultad de Ciencias. Estado Mérida. Venezuela. 139 p.
- Galende, M.A.G. (2013). Assessment of phytostabilization of pb/zn mine soils with Organic amendments and a native metalicolous ecotype Of *festuca rubra* l.: mplications for amendment Selection and recovery of soil health. Tesis Doctoral. Euskal Herriko Unibersitatea. Universidad del País Vasco. 218p. consultada 10/09/13.
- López, H.M.P. (2012). Sucesión de la comunidad bacteriana en suelos salinos enmendados con paja de maíz y glucosa. Tesis de Maestría en Ciencias. Área de Biotecnología. Universidad de Colima. México. 177p.
- Mac Faddin, J. F. (1978). Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica. Editorial Panamericana. Buenos Aires. 301p.- Martyniuk, S. y G. H.

- Malaver, N. 1996. Aspectos ecológicos de la asociación microorganismos-raíz *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solm-Laub (Pontederiaceae) expuesta a un efluente modificado. Postgrado en Ecología, Facultad de Ciencias UCV. Tesis Doctoral. 287 pp.
- Martyniuk, S., y Wagner, G. H. (1978). Quantitative and qualitative examination of soil microflora associated with different management systems. *Soil Sci.* 125(6):343-350.
- Merck, E. (1982). Manual de medios de cultivo Merck. FrankFurter Strasse 250. D-6100 Darmstadt (R.F. Alemania) 189 p.
- Oades, J. M. (1984). Soil organic matter and structural stability mechanisms and implications for management. *Plant and Soil.* 76:319-337.
- O'Donnell, A.O., Seasman, M., Macrae A.; I. Waite y J.T. Davies (2001). Plants and fertilisers as drivers of change in microbial community structure and function in soils. *Plant and Soil.* 232:135-145.
- Ramos, J. O. (1996). Modelos matemáticos y estadísticos y la biodegradación de crudos. Memorias del V Seminario Guayanés sobre Conservación del Ambiente. Puerto Ordaz, Estado Bolívar, Venezuela. 25 pp.
- Ramos, J. O. (1998). Estudio de las comunidades bacterianas en un sistema de lodos activados. La bora (*Eichhornia crassipes* (Mat) Solmolamb) alternativa para la eliminación de fenol en aguas residuales. Trabajo de Ascenso a la categoría de Agregado. Instituto de Zoología Tropical. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela.
- Standard Methods (2005). Examination of Water and Wastewater, 21st Edition. Book published by American Water Works Association/American Public Works Association/Water Environment Federation.
- Torres M. y L. Lizarazo (2006). Evaluación de grupos funcionales (ciclo del C, N, P) y actividad de la fosfatasa ácida en dos suelos agrícolas del departamento de Boyacá (Colombia). *Agronomía Colombiana* 24(2):317-325.
- Vargas- Machuca, N. (2010) Indicadores biológicos para la evaluación de la calidad de los suelos. XII Congreso Ecuatoriano de las Ciencias del Suelo. 17-19 de Noviembre Disponible en [:http://www.secsuelo.org/XIICongreso/Simposios/Microbiologia/Magistrales/](http://www.secsuelo.org/XIICongreso/Simposios/Microbiologia/Magistrales/). Consultada el 17/09/13.
- Yao, H., He, Z., Wilson, M.J., y Campbell, C.D. (2000). Microbial biomass and community structure in a sequence of soils with increasing fertility and changing land use. *Microb. Ecol.* 40:223-237.
- Zamora, A., Malaver, N., Ramos. J.O. (2012). Análisis funcional de microorganismos: Un estimador de diversidad y estructura comunitaria. *Acta Biol. Venez.*, Vol. 32 (1):57-86
- Zak, J.C.; Willig, M.R.; Moorhead, D.L. y Wildman, H.G.. (1994). Functional diversity of microbial communities: A quantitative approach. *Soil. Biol. Biochem.* 26(9):1101-1108.

ANEXOS

Cuadro 1.- Promedio de colonias de hongos (log UFC/ g de suelo seco) en los tratamientos y durante los periodos de muestreo.

	Períodos			
	I	CM	PM	PC
Tratamientos				
ST	4,11 ^{a1}	6,02 ^{a2}	5,53 ^{a2}	4,26 ^{a1}
AB	4,69 ^{a1}	5,83 ^{a2}	4,90 ^{a2}	4,56 ^{a2}
RB	3,67 ^{b1}	5,74 ^{a2}	4,98 ^{a2}	4,41 ^{a12}
F	4,72 ^{a1}	5,28 ^{a1}	5,28 ^{a1}	4,40 ^{a1}

ST= Sin Tratamiento, AB= Tres años de abonado, RB= Reabonado, F= Fertilización química

I= Inicio, CM= Crecimiento Medio, PM= crecimiento máximo, PC= Postcosecha.

Valores seguidos de letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos para un mismo período. Valores seguidos de números distintos indican diferencias significativas entre los períodos ($p \leq 0,05$)

Cuadro 2.- Promedio de colonias de bacterias (log UFC/ g de suelo seco) en los tratamientos y durante los periodos de muestreo.

Tratamientos	Períodos			
	I	CM	PM	PC
ST	5,48 ^{a1}	7,07 ^{a3}	5,88 ^{ab12}	5,35 ^{a1}
AB	5,09 ^{a1}	6,61 ^{a2}	6,46 ^{a2}	5,67 ^{a21}
RB	5,67 ^{ab1}	6,32 ^{a2}	6,09 ^{a2}	5,40 ^{a1}
F	6,45 ^{b1}	6,19 ^{a1}	5,71 ^{b2}	5,36 ^{a2}

ST= Sin Tratamiento, AB= Tres años de abonado, RB= Reabonado, F= Fertilización química

I= Inicio, CM= Crecimiento Medio, PM= crecimiento máximo, PC= Postcosecha.

Valores seguidos de letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos para un mismo período. Valores seguidos de números distintos indican diferencias significativas entre los períodos ($p \leq 0,05$)

Cuadro 3.- Promedio (%) de los morfotipos de hongos en los tratamientos y durante los periodos de muestreo.

Morfotipos	Períodos / Tratamientos (%)															
	I				CM				PM				PC			
	ST	AB	RB	F	ST	AB	RB	F	ST	AB	RB	F	ST	AB	RB	F
Aspergillus	22	40	47	35	78	25	44	100	57	50	67	0	50	50	50	50
Fusarium	0	20	7	0	0	13	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Penicillium	0	10	7	18	0	13	22	0	14	0	0	100	14	14	14	14
Syncephalastrum	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	14
Eurotium	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	7	7	7
Absidia	0	10	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Curvularia	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cladosporium	0	0	0	6	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Trichoderma	0	0	0	0	0	0	11	0	0	0	33	0	0	0	0	0
Scopulariopsis	0	0	0	0	0	0	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Levadura	44	10	27	35	22	38	0	0	29	50	0	0	0	0	0	0

ST= Sin Tratamiento, AB= Tres años de abonado, RB= Reabonado, F= Fertilización química

I= Inicio, CM= Crecimiento Medio, PM= crecimiento máximo, PC= Postcosecha.

Cuadro 4.- Promedio (%) de los micromorfotipos bacterianos encontrados en los tratamientos y durante los periodos.

Micromorfotipos	Períodos / Tratamientos (%)															
	I				CM				PM				PC			
	ST	AB	RB	F	ST	AB	RB	F	ST	AB	RB	F	ST	AB	RB	F
Bastones Gram +	18	35	43	37	50	63	58	33	75	58	60	87	28	62	30	10
Bastones Gram -	43	42	40	22	32	33	25	26	0	3	7	2	37	18	3	45
Bastones + y -	10	8	3	0	3	0	2	3	15	5	15	10	0	0	5	3
Bastones+ y Coba +	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
Bastones- y Coba +	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bastones+ y Cocos-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0
Bastones - y Cocos -	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0
Coba + y Cocos -	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0
Coba + y Cocos +	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Coba - y Bastones+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0
Coba +	0	0	5	7	0	0	2	5	0	8	2	0	0	8	17	2
Coba -	0	7	2	2	7	0	0	2	0	0	0	0	5	8	0	18
Cocos +	2	8	5	32	0	3	7	21	5	5	7	0	20	0	35	3
Cocos -	23	0	2	2	8	0	7	10	0	0	2	0	8	0	2	15
COCOS + Y -	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	2	0	0	2
Cocos+Bastones+	0	0	0	0	0	0	0	0	5	14	3	0	0	0	5	0

Coba = cocobastones

ST= Sin Tratamiento, AB= Tres años de abonado, RB= Reabonado, F= Fertilización química

I= Inicio, CM= Crecimiento Medio, PM= crecimiento máximo, PC= Postcosecha.

Cuadro 5.- Análisis funcional para las comunidades bacterianas en los tratamientos y los períodos de muestreo.

NGF					MDA				
	I	CM	PM	PC		I	CM	PM	PC
ST	52	50	52	47	ST	3,16	2,45	2,24	2,65
AB	51	49	54	54	AB	3	3,61	3,00	2,65
RB	52	54	55	52	RB	2,83	3,61	2,65	2,65
F	52	57	53	50	F	3,317	2,83	3,16	2,24

IDF					NGI				
	I	CM	PM	PC		I	CM	PM	PC
ST	0,93	0,86	0,88	0,8	ST	4	8	3	12
AB	0,85	0,83	0,9	0,9	AB	4	5	3	6
RB	0,87	0,9	0,92	0,88	RB	8	3	5	7
F	0,87	0,95	0,88	0,83	F	8	3	3	10

NGF= número de grupos funcionales MDA= máxima distancia de amalgamiento

IDF= índice de diversidad funcional NGI= número de grupos de identidad

ST= Sin Tratamiento, AB= Tres años de abonado, RB= Reabonado, F= Fertilización química

I= Inicio, CM= Crecimiento Medio, PM= crecimiento máximo, PC= Postcosecha.

Cuadro 6.- Análisis funcional para las comunidades de hongos en los tratamientos y los períodos de muestreo.**NGF**

	I	CM	PM	PC
ST	11	9	7	13
AB	9	8	3	3
RB	7	10	2	7
F	16	4	2	4

MDA

	I	CM	PM	PC
ST	2,83	3,00	2,45	2,45
AB	3,46	2,83	3,00	2,65
RB	2,65	3,00	3,00	2,65
F	2,83	3,32	2,00	

IDF

	I	CM	PM	PC
ST	1	1	1	0,56
AB	1	1	1	0,23
RB	1	1	1	0,22
F	0,94	1	1	0,40

NGI

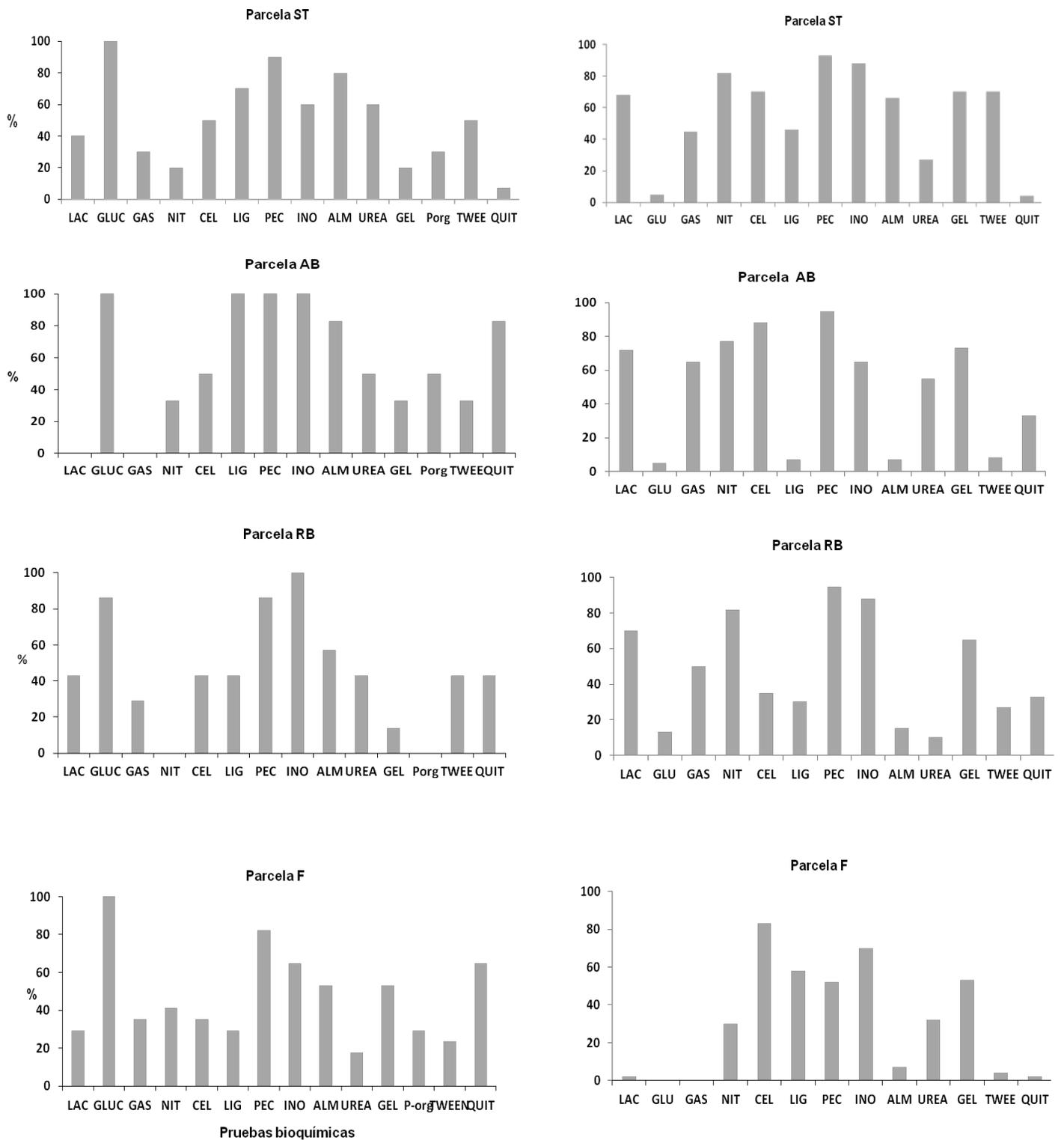
	I	CM	PM	PC
ST	0	0	0	4
AB	0	0	0	4
RB	0	0	0	2
F	1	0	0	3

NGF= número de grupos funcionales MDA= máxima distancia de amalgamiento

IDF= índice de diversidad funcional NGI= número de grupos de identidad

ST= Sin Tratamiento, AB= Tres años de abonado, RB= Reabonado, F= Fertilización química

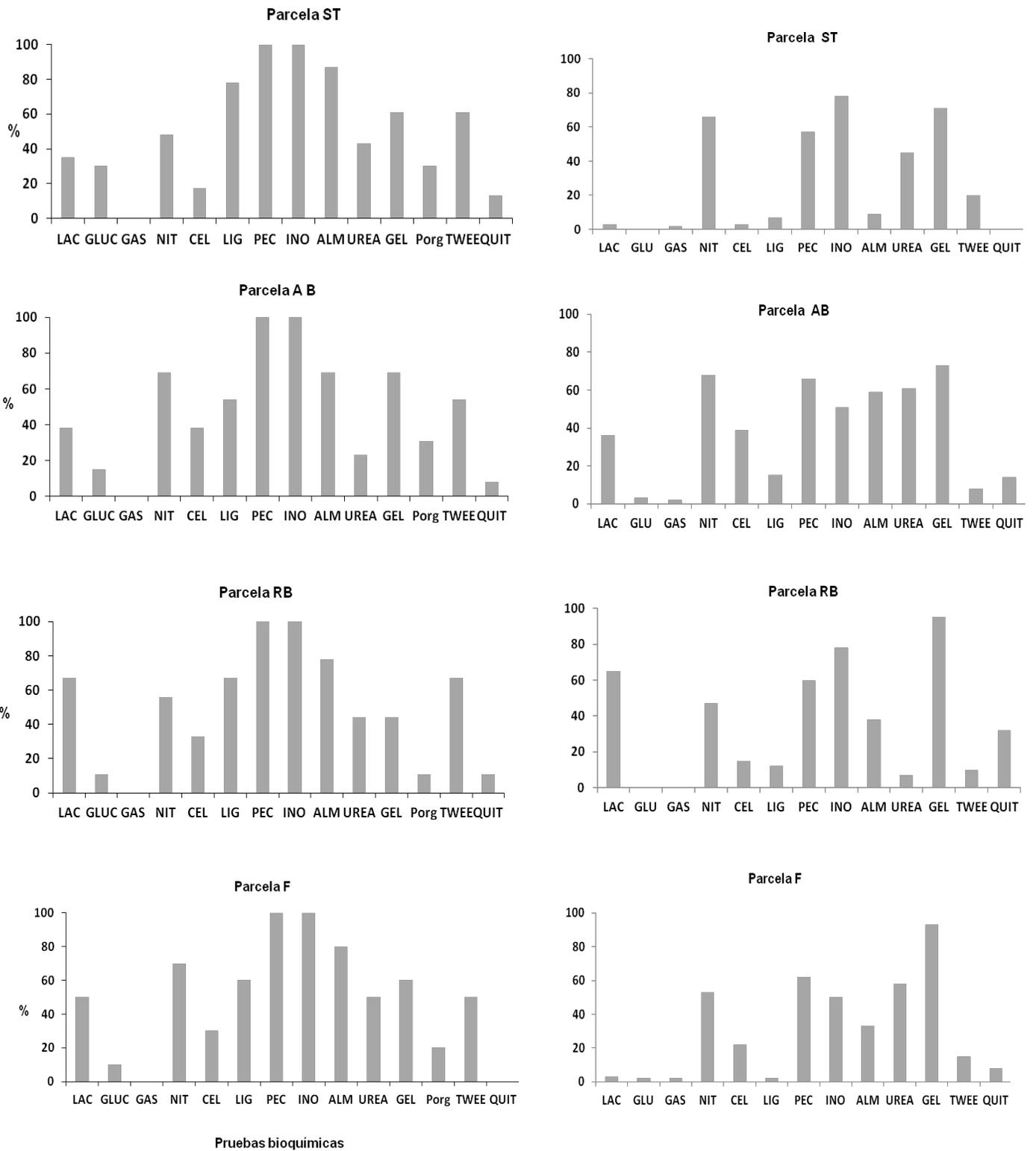
I= Inicio, CM= Crecimiento Medio, PM= crecimiento máximo, PC= Postcosecha.



Hongos

Bacterias

Fig.1- Porcentaje (%) degradativo de los sustratos empleados en las pruebas bioquímicas: lactosa (LAC), glucosa (GLU), gas, nitrato (NIT), celulosa (CEL), lignina (LIG), pectina (PEC), inositol hexafosfato (INO), almidón (ALM), urea, gelatina (GEL), fósforo orgánico P-org*, tween, quitina (QUIT) para las cepas de hongos y bacterias durante el período de inicio (I = 0 días). *Prueba solo para hongos.

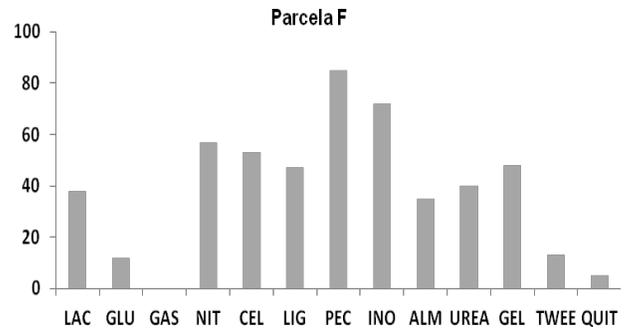
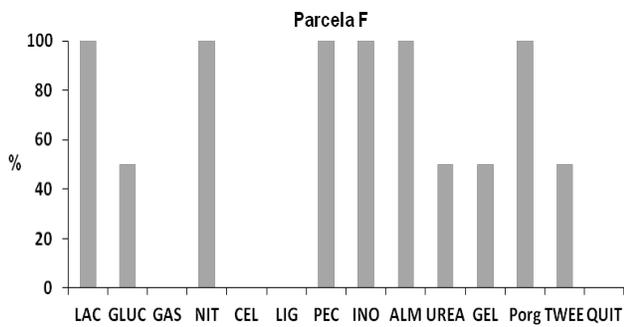
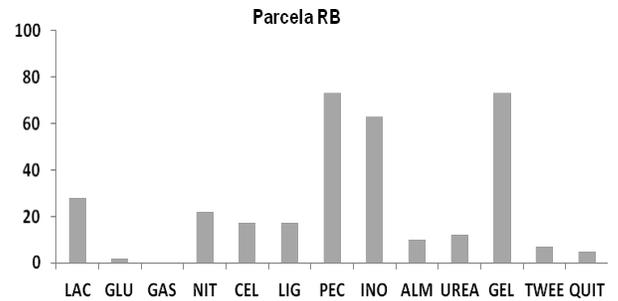
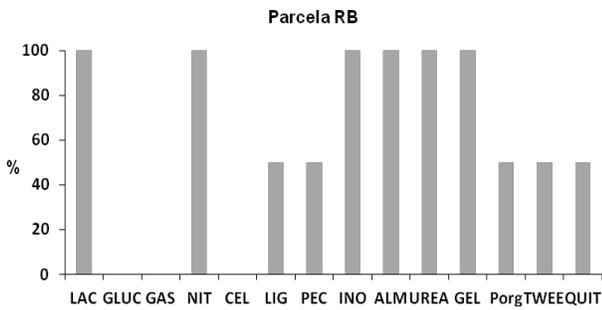
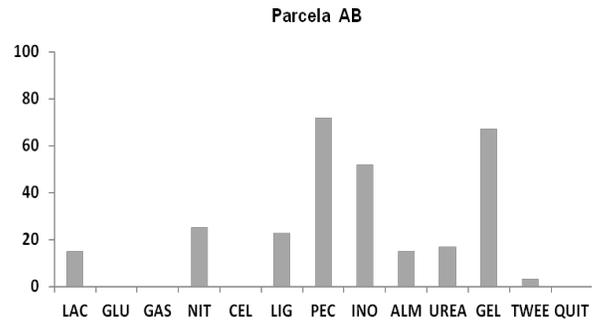
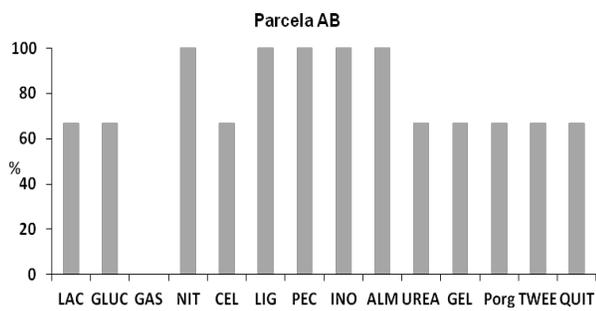
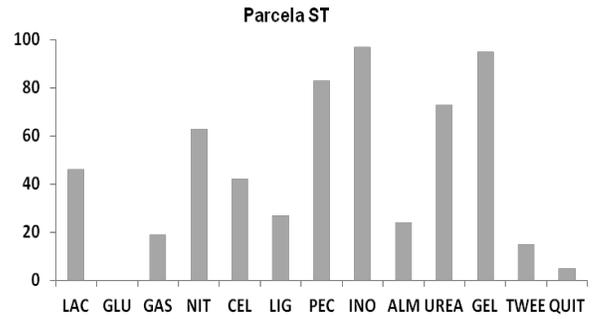
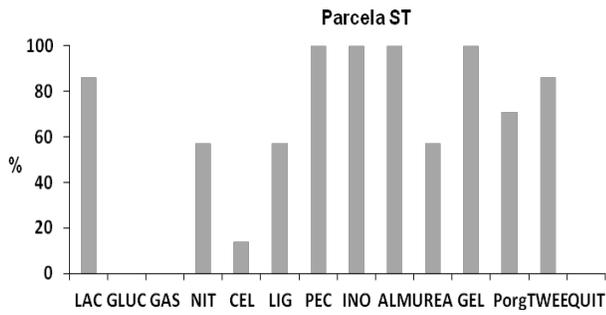


Hongos

Bacterias

Fig.2- Porcentaje (%) degradativo de los sustratos empleados en las pruebas bioquímicas: lactosa (LAC), glucosa (GLU), gas, nitrato (NIT), celulosa (CEL), lignina (LIG), pectina (PEC), inositol hexafosfato

(INO), almidón (ALM), urea, gelatina (GEL), fósforo orgánico P-org*, tween, quitina (QUIT) para las cepas de hongos y bacterias durante el período de inicio (CM = 44 días). *Prueba solo para hongos.



Pruebas bioquímicas

Hongos

Bacterias

Fig.3- Porcentaje (%) degradativo de los sustratos empleados en las pruebas bioquímicas: lactosa (LAC), glucosa (GLU), gas, nitrato (NIT), celulosa (CEL), lignina (LIG), pectina (PEC), inositol hexafosfato (INO), almidón (ALM), urea, gelatina (GEL), fósforo orgánico P-org*, tween, quitina (QUIT) para las cepas de hongos y bacterias durante el período de inicio (PM = 98 días). *Prueba solo para hongos.

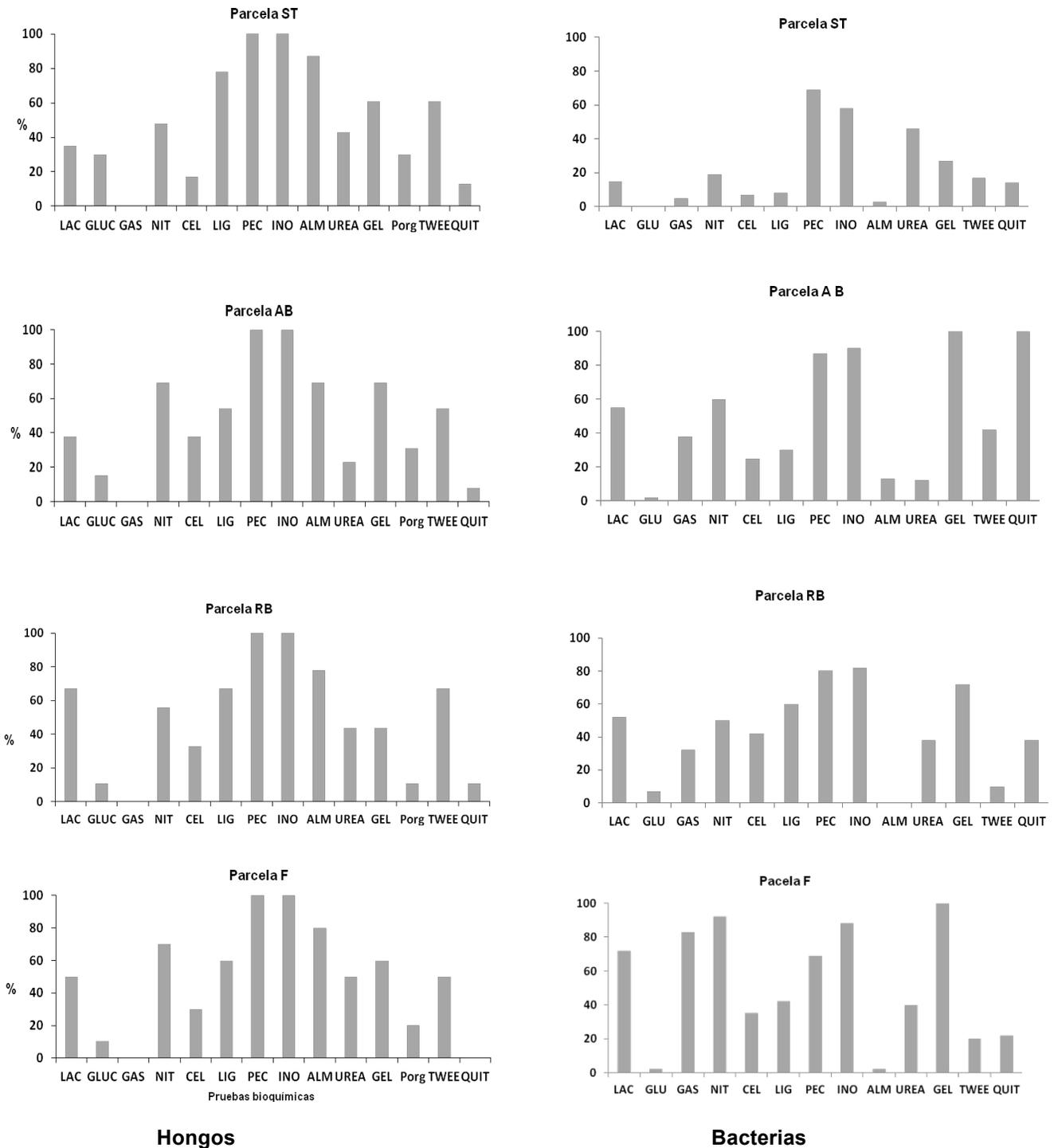


Fig.4- Porcentaje (%) degradativo de los sustratos empleados en las pruebas bioquímicas: lactosa (LAC), glucosa (GLU), gas, nitrato (NIT), celulosa (CEL), lignina (LIG), pectina (PEC), inositol hexafosfato (INO),

ISBN: 978-9968-641-26-5

almidón (ALM), urea, gelatina (GEL), fósforo orgánico P-org*, tween, quitina (QUIT) para las cepas de hongos y bacterias durante el período de inicio (PC= 144 días). *Prueba solo para hongos.

AF.5.O. Efecto del EDTA sobre *Medicago sativa* L. y *Cynodon dactylon* L. en la extracción de metales pesados de suelo de Cuernavaca, México

Effect of EDTA on *Medicago sativa* L. and *Cynodon dactylon* L. in the extraction of heavy metals from soil Cuernavaca, Mexico

Esther Matiana García Amador, Beatriz Guadalupe Castillo Delgado, Leticia López Vicente, Aida Zapata Cruz. Email: becariosemga@yahoo.com.mx.
Laboratorio de fitorremediación de suelos, Unidad de Investigación en Ecología Vegetal, FES Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México, México

RESUMEN

Los metales pesados, representan una amenaza para los seres vivos, por lo que se ha empleado la fitorremediación para mitigar el impacto de estos en el suelo regado con aguas residuales o tratadas y fertilizados con químicos, esta técnica, se basa en el uso de plantas para removerlos, estabilizarlos y/o degradar compuestos orgánicos, inorgánicos y radioactivos que resultan tóxicos en suelo y agua. Este proceso, puede ser optimizado de diferentes maneras, para metales pesados, es más eficiente cuando se incrementa la biodisponibilidad del metal por la adición de agentes quelantes que forman complejos solubles fácilmente asimilados por las plantas. Se evaluó la eficacia del agente quelante (EDTA), para movilizar los metales del suelo hacia las plantas: *Medicago sativa* L. y *Cynodon dactylon* L. Se utilizó suelo de Cuernavaca con EDTA (ácido etileno diamino tetra acético) para el tratamiento y suelo de Cuernavaca sin EDTA que sirvió como testigo. Los resultados que se obtuvieron fueron que *Medicago sativa* L. tuvo una acumulación mayor de Cr en raíz (47.6 mg/Kg); de Pb en tallo (65 mg/Kg) de Zn en hoja (29.8 mg/Kg); de Cd en tallo (3.9 mg/Kg) en suelo donde se añadió EDTA; y de Ni en raíz (19 mg/Kg); de Cu en hoja (4.4 mg/Kg) en suelo sin EDTA. En el caso de *Cynodon dactylon* L. presento concentraciones más altas de Cr (20.2 mg/Kg), Ni (13.9 mg/Kg), Zn (29.6 mg/Kg), Cu (10.7 mg/Kg), en raíz, en suelo con EDTA, y, Pb (66.7 mg/Kg), Cd (4.4 mg/Kg), en raíz, en suelo sin EDTA. por lo que se concluye que *Medicago sativa* L. es hiperacumuladora de Plomo, Zinc y Cadmio, y tolerante para Cromo, Níquel, Cobre, en suelo con y sin EDTA; y, *Cynodon dactylon* L. es hiperacumuladora de Zinc en suelo sin EDTA, y tolerante para Cromo, Níquel, Plomo, Cobre y Cadmio en ambos tratamientos.

Palabras clave: fitorremediación, bioacumulación, metales pesados.

ABSTRACT

Heavy metals pose a threat to living things, so phytoremediation has been used to mitigate the impact of these on the soil irrigated with sewage or treated and fertilized with chemicals, this technique is based on the use of plants to remove, stabilize and / or degrade organic compounds, inorganic and radioactive toxic resulting in soil and water. This process can be optimized in different ways, for heavy metals, is more efficient when bioavailability is increased by the addition of metal chelating agents which form soluble complexes easily assimilated by plants. The efficacy of the chelating agent (EDTA), to mobilize metals from soil to plants: *Medicago sativa* L. and *Cynodon dactylon* L. Cuemanco soil was used with EDTA (ethylene diamine tetra acetic acid) for the treatment and without EDTA Cuemanco floor which served as control. The results obtained were that *Medicago sativa* L. had a higher accumulation in root Cr (47.6 mg / Kg) of Pb in stem (65 mg / kg) Zn sheet (29.8 mg / Kg) of Cd in the stalk (3.9 mg / Kg) in soil where EDTA added, and Ni in the root (19 mg / kg) Cu sheet (4.4 mg / Kg) in soil without EDTA. In the case of *Cynodon dactylon* L. presented higher concentrations of Cr (20.2 mg / kg), Ni (13.9 mg / kg), Zn (29.6 mg / kg), Cu (10.7 mg / kg) in root in soil with EDTA, and Pb (66.7 mg / kg), Cd (4.4 mg / kg) in root in soil without EDTA. so it is concluded that *Medicago sativa* L. is hyperaccumulator Lead, Zinc and Cadmium, and tolerant to Chromium, Nickel, Copper, in soil with and without EDTA, and *Cynodon dactylon* L. is hyperaccumulator of zinc in soil without EDTA, and tolerant to chromium, nickel, lead, copper and cadmium in both treatments.

Keywords: phytoremediation, bioaccumulation, heavy metals.

INTRODUCCIÓN

Desde el comienzo de la revolución industrial, la contaminación del medio ambiente con metales tóxicos se ha incrementado dramáticamente (Bidar *et al.*, 2007; Del Rio *et al.*, 2002). Entre las diferentes fuentes de contaminación con metales, se incluyen los efluentes industriales, la producción de combustibles, la minería, la utilización de productos químicos agrícolas, la pequeña industria (incluida la producción de baterías, productos de metal, fundición de metales, las industrias de recubrimiento de cable), la combustión de carbón; la aplicación insegura o el exceso de (a veces prohibidos) pesticidas, fungicidas y fertilizantes (Jadia y Fulekar, 2009). Durante estos procesos los contaminantes se liberan continuamente al agua y el suelo, dañando a los organismos (Wang *et al.*, 2009).

Los metales pesados representan una amenaza para los seres vivos, por lo que se han desarrollado una serie de métodos para enmendar el impacto causado, estos suelen ser costosos y pueden afectar de manera irreversible las propiedades del suelo, agua y de los seres vivos que en ellos habitan (Poulik, 1999). Técnicas como la excavación,

solidificación, estabilización, lavado del suelo y fitorremediación se han empleado para mitigar el impacto de metales pesados en el ambiente del suelo (Sung *et al.*, 2011).

Cuando las tecnologías de remediación se basan en el uso de plantas, globalmente reciben el nombre de fitorremediación (Carpena y Bernal, 2007); consiste en la remoción, transferencia, estabilización y/o degradación y neutralización de compuestos orgánicos, inorgánicos y radioactivos que resultan tóxicos en suelos y agua. Esta tecnología tiene como objetivo degradar y/o asimilar los metales pesados presentes en el suelo, lo cual tiene muchas ventajas con respecto a los métodos convencionales de tratamientos en lugares contaminados; es una tecnología de bajo costo, posee un impacto regenerativo en lugares en donde se aplica y su capacidad extractiva se mantiene debido al crecimiento vegetal (Prieto *et al.*, 2009).

La fitorremediación, incluye la fitoestabilización y fitoextracción, que se consideran altamente rentables y no perjudiciales para las características físicas, químicas y biológicas del suelo. En la fitoextracción los metales pesados son eliminados a través de absorción y posterior translocación desde las raíces hasta las partes aéreas de las plantas. Con el fin de acelerar el proceso de fitoextracción, quelantes diferentes han sido utilizados en los suelos para ayudar a la translocación de metales rápido del suelo a las plantas (Sung *et al.*, 2011).

Se ha reconocido que el EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) es uno de los productos químicos más eficaces en la mejora de fitodisponibilidad de algunos metales en el suelo y la captación y posterior translocación en los brotes después de tratarse durante unos días (Zhuang *et al.*, 2005).

En este trabajo se evaluaron 2 especies (*Medicago sativa L.* y *Cynodon dactylon L.*) como plantas fitorremediadoras en un suelo contaminado (Cuemanco) para evaluar la eficacia de un agente quelante para ayudar a movilizar los metales a la planta. Es necesario conocer el potencial fitorremediador, con ayuda de un agente quelante (EDTA), de (*Medicago sativa L.* y *Cynodon Dactylon L.*), ya que hay escasos trabajos de investigación, además que estas especies de valor comercial son regadas con aguas negras en diferentes partes de la República Mexicana, debido a esto se empleó suelo contaminado de Cuemanco ya que sus canales son llenados con agua tratada de la planta del Cerro de la Estrella y emplean el sistema de chinampas (sedimento del fondo de los canales), y se ha observado una baja producción de hortalizas y de no remediarse esto, pueden presentarse problemas serios por los efectos tóxicos de los metales pesados sobre animales, plantas y la salud humana.

OBJETIVO

Determinar la capacidad de *Medicago sativa L.* y *Cynodon Dactylon L.* en la fitorremediación de suelo de Cuemanco-Xochimilco, México contaminado con níquel, zinc, plomo, cobre, cadmio, cromo, con ayuda de un agente quelante (EDTA).

MÉTODO

Zona de colecta de suelo

El lago de Xochimilco, México, se encuentra a 19°02'37" de latitud norte y 99°15'37" de longitud oeste de Greenwich, a una altura de 2246 msnm. Esta zona posee un clima, de acuerdo a la clasificación de Köppen modificado por García (1973) corresponde a templado con lluvias en verano. Su temperatura media anual es de 12.7° a 36 °C, con mínimas de hasta 8 °C y máximas de 31 °C. La precipitación media anual es de 891 mm; los vientos dominantes son del SE y alcanzan su intensidad en el mes de febrero, marzo, y abril; y el periodo de lluvias abarca de mayo a octubre; las heladas inician en noviembre y continúan hasta enero y febrero.

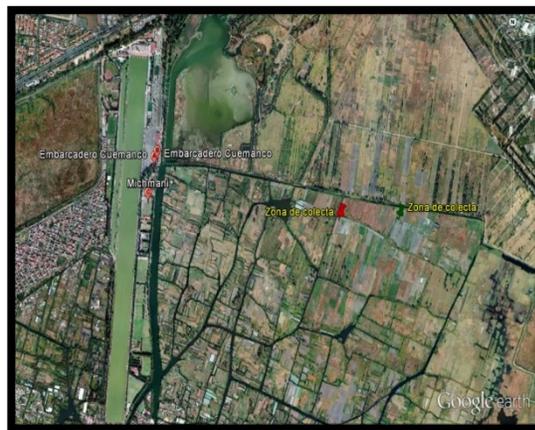


Fig. 1. Vista de la zona de colecta de suelo.

Cuemanco (figura 1), es uno de los principales canales de Xochimilco; este en la antigüedad era abastecido con el agua proveniente de los manantiales naturales, sus aguas servían para regar los cultivos y eran morada de aves nativas y migratorias; la sobreexplotación del agua agotó el caudal de los manantiales, provocando hundimiento en los terrenos y contaminación en las aguas del lago, ya que se llenan con aguas tratadas de la planta del Cerro de la Estrella, lo que ha provocado una alta contaminación de los sedimentos y suelo con metales pesados.

Se presentan asentamientos irregulares, inadecuadas prácticas productivas (utilización de químicos, nivelación de terrenos con materiales contaminantes, etc.), mal manejo y baja calidad del agua y altos niveles de contaminación. La erosión en chinampas se da por la pérdida de vegetación y ganadería extensiva. También hay salinización de suelos y alta presencia de plagas.

Colecta del suelo

Se seleccionaron al azar dos chinampas en las cuales se practica la agricultura, situadas en el canal de Cuemanco. Una de ellas fue la chinampa llamada "El Sabino"

ubicada a una latitud de 19° 16.648 norte y 99° 05.522 oeste; y otra fue una chinampa donde cultivan romerito, ubicada a una latitud de 19° 16.632 norte y a 99° 05.798 oeste, en ambas chinampas se colectó un saco de suelo de distintos puntos de las chinampas elegidos al azar. El cual se secó al aire después de colocarlo sobre pliegos de cartón. Posteriormente se preparó una mezcla compuesta.

Preparación del suelo

Se utilizó suelo de Cuemanco con EDTA (ácido etilen diamino tetra acético), se añadió 0.1 g. de EDTA 1 M por kilogramo de suelo y suelo de Cuemanco sin EDTA que sirvió como testigo. Se emplearon 60 recipientes de PVC de 25 cm de altura y 10 cm de diámetro para el cultivo de *Medicago sativa L.* (alfalfa) y *Cynodon dactylon L.* (pasto).

Especies vegetales

Se utilizaron semillas comerciales de *Medicago sativa L.* y *Cynodon Dactylon L.* por ser consideradas como plantas tolerantes a metales como Cobre, Níquel, Cadmio, Cromo, Plomo y Zinc (Sung *et al.*, 2011) (Bytyqi y Sherifi, 2010) (Del Rio *et al.*, 2002) (Sekabira *et al.*, 2011). Las semillas fueron desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio al 5%. La germinación de las semillas de alfalfa se realizó en cajas de Petri con papel filtro y algodón a temperatura ambiente. Una vez que las plántulas presentaron las primeras hojas verdaderas se hizo el trasplante. Las semillas de Pasto bermuda fueron sembradas de forma directa. Se utilizaron 30 ejemplares para cada especie, 15 de ellos recibieron el tratamiento con EDTA, mientras los otros 15 ejemplares fueron los testigos con solo suelo de Cuemanco. Las plantas fueron regadas de forma manual con agua destilada y se mantuvo a capacidad de campo.

VARIABLES EVALUADAS

La altura de las plantas; la concentración de metales pesados en raíz, tallo y hoja después de la cosecha y el factor de translocación calculado de acuerdo a la ecuación: $Tf = C_{\text{Tallos}} / C_{\text{Raíces}}$, donde C representa la concentración del metal en tallos y raíces (Shu, *et al.*, 2002).

Análisis de planta

En la cosecha, a cada ejemplar se le retiró el exceso de suelo evitando romper la raíz, se midió el total de la planta, posteriormente se midió raíz y parte aérea, se pesó y se lavó con agua destilada para retirar el suelo restante y polvo que había en parte aérea; se dividieron los órganos de las plantas en raíz, tallo, hoja y se depositaron en bolsas de papel previamente etiquetadas; se llevaron a estufa a 50 ° C para deshidratarlas hasta peso constante. Después se molieron las diferentes estructuras por separado. Para la digestión de la planta se hizo una mezcla triácida (Radojević y Bashkin, 1999). La concentración de metales pesados se determinó mediante espectrofotometría de absorción/emisión atómica Equipo Spectra 200 Marca Varian.

Análisis de suelo

El suelo se secó a temperatura ambiente, tamizó y almacenó para emplearlo en la determinación de metales pesados en suelo (antes y después de la cosecha) se determinó por espectrofotometría de absorción/emisión atómica Equipo Spectra 200 Marca Varian. Para el procedimiento de digestión se utilizó la Técnica de agua regia (Radojević y Bashkin, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Concentración de metales pesados en suelo

Tabla 1. Promedios de la concentración de metales pesados en suelo de Cuemanco.

Tratamiento	mg/Kg					
	Cr	Ni	Pb	Zn	Cu	Cd
Suelo sin EDTA (SC)	14	29.7	67	41.6	10.9	0.4
Suelo con EDTA (SE)	36.1	23.3	85	56	11.4	0.5
Suelo solo donde se cultivó Pasto (PC)	16.7	19.1	56.5	54.6	8.9	ND
Suelo EDTA donde se cultivó Pasto (PE)	35.2	18.2	124.5 ^k	50.8	9.3	0.5
Suelo solo donde se cultivó Alfalfa (AC)	13.2	23.3	46	11.6	9.8	0.1
Suelo EDTA donde se cultivó Alfalfa (AE)	16.5	16.7	68.5	9.9	10.2	ND
Rango normal en suelo ^(a)	5-1500	2-750	2-300	1-900	2-250	0.01-2.0
Concentración crítica en suelo ^(b)	75-100	100	100-400	70-400	60-125	3-8

Los datos proceden principalmente de Bowen, HJ. Environmental Chemistry of the Elements. Londres (1979). (b) Concentración crítica total en suelo. Kabata-Pendias, A. and Pendias H., Trace Elements in Soil and Plants. CR prensa, Boca Raton, Florida (1984). ND= no detecto; ^k valor crítico de acuerdo a Bowen, HJ. (1979).

Cromo, Plomo, Zinc, Cobre y Cadmio, presentaron las concentraciones más altas (Tabla 1) en el tratamiento de suelo con EDTA (SE) en comparación con el tratamiento sin EDTA (SC). El Plomo, en el tratamiento de suelo con EDTA donde se cultivó

Cynodon dactylon (PE), se considera como tóxico de acuerdo a Kabata-Pendias y Pendias (1984). En los demás tratamientos, los metales estaban en un rango normal (Cuadro 1). La concentración de todos los metales del estudio en suelo con y sin EDTA disminuyeron después de la cosecha de *Medicago sativa*; Ni, Pb, Cu y Cd, presentaron el mismo comportamiento para el caso de *Cynodon dactylon*. La reducción de la concentración de los metales pesados en el suelo se atribuye a su absorción por las plantas (Ciura *et al.*, 2005; Singh *et al.*, 2009). En el suelo con EDTA donde se cultivó *Medicago sativa* (AE), y *Cynodon dactylon* (PE) presentó Cromo, Plomo y Cobre en concentración mayor, que en suelo sin EDTA donde se cultivó *Medicago sativa* (AC) y *Cynodon dactylon* (PC); el pH elevado (7.4- 7.8) representa una baja movilidad en el suelo (Abou-Shanab *et al.*, 2007); a pesar que estos metales tienen una movilidad entre media y muy baja, debido al pH medianamente alcalino (7.4-8.5) del suelo (Plant y Raiswell, 1983), la adición del quelante (EDTA), mejoró la capacidad de los metales para movilizarse en él, por lo que se incrementa la concentración de estos en el suelo (Huang *et al.*, 1997).

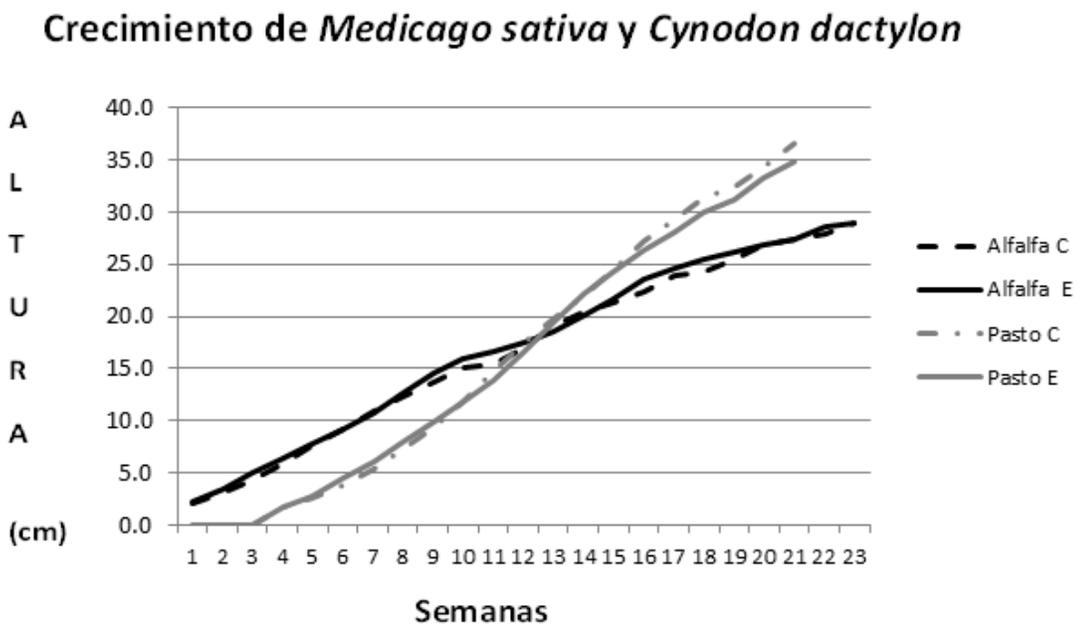


Fig. 2. Altura promedio de *Medicago sativa* L. y *Cynodon dactylon* L.

Medicago sativa L. a lo largo del estudio obtuvo un crecimiento similar en ambos tratamientos (AE y AC). Al terminar el periodo vegetativo en suelo sin EDTA alcanzó una altura de 29 cm y con EDTA 28.9 cm; *Cynodon dactylon* L. durante el estudio presentó alturas semejantes para ambos tratamientos (PE y PC), al final, llegó a una altura de 36.6 cm en suelo sin EDTA y 34.8 cm en suelo con EDTA; de acuerdo al análisis estadístico realizado, con un nivel de confianza del 95% de acuerdo al método de Fisher (LSD), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las alturas de los tratamientos: La altura de *Medicago sativa* se vio afectada negativamente (Bonfranceschi *et al.*, 2009), ya que ambos tratamientos quedaron por debajo de la mencionada por algunos autores que es entre 40 y 60 cm (Rebuffo *et al.*, 2000; Singh *et al.*, 2009). Cuando las condiciones del medio no son adecuadas,

Medicago sativa tiene la capacidad de detener su crecimiento (Ayanz, 2007). El crecimiento de Pasto bermuda no se vio afectado, alcanzó una altura semejante a la reportada en la descripción de esta especie (Herbotecnia, 2005); ya que por lo común crece de 10 a 14 cm, aunque puede desarrollarse hasta los 40 cm (Halvorson y Guertin, 2003).

Concentración de metales pesados en planta

Tabla 2. Promedios de la concentración de metales pesados en diferentes órganos de *Medicago sativa* L. y *Cynodon dactylon* L.

Muestra	mg/Kg					
	Cr	Ni	Pb	Zn	Cu	Cd
Parte aérea Pasto sin EDTA (PC)	10.5 ^k	5.5	24.5	28.5	3.0	0.4
Parte aérea Pasto con EDTA (PE)	19 ^k	4.85	54 ^k	35.4	7.3	1.0
Hoja Alfalfa sin EDTA (AC)	10.6 ^k	4.6	38 ^k	24.9	4.4	1.6
Hoja Alfalfa con EDTA (AE)	31 ^k	6.0	39.5 ^k	29.8	4.0	1.7
Tallo Alfalfa sin EDTA (AC)	10.5 ^k	0.8	34.5 ^k	11.3	0.3	2
Tallo Alfalfa con EDTA (AE)	11 ^k	1.1	65 ^k	23.2	2.4	3.9
Raíz Pasto sin EDTA (PC)	18 ^k	11.7 ^k	66.7 ^k	29.5	6.5	4.4
Raíz Pasto con EDTA (PE)	20.2 ^k	13.9 ^k	63.3 ^k	29.6	10.7	3.4
Raíz Alfalfa sin EDTA (AC)	43.7 ^k	19 ^k	31.5 ^k	9.6	2.5	0.8
Raíz Alfalfa con EDTA (AE)	47.6 ^k	17.0 ^k	38.5 ^k	10.32	3.8	2.6
Rango normal en plantas ^(a)	0.03-14	0.02-5	0.2-20	1-400	5-20	0.1-2.4
Concentración crítica en plantas ^(b)	5-30	10-100	30-300	100-400	20-100	5-30

Los datos proceden principalmente de Bowen, HJ. Environmental Chemistry of the Elements. Londres (1979). (b) Concentración crítica total en planta. Kabata-Pendias y Pendias (1984) ^k valor crítico de acuerdo a Bowen, HJ. (1979).

De acuerdo a la tabla 2, se observa que en ambos tratamientos (PC Y PE) de *Cynodon dactylon* se presentó una concentración crítica de Cr en raíz (Kabata-Pendias y Pendias, 1984) y se movilizó hacia parte aérea pero en menor concentración, comportamiento semejante al de *Medicago sativa*; las concentraciones son ligeramente mayores en los tratamientos con EDTA que sin éste quelante; se observa que se acumula más en raíz seguido por el tallo y hoja; de tal manera que la fitoextracción inducida basada en la aplicación de agentes quelantes, tales como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ha sido probado con diferentes especies vegetales,

para aumentar la biodisponibilidad de metales pesados, mejorando así la absorción por la planta y la translocación de metales pesados de las raíces a parte aérea, (Hernandez-Allica *et al.*, 2007; Sinhal *et al.*, 2010; Kumar *et al.*, 2011). La traslocación de Cromo de las raíces hacia los brotes es extremadamente limitado y su acumulación por las raíces es mayor que para los brotes, independientemente de las especies (Ciura *et al.*, 2005). El Pb no se acumuló solo en raíz, donde tuvo la mayor concentración, también se movilizó hasta parte aérea (Tabla 2), a nivel crítico (Kabata-Pendias y Pendias, 1984), debido a la adición del quelante en el suelo, donde se desarrolló *Cynodon dactylon* y *Medicago sativa*, se queda la mayor concentración en raíz debido a que es un metal con poca movilidad (Ciura *et al.*, 2005) y se considera casi inmóvil (Şekara *et al.*, 2005; Ciura *et al.*, 2005; Mireles *et al.*, 2004); los resultados de esta investigación demuestran que la adición de EDTA permitió que el Pb se traslocara hasta la parte aérea de la planta, es el tallo el tejido que más concentración presenta, a diferencia de otras plantas como las compuestas al acumularlo en hojas (Sinhal *et al.*, 2010; Liphadzi y Kirkham, 2006). Para el Ni (Tabla 2) se observa que solo se presentan concentraciones críticas en la raíz de las dos especies en ambos tratamientos y este no se trasloca a la parte aérea donde la concentración se considera normal (Kabata-Pendias y Pendias, 1984). En el caso de la alfalfa la concentración es mayor en el tratamiento de suelo con EDTA, ya que el quelante permite una mayor acumulación del metal en estos órganos (Sung *et al.*, 2011). Para Zn, Cu y Cd las concentraciones de las dos especies en ambos tratamiento de acuerdo a Kabata-Pendias y Pendias (1984), son consideradas normales. *Cynodon dactylon*, en suelo con EDTA concentro más Zinc en parte aérea (Tabla 2), en comparación con el tratamiento sin EDTA a diferencia de *Medicago sativa*, la cultivada en suelo con EDTA concentró Zinc en mayor cantidad en las hojas seguido por tallo y raíz. Un comportamiento similar tiene *Tagetes erecta*, acumulando en parte aérea (hoja > tallo) una mayor concentración de Zn con la adición de EDTA y en raíz pero a menor concentración que parte aérea (Sinhal *et al.*, 2010). El Zn tiene efectos positivos en el crecimiento de *Medicago sativa* incluso a concentraciones moderadamente altas, este elemento junto con Ni y Cu son micronutrientes esenciales para la nutrición de las plantas. La fisiología y bioquímica de los efectos tóxicos de Zn en plantas son similares a los reportados para otros metales pesados, sin embargo, no se considera altamente fitotóxico (Aydinalp y Marinova, 2009). Las plantas acumulan fácilmente Zn en tallo y hoja. la resistencia de las plantas a altos niveles de zinc en los tejidos puede ser un factor que favorece la fitoextracción de Pb (Ciura *et al.*, 2005). La concentración mayor de Cu en *Cynodon dactylon*, en el tratamiento PE, estuvo en raíz seguido por parte aérea. El cobre es un metal, que una vez que es absorbido, se acumula en las raíces, incluso cuando hayan sido dañadas por la toxicidad (Aydinalp y Marinova, 2009). *Cynodon* acumula más cobre en raíz al crecer en suelos sin EDTA (Abou-Shanab *et al.*, 2007; Sekabira *et al.*, 2011). El mayor contenido de Cu en *Medicago sativa*, fue en hoja seguido por raíz y tallo, debido a la adición de EDTA en el suelo. En los resultados de Mireles *et al.*, (2004) la raíz acumulo más el metal seguido por hoja > tallo en *Medicago sativa* en suelos sin EDTA. El cadmio (Tabla 2) en el tratamiento de *Cynodon dactylon* para suelo con EDTA se observa una concentración mayor en raíz, en el tratamiento AE, *Medicago sativa* acumulo mayor cantidad de Cd en tallo seguido por raíz y hoja. La cantidad de cadmio acumulado por las plantas aumenta con el incremento de la concentración de este metal en el medio de cultivo (Singh *et al.*, 2009) y en los trabajos de (Hajibolan 2005;

Singh *et al.*, 2009) el cadmio se acumula principalmente en las raíces de la planta. Cd es un elemento bastante inmóvil, se ha clasificado como de toxicidad intermedia, normalmente los iones Cd se mantienen principalmente en las raíces, y sólo pequeñas cantidades se transportan a los brotes (Jadia y Fulekar, 2008; Sanità y Gabrielli, 1999; Singh *et al.*, 2009). Las plantas pueden acumular grandes cantidades de este elemento, aunque su concentración en el suelo sea baja (Ciura *et al.*, 2005).

Factor de Traslocación

Tabla 3. Traslocación de metal en *Medicago sativa L.* y *Cynodon dactylon L.* en suelo de Cuemanco sin EDTA y con EDTA.

Metal	<i>Medicago sativa L.</i>		<i>Cynodon dactylon L.</i>	
	Factor de Traslocación (a)	Factor de Traslocación (b)	Factor de Traslocación (a)	Factor de Traslocación (b)
Cromo	0.24	0.23	0.58	0.94
Níquel	0.04	0.06	0.54	0.36
Plomo	1.15 ^k	1.70 ^k	0.37	0.8
Zinc	1.18 ^k	2.25 ^k	0.97	1.19 ^k
Cobre	0.12	0.63	0.48	0.68
Cadmio	2.79 ^k	1.51 ^k	0.08	0.31

^k hiperacumuladora, suelo de Cuemanco sin EDTA (a), suelo de Cuemanco con EDTA (b).

Los valores (Tabla 3) del Factor de Traslocación (FT) dicen que si es menor a 1 se considera que la planta es tolerante, pero si es mayor a 1 es hiperacumuladora (Shu, *et al.*, 2002; Sung *et al.*, 2011), por lo que Alfalfa es hiperacumuladora de Plomo, Zinc y Cadmio y tolerante a Cromo, Níquel y Cobre en suelo sin EDTA; en suelo con EDTA es hiperacumuladora de Plomo, Zinc y Cadmio, y tolerante a Cromo, Níquel y Cobre. Pasto bermuda es una planta hiperacumuladora de Zinc y tolerante a Cromo, Níquel, Plomo, Cobre, Cadmio en suelo con EDTA; en suelo solo Pasto bermuda es tolerante a Cr, Ni, Pb, Zn, Cuy Cd.

CONCLUSIONES

La adición del agente quelante (EDTA), mejoró la capacidad de Cromo, Plomo, Zinc, Cobre y Cadmio para movilizarse en el suelo.

El crecimiento de *Medicago sativa L.* y *Cynodon dactylon L.* fue similar en suelo con y sin EDTA; *Medicago* se vio afectada en los tratamientos quedando por debajo de la altura descrita por esta especie; *Cynodon* en cambio no se vio afectado.

Medicago sativa L. concentró más Cromo en raíz, Plomo y Cadmio en tallo, Zinc y Cobre en hoja, en suelo donde se añadió el agente quelante (EDTA) y Níquel en raíz en suelo sin EDTA.

Cynodon dactylon L. concentró más Cr, Ni, Zn, Cu en raíz en suelo con la adición de EDTA y Plomo y Cadmio en raíz, en suelo sin EDTA.

Medicago sativa L. es hiperacumuladora de Plomo, Zinc y Cadmio, y, tolerante para Cromo, Níquel, Cobre, en suelo con y sin EDTA.

Cynodon dactylon L. es hiperacumuladora de Zinc en suelo sin EDTA, y, tolerante para Cromo, Níquel, Plomo, Cobre y Cadmio en ambos tratamientos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abou-Shanab, R., Ghanem, N., Ghanem, K., Al-Kolaibe, A. (2007). Phytoremediation Potential of Crop and Wild Plants for Multi-metal Contaminated Soils. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 3(5), 370-376.

Ayanz, A. (2007). *Leguminosas de interés para la implantación de praderas. Ecología y pautas básicas de utilización*. España: Universidad Politécnica de Madrid. Departamento de Silvopascicultura.

Aydinalp. C., Marinova, S. (2009). The effects of heavy metals on seed germination and plant growth on Alfalfa plant (*Medicago sativa*). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 15 (4), 347-350.

Bidar, G., Garçon, G., Pruvot, C., Dewaele, D., Cazier, F., Douay, F., Shirali, P. (2007). Behavior of *Trifolium repens* and *Lolium perenne* growing in a heavy metal contaminated field: Plant metal concentration and phytotoxicity. *Environmental Pollution* 147, 546-553.

Bonfranceschi, A., Flocco, C., Donati, E. (2009). Study of the heavy metal phytoextraction capacity of two forage species growing in an hydroponic environment. *Journal of Hazardous Materials*, 165, 366-371.

Bytyqi, A., Sherifi, E. (2010). Cadmium and lead accumulation in Alfalfa (*Medicago Sativa L.*) and their influence on the number of stomata. *Materials and technology*, 44 (5), 277-282.

Carpena, R., Bernal, M. (2007). Claves de la fitorremediación: fitotecnologías para la recuperación de suelos. *Ecosistemas*, 16 (2), 1-3.

Ciura, J., Poniedziałek, M., Sękara, A., Jędrszczyk. E. (2005). The possibility of using crops as metal phytoremediants. *Polish Journal of Environmental Studies*, 14 (1), 17-22.

- Del Río, M., Font, R., Almela, C., Vélez, D., Montoro, R., De Haro, A. (2002). Heavy metals and arsenic uptake by wild vegetation in the Guadiamar river area after the toxic spill of the Aznalcóllar mine. *Journal of Biotechnology*, 98, 125-137.
- Hajiboland, R. (2005). An evaluation of the efficiency of cultural plants to remove heavy metals from growing medium. *Plant Soil Environment*, 51 (4), 156–164.
- Halvorson, W., Guertin, P. (2003). *Cynodon dactylon* (L.) Pers. USGS Weeds in the West project: Status of Introduced Plants in Southern Arizona Parks. USA: University of Arizona.
- Herbotecnia. (2005). Pata de Perdíz, Gramón. *Herbotecnia*. Recuperado el 2 de enero de 2012. Desde: <http://www.herbotecnia.com.ar/exo-cynodon.html>.
- Hernandez-Allica, J., Garbisu, C., Barrutia, O. Becerril, J. (2007). EDTA-induced heavy metal accumulation and phytotoxicity in cardoon plants. *Environmental and Experimental Botany*, 60, 26–32.
- Huang, J., Chen, J., Berti, W., Cunningham, S. (1997). Phytoremediation of lead-contaminated soils: Role of synthetic chelates in lead phytoextraction. *Environment Science Technoly*, 31, 800-805.
- Jadia, C., Fulekar, M. (2008). Phytotoxicity and Remediation of Heavy Metals by Alfalfa (*Medicago sativa*) in Soil-vermicompost Media. *Advances in Natural and Applied Sciences*, 2(3), 141-151.
- Kabata-Pendias, A., Pendias, H. (1989). Trace Elements in Soils and Plants. 2nd ed. USA: CRC Press. Boca Raton, Florida.
- Kumar, J., Srivastava, A., Singh, V. (2011). EDTA enhanced phytoextraction of Pb by Indian mustard (*Brassica juncea* L.). *Plant Sciences Feed*, 1 (9), 160-166.
- Liphadzi, M., Kirkham, M. (2006). Availability and plant uptake of heavy metals in EDTA-assisted phytoremediation of soil and composted biosolids. *South African Journal of Botany*, 72, 391–397.
- Mireles, A., Solis, C., Andrade, E., Lagunas, M., Piña, C., Flocchini, R. (2004). Heavy metal accumulation in plants and soil irrigated with wastewater from Mexico City. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 219,220, 187–190.
- Plant, J., Raiswell, R. (1983). Principles of environmental chemistry. En Thornton I (Eds). *Applied Environmental Geochemistry*, 1-39. Londres: Academic Press.
- Poulik, Z. (1999). Influence of nickel contaminated soils on lettuce and tomatoes. *Scientia Horticulturae*, 81, 243-250.
- Prieto, J., González, C., Román, A., Prieto, F. (2009). Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10 (1), 29-44.
- Radojević, M., Bashkin, V. (1999). *Practical Environmental Analysis*. Great Britain: The Royal Society of Chemistry. Cambridge.
- Rebuffo, M., Risso D., Restaino E. (2000). Tecnología en alfalfa. *Boletín de divulgación* 69. INIA. Uruguay.
- Sanità, L., Gabrielli, R. (1999). Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany*, 41, 105–130.
- Sekabira, K., Oryem, H., Mutumba, G., Kakudidi, E., Basamba, T. (2011). Heavy metal phytoremediation by *Commelina benghalensis* (L) and *Cynodon dactylon* (L) growing in Urban stream sediments. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 3(8), 133-142.

- Sękara, A., Poniedziałek, M., Ciura, J., Jędrszczyk, E. (2005). Zinc and Copper accumulation and distribution in the tissues of nine crops: Implications for Phytoremediation. *Polish Journal of Environmental Studies*, 14 (6), 829-835.
- Sinhal, V., Srivastava, A., Singh, V. (2010). EDTA and citric acid mediated phytoextraction of Zn, Cu, Pb and Cd through marigold (*Tagetes erecta*). *Journal of Environmental Biology*, 255-259.
- Shu, W., Ye, Z., Lan, C., Zhang, Z., Wong, M. (2002). Lead, zinc and copper accumulation and tolerance in populations of *Paspalum distichum* and *Cynodon dactylon*. *Environment Pollution Journal*, 120 (2), 445–453.
- Singh, A., Eapen, S., Fulekar, M. (2009). Potential of *Medicago sativa* for uptake of cadmium from contaminated environment. *Romanian Biotechnological Letters*, 14 (1), 4164-4169.
- Sung, M., Lee, C., Lee, S. (2011). Combined mild soil washing and compostassisted phytoremediation in treatment of silt loams contaminated with copper, nickel, and chromium. *Journal of Hazardous Materials*, 190, 744-754.
- Wang, C., Zhang, S., Wang, P., Hou, J., Zhang, W., Li, W., Lin, P. (2009). The effect of excess Zn on mineral nutrition and antioxidative response in rapeseed seedlings. *Chemosphere*, 75, 1468-1476.
- Zhuang, P., Ye, Z., Lan, C., Xie, Z., Shu, W. (2005). Chemically assisted phytoextraction of heavy metal contaminated soils using three plant species. *Plant and Soil*, 276, 153-162.

AF.6.O. Efecto del Yodo sobre Fusarium Oxysporum aislado de papa (solanum tuberosum) "in vitro"
Effect of Iodine on Fusarium oxysporum isolated from potato (Solanum tuberosum) "in vitro"

Martínez-García, Pablo¹; Navarrete-Maya, Rosa²; Reyes-Sánchez, Laura Bertha¹; Benavides Mendoza Adalberto³

¹Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Departamento de Ciencias Agrícolas; ²Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Departamento de Ciencias Agrícolas, Unidad de Investigación en Granos y Semillas: UNIGRAS; ³Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Horticultura. 00-52-55-1113-2614, martinez_gap@hotmail.com; rosa_navarrete@hotmail.com; lbrs@unam.mx; abenmen@yahoo.com

RESUMEN

El cultivo de la papa (*Solanum tuberosum*) a nivel mundial ocupa el cuarto lugar, detrás del maíz (*Zea mays*), el trigo (*Triticum aestivum*) y el arroz (*Oryza sativa*), como un alimento básico de la seguridad alimentaria. En México es de los pocos cultivos que se pueden cultivar en casi todo el territorio nacional. Una de las principales enfermedades que afectan a la papa, y que se encuentra dentro de los primeros siete patógenos de riesgo e importancia agrícola es la pudrición seca, causada por *F. oxysporum* entre otros. En la presente investigación se evaluó el efecto sobre *F. oxysporum* de dos sales de Yodo; el yodato de potasio (KIO_3) y el yoduro de potasio (KI), así como dos fungicidas comerciales a base de yodo. Se aplicaron tres diferentes concentraciones (5 %, 10 % y 15% de Yodo libre) de cada tratamiento sobre cajas de Petri con medio Papa-Dextrosa-Agar, para después inocularse con el hongo. Se midió el crecimiento micelial durante siete días a $25^\circ C \pm 2^\circ C$. Se eligieron tres tratamientos representativos y diferentes estadísticamente para evaluar el desarrollo, a través del conteo de estructuras reproductivas como micro y macro conidios, y de resistencia como las clamidosporas, en cámara de Neubauer. Los resultados fueron contundentes para el tratamiento de yodato de potasio al 15 % en ambas variables (crecimiento y desarrollo). Se atiende así a la necesidad de desarrollar métodos sostenibles para el control de

patógenos, utilizando -como es el caso del yodo-, elementos y compuestos que se encuentran presentes en la naturaleza, económicos y de origen nacional.

Palabras Clave: Sostenibilidad, yodato de potasio, pudrición seca, clamidosporas.

ABSTRACT

The cultivation of the potato (*Solanum tuberosum*) worldwide ranks fourth, behind corn (*Zea mays*), wheat (*Triticum aestivum*) and rice (*Oryza sativa*), as a staple of food security. In Mexico is the few crops that can be grown in almost the entire country. One of the major diseases affecting potato, and that is within the first seven risk pathogens and agricultural importance is rot, caused by *f. oxysporum* among others. This research evaluated the effect on *f. oxysporum* iodine as iodide of potassium salts (KIO_3) and iodide of potassium (KI) and two commercial fungicides iodine-based. Three different concentrations (5%, 10% and 15% of free iodine) of each treatment were applied with medium Potato-Dextrose-Agar on Petri plates, to then be inoculated with the fungus. Mycelial growth was measured over seven days at $25^\circ C \pm 2^\circ C$. Three representative and different treatments were statistically chosen to evaluate the development, through count as micro and macro conidia reproductive structures, and resistance as the chlamydo spores, in Neubauer Chamber. The results were strong for the treatment of potassium iodate to 15% in both variables (growth and development). With the above addresses the need to develop sustainable for pathogen control methods, as in the case of iodine; element that has been shown is low-pollution and is located in the nature.

Keywords: Sustainable, potassium iodate, dry rot, chlamydo spores.

INTRODUCCIÓN

El género *Solanum*, de la familia de las Solanáceas es muy vasto, cuenta con alrededor de 1000 especies, las cuales están ampliamente distribuidas en el mundo; sin embargo, existe una fuerte concentración de especies en América. Se conocen alrededor de 200 especies de Solanáceas tuberosas repartidas en 21 series taxonómicas, se les encuentra desde las Montañas Rocosas hasta el sur de Chile, sobre todo en zonas elevadas, aunque algunas especies se encuentran en las llanuras de Argentina, Uruguay y en el sur de Brasil así como en los litorales peruano y chileno del Pacífico (Rousselle et al., 1999).

El cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) a nivel mundial, conjuntamente con el maíz (*Zea mays*), el trigo (*Triticum aestivum*) y el arroz (*Oryza sativa*), son los cuatro rubros

alimenticios básicos de la seguridad y soberanía alimentaria en formas variadas de consumo por los diferentes segmentos del mercado (Panchi et al., 2011).

En México el cultivo de papa tiene una gran importancia económica, ya que es de los pocos cultivos que se desarrollan en casi todo el territorio nacional. Actualmente se cultiva en 23 estados de la República, pero sólo seis aportan aproximadamente el 66% de la producción total (SIAP, 2012). Este cultivo es afectado por varias enfermedades causadas por hongos fitopatógenos, las cuales generan pérdidas económicas. Una de las principales enfermedades que aquejan a este cultivo es la pudrición seca de la papa causada por *Fusarium spp.*, es la enfermedad más importante causada por un complejo de especies de este hongo, entre las que destaca *F. oxysporum*, afectando al cultivo desde el almacenamiento hasta la cosecha, con reducciones en calidad y rendimiento, que pueden ser significativas si no se trata el problema (Trinidad, 2012). Los principales síntomas de la pudrición seca de la papa causada generalmente por *Fusarium oxysporum* son lesiones oscuras, ligeramente hundidas, que luego se extienden superficialmente, dejando cavidades internas que pueden contener micelio. En el borde, la pudrición es claramente definida, aparecen anillos concéntricos sobre la superficie del tubérculo y el micelio externo es evidente, secando y endureciendo al tubérculo (Centro Internacional de la Papa, 1996).

Esta enfermedad es controlada frecuentemente con fungicidas sintéticos, los cuales presentan un efecto negativo en la biosfera y provocan el desarrollo de cepas fúngicas resistentes. Actualmente, se buscan alternativas ecológicas para el control de plagas y enfermedades (García, 2008).

El control convencional con agroquímicos de los tubérculos-semillas ha demostrado ser ineficaz (Montaldo, 1984); es por esto que la presente investigación busca evaluar el efecto de sales de yodo (KIO_3 y KI) a tres concentraciones (15%, 10% y 5%) de yodo libre y compararlo con dos fungicidas comerciales a base de yodo (Yodal[®] e Iodine[®]) sobre *Fusarium oxysporum* aislado de papa (*S. tuberosum*), utilizando concentraciones mínimas que impacten escasamente al ambiente, e incrementar el beneficio social que implica salvaguardar la producción de un cultivo básico de la economía nacional.

MATERIALES Y MÉTODOS

El patógeno utilizado fue obtenido de aislamientos realizados en trabajos anteriores, a partir de papas comerciales con los síntomas característicos de *Fusarium oxysporum*. Se inoculó sobre cajas de Petri con medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA), acidificado.

Los tratamientos de Yoduro de potasio (KI) y Yodato de potasio (KIO₃) fueron obtenidos del almacén de Química en la UNAM-FESC-1, para uso en laboratorio y con una pureza del 99.3 y 99.5 % respectivamente.

Los tratamientos de Yodal[®] (yodo libre 10g/L, surfactante no menos del 28 %) e Iodine[®] (Complejo de yodo-nonilfenoxil-polietoxi-etanol, con 2.5 % de yodo disponible) fueron donados de un productor de papa en Los Mochis, Sinaloa.

Se propuso realizar los siguientes experimentos planteando la forma de evaluar a través de:

Crecimiento; medir el porcentaje de inhibición que tuvo el tratamiento sobre el hongo durante siete días a una temperatura constante de 25°C ± 2, y

Desarrollo; mediante el conteo de estructuras reproductivas y de resistencia como micro conidios, macro conidios y clamidosporas, indicando si tuvo influencia en la producción de estas, como futuro inóculo y medio de dispersión.

Se realizó con un diseño completamente al azar con 12 tratamientos y un testigo, cada uno con 6 repeticiones (Ver cuadro 1). Las unidades experimentales constaron de una caja de Petri con medio de cultivo PDA (Papa-Dextrosa-Agar + tratamiento), con un total de 72 unidades experimentales (u. e.).

Cuadro 1. Tratamientos utilizados en el experimento.

Tratamientos (% de yodo libre)				
KIO ₃ al 5%	KI al 5%	Yodal al 5%	Iodine al 5%	Testigo s/t
KIO ₃ al 10%	KI al 10%	Yodal al 10%	Iodine al 10%	
KIO ₃ al 15%	KI al 15%	Yodal al 15%	Iodine al 15%	

Con el fin de observar el comportamiento de los datos se realizó un análisis de varianza con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$

Se calculó la concentración de yodo en todos los tratamientos, (KIO₃, KI, Yodal[®] y Iodine[®]), llevando cada uno al 5 %, 10 % y 15 % de yodo libre; concentraciones que fueron seleccionadas tomando como base la concentración de yodo libre en los fungicidas comerciales que es de 10 % y calculando concentraciones en dos extremos (5 % y 15 %) para preparar la soluciones.

En el caso particular de los tratamientos con KIO₃ al 10 y 15 % fue necesario someterlos a baño maría y agitación, el tratamiento al 15% después de cuatro horas de

agitación continua no se logró disolver por completo, ya que se llegó al punto de saturación, por lo que al no existir otra alternativa para su completa disolución se continuó el experimento con la solución saturada.

Sobre cajas de Petri con medio de cultivo PDA se colocaron aproximadamente tres gotas de solución de cada tratamiento con la ayuda de una micropipeta, y se distribuyó el tratamiento con un triángulo de vidrio, previamente esterilizado. Con la ayuda de un saca bocados de 7 mm se hicieron los cortes al azar en cajas con el hongo previamente cultivado, y apoyados de una aguja de disección se cogieron los “tamborcitos” del hongo que se colocaron en el centro de las cajas con los diferentes tratamientos.

MEDICIÓN DE CRECIMIENTO MICELIAL

El crecimiento micelial de *F. oxysporum* se da a una velocidad importante, por lo que fue necesario medir cada 24 horas las diferentes cajas de Petri con un vernier electrónico, tomando el diámetro de lado a lado, por la parte posterior de la caja. Los resultados se registraron en tablas para su análisis. Este procedimiento se realizó durante siete días (Mier *et al.*, 2002).

Los resultados se sometieron a un análisis estadístico con el Software estadístico SAS 9.0. Desde un análisis de varianza hasta una comparación de medias para un diseño completamente al azar por el método de Tukey.

Conteo de estructuras: (*Micro conidios, Macro conidios y Clamidosporas*).

El Conteo de estas estructuras se realizó con la ayuda de una cámara de Neubauer, donde para el caso de las estructuras más pequeñas (micro conidios) se tomaron cinco cuadritos del cuadro central. Para los macro conidios y clamidosporas se tomaron los cuatro cuadros grandes a los extremos del cuadro central.

La selección de las muestras para el micro conteo, fue a partir de una observación cualitativa, excluyendo unidades que pudieran presentar contaminación y tomando en cuenta los resultados del análisis de varianza y comparación de medias del experimento anterior para la variable “crecimiento micelial”.

Para poder contar las estructuras se tomaron tres muestras de 7 mm de diámetro del hongo y se colocaron sobre tubos de ensaye con 5mL de agua destilada estéril. Después, con una micro pipeta se tomó 1mL vaciando la cantidad necesaria en la cámara de Neubauer y procediendo a realizar el conteo.

Para obtener el número total de estructuras reproductivas los resultados fueron ajustados de acuerdo con Hansen (2000), mediante las siguientes fórmulas para obtener el número total de estructuras reproductivas:

Micro conidios: $t \cdot f \cdot 50,000$, Macro conidios y Clamidosporas: $t \cdot 5 \cdot 25,000$ donde t: es el número total de estructuras contadas, y f: el factor de dilución, en este caso se utilizaron 5 mL, 50,000 y 22,000: Constantes

Se procedió al análisis de los resultados con una prueba estadística de análisis de varianza para un diseño completamente al azar, y una comparación de medias por el método de Tukey con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ con el software SAS 9.0[®]

RESULTADOS Y ANÁLISIS

El tratamiento con Yodal, fue eliminado de las pruebas, ya que en todos los ensayos realizados, existió contaminación por *Trichoderma* spp. y otras especies utilizadas para control biológico de *Fusarium* spp. (Ver Figura 1)

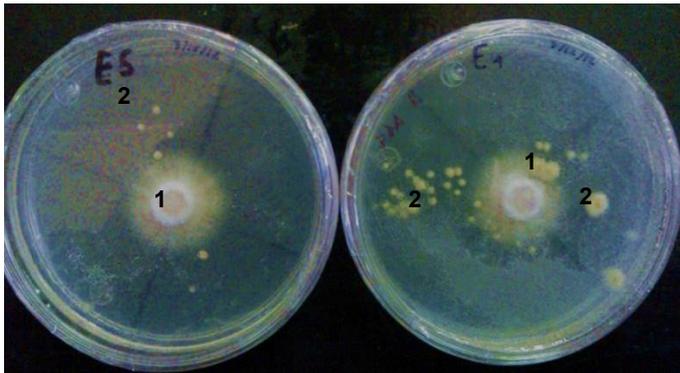
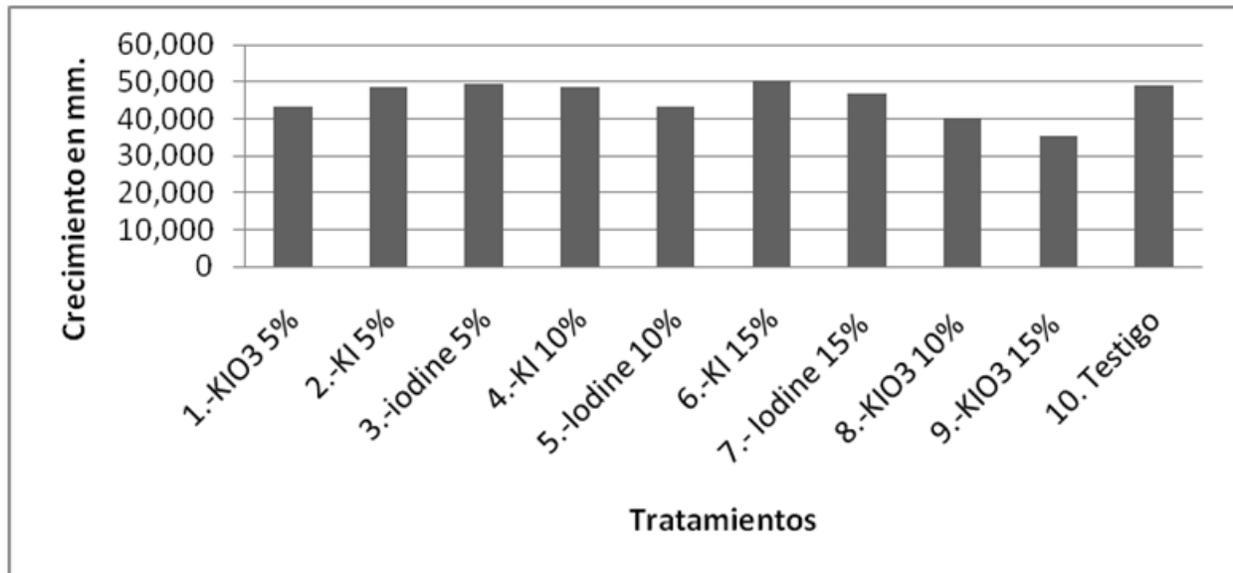


Figura 1. Crecimiento de *Trichoderma* spp. y otras especies utilizadas para el control biológico de *Fusarium*, del tratamiento eliminado de Yodal[®]

Variable: Crecimiento Micelial

Al comparar los tratamientos es evidente una diferencia significativa en el crecimiento de micelio como se observa en la gráfica 1.

Gráfica 1. Crecimiento micelial (mm) de *Fusarium oxysporum* spp. durante siete días con diferentes tratamientos.



Particularmente se distingue que el tratamiento 9.- KIO₃ al 15% resultó con un menor diámetro de crecimiento de micelio, en contraste con el tratamiento 6.- KI a la misma concentración para el que se obtuvo un mayor crecimiento.

Tabla 1. Medias de la Variable Crecimiento Micelial (mm.)

Tratamiento	1 KIO3 5%	2 KI 5%	3 Iodine 5%	4 KI 10%	5 Iodine 10%	6 KI 15%	7 Iodine 15%	8 KIO3 10%	9 KIO3 15%	10 TESTIGO
Media	43.310 bc	48.597 a	49.284 a	48.555 a	43.310 ab	50.368 a	46.678 ab	40.296 cd	35.525 d	48.941 a

Comparación de medias por el método de Tukey, con $\alpha = 0.05$, que indican diferencia estadística.

Como se puede observar en la Tabla 1, el tratamiento 6 (KI al 15%) aún con la mayor concentración de éste, obtuvo el menor efecto sobre la inhibición de crecimiento micelial, sugiriendo que fue un promotor para el crecimiento de *Fusarium oxysporum*. El tratamiento 9 (KIO₃ al 15%) tuvo un mayor efecto inhibitorio sobre el hongo estudiado, debido al efecto óxido reductor de la solución sobre la pared celular y la capacidad de

destruir estructuras reproductivas en hongos como *F. oxysporum*, en comparación con el testigo quien mantuvo un ritmo de crecimiento normal durante el experimento (Figura 1).

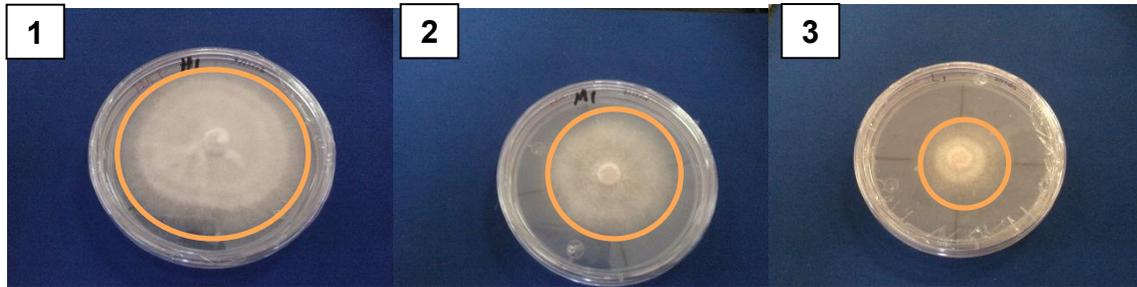


Figura 2. Crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* en tres diferentes tratamientos.

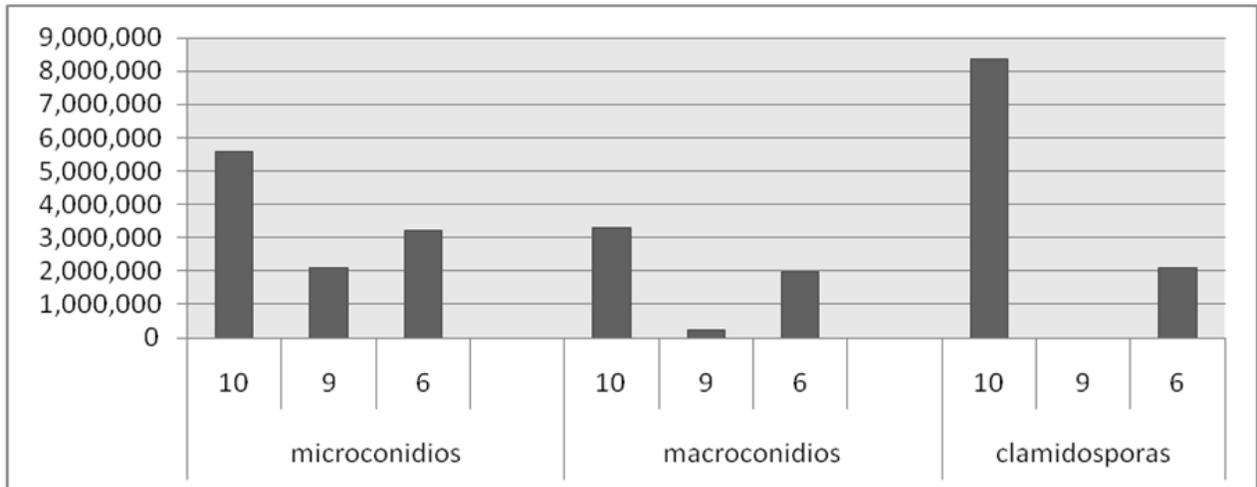
1= KI al 15%; 2 = Testigo; 3 = KIO₃ al 15%

Se ha comprobado que el empleo de medios ricos en carbohidratos, variaciones en los nutrientes, el uso de antibióticos en los medios de cultivo, la presencia de contaminaciones bacterianas y los cambios genéticos introducidos durante la preservación de las cepas, entre otros, afectan la expresión de caracteres importantes para el diagnóstico de especies de este género y ocasionan la degeneración de la cepa, como consecuencia, el cultivo puede manifestar una lenta velocidad de crecimiento, abundante micelio aéreo, escasez de macro conidios y reducción de la pigmentación, entre otras variaciones (Seifert et al.,2000; López y López, 2004)

Variable: Desarrollo del Hongo.

A partir de los resultados de crecimiento micelial de los tratamientos 9, 6 y el testigo (10) se tomó una muestra para la siguiente variable estudiada que fue “Desarrollo del hongo” a través del conteo de estructuras reproductivas como micro conidios, macro conidios y clamidosporas.

Gráfica 3.- Millones de macro conidios, micro conidios y clamidosporas de *F. oxysporum* obtenidos de tres tratamientos.



Tratamientos: 10.- (Testigo); 9.- (KIO₃ 15%); 6.- (KI 15%)

Conteo de micro conidios

El análisis de varianza muestra que no existe diferencia significativa entre los tratamientos, lo que indica que al menos el desarrollo del hongo en sus formas básicas como son los micro conidios, no se vieron afectadas con ninguno de los tratamientos aplicados.

Conteo de macro conidios

En la gráfica anterior se observa que sí existió diferencia entre los tres tratamientos y tal como se esperaba de acuerdo a los resultados de la variable crecimiento micelial, se comprobó que con la aplicación de yodato de potasio a una concentración de 15 % los macro conidios fueron escasos con respecto al número de macro conidios encontrados en el tratamiento con yoduro de potasio a la misma concentración. Con respecto al testigo, este se encontró por arriba de ambos.

Conteo de clamidosporas.

Para el análisis de las Clamidosporas, la diferencia fue muy marcada, así, el testigo obtuvo una media de 8.375 millones de estructuras, el yoduro de potasio con 2,083.3, y por último el yodato de potasio con 0, este claramente influyó en el desarrollo de esta estructura con alto poder de perdurar como inóculo, colocándolo así como un método

de prevención al disminuir la contaminación en suelos, o almacenes por transferencia de inóculo presente en los tubérculos, restos de cosecha o el suelo mismo. (Ames de Icochea, 1980).

Se demostró que el yodo tiene funciones antisépticas, inhibiendo el crecimiento y desarrollo de *Fusarium oxysporum* de manera parcial, en particular el Yodato de potasio (KIO₃ al 15%) logra con éxito la inhibición del crecimiento y el desarrollo de clamidosporas; no obstante, hasta el momento, su uso resulta poco viable debido al costo (44USD/100g.), lo que representa un problema para su aplicación a gran escala, además de su baja solubilidad en agua.

Dada la necesidad de desarrollar prácticas y métodos apropiados para el control de patógenos como *F. oxysporum*, se considera de importancia potencial el continuar esta línea de investigación con yodato de potasio y/o la combinación con otros tratamientos; ya que siendo poco contaminante y conocida su acción oxidativa sobre paredes celulares, su uso es una alternativa sostenible para el manejo de enfermedades como la pudrición seca de la papa (*S. tuberosum*).

REFERENCIAS

1. Ames de Icochea Teresa (1980), "Compendium of potato diseases, by W. J. Hooker", Editor, St. Paul, Minnesota, USA.,pp. 36, 42-50.
2. Centro Internacional de la Papa (1996), "Principales Enfermedades, Nemátodos e Insectos de la Papa", Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Lima, Perú / Quito, Ecuador II pp. 18,19.
3. García R., J., (2008), "Efecto del quitosano sobre la membrana celular de *Rhizopus stolonifer*", Tesis Maestría en Ciencias, Instituto Politécnico Nacional, México pp. 23-34.
4. Hansen P.J., (2000), "Uso del Hematocitómetro" Departamento de Ciencia Animal, Universidad de Florida, pp.1-3
5. López-Danay y López-Ofelia, (2004), "Influencia de diferentes tipos de agar y sellado de las placas, sobre pigmentación y el crecimiento micelial de *Fusarium*" Revista Fitosanidad, Vol. 8 num. 3 Sep., Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, Cuba. Pp. 3-6.

6. Mier-Teresa; Toriello-Conchita; Ulloa-Miguel, (2004), "Hongos Microscópicos Saprobios y Parásitos: Métodos de Laboratorio" UAM-UNAM, México Pp 34-37.
7. Montaldo, A. (1984). "Cultivo y mejoramiento de papa". San José, Costa Rica. pp. 43,42.
8. Ohara Toshiaki, Inoue Iori, Namiki Fumio, Kuhno Hitoshi and Tsuge Takashi, (2004) "REN1 Is Required for development of Microconidia and Macroconidia, but Not of Chlamydospores; in the plant pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*", Genetics Society of America 166: 113-114.
9. Panchi N., Taipe A., Yumisaca F., Pallo E., Montesdeoca F., Espinoza S., Andrade y Piedra J M., (2011), "Enfermedades y plagas que afectan la calidad de la semilla de papa y efecto de la selección positiva", Memorias del IV Congreso de la papa, Granada, Ecuador. Pp. 107,111.
10. Rousselle P., Robert Y. et Crosnier J.C., (1999). "La patata", INRA., Paris. Pp. 30-33, 305-310.
11. SIAP (Sistema de Información Agrícola y Pecuaria) SAGARPA, (2012), tomado de, <http://w4.siap.gob.mx/sispro/portales/agricolas/papa/Descripci%C3%B3n.pdf>
12. Trinidad C. (2012), "Fusariosis de la papa su dinámica temporal y manejo". Memorias del XIV Congreso Nacional de papa, Cd. Obregón, Sonora, pp.1.

AF.7.O. Evaluación de la respuesta bioquímica de adultos de *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) expuestos a concentraciones subletales de clorpirifós

Biochemical response of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) adults exposed to sub-lethal concentrations of chlorpyrifos

**Laura B. Parra Morales¹, Raúl A. Alzogaray², Liliana Cichón³, Silvina Garrido³,
Cristina Montagna¹**

¹Instituto Multidisciplinario de Investigación y Desarrollo de la Patagonia Norte, IDEPA (CONICET-UNCo) and Facultad de Ciencias del Ambiente y la Salud. Email: laurab.parra@gmail.com; cris.montagna@gmail.com. Tel. 54 2994-490300, interno 677

²Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas (CIPEIN-UNIDDEF/CONICET), Villa Martelli, Buenos Aires, Argentina and Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental (3iA-UNSAM). Email: ralzogaray@hotmail.com

³Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Alto Valle, General Roca, Argentina. Email: lcichon@correo.inta.gov.ar; sgarrido@correo.inta.gov.ar

RESUMEN

En los seres vivos, el exceso de prooxidantes resulta en estrés oxidativo. El metabolismo de plaguicidas induce la formación de especies reactivas de oxígeno capaces de dañar moléculas biológicas relevantes. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la peroxidación lipídica, la respuesta de acetilcolinesterasas, carboxilesterasas, y el sistema antioxidante en adultos de *Cydia pomonella* expuestos a concentraciones subletales del organofosforado clorpirifós. Los insectos fueron expuestos durante 24 h a las superficies internas de vasos de vidrio tratadas con 1 ml de clorpirifós en acetona (3,9; 15,6; 62,5; 250 ó 500 ppm) o con acetona sola (controles). La actividad de acetilcolinesterasas se determinó en el sobrenadante de homogenatos de cabezas. Los niveles de malondialdehído y glutatión, y las actividades de carboxilesterasas, glutatión S-transferasas, superóxido dismutasas y catalasas se evaluaron en los sobrenadantes de homogenatos de cuerpos. El tratamiento con clorpirifós produjo los siguientes efectos: (a) inhibición de actividades de acetilcolinesterasas (100%) y carboxilesterasas (83-88%) en todas las concentraciones aplicadas; (b) aumento significativo en el contenido de malondialdehído en adultos expuestos a 3,9 ppm respecto a los controles; (c) aumento significativo de la actividad de glutatión S-transferasas y del contenido de glutatión en individuos tratados con 250 y 500 ppm respecto a los controles. Las actividades de catalasas y superóxido dismutasas no fueron modificadas por la exposición al organofosforado. Los resultados sugieren que la actividad de glutatión S-

transferasas y el glutatión cumplirían una función importante en la defensa antioxidante. Además, el nivel más alto de peroxidación lipídica, determinado como contenido de malondialdehído, fue observado a una concentración relativamente baja. El siguiente paso será evaluar dicha respuesta a menores concentraciones de clorpirifós y calcular valores de Concentración Inhibitoria del 50% de las actividades colinesterasa y carboxilesterasa.

Palabras clave: *Cydia pomonella*, clorpirifós, acetilcolinesterasas, carboxilesterasas, estrés oxidativo.

INTRODUCCIÓN

El estrés oxidativo resulta de la perturbación de los sistemas oxidantes y antioxidantes en favor de los primeros (Sies, 1997). Los oxidantes se forman como productos normales del metabolismo aeróbico. También se pueden producir bajo condiciones patológicas. En la mitocondria, cuando el oxígeno es reducido a agua en la etapa final del transporte de electrones de la cadena respiratoria, algunos intermediarios reactivos son producidos. (Marnett, Riggins, & West, 2003). En las interfases del complejo I y la ubiquinona y el Complejo II/Complejo III, algunos electrones se escapan de la cadena de transporte de electrones y reducen el oxígeno molecular a anión superóxido, el cual es dismutado a peróxido de hidrógeno y es capaz de dirigirse al citosol. Posteriormente, el peróxido de hidrógeno puede ser descompuesto a oxígeno por la catalasa (CAT) (Floyd, West, & Hensley, 2001). Las especies reactivas de oxígeno podrían mediar los daños celulares y extracelulares por la destrucción de membranas, lípidos, lipoproteínas o por la alteración de sistemas enzimáticos críticos, proteínas, canales iónicos que comprometen la función celular y el estado antioxidante, amplificando la lesión inicial. Algunas defensas antioxidantes incluyen enzimas y otras moléculas. La superóxido dismutasa (SOD) es la principal enzima antioxidante en células aeróbicas. Tanto la Cu-ZnSOD en el citoplasma y la MnSOD en la mitocondria reducen los radicales superóxidos a peróxido de hidrógeno rápida y específicamente. El peróxido de hidrógeno es rápidamente convertido en agua y oxígeno por la CAT. La GST cataliza la conjugación del glutatión reducido (GSH) a una variedad de componentes con centros electrofílicos en numerosos tejidos y organismos. El GSH es además capaz de participar en la conjugación no-enzimática con algunas moléculas químicas. En el estado reducido, el grupo tiol de la cisteína es capaz de donar un equivalente reducido ($H^+ + e^-$) a otra molécula inestable, como las especies reactivas de oxígeno (Rice-Evans & Burdon, 1993).

El Valle de Río Negro y Neuquén, al norte de la Patagonia, es la región más importante en el cultivo de manzanas y peras en Argentina con 57.000 hectáreas de producción (Villarreal, Mattei, Villegas Nigra, & Forchetti, 2010). El gusano de la manzana, *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae), es la plaga más importante de estos frutales en la región. El programa de manejo para el control de esta plaga incluye organofosforados como metilazinfos y clorpirifós, junto con otros plaguicidas convencionales (carbamatos) y plaguicidas selectivos (reguladores del crecimiento, insecticidas microbianos, etc.).

Aunque el blanco primario de acción de los organofosforados es la enzima acetilcolinesterasa (AChE), existen evidencias que estos plaguicidas generan radicales libres que causan la disrupción de la homeostasis en insectos (E. Büyükgüzel, 2009). Se ha sugerido que la tolerancia a piretroides en *Anopheles arabiensis* estaría asociada a un aumento en la expresión del gen de SOD (Muller et al., 2008). Otros autores han inferido que el estrés oxidativo producido por algunos organofosforados contribuiría a la neurotoxicidad (E. Büyükgüzel, 2009; K. Büyükgüzel, 2006; Wu, Zhang, Liu, Guo, & Ma, 2011).

El objetivo del presente estudio fue evaluar la peroxidación lipídica, la actividad de las esterasas (AChE y carboxilesterasas) y del sistema antioxidante en adultos de *C. pomonella* expuestos a concentraciones subletales del organofosforado clorpirifós.

MATERIALES Y MÉTODOS

Especie utilizada

Los experimentos se llevaron a cabo con adultos susceptibles de *C. pomonella* criados en laboratorio (CSL). Esta cepa se estableció en junio de 1991 a partir de 7.000 a 8.000 larvas diapausantes recolectadas de una chacra de manzanos abandonada. La cepa se ha mantenido sin presión de plaguicidas y en condiciones controladas de temperatura (25 °C), fotoperiodo (16:08 h luz: oscuridad) y humedad (70% HR).

Bioensayos

Adultos de 1-2 días de edad fueron expuestos durante 24 horas a residuos secos de clorpirifós (99% puro). El insecticida se disolvió en acetona y 1 ml de las soluciones se aplicaron de forma homogénea en la superficie interna de los vasos de vidrio (212 ml). Se utilizaron las siguientes concentraciones del insecticida: 3,9; 15,6; 62,5; 250 y 500 ppm. Los controles fueron expuestos a vasos tratados con acetona sola.

Preparación de los homogenatos

Los tórax y abdómenes de 4 individuos por réplica se homogeneizaron en 1.100 µL de buffer 143 mM PiK pH 7,5 conteniendo 6,3 mM EDTA utilizando un homogeneizador eléctrico PRO 200. Los homogenatos se centrifugaron a 10.000 g durante 15 min a 4 °C. A partir de éstos (4-5 repeticiones) se separaron alícuotas de 500, 120 y 10 µL para la determinación de la peroxidación lipídica, el contenido de GSH y proteínas, respectivamente. El volumen restante de cada homogenato se centrifugó a 16.000 g durante 20 min a 4 °C, y los sobrenadantes resultantes se distribuyeron en alícuotas para la determinación de SOD, CAT, GST, EST y contenido de proteína.

Por otro lado, 4 cabezas por duplicado se homogeneizaron en buffer fosfato pH 7,5 más 0,5% de Triton X-100. Los homogenatos se centrifugaron a 5.204 g durante 10 min a 4 °C. Los sobrenadantes se utilizaron como fuente de enzima.

Actividades de esterasas

La actividad de la AChE se midió de acuerdo a la técnica de Ffrench-Constant y Bonning (Ffrench-Constant & Bonning, 1989). Tres pocillos consecutivos de la microplaca fueron utilizados para cada muestra. El primero contenía 5 µL de etanol (actividad basal), el segundo 5 µL de BW284C5 0,002 mM [1,5-bis (4-allyldimethylammoniumphenyl) pentan-3-one dibromide] y el tercero 5 µL de propoxur 0,05 mM. A cada uno de ellos se le adicionó la muestra y los reactivos en un volumen final de 205 µL y concentraciones finales de 1,5 mM ASChI y 0,5 mM 5,5'-dithiobis-2-

nitrobenzoic acid (DTNB). En condiciones de linealidad, las absorbancias fueron medidas a 405 nm en un espectrofotómetro Microplate Reader durante 30 min. La actividad de AChE fue expresada como $\mu\text{moles}/\text{min} \times \text{mg}$ proteína utilizando el coeficiente de extinción molar de $13,6 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

La actividad de esterasas (EST) fue determinada utilizando α -naftil acetato (α -NA) como sustrato (Dary, Georghiou, Parsons, & Pasteur, 1990). El ensayo se llevó a cabo en un volumen final de 250 μL , con concentraciones finales de 2 mM α -NA y 0,002 mM BW284C5. Después de 15 min de incubación, se adicionaron en cada pocillo 100 μL de 2,5 mM Fast Garnet GBC. Las absorbancias fueron medidas luego de 10 min a 550 nm en un espectrofotómetro Microplate Reader. Los valores de absorbancia fueron transformados en μmoles de α -N a partir de una curva estándar.

Sistema antioxidante

La actividad de CAT fue determinada a partir de la descomposición del H_2O_2 a 240 nm (Beers & Sizer, 1952). La reacción se llevó a cabo en 3 mL de buffer fosfato 50 mM pH 7,0 y 25 mM H_2O_2 , con una absorbancia inicial de 1.0. Diez μL del sobrenadante fueron adicionados para iniciar la reacción. Las absorbancias fueron medidas a 240 nm durante 2 min en un espectrofotómetro UV/visible. La actividad específica fue expresada como $\mu\text{moles}/\text{mg}$ proteína utilizando el coeficiente de extinción molar $40 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

La actividad de SOD fue determinada por su capacidad de inhibir la auto oxidación de la epinefrina (Misra & Fridovich, 1972). El volumen de reacción (1 mL) contenía 50 mM buffer de glicina pH 10,2; 60 mM epinefrina pH 2,0, y diferentes volúmenes del sobrenadante. Las absorbancias fueron medidas a 480 nm durante 2 min en un espectrofotómetro UV/visible. Una unidad de actividad de SOD fue definida como la cantidad de enzima (mg proteína) necesaria para disminuir el 50% de la auto oxidación de la epinefrina.

La actividad de GST fue evaluada utilizando 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) y GSH como sustratos (Habig, Pabst, & Jakoby, 1974). La mezcla de reacción, en un volumen final de 1 mL, consistió de 0,1 M buffer fosfato (pH 6,5), 10 μL de la fuente de enzima, 0,5 mM CDBN y 2,5 mM GSH. Las absorbancias fueron determinadas de forma continua a 340 nm durante 2 min en un espectrofotómetro UV/visible y corregidas por las absorbancias de la reacción no enzimática. Estos valores fueron transformados a μmoles de CDBN conjugados utilizando en coeficiente de extinción molar $9,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

El contenido de GSH fue determinado utilizando el reactivo de Ellman (5,5'-dithiobis(2 nitrobenzoic acid-DTNB) (Ellman, 1959). Alícuotas de 120 μL del sobrenadante fueron mezcladas con 120 μL de tricloro acético 10% y centrifugadas a 10,000 g durante 10 min a 4 °C. A 100 μL de ésta mezcla se le adicionó 1 mL del reactivo de Ellman y luego de 5 min se midieron las absorbancias a 412 nm. El GSH fue cuantificado a partir de una curva estándar.

La concentración de proteínas fue determinada a partir de una curva estándar de albúmina bovina (Lowry, Rosebrough, Farr, & Randall, 1951).

Peroxidación lipídica

La peroxidación lipídica fue ensayada por el método del ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Buege & Aust, 1978). En resumen, la mezcla de 1 mL de 15% TCA (w/v), 0,375 %TBA (w/v) y 0,25 N HCl fue adicionada a 500 μL del homogenato y hervida por 15 min a

100 °C. Las proteínas precipitadas fueron centrifugadas y las absorbancias de los sobrenadantes fueron medidas a 532 nm. La peroxidación lipídica fue expresada como nmoles MDA/mg por proteína utilizando el coeficiente de extinción molar $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Análisis estadístico

Las diferencias entre los controles y los grupos tratados fueron analizadas por ANOVA seguido por el test de Dunnett.

RESULTADOS

Las concentraciones de clorpirifós requeridas para inhibir el 50% (CI_{50}) de la actividad de AChE and EST fue de 0,15 ppm y 1ppm, respectivamente (Figura 1A y B). La actividad de AChE fue completamente inhibida a las concentraciones estudiadas de clorpirifós. La actividad promedio de EST en los adultos tratados fue significativamente menor (0,0045-0,0066 $\mu\text{moles}/\text{min} \times \text{mg}$ proteína) que la de los controles (0.0385 $\mu\text{moles}/\text{min} \times \text{mg}$ proteína). Sin embargo, la inhibición de las EST nunca fue total (83-88%).

Las actividades promedio de GST, CAT, y SOD se presentan en la Figura 2 A. Las actividades promedio de GST en adultos tratados con 250 and 500 ppm de clorpirifós fue significativamente mayor ($p < .005$) que la actividad promedio de los controles. Por otra parte, las actividades promedio de CAT y SOD no fueron significativamente diferentes ($p > .005$) entre los grupos tratados y controles. El contenido promedio de GSH fue significativamente mayor ($p > .005$) en los sobrenadantes de adultos tratados con 250 y 500 ppm de clorpirifós (Figure 2 B).

El contenido promedio de MDA fue 4 veces mayor en adultos tratados con 3.9 ppm del insecticida ($p < .005$) que el promedio de los controles (Figura 3).

DISCUSIÓN

La peroxidación lipídica y los cambios en el sistema antioxidante observados en insectos luego de exposiciones agudas (Akbar, Sharma, Jayalakshmi, & Sreeramulu, 2012) y subagudas (Adamski, Ziemnicki, Fila, Žikić, & Štajn, 2003; K. Büyükgüzel, 2006; Wu et al., 2011), se suman a los efectos fisiológicos y neurotóxicos de algunos plaguicidas. Larvas de *Helicoverpa armígera* mostraron un aumento en la peroxidación lipídica, con respecto a los controles, luego de 18 horas de exposición a los piretroides permetrina y fenvalerato (Akbar et al., 2012). Exposiciones prolongadas de *Spodoptera exigua* a la CL_{10} y CL_{30} del organofosforado fenitrotión reveló una asociación entre la actividad de SOD y la supervivencia. Cuando la actividad de SOD era baja, la supervivencia era baja y cuando la actividad de SOD era alta, la supervivencia también era alta (Adamski et al., 2003). Los autores concluyeron que la toxicidad del plaguicida estaba incrementada debido al desbalance entre los radicales libres y el sistema antioxidante. En otro estudio, *Oxya chinensis* tratada con diferentes concentraciones del organofosforado malatión y clorpirifós mostraron cambios en la peroxidación lipídica y en las actividades de SOD y CAT. Sin embargo, estos cambios no fueron

correlacionados con las concentraciones. A todas las concentraciones evaluadas, estos plaguicidas no influenciaron la actividad de GST, pero disminuyeron la actividad de la glutatión reductasa y el contenido de GSH con respecto a los controles (Wu et al., 2011).

En el presente estudio, los efectos más significativos observados luego de la exposición de adultos de *C. pomonella* a clorpirifós fue la inhibición de la AChE y EST. Por otra parte, a las concentraciones mayores de clorpirifós (250 y 500 ppm) se observó un aumento significativo en la actividad de GST y el contenido de GSH. Resultados similares fueron observados luego de la exposición a plaguicidas en otros organismos (Anguiano, Caballero de Castro, & Pechen de D'Angelo, 2001; Singh, Sandhir, & Kiran, 2006). Por último, se observó un incremento en el contenido de MDA en los adultos expuestos a 3.9 ppm del insecticida.

Estos resultados sugieren que la GST y el GSH podrían cumplir un rol importante como defensa antioxidante a altas concentraciones de clorpirifós. El incremento en la actividad de GST es indicativo de su rol protector contra la peroxidación lipídica inducida por xenobióticos (Leaver & George, 1998). El mayor nivel de peroxidación lipídica en el presente estudio se observó a una relativamente baja concentración de clorpirifós. Estudios posteriores estarán enfocados a investigar si existe alguna asociación entre la peroxidación lipídica y la actividad del citocromo P450 monooxigenasa.

REFERENCIAS

- Adamski, Z., Ziemnicki, K., Fila, K., Žikić, R., & Štajn, A. (2003). Effects of long-term exposure to fenitrothion on *Spodoptera exigua* and *Tenebrio molitor* larval development and antioxidant enzyme activity. *Biological Letters*, 40(1), 43-52.
- Akbar, S. M. D., Sharma, H. C., Jayalakshmi, S. K., & Sreeramulu. (2012). Effect of pyrethroids, permethrin and fenvalarate, on the oxidative stress of *Helicoverpa armigera*. *World Journal of Science and Technology*, 2(1), 5.
- Anguiano, O. L., Caballero de Castro, A., & Pechen de D'Angelo, A. M. (2001). The role of glutathion conjugation in the regulation of early toad embryos' tolerance to pesticides. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 128(1), 35-43.
- Beers, R. F., Jr., & Sizer, I. W. (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J Biol Chem*, 195(1), 133-140.
- Buege, J. A., & Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, 52, 302-310.
- Büyükgüzel, E. (2009). Evidence of oxidative and antioxidative responses by *Galleria mellonella* larvae to malathion. *J Econ Entomol*, 102(1), 152-159.
- Büyükgüzel, K. (2006). Malathion-induced oxidative stress in a parasitoid wasp: effect on adult emergence, longevity, fecundity, and oxidative and antioxidative response of *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *J Econ Entomol*, 99(4), 1225-1234.
- Dary, O., Georghiou, G. P., Parsons, E., & Pasteur, N. (1990). Microplate adaptation of Gomori's assay for quantitative determination of general esterase activity in single insects. *J Econ Entomol*, 83(6), 2187-2192.
- Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, 82(1), 70-77.

- Ffrench-Constant, R. H., & Bonning, B. C. (1989). Rapid microtitre plate test distinguishes insecticide resistant acetylcholinesterase genotypes in the mosquitoes *Anopheles albimanus*, *An.nigerrimus* and *Culex pipiens*. *Medical and Veterinary Entomology*, 3(1), 9-16. doi: 10.1111/j.1365-2915.1989.tb00468.x
- Floyd, R. A., West, M., & Hensley, K. (2001). Oxidative biochemical markers; clues to understanding aging in long-lived species. (0531-5565 (Print)).
- Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*, 249(22), 7130-7139.
- Leaver, M. J., & George, S. G. (1998). A piscine glutathione S-transferase which efficiently conjugates the end-products of lipid peroxidation. *Marine Environmental Research*, 46(1-5), 71-74. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0141-1136\(97\)00071-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0141-1136(97)00071-8)
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193(1), 265-275.
- Marnett, L. J., Riggins, J. N., & West, J. D. (2003). Endogenous generation of reactive oxidants and electrophiles and their reactions with DNA and protein. *J Clin Invest*, 111(5), 583-593.
- Misra, H. P., & Fridovich, I. (1972). The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem*, 247(10), 3170-3175.
- Muller, P., Chouaibou, M., Pignatelli, P., Etang, J., Walker, E. D., Donnelly, M. J., . . . Ranson, H. (2008). Pyrethroid tolerance is associated with elevated expression of antioxidants and agricultural practice in *Anopheles arabiensis* sampled from an area of cotton fields in Northern Cameroon. *Mol Ecol*, 17(4), 1145-1155.
- Rice-Evans, C., & Burdon, R. (1993). Free radical-lipid interactions and their pathological consequences. *Prog Lipid Res*, 32(1), 71-110.
- Sies, H. (1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*, 82(2), 291-295.
- Singh, M., Sandhir, R., & Kiran, R. (2006). Erythrocyte antioxidant enzymes in toxicological evaluation of commonly used organophosphate pesticides. *Indian J Exp Biol*, 44(7), 580-583.
- Wu, H., Zhang, R., Liu, J., Guo, Y., & Ma, E. (2011). Effects of malathion and chlorpyrifos on acetylcholinesterase and antioxidant defense system in *Oxya chinensis* (Thunberg) (Orthoptera: Acrididae). *Chemosphere*, 83(4), 599-604.

AF.14.O. Evaluación de la carbonización como una vía para la valorización de la broza del café, uno de los residuos más problemáticos del proceso de beneficiado

Assessment of carbonization as a means of valorization for coffee husk, one of the most problematic waste materials from the industrial processing of coffee

Jaime F. Quesada-Kimzey¹

¹Escuela de Química, ITCR, Costa Rica

Tel. (+506)88283822; jaime.itcr@gmail.com

RESUMEN

De los residuos de la actividad cafetalera, los dos más problemáticos para las empresas y para el ambiente son la broza y las aguamieles. La concentración de los residuos dentro del período de cosecha, y en particular en dos meses de la cosecha, profundiza la dificultad de su manejo adecuado. En este contexto, es imprescindible hallar alternativas prácticas para la valorización de la broza, el segundo residuo más abundante y problemático del beneficiado. Se evaluó la carbonización de la broza como una opción de valorización, dentro del marco de un proyecto de investigación del ITCR, en el que se tuvo la colaboración de COOPETARRAZÚ como un socio altamente efectivo. La carbonización como opción valorización de la broza resultó inconveniente por perderse casi 87% de la energía en gases pirolíticos. La combustión directa y la gasificación, en cambio, se revelaron como excelentes opciones de valorización energética. Las pruebas de combustión directa revelaron la formación de humos que exigen el tratamiento de las emisiones. La valorización energética de la broza constituye una excelente opción de manejo de este residuo para la empresa, ya que puede absorber todo el flujo, mientras exista la capacidad de darle el manejo. Ello resultaría sumamente conveniente para la empresa, dado que podría sustituir entre 30% y 90% de la leña que consume y reducir los costos de manejo.

Palabras clave: carbonización, bioenergía, biocarbón, biomasa, residuo, combustión directa, gasificación, broza, valorización.

ABSTRACT

The two waste materials of the coffee activity that are most challenging to the industry and environmentally, are the husk and the waste water. The peak flows of these wastes during the production time, and particularly in two months of this period, augment the difficulty of giving them a proper management. In this frame, it is necessary to find practical options for the valorization of these wastes. Carbonization of the husk was assessed as an option for valorization in the framework of a research project of the ITCR, in which COOPETARRAZÚ was a highly effective partner. Carbonization of the husk was found to be inconvenient, as up to 87% of its energy content was lost in pyrolysis gases during carbonization. Direct combustion and gasification, in contrast, appeared as excellent options, for similar reasons. For direct combustion, a previous densification step is necessary; smoke production during the combustion tests showed treatment of emissions to be due. The energetic valorization of the husk is an excellent option for COOPETARRAZÚ, as it can absorb the 100% of the flow, provided there is the capacity to manage it. This would be very convenient to the cooperative, as 30% to 60% of the firewood required could be replaced by the husk, and most of it could be managed in this stream.

Keywords: carbonization, bioenergy, biochar, biomass, waste, direct combustión, gasification, coffee husk, valorization.

INTRODUCCIÓN

Los residuos biomásicos que representan problemas de manejo, con costos considerables para las empresas, son comunes en las actividades agroindustriales. Suele profundizar la problemática el hecho de que se concentren en una planta y en la época de cosecha, pues crea la necesidad de una enorme capacidad instalada para tratarlos, que se aprovecha solo por algunas semanas del año. En el caso del café, los residuos de la actividad del beneficiado durante años contaminaron nuestros ríos, dejándolos convertidos en cloacas malolientes durante una parte del año, y dañando sus ecosistemas. Esfuerzos que al sector le han costado más de cien millones de dólares (http://www.icafe.go.cr/nuestro_cafe/mejor_cafe/medio_ambiente.html, consultado en mayo 2013), condujeron a un manejo considerablemente mejor de los residuos de la actividad en Costa Rica.

La valorización de los residuos se constituye en la mejor estrategia para su manejo, ya que el costo del procesos menor que las ganancias. Sin embargo, aún no se ha alcanzado la valorización de los residuos del beneficiado del café, por lo que el manejo adecuado aún representa un gran reto económico y de otras índoles para el sector. La valorización energéticapuede absorber volúmenes muy grandes de residuos, constituyéndose en una primera opción a explorar en casos como este. En el caso del beneficiado del café, podría absorber la totalidad de los residuos, esencialmente resolviendo el tema.

Entre las opciones de valorización energética de un residuo biomásico, una es la carbonización. El carbón de biomasa o biocarbón es un excelente combustible de uso industrial, pero también tiene otros usos de mayor valor agregado. El biocarbón tiene una variedad de posibles usos, entre ellas, hay tres con particular potencial: como un biocombustible mejorado, como carbón activado o catalítico, y como enmienda de suelos. Esas tres opciones son capaces de absorber la totalidad del producto (McHenry 2009, Xiangfeng y colab. 1995, Antal y Gronli 2003; Woolf y colab. 2010; Lehmann y colab. 2007). En el caso de la industria cafetalera, las tres opciones son de interés para su propio sector, y las dos primeras son de interés en el proceso de beneficiado.

Como combustible, el biocarbón resulta generalmente mejor que la biomasa original por varias razones, entre ellas que no produce humo al quemar, que no se pudre, y que generalmente tiene mayor contenido calórico. En las plantas de beneficiado podría también ser utilizado como adsorbente para purificar corrientes de gases que actualmente se vierten a la atmósfera sin tratar, y en el proceso de limpieza de las aguas residuales. El uso como mejorador de suelos es un tema que reviste interés particular.

Como mejorador de suelos, el biocarbón es de gran interés desde las perspectivas agrícola y ambiental (McHenry 2009, Woolf y colaboradores 2010; Lehmann y colab. 2007, Lehmann 2006, Laird 2008, Lehmann y colab. 2003), por varias razones: a) tiene persistencia de siglos o milenios, b) equivale a fosilizar el carbono sacándolo del ciclo biogeoquímico y por ello resulta C-negativo, c) mejora las características físicas del suelo en forma similar a la materia orgánica, y d) retiene y hace disponibles nutrientes y agua en el suelo, incluido el fósforo (algo que no logra la materia orgánica). Algunas ventajas de su empleo son que: a) el suelo se hace más esponjoso y mantiene la humedad por más tiempo, b) proliferan microorganismos benéficos del suelo y por lo tanto se incrementa su salud, c) se reducen los requerimientos de fertilización y con ello los costos económicos y ambientales de la producción agrícola, d) se reduce la lixiviación de nutrientes y con ello la contaminación de cuerpos de agua y de aguas subterráneas, y e) se secuestra carbono del ciclo biogeoquímico por siglos y hace aumentar la biomasa en el suelo después de su aplicación, cosa que secuestra carbono adicional del ciclo. Cada vez se encuentran más reportes de logros significativos en aumentos de productividad, reducción de insumos agrícolas, como fertilizantes y plaguicidas, a raíz del uso del biocarbón en los suelos (Chan y colab. 2007; Oguntunde y colab. 2004; Major y colab. 2010).

Este trabajo surge de un proyecto del Instituto Tecnológico de Costa Rica, propuesto para evaluar la carbonización de residuos de la industria cafetalera. En el beneficio se concentran los residuos de las cosechas de grandes extensiones de cafetales, tanto en ubicación como en tiempo; esto hace de los residuos del proceso de beneficiado los más relevantes de la actividad cafetalera. De los residuos del beneficiado, los más relevantes son la broza, las aguamieles y la cascarilla (ver cuadro 1). La broza comprende el exocarpo (cáscara) y el mesocarpo del fruto, es decir, la cáscara del fruto con parte de la pulpa. Las aguamieles son el agua residual del chancado, proceso en el que se separa la semilla de la pulpa. Esa agua residual contiene una parte del

mesocarpo de la fruta, que queda suspendida y disuelta. La cascarilla es la capa pergaminosa que recubre los cotiledones de la semilla o grano de café, y es retirada del grano cuando ya ha sido secado; este es el último paso de preparación del café, previo al tostado.

Cuadro 1. Residuos más relevantes del beneficiado del café, según datos de COOPETARRAZÚ.

9,5 Fanegas de café generan aproximadamente:	
BROZA	1000 kg
AGUAMIEL	2000 kg
CASCARILLA	100 kg
COSTOS DE MANEJO	25 USD

La cascarilla es utilizada como combustible en la mayoría de los casos, y reviste poca relevancia como problema. La relevancia de la broza y de las aguamieles reside en a) el potencial de impacto ambiental, b) los costos de manejo y c) su abundancia y consecuente dificultad de manejo. De estos dos residuos, el susceptible de someter a un proceso de carbonización en seco es la broza, por ser un sólido secable. En consecuencia, el proyecto en cuestión se enfocó en la broza del café, como resultado del proceso de selección de residuos relevantes contemplado.

Existe una variedad de trabajos que consideran la valorización energética de la broza del café (Suárez y colab. 2003 y 2003a, Rodríguez y Gordillo 2011, Sileshi y colab. 2013). Algunos de estos trabajos proponen la densificación de la broza para su uso en combustión directa (por ejemplo los de Suárez), cosa que con frecuencia lleva implícita la venta del material a otro usuario. En otros se propone la gasificación de la broza para generación del calor requerido en el proceso de beneficiado (Rodríguez y Gordillo 2011, Lugano y colab. 2010; Sileshi y colab. 2013). Rolando Chacón y Emmanuel Montero (ICAFFE, Costa Rica) enfocaron la gasificación de la broza y se refieren a experiencias en la industria (Montero 2008, Chacón 2007). Gangaputra (2013) hace un análisis de la factibilidad de la generación eléctrica a partir de la broza. Solo Pallavi y colaboradores (2013) abordan la carbonización de la broza del café, mas no desde una perspectiva de valorización industrial.

El proyecto del que surge este trabajo se concentró en la carbonización de la broza desde una perspectiva industrial, dando un aporte en un campo aparentemente poco explorado. Se realizó en colaboración con la empresa COOPETARRAZÚ, que brindó para ello valiosísimo apoyo. Sin embargo, este trabajo se enfoca prioritariamente en la parte del proyecto que permitió llegar a conclusiones sobre la conveniencia de la carbonización de la broza, que fue trabajo de laboratorio, principalmente.

PARTE EXPERIMENTAL

En el proyecto del que surge este trabajo se esperaba producir varias toneladas de carbón de broza, con las cuales se podrían realizar diversas pruebas, tanto de uso como ensayos de laboratorio. Durante la obtención de ese carbón, sin embargo, surgieron problemas inesperados en su obtención que obligaron a emprender una evaluación de la carbonización de la broza en el laboratorio. Los resultados de esas pruebas de laboratorio permitieron explicar a qué se debieron esos problemas, y además tomar decisiones estratégicas en el proyecto y sobre sus conclusiones.

Obtención de muestras de broza

La broza con la que se hicieron pruebas, fue suministrada por la empresa, luego de ser secada al sol en el patio de secado. El origen de esta broza fueron plantaciones la zona de San Marcos de Tarrazú. Provino de café recolectado en diciembre 2011 y diciembre 2012. Se utilizó broza de secado reciente en todas las pruebas. El secado se inició en los 5 días siguientes al chancado, es decir, a la generación del residuo.

Termogravimetría de la broza

Se determinaron las temperaturas críticas para la pirólisis de la broza mediante una evaluación termogravimétrica según el método descrito por Castro y Costa (2007) y utilizado por Tenorio y Moya (2013) para evaluar características de combustión.

Evaluación de la carbonización de la broza del café en el laboratorio

Se estableció un método para evaluar la carbonización de los materiales en el laboratorio. El método fue evaluado en cuanto a su repetibilidad aplicándolo a 2 materiales diferentes (raquis de palma y madera de ciprés), realizando más de 15 veces el ensayo en cada material, a fin de determinar la dispersión típica del método. El método consistió en envolver cantidades de entre 2 g y 10 g de material en papel aluminio, de modo que quedase sellado dentro de la envoltura. Se pesó cada paquete. El paquete se colocó en la mufla (horno de alta temperatura Thermolyne 47000), la cual se encendió y llevó a 300°C. Se mantuvo a esa temperatura por 60 minutos o bien el tiempo necesario para que cesara la emisión de humo. Luego se elevó la temperatura a 500°C y se mantuvo durante 15 minutos. Después de esto se apagó el horno. Los paquetes fueron pesados después de alcanzar nuevamente la temperatura ambiente.

El diseño del método se basó en datos termogravimétricos experimentales propios, y en datos para materiales lignocelulósicos de Slopicka y colaboradores (2011), que indican que la pirólisis de la hemicelulosa inicia cerca de los 275°C, mientras la celulosa y la lignina se descomponen aproximadamente a 350°C. También se consideraron las temperaturas de operación del horno de carbonización, tal como las recomendó la empresa fabricante.

Evaluación del contenido calórico de los materiales

El contenido o poder calórico de los materiales fue evaluado por el método estándar de ASTM D3175 – 11.

Evaluación del contenido de ceniza de la broza

El contenido de ceniza de la broza fue evaluado por el método estándar oficial 942.05 de la AOAC.

RESULTADOS

Como primer paso, logró establecerse un método que permitiera valorar la carbonización de la broza en cuanto a rendimiento y propiedades del carbón obtenido. Para ello se recurrió a la termogravimetría y algunas otras informaciones disponibles. La termogravimetría de la broza reveló que a partir de aproximadamente 300°C se presentaba un ritmo de pirólisis mayor en la broza, como lo evidencia la figura 1.

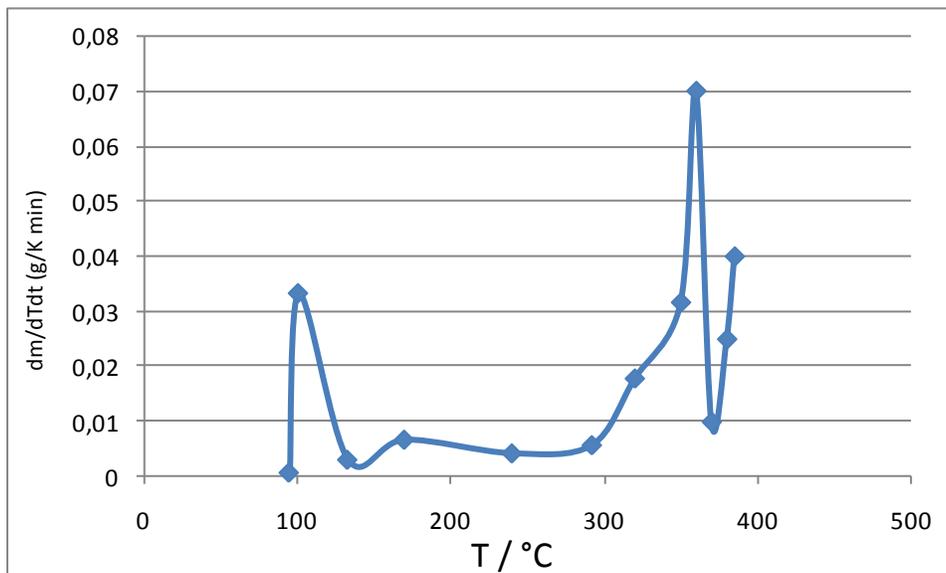


Figura 1. Termogravimetría de muestra de broza.

A partir de aproximadamente 370°C se presentaron inflamaciones de los gases durante la medición de temperatura, las cuales hicieron las mediciones más difíciles y menos confiables. Estos resultados, junto con datos de otras fuentes ya mencionadas, se

usaron para para diseñar el método de evaluación del rendimiento de carbón, o método de carbonización, que permitió hacer un estimado del rendimiento de carbón esperable de un material, al carbonizarlo. Este método está descrito en la parte experimental.

Se valoró la repetibilidad del ensayo en dos materiales de especies muy diferentes entre sí, el ciprés y la palma aceitera, y los resultados se resumen en el cuadro 2. Los coeficientes de variación fueron de 2,1% y 2,5% respectivamente, con números de repeticiones mayores a 15, con lo cual quedó determinada la repetibilidad del método.

Cuadro 2. Variabilidad del rendimiento en el método de carbonización.

	RAQUIS PALMA	MADERA CIPRÉS
PROMEDIO	26,5 %Carbón	26,2 %Carbón
DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0,68 %Carbón	0,55 %Carbón
COEFI. DE VARIACIÓN %	2,5%	2,1%
N	18	17

Se aplicó el método de carbonización a la broza y algunos otros materiales, con el fin de estimar su rendimiento de carbón. Se evaluaron los contenidos calóricos de la broza y su carbón, y las de otros materiales relacionados. Los resultados de las pruebas se muestran en los cuadros 3 y 4. En las condiciones del ensayo, la broza y demás materiales se carbonizaron de manera reproducible, con un rendimiento de carbón muy repetible. El contenido calórico de la broza suelta fue similar al medido para maderas como el ciprés y el eucalipto, provenientes de las leñas que se utilizan regularmente en la empresa como combustibles durante la cosecha y el beneficiado, como se evidencia en el cuadro 4. La humedad de la broza seca expuesta al ambiente fue de 16,2%, según el método convencional de secado en horno (105°C durante 20 horas). El contenido calórico del carbón de la broza suelta no se diferenció de aquél del carbón obtenido de las briquetas.

Cuadro 3. Resultados de los ensayos de laboratorio en la broza.

PRUEBA	RESULTADO PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	COEFICIENTE DE VARIACIÓN
Carbonización de broza suelta (% rendimiento) *	27,2	0,7	2,6%
Carbonización de broza en briqueta (% rendimiento) *	30,1	0,7	2,2%
Ceniza broza (%)*	11,8	0,2	1,7%
Humedad de broza (%)**	16,2	0,55	3,4%
Contenido calórico de broza suelta (MJ/kg)*	16,9	0,33	2,0%
Contenido calórico de briquetas de broza (MJ/kg)*	10,3	0,03	0,3%
Contenido calórico de los carbones de broza de briqueta y suelta (MJ/kg)	8,0	0,12	1,5%

* material secado al sol, expuesto al ambiente ** secado convencional en horno

Cuadro 4. Resultados de los ensayos de laboratorio en materiales relacionados.

PRUEBA	RESULTADO PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	COEFICIENTE DE VARIACIÓN
Contenido calórico leña de ciprés secada al sol (MJ/kg)*	16,6	0,04	0,2%
Contenido calórico carbón de leña de ciprés (MJ/kg)*	43,4	0,95	2,2%
Carbonización leña de ciprés (% rendimiento) *	25,5	0,17	0,7%
Contenido calórico leña de eucalipto secada al sol (MJ/kg)*	17,1	0,15	0,9%
Contenido calórico carbón de leña de eucalipto (MJ/kg)*	29,4	0,87	3,0%
Carbonización leña de eucalipto (% rendimiento) *	26	1,97	7,6%

* material secado al sol, expuesto al ambiente

DISCUSIÓN

En el desarrollo del proyecto, el secado de la broza se reveló como un asunto irresuelto, y que es un pendiente para poder valorizar la broza por la vía energética. De los datos de los cuadros 3 y 4 se evidencia que la broza tuvo un contenido calórico virtualmente igual al de las leñas utilizadas actualmente en la empresa para obtener calor. De acuerdo con los datos de la empresa, el consumo anual de leña ronda los 17000 metros cúbicos. Dada la equivalencia del contenido calórico de la broza y de la leña, la broza que se produjo en la última cosecha equivale aproximadamente a entre 30% y 100% de la leña que se emplea actualmente. Actualmente el costo del manejo de los residuos se aproxima a los USD25 por fanega, lo que combinado con el costo de la leña justifica plenamente cualquier inversión en hallar vías de valorización. Lamentablemente, las pruebas de combustión directa dieron emisiones demasiado altas de humos, que los equipos de la empresa no pueden evitar.

El método de carbonización desarrollado resultó con una repetibilidad alta. Esta repetibilidad en combinación con el diseño, lo hacen apropiado para estimar el rendimiento de carbón esperable de una biomasa, así como sus cualidades. Su aplicación en la evaluación de la carbonización de la broza permitió tener datos confiables y repetibles en que basarse para tomar decisiones sobre esta vía de valorización para la broza.

De los datos de los cuadros 3 y 4 se desprende que la broza dio un rendimiento de carbón semejante al de las leñas evaluadas. Sin embargo, el contenido calórico del carbón de broza fue menor a un tercio de aquel del carbón de eucalipto, y de aproximadamente un sexto del obtenido para el carbón de ciprés. Visto de otro modo, la energía remanente en el carbón de broza fue de 13% de la contenida en la broza, mientras que en el del eucalipto fue de 45% y en el del ciprés fue de 67%. El bajo contenido calórico del carbón de la broza es confirmado por Pallavi y colaboradores (2013).

La utilidad del carbón de la broza, con un contenido de ceniza cercano al 30% y un contenido calórico menor a 10 MJ/kg, como fuente de calor en un proceso industrial como el de COOPETARRAZÚ, resultaría muy limitada, considerando que la leña es el combustible actual, con contenidos calóricos de aproximadamente el doble, y con contenidos de ceniza menores a los de la broza sin carbonizar. En las condiciones de laboratorio se controló que la carbonización fuese estrictamente anóxica, pero en un horno de gran tamaño como el que se esperaba usar para carbonizar, las condiciones no son totalmente anóxicas, y por lo tanto el rendimiento de carbón solo podría ser menor.

También resulta relevante que la pérdida de al menos 85% del poder calórico de la broza se diera en forma de gases pirolíticos, que son principalmente hidrocarburos. En la implementación industrial de la carbonización de la broza, de no incinerarse estos gases para generar calor, se perdería esa energía, y se emitirían a la atmósfera esas sustancias como contaminantes, gases de efecto invernadero, y precursores de la

formación de ozono troposférico. En el caso de ser lavados los gases del proceso de carbonización, se mitigarían en alguna medida las emisiones, pero se generaría un problema de manejo de las aguas residuales, que podría ser mayor que el del manejo de las aguamieles, por la toxicidad de algunas de los componentes del humo.

Los considerables inconvenientes de la carbonización de la broza detallados arriba hacen que sea inviable, por sí misma. La gasificación, en cambio, se revela como una opción a explorar, dado que a temperaturas relativamente bajas (500°C) ya se logró gasificar más del 80% del poder calórico de la broza. Durante la evaluación de la broza como combustible en los hornos a que se tuvo acceso, si bien la combustión de la broza fue excelente, también fue demasiado alta su producción de humo. La necesaria inversión en equipo adecuado para poder aprovechar la broza como combustible, sin embargo, tiene una vasta compensación a su favor, como ya se vio.

CONCLUSIONES

El paso previo pendiente para cualquier opción de valorización energética de la broza es resolver el tema del secado. La carbonización de la broza como vía de valorización energética se comprobó inconveniente e inviable, debido a la pérdida de contenido calórico y a la emisión de gases durante el proceso. Sin embargo, se comprobó que la broza tiene el potencial de sustituir una gran parte o hasta el total de la leña usada en la empresa durante el beneficiado. Lamentablemente la combustión directa demostró no ser una opción, dada su alta producción de humo; en cambio la gasificación tiene gran potencial para el caso de la broza, dado que puede contrarrestar el problema del humo.

AGRADECIMIENTOS

A la Vicerrectoría de Investigación y Extensión se le agradece por el financiamiento y el apoyo. A COOPETARRAZÚ se le agradece su apoyo decidido y generoso a este proyecto. A los asistentes Jeremy Mata, Esteban Monge y Álvaro Hernández, se les agradece su entusiasta colaboración y aporte. A la compañera Lic. Laura Hernández se le agradece su decidida participación durante el primer semestre del 2012. Al Dr. Róger Moya se le agradece su aporte en discusión y orientación en varios temas.

FUENTES BIBLIOGRÁFICAS

1. Antal MJ, Grønli M, The Art, Science, and Technology of Charcoal Production, *Ind. Eng. Chem. Res.* 2003, 42, 1619-1640.
2. ASTM D1102 - 84(2007) Standard Test Method for Ash in Wood
3. ASTM E711-87(2004) Standard Test Method for Gross Calorific Value of Refuse-Derived Fuel by the Bomb Calorimeter (Withdrawn 2004)
4. ASTM E870 - 82(2013) Standard Test Methods for Analysis of Wood Fuels
5. ASTM E871 - 82(2006) Standard Test Method for Moisture Analysis of Particulate Wood Fuels
6. Castro A., Costa F.S., Drying and burning characteristics of ripe branco wood cylinders, *Thermal Eng.* 6 (2007) 35–40.
7. Chacón-Araya R, Diseño y construcción de un sistema de gasificación para la generación de calor de proceso y energía eléctrica, utilizando los subproductos (pulpa y cascarilla) del beneficiado como fuentes de energía, *Revista Informativa ICAFE II-2007*, p 11.
8. Chan, K. Y. A E, L. Van Zwieten B, I. Meszaros A, A. Downie C D, S. Joseph D. Agronomic values of greenwaste biochar as a soil amendment; *Soil Research* 45(8) 629–634; <http://dx.doi.org/10.1071/SR07109>. Published online: 7 December 2007.
9. Gangaputra, R. Production of Electricity Using Coffee Husk. *International Conference on Technology and Business Management* March 18-20, 2013. P 912
10. Horwitz, W. Latimer, GW. *Official methods of analysis of the AOAC*, 18th edition, Gaithersburg, 2005.
11. Laird, D. (2008). The charcoal vision: A win–win–win scenario for simultaneously producing bioenergy, permanently sequestering carbon, while improving soil and water quality. *Agronomy Journal* 100: 178-181.
12. Lehmann J. Bio-energy in the black, en *Frontiers in Ecology and the Environment*; 2007, 5, 381-387.
13. Lehmann, J. (2006). Black is the new green, *Nature* 442: 624-626.
14. Lehmann, J., da Silva Jr., J.P., Steiner, C., Nehls, T., Zech, W. and Glaser, B.: (2003), Nutrient availability and leaching in an archaeological Anthrosol and a Ferralsol of the Central Amazon basin: fertilizer, manure and charcoal amendments, *Plant and Soil* 249: 343-357.
15. Lugano W, Geoffrey RJ, Cuthbert FM, Weihong Y, Wlodzimierz B, Coffee husks gasification using high temperature air/steam agent, *Fuel Processing Technology*, Volume 91, Issue 10, October 2010, Pages 1330-1337.
16. Major J; Rondon M, Molina D, Riha SJ, Lehmann J. Maize yield and nutrition during 4 years after biochar application to a Colombian savanna oxisol. *Plant and Soil*; August 2010, Volume 333, Issue 1-2, pp 117-128.
17. McHenry, M.P. (2009) Agricultural bio-char production, renewable energy generation and farm carbon sequestration in Western Australia: Certainty, uncertainty and risk. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 129 (1-3). pp. 1-7.
18. Montero-Gómez E, Propuesta de aprovechamiento energético de los subproductos del café : gasificación de la broza + bioetanol = energía, *Revista Informativa ICAFE I-2008*, p 4.

19. Oguntunde PG, Fosu M, Ayodele E. Aj, van de Giesen N. Effects of charcoal production on maize yield, chemical properties and texture of soil, *Biology and Fertility of Soils*; March 2004, Volume 39, Issue 4, pp 295-299.
20. Pallavi.H.V, Srikantaswamy.S, Kiran B.M, Vyshnavi.D.R and Ashwin.C.A. Briquetting Agricultural Waste as an Energy Source. *JECET*; December 12- February 2013; Vol.2.No.1, 160-172.
21. Ramírez. F., Roldán, C. (2007) *ENCUESTA DE OFERTA Y CONSUMO ENERGÉTICO NACIONAL A PARTIR DE LA BIOMASA EN COSTA RICA AÑO 2006*. San José: MINAE.
22. Rodriguez C, Gordillo G. Adiabatic Gasification and Pyrolysis of Coffee Husk Using Air-Steam for Partial Oxidation. *Journal of Combustion*, Volume 2011, Article ID 303168, 9.
23. Sileshi K, Abebayehu A, Mayerhofer M, Spliethoff H. Steam Gasification of Coffee Husk in Bubbling Fluidized Bed Gasifier. *BIONATURE 2013: The Fourth International Conference on Bioenvironment, Biodiversity and Renewable Energies*, pp 17-20.
24. Slopiecka K., Bartocci P., Fantozzi F., Thermogravimetric analysis and Kinetic study of poplar wood pyrolysis. *Third International Conference on Applied Energy - 16-18 May 2011 - Perugia, Italy*. pages 1687-1698.
25. Suárez JA, Luengo CA. Coffee Husk Briquettes: A New Renewable Energy Source. *Energy Sources* Volume 25, Issue 10, 2003a; pp. 961-967.
26. Suárez JA, Physical Properties of Cuban Coffee Husk for Use as an Energy Source. *Energy Sources*, Volume 25, Issue 10, 2003; pp 953-959.
27. Tenorio C, Moya R, Thermogravimetric characteristics, its relation with extractives and chemical properties and combustion characteristics of ten fast-growth species in Costa Rica, *Thermochimica Acta* 563 (2013) 12– 21
28. Woolf, D.; Amonette, J., Street-Perrott F.; Lehmann, J.; Joseph, S. Sustainable biochar to mitigate global climate change. *Nature Communications* 2010 (<http://www.nature.com/ncomms/journal/v1/n5/full/ncomms1053.html>)
29. Xiangfeng D, Norberg N and Antal MJ, PRODUCTION OF CHARCOAL AND ACTIVATED CARBON AT ELEVATED PRESSURE, American Chemical Society, Division of Fuel Chemistry; *Journal* Volume: 40; *Journal Issue*: 2; *Conference*: 209. American Chemical Society (ACS) national meeting, Anaheim, CA (United States), 2-6 Apr 1995.

AF.8.O. Actividad nematocida de extractos de *Quassia amara* y *Brugmansia suaveolens* sobre *Meloidogyne* spp. Asociado al tomate

Nematicidal activity of plant extracts from *Quassia amara* and *Brugmansia suaveolens* against *Meloidogyne* sp. on tomato plants

Wilber Salazar-Antón^{1,2}

Tomás de Jesús Guzmán-Hernández³

¹ La información de este trabajo forma parte de la tesis de Doctorado en Ciencias Naturales para el Desarrollo (DOCINADE) del primer autor.

² Laboratorio de Fitopatología. Departamento de Agroecología. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León. Teléfono:(505) 311-1779. Correo electrónico: wilber.salazar@ct.unanleon.edu.ni

³ Instituto Tecnológico de Costa Rica, Sede San Carlos. Apartado 159-7050, Florencia, Alajuela. Tel: (506) 2475-5310. tjguzman@itcr.ac.cr

RESUMEN

Se evaluaron extractos de hojas de *Quassia amara* L. (Simaroubaceae) y flores de *Brugmansia suaveolens* L. (Solanaceae) para determinar su actividad nematocida contra *Meloidogyne* sp. el estudio se realizó en el Campus Agropecuario de la UNAN-León en el año 2012.. El material vegetal fue deshidratado, pulverizado y los compuestos extraídos utilizando como solvente metanol. El estudio se realizó en condiciones “*in vitro*” evaluándose la mortalidad de los juveniles después de 12, 24 y 48 horas de exposición a los extractos. Seguidamente se evaluaron los extractos en plantas de tomate en maceteras bajo condiciones de invernadero, cuantificándose las poblaciones de nematodos a los 25, 50 y 75 DEE (días de exposición al extracto). En el experimento “*in vitro*” los extractos de *B. suaveolens* y *Q. amara* diluidos al 10% presentaron los más altos porcentajes de mortalidad después de 48 h alcanzando 78 y 96% de juveniles muertos. En el experimento en maceteras se evaluó la mortalidad de juveniles, índice de agallamiento (IA) y Factor de Reproducción (FR). Los mejores resultados para *Q. amara* se obtuvieron a los 25 DEE, con un porcentaje de mortalidad de 80%, un IA de 1 en una escala de 0-5 y FR de 0.20. Similarmente, el mejor efecto de *B. suaveolens*, se

obtuvo a los 25 DEE con un porcentaje de mortalidad de 71%, un IA de 1.2 y un Fr de 0.29. Estos resultados “*in vitro*” y en maceteras evidenciaron que ambos extractos poseen propiedades nematocidas, ya que redujeron significativamente ($P \leq 0.05$) las poblaciones de nematodos, su reproducción y el nivel de agallamiento de las raíces de tomate.

Palabras clave: Control botánico, cuasinoides, escopolamina, tomate, *Meloidogyne* sp., Índice de agallamiento, Factor de reproducción y control alternativo

ABSTRACT

The nematocidal activity of leaves of *Quassia amara* L. (Simaroubaceae) and flowers of *Brugmansia suaveolens* L. (Solanaceae) were evaluated against *Meloidogyne* sp., the study was conducted at Agricultural Campus at UNAN-León The plant material was dehydrated, ground and the compounds were extracted using methanol as solvent. The study was conducted in *in vitro* conditions evaluating juveniles of *Meloidogyne* sp. after 12, 24 and 48 hours of extracts exposition. Subsequently, extracts were evaluated in tomato plants established in pots under greenhouse conditions. The nematode population was quantified at 25, 50 and 75 days of exposure to extract (DEE). *In vitro* test extracts of *B. suaveolens* and *Q. amara* diluted at 10% showed the highest percentage of nematode mortality after 48 h, containing 78% and 96% of juvenile dead. In the pots test, juvenile mortality, plant galling index (GI) and nematode reproduction factor (RF) were evaluated. The best result for *Q. amara* was obtained at 25 DAT, with 80% of mortality, GI of 1 (in a scale from 0-5) and RF of 0.2. Similarly, the best effect of *B. suaveolens*, was obtained at 25 DEE with 71% of mortality, GI of 1.2 and RF of 0.29. These *in vitro* and pots results demonstrate that both extracts have nematocidal activities, as they significantly reduced ($P \leq 0.05$) nematode population, reproduction abilities and root galling in tomato plants.

Palabras clave: *Quassia amara*, *Brugmansia suaveolens*, tomato, *Meloidogyne* sp., Galling Index, Reproduction Factor, alternative control.

INTRODUCCIÓN

El tomate es uno de los vegetales de mayor consumo en Nicaragua debido a su sabor agradable y alto contenido de vitaminas, potasio, hierro y fósforo (Henriques da Silva, Barbosa, Brunele, Castro, Patel. 2008). Una de las principales limitantes en su producción es el nematodo *Meloidogyne* spp. el cual causa pérdidas calculadas en un 20% (Sasser & Freckman, 1987). Este nematodo es del tipo endoparásito migratorio, los cuales penetran las raíces de las plantas y se alimentan de diferentes sitios de la misma (Andrés, González, Sanz, Burillo, Sainz. 2012). Una vez que penetra las raíces, este nematodo, produce una serie de cambios fisiológicos y morfológicos que impiden a la

planta absorber agua y nutrientes esenciales para su desarrollo (Castagnone-Sereno, 2006).

En Nicaragua este problema ha sido manejado casi exclusivamente utilizando nematicidas sintéticos, los cuales a pesar de ser efectivos y de rápida acción tienen las desventajas de contaminar fuentes de agua, ser altamente costosos y riesgosos para la salud humana (Wachira, Kimenju, Okoth, Mibey. 2009). Estos riesgos han promovido el uso de nematicidas botánicos para el control de nematodos.

Sukul (1992) enumera al menos 57 familias botánicas que contienen compuestos con potencial biocida, entre los que destacan; terpenos, alcaloides, esteroides y taninos. Estos compuestos tienen la ventaja de ser más seguros para el ambiente y la salud humana que sus contrapartes sintéticos.

Entre las plantas que han sido reportadas con propiedades nematicidas están *Chamaesyce maculata*, *Euphorbia pulcherima* y *Lantana camara* (Cox, McCarty, Toler, Lewis, Martin, 2006), *Inula viscosa* (Oka, Ben-Daniel, Cohen. 2006), *Bixa Orellana*, *Tagetes erecta* L, *Hyptis suaveolens* Poit y *Ocimum gratissimum* L (Olabiyi, 2008) y *Ricinus communis*. Esto demuestra la diversidad de esfuerzos que han sido realizados para encontrar moléculas naturales con efecto nematicida.

Se estudiaron extractos de *Quassia amara* L., y *Brugmansia suaveolens* L., evaluándose su potencial nematicida sobre *Meloidogyne* sp. Ambas especies de plantas crecen naturalmente en Nicaragua y se ha reportado que poseen propiedades nematicidas (Gutiérrez, 1988; López, 2010)

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Ubicación del estudio

La extracción de los compuestos se realizó en el Laboratorio de Química del Instituto Tecnológico de Costa Rica, Sede San Carlos, Costa Rica. Las pruebas de mortalidad se realizaron en el Laboratorio de Fitopatología, de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León, Nicaragua en el año 2012.

2.2. Preparación del inóculo de *Meloidogyne* sp.

Una masa de huevos obtenida de raíces agalladas de tomate var. Shanty susceptible a *Meloidogyne* sp. fue colocada en un beaker con agua destilada y un inyector de burbujas de aire por 24 h. Los huevos y juveniles fueron recuperados en tamices de 500 mesh y aplicados a suelo esterilizado colocado en maceteras que contenían una planta de tomate, las que fueron mantenidas en invernadero por 75 días (Castro, Flores, Uribe. 2011). Posteriormente, se extrajo las raíces de las plantas inoculadas y se obtuvo

huevos y juveniles de *Meloidogyne* sp utilizando una solución al 0.5% de hipoclorito de sodio (Hussey & Janssen, 2002).

2.3. Proceso de extracción de compuestos botánicos

Se evaluó el efecto de hojas de *Q. amara* y flores de *B. suaveolens* sobre *Meloidogyne* sp. El material vegetal fue lavado en agua potable, secado y deshidratado en un horno a 35° C/ 96 h. Luego se pulverizaron en un Molino Foliar.

Los compuestos vegetales fueron extraídos de 350 g de material vegetal usando 200 ml de metanol mediante un extractor Soxhlet por 24 horas. Luego la solución fue filtrada a través de un papel filtro Whatman no. 1 y el disolvente evaporado en un rotavapor Marca Yamato® RE 200 por 3 horas (Naz, Palomares-Rius, Saifullah Blok, Khan, Ali. 2012)

2.4. Experimento *in vitro*

Se evaluaron 5 diluciones de cada extracto diluidos en agua destilada (1% v/v, 2.5% v/v, 5% v/v 7.5% v/v y 10% v/v), un testigo absoluto (agua destilada) y un testigo químico (oxamil 50 mg l⁻¹), colocándose 20 ml de estas soluciones en platos petri. Posteriormente, se colocó 50 juveniles de *Meloidogyne* sp. en cada plato y fueron incubados por 12 h, 24 h, 48 horas. Luego, los nematodos se transfirieron a un plato petri con agua destilada por 24 horas. Se determinó la mortalidad de nematodos observándolos bajo un estereoscopio, los nematodos posición recta y sin movimiento fueron considerados muertos. Los datos se analizaron mediante un diseño completo al azar con cinco tratamientos y cuatro repeticiones en cada uno de los tres periodos de incubación. El experimento se realizó dos veces.

2.5. Experimento *in planta*

Se utilizó plantas de tomate vr. Shanty susceptible a *Meloidogyne* sp., sembradas en un sustrato comercial estéril. Plantas con 20 días de edad fueron trasplantadas a maceteras de 1 kg de capacidad, aplicándose 50 ml de cada extracto a una concentración de 7.5% v/v. Cinco días después, se aplicó una solución que contenía 200 juveniles alrededor de la base del tallo de la plántula, adicionándose dos centímetros de suelo esterilizado para cubrir los nematodos (Hussey & Janssen, 2002). Las variables medidas fueron, porcentaje de mortalidad de *Meloidogyne* sp., a los 25, 50 y 75 días de exposición al extracto (DEE). Se midió el índice de agallamiento (IA) a cada planta a los 75 DEE cuantificándose el número de agallas y asignándose un índice de acuerdo a la escala propuesta por Taylor & Sasser (1978). Esta escala sigue un esquema de 0-6, donde 0 = 0 agallas; 1 = 1-2 agallas; 2 = 3-10 agallas; 3 = 11-30 agallas; 4 = 31-100 agallas; 5 = >100 agallas.

Finalmente, se midió el Factor de Reproducción (FR) a los 75 DEE el cual es una medida de la capacidad reproductiva de los nematodos, utilizando la fórmula $R = P_f/P_i$, donde P_f representa la población final de nematodos encontrados y P_i representa la población inicial de juveniles que fueron inoculados.

Se utilizó un diseño completamente al azar evaluándose el efecto de los extractos sobre *Meloidogyne* sp. a los 25, 50 y 75 DEE, un testigo absoluto (agua destilada) y un testigo químico (oxamil 50 mg l⁻¹), cada tratamiento fue repetido cuatro veces. El experimento fue realizado dos veces. Posteriormente se realizó análisis de varianza y prueba de rango múltiple de Duncan al 0.5 cuando fue necesario.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Efecto de cinco concentraciones de *Quassia amara* y *Brugmansia suaveolens* sobre nematodos fitoparásitos a nivel de laboratorio

3.1.1. Efecto de *Q. amara* sobre nematodos *in vitro*: Las poblaciones de nematodos expuestas al extracto por 12, 24 y 48 horas, presentaron reducciones significativas ($P < 0.05$) en todas las diluciones evaluadas, en comparación con el testigo absoluto, lo que demuestra sus propiedades nematocidas. Los promedios de mortalidad más altos se lograron a las 48 horas en las diluciones al 7.5 y 10%, donde se obtuvo un porcentaje de 88% y 89% de nematodos muertos respectivamente. Se pudo comprobar que los factores, tiempo y concentración del extracto fueron fundamentales en la mortalidad de nematodos. La viabilidad de los juveniles decreció en la medida que se utilizaba una dilución más alta (10%) por un periodo de tiempo más largo (48 h). El testigo (agua destilada) presentó el nivel más bajo de mortalidad con 13%, siendo superada por todos los tratamientos evaluados. El testigo químico (oxamil) presentó el nivel más alto de mortalidad con 96%.

Niveles de mortalidad similares a los encontrados en este estudio han sido reportados previamente por López (2010), quien al evaluar la mortalidad *in vitro* de *Radopholus similis* observó un 86% de mortalidad utilizando extractos de *Q. amara*. Estos altos niveles de mortalidad han sido atribuidos por Coats (1994) a metabolitos secundarios presentes en alcaloides y aminoácidos aislados frecuentemente de ésta planta, destacándose el alcaloide cantina el cual posee propiedades citotóxicas, que causan daño a las células de organismos vivos (López & Pérez, 2008).

Por otro lado, Mancebo, Hilje, Mora, Salazar (2000) reportan un segundo alcaloide que posee potencial nematocida y que igualmente es encontrado en *Q. amara*, como es la cuasina, el cual es un terpeno que ha sido descrito como el compuesto más activo que utiliza la planta en contra de organismos que la atacan, lo que le permite ejercer una acción biocida sobre organismos fitoparásitos (López, 2010).

3.1.2. Efecto de *Brugmansia suaveolens* sobre nematodos *in vitro*: En un comportamiento similar al experimento anterior, se comprobó que la mayor mortalidad de juveniles de *Meloidogyne* sp. fue encontrada a las 48 horas de exposición en las diluciones al 7.5% y 10% con promedios de 76% y 78% respectivamente. Estos porcentajes fueron más altos ($P < 0.05$) que obtenidos en los otros tratamientos y fueron

claramente superiores a los porcentajes de mortalidad encontrados en el testigo (agua destilada). El testigo químico, con promedios de juveniles muertos de 43 (12 h), 44 (24 h) y 46 (48 h), presentó los niveles más altos de mortalidad de juveniles de *Meloidogyne* sp. con porcentajes de entre 86-92%.

Estudios previos demuestran que la mortalidad causada por *B. suaveolens* sobre *Meloidogyne* sp. se debe a la presencia de alcaloides del grupo tropano, tales como escopolamina, hiosciamina y atropina (Kvist & Moraes, 2006). En particular la escopolamina es ampliamente conocido por poseer propiedades nematocidas que pueden ser las responsables directas de la mortalidad encontrada en las evaluaciones realizadas en el presente experimento (Shahwar, Abid Rehman, Maqbool, Choudhary, 1995).

Tabla 1. Mortalidad de juveniles de *Meloidogyne* sp. expuestos al extracto de *Q. amara* en condiciones *in vitro* en el año 2012.

	Tiempo de exposición de juveniles a extractos de <i>Q. amara</i>		
	12 horas	24 horas	48 horas
Testigo absoluto	4.88 ± 0.83 a ¹	6.50 ± 1.51 a	6.62 ± 2.20 a
Dilución al 1.0%	14.25 ± 2.82 b	16.13 ± 2.80 b	17.75 ± 4.50 b
Dilución al 2.5%	24.00 ± 3.46 c	24.25 ± 2.82 c	25.75 ± 3.77 c
Dilución al 5.0%	28.37 ± 2.26 d	28.88 ± 4.22 d	30.12 ± 4.52 d
Dilución al 7.5%	40.25 ± 3.65 e	43.62 ± 3.74 e	44.00 ± 2.98 e
Dilución al 10.0%	40.00 ± 3.25 e	43.25 ± 3.85 e	44.50 ± 3.89 e
Testigo químico	42.38 ± 4.41 f	47.12 ± 1.36 f	48.37 ± 1.19 f

¹ Números seguidos por la misma letra y dentro de la misma columna no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$) de acuerdo a la prueba de Rangos múltiples de Duncan al 5%.

Tabla 2. Mortalidad de juveniles de *Meloidogyne* sp. expuestos al extracto de *B. suaveolens* en condiciones *in vitro* en el año 2012.

	Tiempo de exposición de juveniles a extractos de <i>B. suaveolens</i>		
	12 horas	24 horas	48 horas
Testigo absoluto	6.75 ± 2.55 a ¹	6.87 ± 1.64 a	7.25 ± 1.28 a
Dilución al 1.0%	11.25 ± 2.66 b	14.00 ± 3.63 b	15.37 ± 2.92 b
Dilución al 2.5%	21.00 ± 2.93 c	22.37 ± 3.58 c	24.75 ± 2.60 c
Dilución al 5.0%	28.87 ± 2.80 d	30.62 ± 4.37 d	30.87 ± 4.32 d
Dilución al 7.5%	33.62 ± 3.62 e	38.00 ± 4.44 e	38.75 ± 4.50 e
Dilución al 10.0%	34.75 ± 4.27 e	38.62 ± 3.66 e	39.00 ± 4.69 e
Testigo químico	43.00 ± 4.07 f	44.25 ± 4.86 f	46.25 ± 4.95 f

¹ Números seguidos por la misma letra y dentro de la misma columna no son significativamente diferentes ($P \leq 0.05$) de acuerdo a la prueba de Rangos múltiples de Duncan al 5%.

El porcentaje de mortalidad de nematodos más alto fue de 78%, lo que representa un alto efecto nematicida, sin embargo estos resultados son inferiores a los obtenidos por Gutiérrez (1988) quien encontró niveles de hasta 91% en juveniles de *Meloidogyne* sp. Posteriormente, Insunza, Aballay, Macaya (2001) evaluaron nuevamente escopolamina y encontraron que éste ejerció una alta actividad tóxica contra fitonematodos. Estos autores evaluaron las propiedades nematicidas *in vitro* de escopolamina contra el nematodos fitoparásito *Xiphinema americanum* el cual luego de ser expuesto al extracto por 24 horas presentó promedios de mortalidad que oscilaron entre 88-100% de mortalidad (Insunza et al. 2001).

3.2. Efecto de *Q. amara* y *B. suaveolens* sobre *Meloidogyne* sp. asociado a tomate en maceteras

3.2.1. Efecto de *Quassia amara* sobre *Meloidogyne* sp. en maceteras: En los muestreos de nematodos realizados a los 25, 50 y 75 días de exposición al extracto (DEE), se pudo observar que las poblaciones de *Meloidogyne* sp. fueron reducidas significativamente en comparación con el testigo sin aplicación de extractos. Los mayores niveles de eficacia del extracto fueron encontrados a los 25 DEE, encontrándose únicamente 40 juveniles vivos lo que representa un 80% de mortalidad de un total de 200 juveniles inoculados. Al cuantificar el IA se obtuvo un índice de 1.1 en la escala de 0-5 sugerida por Taylor & Sasser (1978), lo que representa 1-2 agallas por planta. Adicionalmente, al evaluar el FR se obtuvo un factor de 0.2, menor que 1 lo

que indica que la población del nematodo se redujo, en este caso en un 80%, lo que coincide con el bajo nivel de daño reportado en el IA. Esto sugiere que las poblaciones de *Meloidogyne* sp. vieron reducida su capacidad de reproducirse e infectar las planta en presencia del extracto.

Las evaluaciones hechas a los 50 y 75 DEE demostraron un incremento poblacional, así como un aumento en el IA y en el FR de *Meloidogyne* sp. A los 50 DEE el porcentaje de mortalidad fue reducido a 65% cuantificándose 70 nematodos vivos, el IA sufrió un leve incremento y fue medido en 1.62 y el FR se incrementó a 0.34. Las mediciones a los 75 DEE demostraron un incremento en la población de juveniles de *Meloidogyne* sp. al reducirse su mortalidad a 46.37%, lo que representa 107 nematodos vivos. Igualmente se incrementaron el IA a 1.87 y el FR a 0.53

Tabla 3. Efecto de extractos de *Q. amara* y *B. suaveolens* sobre la sobrevivencia y el factor de reproducción de juveniles de *Meloidogyne* sp. en condiciones *in vitro* en el año 2012.

	Extracto de <i>Q. amara</i>		Extracto de <i>B. suaveolens</i>	
¹ Números seguidos por la misma letra y dentro de la misma columna no son significativamente diferentes (P≤0.05) de acuerdo a la prueba de rangos múltiples de Duncan al 5%.				
Testigo químico	29.26 ± 9.14 a ¹	0.14 ± 0.05 a	30.00 ± 5.02 a	0.15 ± 0.03 a
Extracción 25DEE	40.76 ± 11.08 b	0.20 ± 0.05 b	58.00 ± 6.60 b	0.29 ± 0.09 b
Extracción 50DEE	69.76 ± 9.74 c	0.34 ± 0.06 c	79.74 ± 9.82 c	0.39 ± 0.07 c
⁴ Extracción 75DEE	107.26 ± 11.36 d	0.53 ± 0.06 d	109.50 ± 13.04 d	0.54 ± 0.08 d
^{3,5} Testigo absoluto	244.50 ± 19.12 e	1.22 ± 0.10 e	249.24 ± 18.24 e	1.24 ± 0.09 e

índice de agallamiento

F

Estos resultados sugieren que el efecto nematocida de *Q. amara* decrece con el tiempo. Esto podría deberse a la degradación natural del extracto al exponerse a las condiciones del ambiente, lo cual reduce su efectividad. Esta degradación de los principios activos del

extracto de *Q. amara* ha sido previamente reportado por Flores, Hilje, Mora, Carballo, (2008) quienes encontraron que los compuestos que causan la inhibición alimenticia se descomponen y pierden su efecto al exponerse a las condiciones ambientales. Específicamente se ha encontrado que los alcaloides encontrados en *Q. amara*, tales como los cuasinoides pueden ser descompuestos por la luz y probablemente por la exposición al aire (Flores et al. 2008).

La mortalidad de nematodos expuestos a extractos de *Q. amara* ha sido reportada previamente por López (2010) y podría ser explicada por la presencia compuestos como cuasina y neocuasina en dichos extractos (López & Pérez, 2008). Estos alcaloides inhiben la capacidad de alimentación de diferentes organismos fitófagos (Mancebo et al. 2000). Esto fue posteriormente confirmado por Hilje & Stansly (2001), quienes encontraron que la cuasina y neocuasina poseen propiedades disuasivas alimenticias. Por otro lado Veierov (1996) afirma que estos alcaloides reducen los niveles de energía y causan deshidratación a los organismos expuestos a ellos.

EL IA encontrado en el estudio fue en promedio menor o igual a 2, lo que podría deberse a las propiedades de las cuasinas y neocuasinas las que han demostrado ser de capaces de inhibir la alimentación de organismos plagas como los insectos (Hilje & Stansly, 2001). Niveles de agallamiento menores a 2 son considerados bajos debido a que en conformidad con el esquema planteado por Canto-Saénz (1983), plantas de tomate con IA menores a 2 son consideradas tolerantes lo que sugiere que el extracto reduce el IA a niveles que son tolerables por la planta.

Finalmente, se puede afirmar que el FR de *Meloidogyne* sp. se redujo con las aplicaciones de extractos, observándose el mayor efecto en el tratamiento evaluado a los 25 DEE con un FR de 0.20. Otros autores han encontrado FR de 9 al evaluar variedades de tomate muy susceptibles a *Meloidogyne* sp. sin utilizar métodos de control (Navarro-Barthelemy et al. 2009). Sin embargo Castro, Flores, Uribe. (2011), al utilizar vermicompost y quitina, redujo el FR a 3.76. En el presente estudio, el FR osciló entre 0.20-0.53, siendo más bajo que el reportado por Castro et al. (2011), lo que demuestra el potencial que posee este extracto como un nematocida alternativo.

El FR encontrado, brinda información muy importante sobre la utilidad del extracto debido a es un indicador de la eficiencia del hospedero (Jiménez, 1985), lo que sugiere que plantas a las que se le aplica el extracto se vuelven hospedero menos receptivos para las poblaciones de nematodos

3.2.2. Efecto de *Brugmansia suaveolens* sobre nematodos en maceteras: Las evaluaciones realizadas a los 25, 50 y 75 DEE sugieren que las poblaciones de *Meloidogyne* sp. fueron reducidas en comparación con el testigo. Los mayores niveles de control fueron observados a los 25 DEE encontrándose 58 nematodos vivos lo que representa 71% de mortalidad del total de 200 juveniles inoculados. El IA ocasionado por los nematodos fue de 1.25, equivalente a 1-2 agallas por planta lo que es insuficiente para causar un daño severo a la planta. Por otro lado el FR fue de 0.29 lo que indica que las poblaciones decrecieron en presencia del extracto, reduciéndose su capacidad de reproducirse e infectar las plantas.

Las evaluaciones hechas a los 50 y 75 DEE demostraron un incremento en los niveles poblacionales de *Meloidogyne* sp., así como un incremento en los IA y FR. A los 50 DEE el porcentaje de mortalidad del nematodo fue reducido a 60%, lo que demuestra un incremento poblacional encontrándose 80 nematodos vivos, el IA sufrió un leve incremento y fue medido en 1.7 y el FR fue medido en 0.39. Las mediciones a los 75 DEE muestran un 45% de mortalidad, lo que demuestra un incremento en la población de *Meloidogyne* sp. a 110 nematodos vivos, el IA incrementó levemente a 2.0 y el FR también se elevó a 0.54. El incremento en estas dos últimas variables en comparación con las evaluaciones hechas a los 25 DEE demuestra que los nematodos tuvieron en las dos últimas evaluaciones menos dificultades para penetrar la planta, infectarla y reproducirse.

La mortalidad causada por extractos de *B. suaveolens* sobre *Meloidogyne* sp. puede ser atribuida a alcaloides tóxicos que produce esta planta tales como atropina, hioscina y escopolamina (Pino & Alvis, 2008). De estos, se sabe que la escopolamina es el alcaloide que se presenta en mayores concentraciones en esta planta (Flores-Hernández, 2011) y el que posee mayor potencial nematicida (Shahwar et al, 1995).

Esto fue posteriormente confirmado por Gutiérrez (1988) quien al utilizar extractos de *Brugmansia* sp. encontró 91% de mortalidad en poblaciones de *Meloidogyne* sp. en tomate. Posteriormente se evaluó su actividad nematicida, encontrándose niveles de mortalidad de entre 90-100% sobre *Hoplolaimus indicus*, y *M. incognita* (Hussain, Mukhtar, Kayani 2011). Abid (1996) demostró que el agallamiento causados por *Meloidogyne* sp. en tomate, fue reducidos gradualmente al incrementar la dosis de escopolamina administrada, demostrando una correlación inversa entre la concentración de escopolamina aplicada al suelo y el nivel de infestación de *Meloidogyne* sp.

En el presente estudio el IA en los tratamientos con extracto de *B. suaveolens* fue de 1.6, lo que demuestra su potencial nematicida ya que un índice menor a 2 indica que los nematodos se vieron limitados en su capacidad de dañar las plantas (Jiménez, 1985). Esto se puede deber a las propiedades repelentes y disuasivas alimenticias atribuidas a este extracto (Pérez & Lannacone, 2008). El IA menor que 2 obtenido, es propio de plantas tolerantes a *Meloidogyne* sp. según la escala de resistencia propuesta por Canto-Sáenz (1983). El IA del tratamiento testigo fue de 3, lo que indica que la variedad utilizada es susceptible según los parámetros del mismo autor (Canto-Sáenz, 1983). De lo anterior se puede deducir que los bajos IA obtenidos se debieron al efecto del extracto y no a la tolerancia de la variedad.

El FR en los tratamientos con extractos no superó 0.54 indicando que la población de *Meloidogyne* sp. no se incrementó en presencia del extracto, sino que decreció. Un FR menor a 1 es propio de plantas tolerantes según la escala propuesta por Suarez & Rosales (2008). En este caso, este bajo FR no se debe a la tolerancia de la variedad, puesto que el testigo absoluto tuvo un FR de 1.24, sino que la tolerancia mostrada por las plantas a *Meloidogyne* sp., se debió a la acción del extracto.

BIBLIOGRAFÍA

- Abid, M. 1996. Studies on the control of Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) with botanical toxicants. Department of Botany. National Nematological Research Centre. University of Karachi. 345 p.
- Andrés, MF; González, A; Sanz, J; Burillo, J. Sainz, P. 2012. Nematicidal activity of essential oils: a review. *Phytochem Rev* DOI10.1007/s11101-012-9263-3.
- Canto-Saéñz, M. 1983. The nature of resistance to *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White 1919) Chitwood 1949, pp. 160-165. *In Proc. Third Res. & Plann.Conf. on Root knot nematodes Meloidogyne* spp. March 22-26, 1982, ed. C.C. Carter. International Meloidogyne Project, Lima, Peru. 233 p.
- Castagnone-Sereno P. 2006. Genetic variability and adaptative evolution in parthenogenetic root-knot nematodes. *Heredity* 96:282–289.
- Castro, L; Flores, L; Uribe L. 2011. Efecto del vermicompost y quitina sobre el control de *Meloidogyne incognita* en tomate a nivel de invernadero. *Agronomía Costarricense* 35(2): 21-32.
- Coats, J. 1994. Risks from natural versus synthetic insecticides. *Annual Revision Entomology EEUU*. 39:489-515.
- Cox, CJ; McCarty, LB; Toler, JE; Lewis, SA; Martin, SB. 2006. Suppressing sting nematodes with *Brassica* sp., Poinsettia and spotted spurge extracts. *Agron. J.*, 98: 962-967.
- Flores -Hernández, MA. 2011. Compilación bibliográfica *Brugmansia* spp. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Veracruzana. p. 1-49
- Flores, G; Hilje, L; Mora, GA; Carballo, M. 2008. Antifeedant activity of botanical crude extracts and their fractions on *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) adults: III. *Quassia amara* (Simaroubaceae). *Rev. Biol. Trop.* 56 (4): 2131-2146.
- Gutiérrez, P. 1988. Uso de extractos vegetales para el control de nematodos en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller). Licenciatura en Ciencias Agrícolas. Facultad de Agronomía. Universidad de San Carlos. 72 p.
- Henriques da Silva, DJ; Barbosa, F; Brunele FR; Castro A; Patel, V. 2008. Tomatoes: Origin, Cultivation Techniques and Germplasm Resources. pp.3-25. In: Preddy, V; Watson, R. Tomatoes and Tomato Products: Nutritional, Medicinal and Therapeutic Properties. Science Publisher. Enfield, NH, USA

Hilje, L; Stansly, PA. 2001. Development of crop associations for managing geminiviruses vectored by whiteflies in tomatoes. Final Report. U.S. Dept. Agr. (USDA). CATIE. Turrialba, Costa Rica. 134 p.

Hussain, MA; Mukhtar, T; Kayani MZ. 2011. Efficacy evaluation of *Azadirachta indica*, *Calotropis procera*, *Datura stramonium* and *Tagetes erecta* against root-knot nematodes *Meloidogyne incognita*. Pak. J. Bot., 43: 197-204,

Hussey, RS; Janssen, G. 2002. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species. In: Starr, JL; Cook, R; Bridge, J. (eds). Plant resistance to Parasitic Nematodes. USA. CAB International. p. 43-70.

Insunza, V; Aballay, E; Macaya, J. 2001. In vitro nematicidal activity of aqueous plant extracts on Chilean populations of *Xiphinema americanum* sensu lato. Nematropica 31:47-54.

Jiménez, M. 1985. Evaluación de resistencia de cinco cultivares de tomate (*Lycopersicon esculentum*) al ataque de *Meloidogyne* sp. IDESIA Vol.9. 15-20.

Kvist, LP.; Moraes, RM. 2006. Plantas sicoactivas. Botánica Económica de los Andes Centrales. 12:294-312.

López, JA; Pérez, J. 2008. Etnofarmacología y actividad biológica de *Quassia amara* (Simaroubaceae): Estado de la cuestión. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales. 7(5):234-246.

López, AP. 2010. Evaluación de extractos de cuatro especies de plantas y sus compuestos orgánicos sobre la mortalidad de *Radopholus similis* in vitro. Licenciatura en Ingeniería en Agronomía. ITCR Sede San Carlos. 117 p.

Mancebo, F; Hilje, L; Mora, GA; Salazar, R. 2000. Antifeedant activity of *Quassia amara* extracts on *Hypsipyla grandella* larvae. Crop Prot. 19: 301-305.

Milligan, S; Bodeau, J; Yaghoobi, J; Kaloshian, I; Zabel, P; Williamson, VM. 1998.

The root knot nematode resistance gene Mi from tomato is a member of the leucine zipper, nucleotide binding, leucine-rich repeat family of plant genes. Plant Cell. 10:1307-1319.

Navarro-Barthelemy, L; Gómez, L; Enrique, R; González, FM; Rodríguez, MG. 2009. Comportamiento de genotipos de tomate (*Solanum lycopersicum* L) frente a *Meloidogyne incognita*. Rev. Protección Veg. Vol. 24 (1): 54-56

Naz, I; Palomares-Rius, JE; Saifullah; Blok, V; Khan, MR; Ali, S. 2012. *In vitro* and *in planta* nematicidal activity of *Fumaria parviflora* against the southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Plant Pathology. 1365-3059.

Oka, Y; Ben-Daniel, BH; Cohen, Y. 2006. Control of *Meloidogyne javanica* by formulations of *Inula viscosa* Leaf extracts. J Nematol. 38(1): 46–51.

Olabiya, TI. 2008. Pathogenicity study and nematoxic properties of some plant extracts on root knot nematode pest of tomato, *Lycopersicon esculentum* (L.) Mill. Plant Pathology Journal, 7(1): 45-49.

Pérez, D; Iannacone J. 2008. Mortalidad y repelencia en *Eupalamides cyparissias* (Lepidoptera:Castniidae), plaga de la palma aceitera *Elaeis guineensis*, por efecto de diez extractos botánicos. Rev. Soc. Entomol. Argent. 67 (1-2): 41-48.

Pino J, Alvis R. 2008. Efecto de *Brugmansia arborea* (L.) Lagerheim (Solanacea) en el sistema reproductor masculino de ratón. Rev Per Biol.: 15(2):125-8

Sasser, JN; Freckman, DW. 1987. A world perspective on Nematology: the role of the society. Pp 7-14 in J.A. Veech and D.W. Dickson (eds) Vistas on Nematology. Society of Nematologists, Hyattsville, Maryland. 509 p.

Shahwar, D; Abid M; Rehman, AU; Maqbool MA; Choudhary, MI. 1995. Nematicidal compounds from *Datura fastuosa*. Proc. 19th IUPAC Symposium on the chemistry of Natural Products. pp 171-179.

Suarez, HZ; Rosales, LC. 2008. Comportamiento de materiales genéticos de piña (*Ananas comosus*) al ataque de *Meloidogyne incognita* raza 1. Rev. Protección Veg., Vol.23 (3): 191-195.

Sukul, NC; 1992. Plants antagonistic to plant-parasitic nematodes. Indian Review of Life Sciences Vol. 12: 23–52.

Taylor, AL; Sasser, JN. 1978. Biology, identification and control of some root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). A coop. Pub. Dept. Plant Pathology and Genetics, North Carolina State University y USAID. Raleigh, N.C. 111 p.

Veierov, D. 1996. Physically and behaviorally active formulations for control of *Bemisia*. p. 557-576. In D. Gerling;R.T. Mayer (eds.). *Bemisia* 1995: Taxonomy, Biology, Damage, Control and Management. Intercept, Andover, UK.

Wachira, PM; Kimenju, JW; Okoth, SA; Mibey, RK. 2009. Stimulation of nematode-destroying fungi by organic amendments Applied in Management of Plant parasitic Nematode. Asian J. Plant. Sci. 8 (2): 153-159.

AF.9.O. Desempeño ambiental de la piscicultura en el estado de Hidalgo, México

Perla Velasco-Amaro¹, Omar Calvario-Martínez², Griselda Pulido-Flores³, Otilio Acevedo-Sandoval⁴, Javier Castro Rosas⁵, Alma Delia Román-Gutiérrez⁶.

¹M. en C. Acuicultura y Manejo Ambiental, Estudiante de doctorado en Ciencias Ambientales, Área Académica de Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México. Correo electrónico: perlavdangeles@gmail.com

² Dr. Biología Marina, Investigador Titular B, CIAD/Unidad Mazatlán en Acuicultura y Manejo Ambiental. AP.711, Mazatlán, Sin., México 82000, Tel: (52-669) 9898700, ext 248, Correo Electrónico: ocalvario@ciad.mx

³ Dr. Ecología y Desarrollo Sustentable, Profesora Investigadora Titular C, Área Académica de Biología, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México. Tel.: (52-771) 71 72 000, Ext. 6658. Correo Electrónico: gpulido@uaeh.edu.mx

⁴ Dr. Ciencias Químicas, Profesor-investigador, Área Académica de Ciencias de la Tierra y los Materiales, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México. (52 771) 7172000 ext. 2461, Correo Electrónico: acevedo@uaeh.edu.mx

⁵ Dr. Ciencias de los alimentos, Profesor-investigador, Área Académica de Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México. Tel: (771)7172000 ext. 2516. Correo Electrónico: jcastro@uaeh.edu.mx

⁶ Dr. Ciencias de los alimentos, Profesor-investigador, Área Académica de Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México. Tel: (771)7172000 ext. 2514. Correo Electrónico: aroman@uaeh.com

RESUMEN

La acuicultura es una actividad de gran importancia para los países en desarrollo, que se emplea como estrategia de desarrollo rural. La evaluación del desempeño ambiental de la acuicultura, se sustenta en la confiabilidad de la información entregada por el productor, y en las capacidades de control y fiscalización de las instituciones públicas sectoriales. Hidalgo representa una potencia en el cultivo de peces, siendo el segundo lugar en producción de México; por lo cual es importante generar información actual del desempeño de la actividad. Se generó una base de datos de las Unidades de Producción Acuícolas registradas ante las secretarías estatales, la cual se dividió en base al grado de marginación de la zona. Para el 2011 se tiene registro de 610 unidades de producción acuícola, establecidas principalmente en zonas de marginación media (67%), sin embargo la mayor producción se encuentra en zonas de alta/muy alta marginación (60% de la producción del estado). El estudio mostró que se presenta desempeño ambiental no satisfactorio, debido al incumplimiento de requisitos para establecimiento y operación.

Palabras clave: contaminación, peces, acuicultura

ABSTRACT

Aquaculture is an activity of great importance for developing countries, used as a rural development strategy. The evaluation of environmental performance of aquaculture based on the reliability of the information provided by the producer and the control and monitoring capabilities of public sector institutions. Hidalgo State is a powerhouse at fish farming, the second production site in Mexico, so it is important to generate current information of the activity performance. A data base of fish farm registered in the state secretaries was generated. And this one was divided according to the degree of marginalization of the area. For 2011 there is record of 610 fish farm, principally established marginalization zones mean (67%), however the highest production is in areas of high / very high marginalization (60% of the state). The present study showed that environmental performance is not satisfactory due to the breach of requirements for establishment and operation.

Key words: pollution, fish, aquaculture

INTRODUCCIÓN

La acuicultura es la actividad de sector productor de alimentos con mayor esperanza de mitigar la pobreza y contribuir con la seguridad alimentaria en el mundo (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO], 2010). En México, es la actividad de producción de proteína animal con mayor crecimiento anual del 6.6 %, a nivel mundial ocupa el lugar 24 en producción acuícola y esta genera más de 16 % de la producción pesquera nacional (Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca

[CONAPESCA] & Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación [SAGARPA] 2011). En el territorio nacional la producción acuícola se concentra en los estados de Sonora, Sinaloa, Veracruz, Tabasco, Jalisco, Estado de México y Nayarit, conjuntamente se han identificado un gran número de unidades de producción acuícola en Michoacán, Guerrero, Yucatán, Guanajuato, Hidalgo, Morelos y Puebla (NOTIMEX, 2011). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación ([SAGARPA], 2013b), reporta que Hidalgo representa una potencia en el cultivo de peces, siendo el segundo lugar a nivel nacional en producción acuícola dentro de los estados sin litoral (SEDAGRO & SAGARPA, 2010; Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación [SIAP-SAGARPA], 2011; SAGARPA, 2013b); por lo cual es importante generar información del desempeño ambiental de la actividad. La acuicultura es una actividad usuaria de bienes y servicios ambientales, por un lado, es usuaria del agua y del suelo como bienes; y por otro lado, es usuaria del agua como servicios para la asimilación de residuos de materia orgánica, compuestos de nitrógeno y fósforo, y pueden generar impactos al ambiente como eutrofización y modificaciones del hábitat, entre otras (Magallón-Barajas, et al. 2007). Debido al rápido crecimiento de la actividad, es necesario contar con mecanismos y herramientas que le permitan planificar y controlar su desarrollo dentro de un marco sostenible, mediante un desempeño ambiental adecuado (Pardo, et al. 2005; García, et al. 2011). Se puede realizar una evaluación del desempeño ambiental de la acuicultura, sustentada en la confiabilidad de la información entregada por el productor, y en las capacidades de control y fiscalización de las instituciones públicas sectoriales. Indicadores ambientales a considerar, bajo los principios de mantener los bienes y servicios que el medio ofrece a la acuicultura, contribuir a mejorar la huella ecológica de la actividad y fomentar la sostenibilidad ambiental, son energía empleada, entradas/salidas, cumplimiento con estándares ambientales, existencia de estudio de impacto ambiental, uso de certificaciones y buenas practicas (García, et al. 2011).

El objetivo del presente estudio es evaluar el desempeño ambiental de la piscicultura en Hidalgo en base al cumplimiento con la normatividad vigente generando información actual de la actividad.

METODOLOGÍA

El estudio se inició generando una base de datos con información de las Unidades de Producción de Acuícolas (UPA) establecidas en Hidalgo; para lo cual se accedió a registros de la Secretaria de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) en el Estado de Hidalgo; informes del Comité Acuícola Hidalguense de Sanidad A.C. y Sector Pesquero del Estado, entrevistas con encargados de dependencias administrativas, y visitas a campo registrando datos generales de producción. La información generada, se dividió considerando el grado de marginación establecidos por Consejo Nacional de Población (CONAPO) para el 2010 para el estado de Hidalgo; lo anterior debido a que la marginación de la zona se considera un factor importante para el desarrollo de la actividad. Los datos obtenidos se

verificaron la normatividad vigente para hacer una evaluación del desempeño ambiental de la actividad en el Estado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En México, el desarrollo de la acuicultura está enmarcado en la Ley General de Pesca y Acuicultura Sustentable (2007); y regulaciones de carácter federal, contenidas en la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Medio Ambiente (1988), Ley de Aguas Nacionales (1992), Reglamento de la Ley de Aguas Nacionales (1994) y la Ley Federal de Derechos (2010). SAGARPA (2013c) menciona que para obtener una concesión de Acuicultura comercial, entre otros, se necesita Acreditar su inscripción en Registro Nacional de Pesca y Acuicultura (RNPA), Estudio de Manifestación de Impacto Ambiental (EMIA), Concesión otorgada por la autoridad del agua (en los términos de la Ley de Aguas Nacionales y Pago de derechos por el otorgamiento de la concesión para la acuicultura comercial, conforme al artículo 191-A, fracción IV de la Ley Federal de Derechos).

De forma general se tiene que el 48.6% de las unidades de producción cuenta con RNPA, 7.66% con estudio de manifestación de impacto ambiental, 20.9% concesión de agua y 49.9% tienen seguimiento por parte de sanidad acuícola del Estado. SEDAGRO & SAGARPA (2010), resalta que la importancia de contar con RNPA, es debido a que es la fuente básica de consulta para conocer el inventario de activos y padrón de productores en el Estado; este trámite es gratuito, sin embargo reportan que para el 2009 solo el 38% de las UPA cuentan con dicha inscripción; en la base generada del 2011 se reportan el 48.6% y SAGARPA (2013) reporta que 368 UPA cuentan con ella (60%). SEDAGRO & SAGARPA (2010) mencionan la importancia de un proceso de concientización de productores, como estrategia para combatir el rezago en la inscripción, la regularidad de los reportes y la fiabilidad de la información.

Los resultados muestran que existe un desempeño ambiental no satisfactorio, en el cumplimiento con los requisitos establecidos para instalación y operación de la actividad acuícola en el Estado. Este desempeño ambiental no satisfactorio, se debe principalmente a la unión de aspectos sociales y factores de “gobernanza”.

El grado de Marginación y pobreza extrema, son factores sociales relevantes (FAO 2010; Gobierno del Estado de Hidalgo ([Plan Estatal de Desarrollo, PED], 2011). SAGARPA (2011), menciona que 25.7% de la población del Estado vive en pobreza alimentaria, 33% en pobreza de capacidades y el 54.2% en pobreza patrimonial, además de que Hidalgo es uno de los Estados más pobres del país y lo clasifica con un grado de alto de rezago social. En la base generada se encontró que las actividades acuícolas se realizan en el 60% de los municipios del Estado, de los cuales el 50% son considerados de alta-muy alta marginación. De las UPA registradas el 26% se encuentran en zonas de alta-muy alta, 67% en media, 7% baja-muy baja (Fig. 1 A). SEDAGRO & SAGARPA (2010) y Velasco et al. (2012), reportan que en el Estado el 54.3% y 57% de las unidades de producción, se encontraban en zonas de alta/muy altas grados de marginación, observando una disminución de casi el 50% en este estudio. Esta disminución se debe a que el índice de marginación cambio; en 1999 se tenían 41 municipios en alta/muy alta marginación y para el 2010 se tienen solo 21

municipios en la misma situación. Algo importante de resaltar es el hecho de que la mayor superficie de producción se encuentra en zonas de baja y media marginación, 37% y 32% respectivamente (Fig.1 B), sin embargo las zonas de alta y muy alta marginación se tiene la mayor producción 44.15 t y 15.94 t respectivamente, representando el 60% de la producción total del Estado (Fig. 1 C). Lo anterior es importante debido a que evidencia que la actividad acuícola en zonas marginadas, representa una fuente de alimentos e ingresos económicos para los productores de pequeña escala o rural, y que comercializan sus productos de forma local.

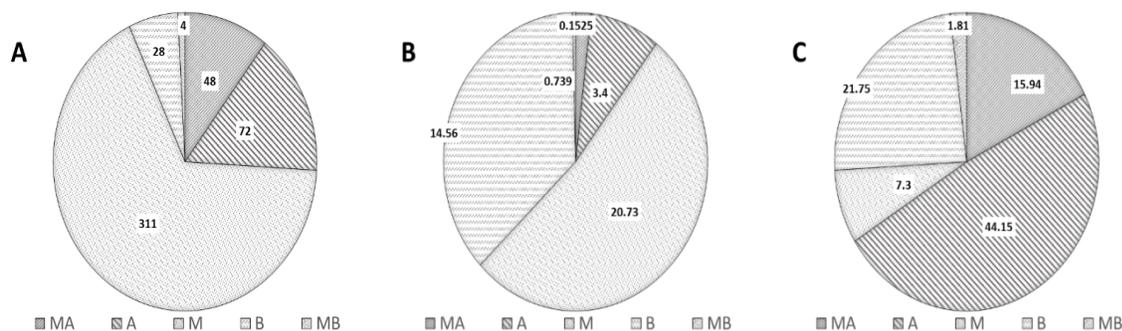


Figura 1. A) Número de Unidades de Producción, B) Superficie De Cultivo (ha) y C) Cosecha (t), en base al grado de marginación de la zona establecido por CONAPO 2010. MA: muy alta, A: alta, M: media, B: baja, MB: muy baja.

Al analizar el cumplimiento con estándares ambientales por grado de marginación (Fig. 1), se tiene que las UPA establecidas en zonas de marginación alta y muy alta presentan mayor cumplimiento de estándares ambientales. Lo anterior se debe a que la mayoría de los programas de capacitación, seguimiento y apoyos se han dirigido a las zonas de mayor pobreza en la entidad (PED, 2011). SEDAGRO & SAGARPA (2010) mediante políticas de alto contenido social, ha destinado inversiones y apoyos de infraestructura a dichas zonas.

Ponce et al., (2006) proponen que para alcanzar el desarrollo sostenible en la acuicultura, se debe realizar una inversión en la gente a través de la educación y capacitación, inversión en la investigación y desarrollo, mejoramiento en el flujo de información y comunicación, entre otros, buscando con estas medidas abatir la pobreza de las zonas rurales. A lo anterior, se hace referencia el trabajo que realizan, “por separado” los Sistemas Productos implicados, Dirección de Acuicultura del Estado y Sistema Hidalguense de Sanidad Acuícola, generando cursos de capacitación y seguimiento técnico para los productores. Secretaria de Desarrollo Agropecuario del Gobierno del Estado de Hidalgo (SEDAGRO, 2012), menciona que mediante programas de apoyo, realizó 2,125 asesorías a productores acuícolas y pesqueros de

425 localidades pertenecientes a 65 municipios del Estado y buscando dirigir los esfuerzos a localidades de mayor pobreza. PED (2011) menciona que las zonas donde se efectúa la actividad en el Estado, no se cuenta con grupos organizados y por consiguiente es una de las razones por la cual se carece del Registro Nacional de la Pesca, desempleo. Adicionalmente CONEVAL (2012) reportó que cerca del 20% de la población en el Estado presenta pobreza alimentaria y a nivel nacional, Hidalgo ocupa el octavo lugar en marginación (CONAPO, 2012). Aun así, es necesario que esta actividad llegue al estatus de sustentabilidad para beneficio de los mismos habitantes, por lo cual se deben buscar opciones de tratamiento de efluentes adecuadas al grado de pobreza, marginación y educación de la zona.

FAO (2008) menciona que el termino gobernanza se refiere a un marco legislativo fácil de aplicar, transparente y previsible, una reglamentación que no sea demasiado engorrosa, así como estructuras institucionales y administrativas coherentes y coordinadas. De no cumplirse lo anterior, menciona que la aplicación de las reglamentaciones puede desincentivar a los acuicultores; como ejemplo la cantidad de normas y el tiempo necesario para aplicarlas es uno de los principales problemas que se presenta. Con respecto a lo anterior se tiene que en el Estado se encuentran un 5% de unidades de producción sin operar debido a problemas de permisos y concesiones de uso de agua (SEDAGRO & SAGARPA, 2010). Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) es la autoridad que otorga la concesión de Concesión de aprovechamiento de Aguas (superficiales y subterráneas) con un valor de \$3,076.96 **sin IVA** (CONAGUA, 2013). El pago por derecho de otorgamiento de una concesión para acuicultura comercial \$12,266.00 MNX (SAGARPA, 2013c). Dichos precios son altos, y considerando las zonas de marginación y que la producción obtenida es para autoconsumo, el productor no genera ganancias para cubrir el trámite y pago de los requisitos. Con el incumplimiento de requisitos de establecimiento y operación, se genera una flexibilidad en la “gobernanza”, alejado de un plan de regularización efectivo que contemple factores sociales-ambientales para el cumplimiento de los requisitos.

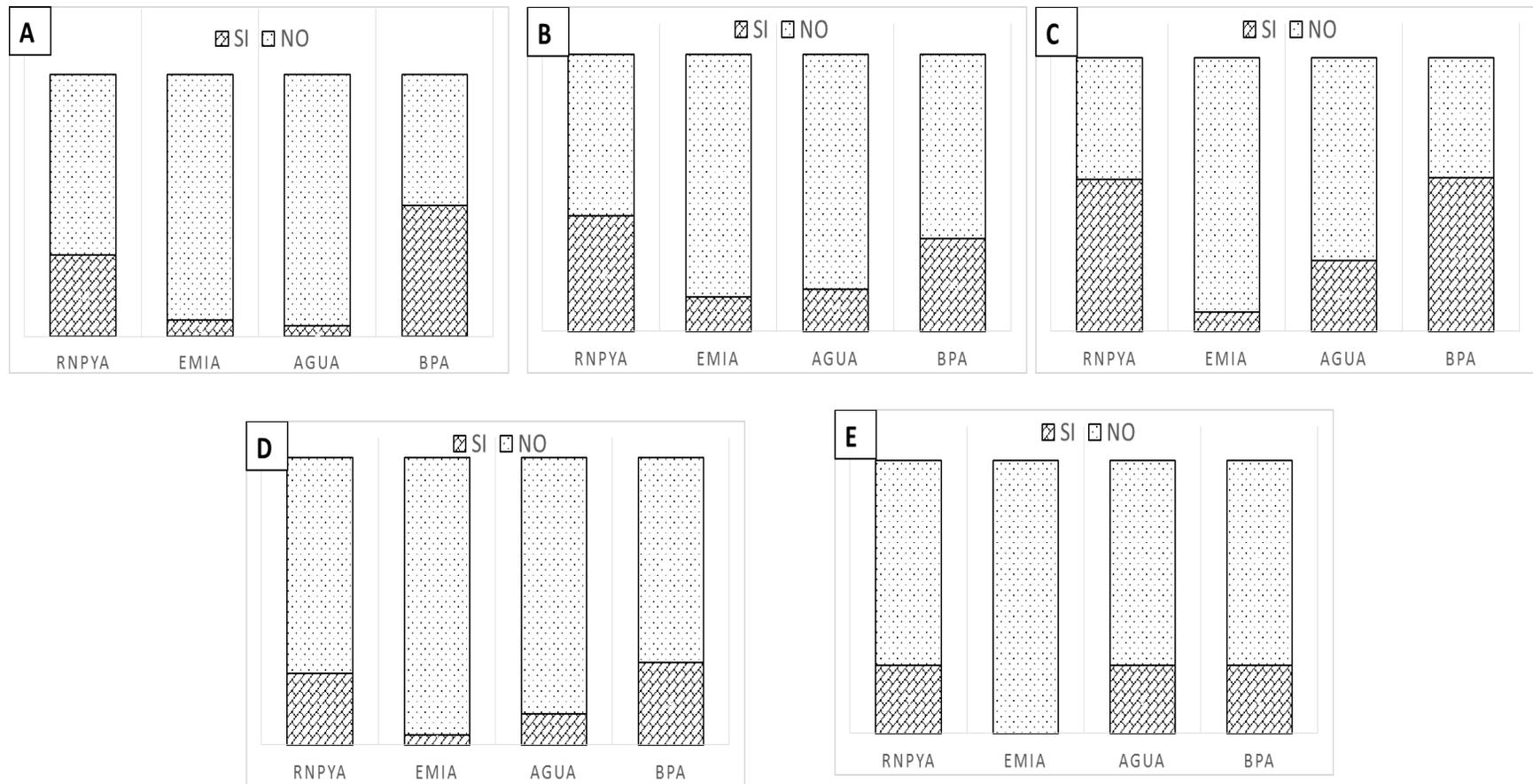


Fig. 1 Cumplimiento de estándares ambientales de las unidades de producción establecidas en el estado de Hidalgo en base al grado de marginación A) Muy alto, B)Alto, C)Medio, D)Bajo y E)Muy bajo. Nota: RNPYA: registro nacional de pesca y acuicultura, EMIA: estudio de manifestación de impacto ambiental, AGUA: permiso y concesión de uso de agua, BPA: seguimiento para la certificación por parte del comité de sanidad Acuícola del estado.

Una parte muy importante que menciona la Ley de Aguas Nacionales (1992): “quien use el recurso agua para actividades productivas, tiene la obligación de regresar el agua con la misma o mejor calidad de agua que con la que fue tomada del cuerpo abastecedor”, por lo cual se menciona el que se debe contar con obras de tratamiento previas a la descarga de agua para evitar la contaminación de cuerpos de aguas naturales receptores y se debe realizar un monitoreo de las descargas. En la base generada se encontró que no se cuenta con registro de monitoreo de calidad de efluentes, solo 3 de las unidades de producción tienen filtros biológicos de salida y el 10% de las UPA están optando por fuentes de agua alterna como la precipitación pluvial y a disminuir el uso de agua mediante sistemas de recirculación (SEDAGRO & SAGARPA, 2010).

Algo muy importante de mencionar es que en materia de acuacultura sustentable, se carece de un marco normativo estatal en materia pesquera, lo que impide, entre otras cosas, la realización de funciones que actualmente competen al Gobierno Federal, siendo las principales la inspección y vigilancia de los cuerpos de agua y unidades de producción, la emisión de permisos de pesca comercial y pesca deportiva, la concesión de uso de agua para el sector acuícola y pesquero y el dictamen para la realización de estudios de impacto ambiental para la implementación de nuevos proyectos acuícolas (SAGARPA, 2011; PED, 2011).

El estudio realizado permite concluir que existe un desempeño ambiental no satisfactorio, debido al incumplimiento de los requisitos de establecimiento y operación de las unidades de producción acuícola. Este incumplimiento se genera, debido a que en el Estado 50% de los municipios donde se realiza la actividad son de alta-muy alta marginación, y a que la gobernanza que aplica no se encuentra dirigida a esta parte de la población. Por lo cual existe la necesidad de establecer una Ley general del Pesca y Acuacultura del Estado de Hidalgo, que contemple los aspectos sociales y ambientales específicos de las zonas donde se efectúa la actividad. Generando las bases para un plan de regularización efectivo, que contemple la parte social (marginación y pobreza) como un eje de acción para lograr los objetivos de regularización ambiental.

BIBLIOGRAFÍA

CONAGUA (Comisión Nacional del Agua). (2013). *Tramites De Concesiones Y Asignaciones De Aguas Nacionales*. México. Consultado el 16 sep. 2013. México. Obtenido desde:

<http://www.conagua.gob.mx/Contenido.aspx?n1=5&n2=101&n3=302&n4=302>

CONAPESCA (Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca) & SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). (2011). “El Sector Pesquero y Acuícola: Logros 2007 a 2010”. México. P. Obtenido desde: <http://www.gbcbiotech.com/genomicaypesca/documentos/industria/SAGARPA%20EI%20Sector%20pesquero%20y%20acuicola%20Logros%202007%202011.pdf>

CONAPO (Consejo Nacional de Población). (2012). Anexo A: Índice de marginación por entidad federativa, 2010. Consultado: 13 sep. 2013. Obtenido desde: http://www.conapo.gob.mx/es/CONAPO/Indices_de_Marginacion_2010_por_entidad_federativa_y_municipio

CONEVAL (Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social). (2012). *Resultados de pobreza a nivel nacional y por entidades federativas 2010-2012*. Consultado: 13 de sep. 2013. Obtenido desde <http://www.coneval.gob.mx/medicion/Paginas/Medici%C3%B3n/Pobreza%202012/Pobreza-2012.aspx>

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). (2010). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2010*. Consultado: 13 sep. 2013. Obtenido desde: <http://www.fao.org/docrep/013/i1820s/i1820s.pdf>

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). (2008). Hacia una mejor gobernanza en materia de acuicultura, 4ta reunión, subcomité de acuicultura; Puerto Varas Chile, octubre 6-10 2008. Consultado el 10 sep. 2013. Obtenido desde: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/meeting/014/k2845s.pdf>

García-Diez, C, Remiro, J, Ojeda, J, Simard, F & Simoes, S. (2011). Aproximación a la sostenibilidad acuícola del Mediterráneo mediante el uso de indicadores. *AquaTIC*. 35: 1-8. Consultado: 13 sep. 2013. Obtenido desde: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49422869001>

<http://www.aduanas-mexico.com.mx/claa/ctar/leyes/lfd.html#art82b>

Ley de Aguas Nacionales. (1992). *Diario Oficial de la Federación (DOF)*, última reforma publicada 07-06-2013. Consultado: 13 sep. 2013. Obtenido desde: <http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/16.pdf>

Ley Federal De Derechos (2010). Título segundo, Capítulo VIII. *Diario Oficial de la Federación (DOF)*. Consultado: 13 sep. 2013. Obtenido desde: http://www.agua.org.mx/h2o/index.php?option=com_content&view=article&id=14373:ley-federal-de-derechos-2010&catid=1184:leyes-federales&Itemid=100117

Ley General de Acuicultura y Pesca Sustentables. (2007). *Diario Oficial de la Federación (DOF)*, última reforma publicada DOF 07-06-2012. Consultado: 13 sep. 2013. Obtenido desde: <http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/LGPAS.pdf>

Ley General Del Equilibrio Ecológico y La Protección al Ambiente. (1988). *Diario Oficial de la Federación (DOF)*, última reforma publicada DOF 07-06-2013. Consultado: 13 sep. 2013. Obtenido desde: <http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/148.pdf>

Magallón-Barajas, F. J., Villarreal-Colmenares, H., Arcos-Ortega, F., Avilés-Quevedo, S., Civera-Cerecedo, R., Cruz-Hernández, P., González-Becerril, A., Gracia-López, V., Hernández-Llamas, A., Hernández-López, J., Ibarra- Humphries, A. M., Lechuga-Deveze, C., Mazón-Suáztegui, J. M., Muhlia- Melo, A. F., Naranjo-Páramo, J., Pérez-Enríquez, R., Porchas-Cornejo, Portillo-Clark, G. & Pérez-Urbiola, J. C. 2007. Orientaciones estratégicas para el desarrollo sustentable de la acuicultura en México. Publicaciones especiales del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. Cámara de Diputados. LX Legislatura. 256p.

NOTIMEX. (2011, Marzo 22). La acuicultura, el sector con más crecimiento en la producción pesquera en México. *Panorama Acuícola Magazine*. Consultado: 13 sep. 2013. Obtenido desde:

http://www.panoramaacuicola.com/noticias/2011/03/22/la_acuicultura_el_sector_con_mas_crecimiento_en_la_produccion_pesquera_en_mexico.html

Pardo S., H. Suárez, P. Jardim-Manso, & Soriano-Sierra E. 2005. Diseño de una herramienta de evaluación del desempeño ambiental en las granjas piscícolas. *MVZ-Córdoba*. 10(2): 602-613.

[Gobierno del Estado de Hidalgo \(PED\). \(2011\). Plan Estatal de Desarrollo 2011-2016. Consultado el 13 de sep. 2013. Obtenido desde: http://seplader.hidalgo.gob.mx/PED/documentos/PLAN%20ESTATAL%20DE%20DESA%20RROLLO.pdf](http://seplader.hidalgo.gob.mx/PED/documentos/PLAN%20ESTATAL%20DE%20DESA%20RROLLO.pdf)

[Reglamento de la ley de aguas nacionales. \(1994\). *Diario Oficial de la Federación \(DOF\)*, última reforma publicada 24-05-2011. Obtenido desde: http://www.ordenjuridico.gob.mx/fichaOrdenamiento.php?idArchivo=6036&ambito=FEDERAL&poder=ejecutivo](http://www.ordenjuridico.gob.mx/fichaOrdenamiento.php?idArchivo=6036&ambito=FEDERAL&poder=ejecutivo)

SEDAGRO (Secretaría de Desarrollo Agropecuario del Gobierno del Estado de Hidalgo). & SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). (2010). *Carta acuícola y Pesquera del Estado de Hidalgo*. México. 70 p.

SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). (2011). Resultados del estudio de Diagnóstico Sectorial en el Estado de Hidalgo 2010. Consultado el 18 sep. 2013. Obtenido desde: <http://www.sagarpa.gob.mx/Transparencia/Respuesta/Informe%20Final%20Diagnostico%20Sectorial%20Estado%20de%20Hidalgo.pdf>

SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). (2013a). *Base de datos anuarios estadísticos*. México. Consultado: 13 sep. 2013. Obtenido desde: http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/cona_anuario_estadistico_de_pesca

SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). (2013b). *Infografía Acuicultura 2011*. México. Consultado: 13 sep. 2013. Obtenido desde: http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/infografia_acuicultura_2011

SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). (2013c). *Requisitos para el trámite de concesión para la acuicultura comercial*. México. Consultado 13 sep. 2013. Obtenido desde: http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/cona_requisitosa

SEDAGRO (Secretaría de Desarrollo Agropecuario del Gobierno del Estado de Hidalgo). (2012). *Programas de Apoyo 2012*. Consultado 11 de sep. 2013. México. Obtenido desde: <http://transparencia.hidalgo.gob.mx/descargables/dependencias/agricultura/14papoyo.pdf>

SIAP-SAGARPA (Servicio de Información Agroalimentaria Y Pesquera Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). (2011). Panorama agroalimentario y pesquero 2011 de Hidalgo. México. Consultado el 18 sep. 2013. Obtenido desde: <http://www.siap.gob.mx/opt/flip/hidalgo/>

Velasco Amaro, P. I., Calvario Martínez, O., Pulido Flores, G., Acevedo Sandoval, O., Castro Rosas, J., Román-Gutiérrez, A. D. (2012, Diciembre). Problemática Ambiental de la Actividad Piscícola en el Estado de Hidalgo, México. Ingeniería [en línea], Español. En: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=46725267007> ISSN 1665-529X

AF.10.O. Sistema de gestión socioambiental para la producción sostenible de la piña

Social and environmental management system for eco-friendly pineapple production

¹Stephanie Rodriguez Hidalgo (srodriguez@canapep.com, (506) 2474-1749)

²Carlos Acevedo Cornejo (cacevedo@canapep.com, (506) 2291-5237)

¹ *COSAP-CANAPEP (Comisión socioambiental piñera-Cámara Nacional de productores de piña, Costa Rica)*

² *COSAP-CANAPEP (Comisión socioambiental piñera-Cámara Nacional de productores de piña, Costa Rica)*

RESUMEN

El Sistema de Gestión Socioambiental para la Producción Sostenible de la Piña (SG-PSP) es un instrumento de trabajo para las empresas productoras de piña, el cual tiene como objetivo la identificación y mitigación de los impactos sociales y ambientales.

La norma está compuesta por siete elementos fundamentales que una empresa o finca piñera requiere para implementar adecuadamente las regulaciones y compromisos que se establecen. Los elementos son: sistema de gestión, responsabilidad social, legislación, compromiso de gestión social y ambiental, salud ocupacional, buenas prácticas de agricultura y huella de carbono.

Desde el 2009 al 2012 se ha realizado tres ciclos de revisiones en las fincas asociadas. En la primera revisión se hizo en forma de diagnóstico para conocer el estado de cada finca con respecto a la norma a partir de ahí se realizaron planes de trabajo para implementar y mejorar en los aspectos en los que la finca se encontraba más débiles. En los dos ciclos siguientes se ha venido revisando el cumplimiento y mejoramiento en las fincas de acuerdo al SG-PSP con respecto a los planes de trabajos presentados después del diagnóstico realizado.

Para el primer ciclo se observó un 63%, para el segundo ciclo un 72% de cumplimiento y para el tercer ciclo un 80% del SG-PSP. Este cumplimiento representa el 71% en promedio de la producción nacional.

Esto determina que el sector piñero se encuentra comprometido a mejorar y a realizar buenas prácticas tanto agrícolas como ambientales y sociales.

Palabras claves: sistema gestión, ambiente, social, producción sostenible.

ABSTRACT

The Social and Environmental Management System for Sustainable Production of Pineapple (SG-PSP) is a working tool for manufacturers, which aim is identifying and mitigating the social and environmental impacts.

The standard consists of seven basic elements that a business or pineapple farm requires to properly implement the regulations and commitments established. The elements are: system management, social responsibility, legislation, social commitment and environmental management, occupational health, good agricultural practices and carbon footprint.

From 2009 to 2012, there have been performed, continues checkups on farms. The first check up was made as a diagnosis, in order to find out the position of each farm in respect to the standards. From there, several working plans were implemented, in order to better the weaker aspects of the farm. In the following two checkups, the performance, and improvements on farms, have been rigorously checked, according to the SG-PSP, and taking into account working plans that were submitted after the diagnosis was made.

During the first check up a compliance of 63% was observed, during the second one a 72%, and the third one showed up to 80% of the SG-PSP. This means that the average of compliance is of 71% in national production. Therefore, it can be suggested that pineapple sector is committed to improving and better its agricultural, social, and environmental practices.

Keywords: management system, environment, social, eco-friendly production.

INTRODUCCIÓN

El Sistema de Gestión Socioambiental para la Producción Sostenible de la Piña (SG-PSP) es un instrumento de trabajo para las empresas productoras de piña, el cual tiene como objetivo la identificación y mitigación de los impactos sociales y ambientales.

La norma está compuesta por siete elementos fundamentales que una empresa o finca piñera requiere para implementar adecuadamente las regulaciones y compromisos que se establecen. Los elementos son:

- Sistema de gestión: es necesaria una estructura debidamente planificada en la finca, la cual debe contar con elementos básicos como: diagnostico socioambiental, política, programa de gestión, procedimientos, recopilación de leyes y reglamentos aplicables a la operación, revisiones internas periódicas, informe de retroalimentación a la gerencia de la empresa y algún mecanismo que permita que la empresa pueda reaccionar a eventualidades de algún incumplimiento.
- Responsabilidad social: establece las relaciones que deben desarrollar los empresarios con sus vecinos, identificar sus necesidades y mantener una relación armónica de ayuda mutua.
- Legislación: es la selección de las leyes aplicables a la actividad piñera.
- Compromisos de gestión social y ambiental: que incluyen aspectos laborales y de protección ambiental (manejo de agroquímicos, de suelos, de aguas y de desechos).
- Salud ocupacional.

- Buenas prácticas de agricultura.
- Huella de carbono: instrumento que permite montar directrices y procedimientos de medición, tanto de las emisiones, como la captura del CO₂ producto de las operaciones diarias de la finca.

El fin principal del sistema de gestión socioambiental piñero es cumplir con los objetivos del desarrollo sostenible, los cuales son propiciar un desarrollo económico ambientalmente sostenible, desde el punto del desarrollo que ayuda a satisfacer las necesidades humanas básicas, sin comprometer los recursos de las futuras generaciones y establecer lazos de convivencia con los colaboradores (as) de las fincas, vecinos, proveedores de la región, generando un marco de tranquilidad y conveniencia mutua, que permitan forjar altos niveles de calidad de vida para todos.

METODOLOGÍA

Desde el 2009 al 2012 se ha realizado tres ciclos de revisiones en las fincas asociadas. En la primera revisión se hizo en forma de diagnóstico para conocer el estado de cada finca con respecto a la norma a partir de ahí se realizaron planes de trabajo para implementar y mejorar los aspectos en los que la finca se encontraba más débiles. En los dos ciclos siguientes se ha venido revisando el cumplimiento y mejoramiento en las fincas de acuerdo al SG-PSP con respecto a los planes de trabajos presentados después del diagnóstico realizado. En todos los casos las revisiones se hacen mediante listas de chequeo, las cuales están divididas en 5 temas (administración del sistema de gestión, control operativo, legal, responsabilidad social, salud ocupacional), las revisiones se hacen mediante documentación, entrevistas y visitas al campo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1. se observan los resultados globales de los diferentes periodos en que se realizaron las revisiones. En el periodo del 2010 se realizó un diagnóstico para conocer el grado de cumplimiento de las fincas piñeras en donde se obtuvo un 63% de cumplimiento, a partir de ahí se inició un trabajo en las fincas con el plan de acción, que también iba a ser revisado en las siguientes visitas. El cumplimiento con los planes de trabajo nos demuestra que en las revisiones en los periodos 2010, 2011 y 2012 el mejoramiento en el cumplimiento fue aumentando, pasando de un 63% en el primer periodo a un 78% en el periodo 2012. Esto determina que el sector piñero está comprometido con el mejoramiento de las buenas prácticas agrícolas, ambientales y sociales.



Figura. 1. Resultados globales fincas asociadas a CANAPEP.

En la figura 2. se presentan los datos en cuanto a los resultados de las revisiones que se refieren a la parte de responsabilidad social de los tres periodos, como podemos ver el cumplimiento en las diferentes revisiones fue bastante bueno. Se debe aclarar que en el periodo 2012, con la versión 2 del sistema de gestión la parte de responsabilidad social fue variada ya que al entrar el capítulo de salud ocupacional algunos rubros que anteriormente se evaluaban como parte de la responsabilidad social fueron evaluados en este nuevo rubro, esa es la razón que en el periodo 2011 el porcentaje de cumplimiento fuera del 82% viéndose disminuido para el siguiente periodo. Dentro de estos rubros se revisan tanto el compromiso social que tiene la empresa con las comunidades vecinas como con el colaborador.

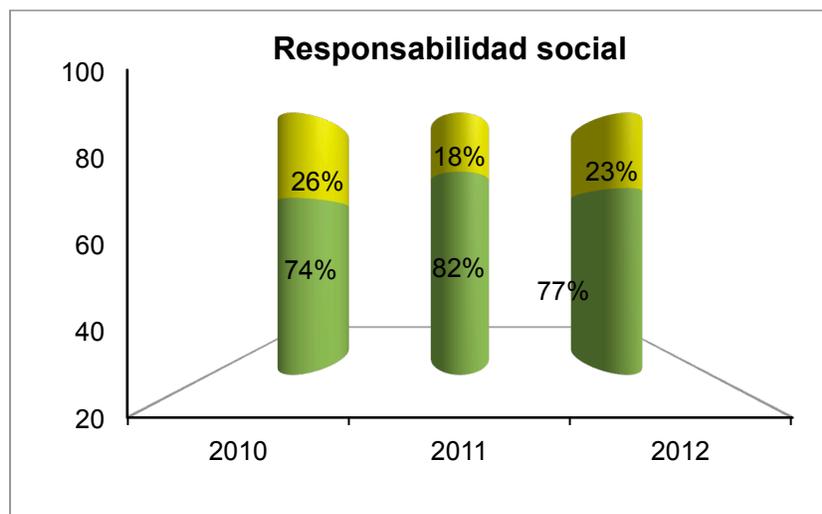


Figura 2. Responsabilidad social en tres periodos de revisión a las fincas asociadas a CANAPEP.

En la figura 3. se observan los resultados de las evaluaciones legales de la última revisión, donde se obtuvo que las fincas en el periodo 2012 cumplen con un 79% de los requisitos legales que les corresponde.

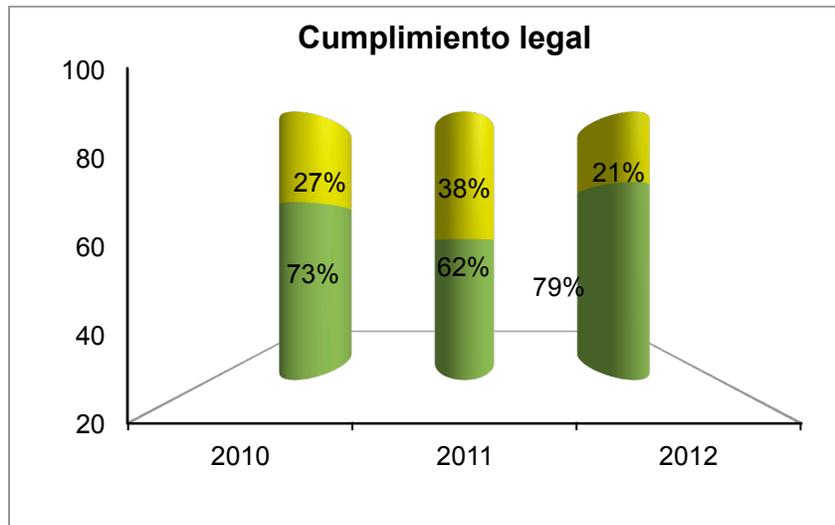


Figura 3. Cumplimiento legal en tres periodos de revisión a las fincas asociadas a CANAPEP.

En la figura 4. se observan los datos de las revisiones en lo que respecta al sistema de gestión, lo que se ha podido observar durante las revisiones es que muchas de las fincas no conoce cuál es el correcto funcionamiento de los sistemas de gestión y los beneficios directos e indirectos, aunque en los diferentes ciclos se ha observado un mejoramiento, después de la última revisión CANAPEP ha venido trabajando con las fincas, en las que todavía el sistema de gestión no está funcionando de forma correcta, con el fin de capacitarlos y enseñarles los beneficios que se pueden obtener.



Figura 4. Administración sistema de gestión en tres periodos de revisión a las fincas asociadas a CANAPEP

CONCLUSIÓN

- En los resultados globales de las revisiones se observa un mejoramiento significativo del primer ciclo al tercer ciclo.
- El sector piñero se encuentra comprometido a mejorar y a realizar buenas prácticas tanto agrícolas como ambientales y sociales.

AF.11.O. Determinación del efecto fungicida de nanopartículas de plata sobre hongos fitopatógenos aislados del cultivo de cacao en tres departamentos de Colombia

Raquel A. Villamizar^{1*}, Jairo Muñoz¹, Oscar O. Ortíz²

E-mail: raqvillamizar@unipamplona.edu.co, Raquel.villamizar@gmail.com

¹ Grupo de Investigación en Microbiología y Biotecnología. Department of Microbiology. Universidad de Pamplona, Km 1, vía Bucaramanga. Pamplona, Colombia.

² Industrial Engineering Department. Universidad de Pamplona, Km 1, vía Bucaramanga. Pamplona, Colombia.

RESUMEN

Colombia es el tercer país latinoamericano con mayor producción de cacao (*Theobroma cacao* L). Debido a que este cultivo se establece en climas caracterizados por períodos lluviosos y secos, la incidencia de agentes fitopatógenos de diferente naturaleza es alta, haciendo que se presenten grandes pérdidas económicas que afectan considerablemente el sustento de los cacao-cultores y sus familias.

En el presente estudio, se aislaron hongos fitopatógenos del cultivo de cacao en tres de los departamentos que concentran la mayor producción en Colombia. Las cepas aisladas fueron caracterizadas a través de técnicas de microscopía óptica. Además, se determinó el efecto que tienen las nanopartículas de plata (AgNPs) sobre el crecimiento de los hongos aislados, con la intención de generar alternativas basadas en el uso de la nanotecnología, que contribuyan a mitigar los efectos ocasionados por este tipo de microorganismos.

Los resultados mostraron una alta incidencia fitopatógenos primarios tales como ***Phytophthora spp.***, agente etiológico del cáncer de la mazorca. Además se encontró una alta prevalencia de hongos secundarios tales como ***Aspergillus sp*** y ***Fusarium sp.*** Las pruebas de sensibilidad *in vitro* en medios modificados con diferentes concentraciones de AgNPs, mostraron que a partir de 15 ppm se presenta inhibición parcial del crecimiento fúngico y en un rango de 80-100 ppm se presenta inhibición cercana al 95% con evidentes efectos en los procesos de pigmentación y germinación del hongo. A través de los resultados obtenidos se puede concluir que las nanopartículas de plata, podrían emplearse como método alternativo para el control de hongos primarios y secundarios fitopatógenos del cacao con una concentración mínima inhibitoria de 95 ppm.

Palabras claves: cacao, hongos fitopatógenos, nanopartículas de plata

INTRODUCCION

El cacao es un cultivo de la zona trópico que requiere características principalmente húmedas para su desarrollo. Colombia es un país con un clima tropical, con condiciones ideales que favorecen el crecimiento de este árbol, pero que a su vez, facilitan el establecimiento de microorganismos patógenos que lo afectan en gran medida y que ocasionan grandes pérdidas económicas. Una de las enfermedades fitopatógenas de mayor incidencia en los cultivos de cacao es la mazorca negra, causada por el género *Phytophthora spp.*; la cual se caracteriza por la aparición de manchas que pasan de color claro a chocolate, que después de dos o tres semanas se extienden por toda la mazorca, empezando desde el ápice hasta el final de los pedúnculos (Jaimes Y.; 2010). Esta enfermedad se considera la responsable de la pérdida de hasta un 60% del cultivo de cacao en países de África y en centro América. En Colombia los daños ocasionados por este fitopatógeno empiezan a incrementarse, especialmente en aquellas fincas en las que las prácticas agrícolas no son óptimas. Adicional a *Phytophthora spp.*, existen mohos filamentosos fitopatógenos secundarios en los cultivos de cacao, potenciales productores de toxinas fúngicas lo cual puede llegar a tener serias implicaciones a nivel de salud pública. Hongos del género *Aspergillus spp.* y *Penicillium spp.*, son productores de “Ocratoxina A” la cual tiene propiedades carcinogénicas. Tales hongos ocurren con alta frecuencia en los cultivos de cacao ($5.5 \pm 1.4 \times 10^7$ UFC/ g) y han sido detectados en diferentes fases del cultivo y cosecha del cultivo, lo cual representa un riesgo para la población que consume el cacao y/o sus derivados (Mounjouenpou P et al, 2008). Por tanto se hace necesario introducir técnicas de control que les permitan a los cacao-cultores tener cultivos y cosechas exitosas, con un producto que no ocasione daños al consumidor.

En los últimos años se ha implementado el control biológico como estrategia para el control de fitopatógenos comunes en el cacao (Tchameni. S.N., et al, 2011; Tondje, P.R., et al, 2012; Mbarga, J.B.; et al, 2012). Esta técnica es amigable con el ambiente y relativamente económica. No obstante, posee algunos inconvenientes tales como la alta especificidad que debe exhibir el biocontrolador sobre el fitopatógeno, además de su adaptación a las condiciones edafoclimáticas donde se encuentren los cultivos. De otra parte se ha encontrado que muchos de los fitopatógenos presentes en los cultivos exhiben resistencia a la acción de los biocontroladores (Osorio-H, E; 2009).

La Nanotecnología es un área emergente del conocimiento con amplias aplicaciones. La palabra nano indica una mil millonésima parte de metro (10^{-9}). Usando Nanotecnología es posible sintetizar nanopartículas, las cuales son definidas como clusters de átomos en el rango de 1-100 nm. Dentro del grupo de nanopartículas producidas con metales nobles se encuentran las nanopartículas de plata (AgNPs), las cuales han recibido especial atención debido a su baja volatilidad, alta estabilidad, prolongada y amplia actividad antimicrobiana (Zhang, X. et al, 2011). Las AgNPs se han usado con éxito para reducir el crecimiento de hongos (Sang K., 2009; 2012, Nasrollahi A., et al 2011).

Por tanto, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto fungicida que tienen las nanopartículas de plata sobre hongos fitopatógenos primarios como *Phytophthora spp.* y hongos secundarios tales como *Aspergillus spp.* y *Fusarium spp.* aislados a partir de cultivos de cacao en tres departamentos de Colombia y establecer la

concentración mínima inhibitoria de AgNPs requerida para reducir y/o inhibir el crecimiento fúngico a nivel *in vitro*.

METODOLOGÍA

TOMA DE MUESTRAS

Las muestras *Theobroma cacao L* (cacao) fueron recolectadas mediante muestreo aleatorio simple en 23 fincas con la mayor producción de cacao en los departamentos de Antioquia, Norte de Santander y Santander. Se realizó muestreo de los diferentes materiales biológicos sembrados (clones, criollos, híbridos) con sintomatología típica como manchas de color chocolate con bordes bien definidos que se extienden desde el ápice hasta el resto de la superficie de la mazorca (Pinzón J. 2008). Las muestras fueron almacenadas en bolsas herméticas, rotuladas y transportadas en cavas provistas de hielo seco.

ASLAMIENOS FÚNGICOS

Los hongos fitopatógenos se aislaron tomando una muestra directa de las mazorcas contaminadas e inoculándolas sobre agar PDA (Oxoid) modificado con corteza de cacao y preparados según especificaciones de la casa comercial. Posteriormente, se incubaron (incubadora MEMMERT) a 25°C por 8-10 días. A partir del crecimiento heterogéneo obtenido, se realizaron repiques hasta obtener cultivos puros los cuales fueron almacenados en crio-viales a 4°C hasta su uso.

CARACTERIZACIÓN MACROSCÓPICA Y MICROSCÓPICA

La caracterización macroscópica incluyó la evaluación de aspectos tales como textura, pigmentación, diámetro de las colonias y tipo de borde (Carrillo L. 2003). Para la caracterización microscópica, se tomó una muestra con cinta adhesiva la cual fue coloreada por tinción simple con el colorante azul de lactofenol y observado usando Microscopio Óptico (Olympus) en objetivo 100 X. Se evaluó forma de las esporas; crecimiento de micelio; grosor de las hifas; presencia de estructuras reproductivas; septos; formación de conidios; coloración (Alexopoulos C. 1979).

PRUEBAS DE INHIBICIÓN USANDO NANOPARTÍCULAS DE PLATA (AgNPs)

Se prepararon cajas de Petri conteniendo agar PDA (Oxoid) modificado con AgNPs a diferentes concentraciones (15, 30, 50, 60, 80, 90, 100 ppm). Las nanopartículas empleadas se encontraban a una concentración inicial de 1 mg/mL, disueltas en citrato y con un rango de tamaño de 10 nm (Nanocomposix). Los medios modificados fueron inoculados con un trozo de agar con un diámetro de 3 mm conteniendo el crecimiento fúngico de *Phytophthora spp.*, *Aspergillus spp.* y *Fusarium spp.* de 8 días de edad (Sang K., 2012). Como control positivo se emplearon cajas conteniendo sólo agar PDA

más el hongo. Como control negativo se emplearon cajas de PDA modificadas con AgNPs sin inocular. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se encontró una alta incidencia del fitopatógeno primario *Phytophthora spp* en los clones EET8 y TSH-565 obtenidos en los cultivos de cacao del departamento de Antioquia, ubicado en el noroeste del país. Los hongos secundarios *Aspergillus spp* y *Fusarium spp* fueron aislados con mayor frecuencia a partir de los clones ICS-95 y CCN5 cultivados en los departamentos de Santander y Norte de Santander, en la región Nor-oriental de Colombia, respectivamente.

Las cepas de *Phytophthora spp* se caracterizaron por presentar crecimiento lento con necesidades especiales para su desarrollo tales como temperatura (27-29 °C) y luz constante, lo cual coincide con los resultados obtenidos por Pérez M., 2004. Macroscópicamente, el micelio presentó un color blanco a translucido, de crecimiento lento. Microscópicamente, se observaron estructuras características en forma de limón que contenían zoosporas en gran cantidad en su interior, además de hifas delgadas sin septos o con la presencia de pseudoseptos (figura 1). Por su parte, las cepas de *Aspergillus spp* y *Fusarium spp* se aislaron con mayor frecuencia a partir de materiales biológicos en alto grado de descomposición, lo cual confirma su característica oportunista, con capacidad de ataque posterior a una infección primaria iniciada por hongos con capacidad enzimática mejorada. El crecimiento en agar PDA de *Aspergillus spp* mostró características macroscópicas tales como textura lisa de aterciopelada a polvorienta, pigmentación verde a verde oscuro, diámetro variable y borde regular. Microscópicamente se observaron cabezas conidiales de forma globosa, radiada, columnar o claviforme con conidios que se desprenden de la célula conidiógena o fiálide (figura 1).

En el caso de *Fusarium spp*, macroscópicamente se observó el crecimiento de un micelio color ladrillo con bordes beige y reverso color púrpura, de textura lisa. Microscópicamente se apreciaron microconidias abundantes y ovales mezcladas con macroconidias en forma de media luna o de canoas (Carrillo L. 2003).

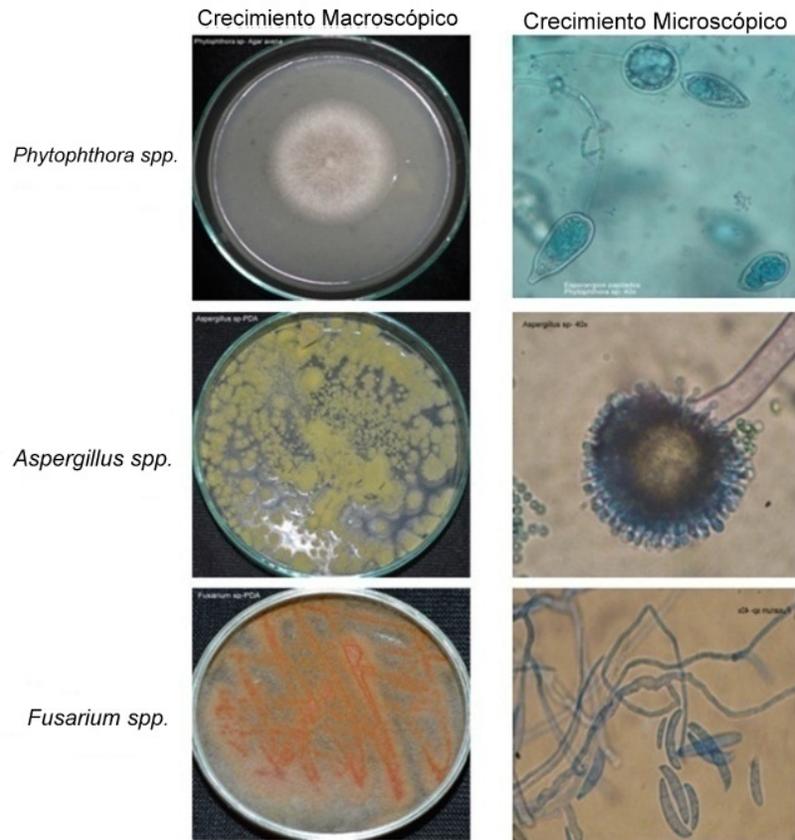


Figura 1. Morfología macro y microscópica de los hongos fitopatógenos comúnmente aislados a partir de Cultivos de cacao en tres departamentos de Colombia. El crecimiento macroscópico observado es en agar PDA modificado con corteza de cacao. Las imágenes microscópicas fueron obtenidas de muestras teñidas con azul de lactofenol y en objetivo 100 X.

EFFECTO DE NANO PARTÍCULAS DE PLATA SOBRE MOHOS DEL CACAO

Estudios han reportado que la plata inhibe la replicación del DNA y es un disruptor de los procesos respiratorios, ocasionando lisis celular (Yamanaka, M. et al, 2005). En este estudio se pudo apreciar el efecto fungicida que ejercen las AgNPs sobre el crecimiento de los hongos fitopatógenos aislados del cacao. Se determinó que a mayor concentración de nanopartículas mayor efecto inhibitorio, lo cual coincide con lo obtenido por (Sang K., 2009-2012).

Según investigaciones realizadas sobre el uso de AgNPs, se ha encontrado que su espectro de acción sobre diferentes tipos de mohos de importancia ambiental está en el rango de en el 25 a 125 ppm (Prucek, R, Et al; 2011). En esta investigación se pudo observar que a un rango de 15 a 100 ppm, las AgNPs tiene efectos significativos en la reducción del crecimiento de ***Phytophthora spp.***, ***Aspergillus spp.*** y ***Fusarium spp.***, con inhibiciones cercanas al 95 % empleando concentraciones de 90 ppm (figura 2).

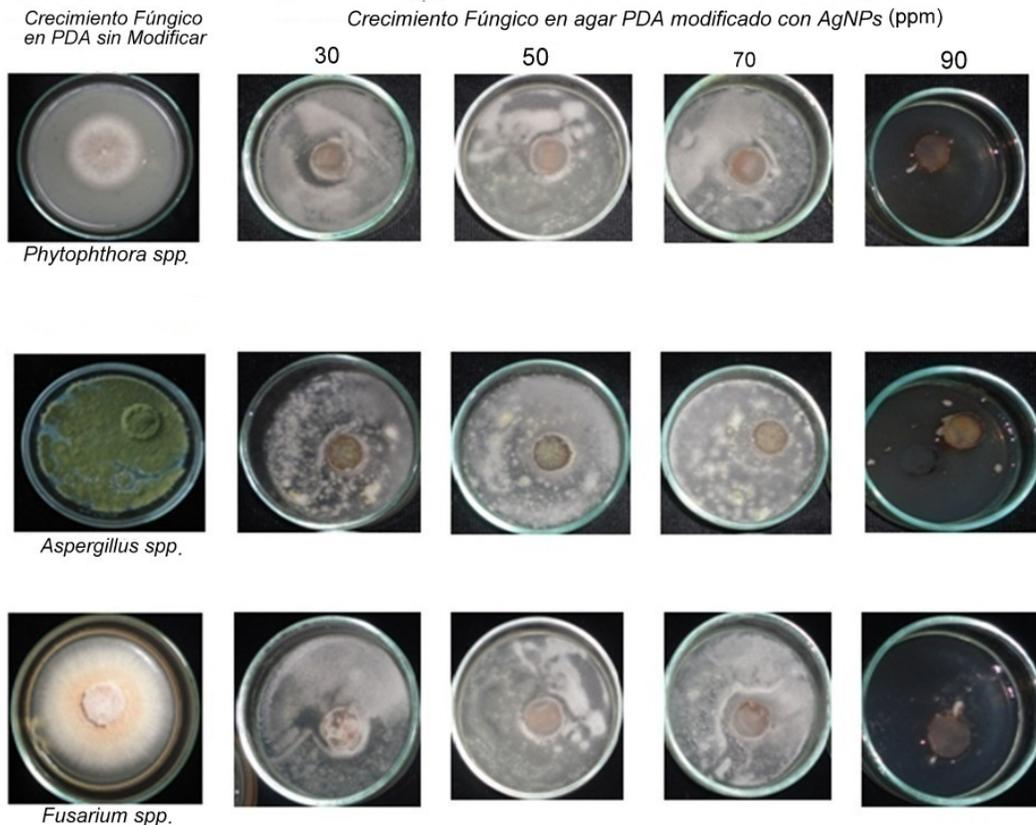


Figura 2. Efecto de nanopartículas de plata sobre hongos fitopatógenos aislados a partir del cacao

Los resultados permiten observar que el efecto inhibitorio de las AgNPs fue más significativo sobre el género *Phytophthora spp.* A una concentración de 90 ppm se inhibió el significativamente el crecimiento de este hongo fitopatógeno primario, causante de una de las enfermedades con mayores repercusiones en términos económicos de los cultivos de cacao. En el caso de *Aspergillus spp.*, y *Fusarium spp.*, se observa inhibición del crecimiento con cambios sustanciales en la pigmentación desde las primeras concentraciones. No obstante, para este tipo de hongos se hace necesario incrementar la concentración de nanopartículas mínimo hasta 95 ppm para poder tener efectos inhibitorios cercanos al 100 %.

CONCLUSIÓN

A través de esta investigación se pudo determinar que las nanopartículas de plata en un rango de concentración de 15 a 100 ppm ejercen un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de hongos fitopatógenos aislados del cacao, alterando principalmente la pigmentación y esporulación fúngica. Se espera que con este hallazgo, sumado a posteriores estudios de investigación, se puedan generar alternativas eficientes y

amigables con el ambiente, basadas en el uso de la Nanotecnología para reducir la incidencia de hongos fitopatógenos en los cultivos de cacao en Colombia.

BIBLIOGRAFÍA

Alexopoulos-C. And mims-C.; 1979; Introductory Micology.; 3rd.e i.; New york; john wiley; 632p.

Carrillo- L.; 2003; Los hongos de los alimentos y forrajes; Universidad Nacional de Salta; V1.

Mbarga- J.B., Martijn- G., Hoopen- Ten, Kuate- J., Adiobo- A., Ngonkeu- M.E.L., Ambang- Z., Akoa- A., Tondje- P.R., Begoude- B.A.D.; 2012; *Trichoderma asperellum*: A potential biocontrol agent for *Pythium myriotylum*, causal agent of cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) root rot disease in Cameroon; *Crop Protection* 36 18-22.

Mounjouenpou - P.; 2008; Incidence of Pod Integrity on the Fungal Microflora and Ochratoxin-A Production in Cocoa; *Journal of Biology and Life Science*, Vol. 3, No. 1.

Nasrollahi- A., Pourshamsian, Kh., Mansourkiaee- P.; 2011; Antifungal activity of silver nanoparticles on some of fungi; *International Journal of Nanodimension*; 1(3): 233-239.

Osorio- E., Rodriguez- R., Hernandez F.; 2009; *Trichoderma* spp, una alternativa para el control de hongos fitopatógenos; *Ciencia cierta* No.17.

Pinzón- José O.; 2008; Guía técnica para el cultivo de cacao; Federación Nacional de Cacaoteros; V3.

Prucek- R., Tu_cek, Ji_ri., Kilianová, Martina, Paná_cek- Ale_s, Kvítek- Libor, Filip-Jan, Kolá_r – Milan, Tománková- Kate_rina, Zbo_ril – Radek; 2011; The targeted antibacterial and antifungal properties of magnetic nanocomposite of iron oxide and silver nanoparticles; *Biomaterials*; 32 4704-4713.

Sang Woo- Kim, Su Kim- Kyoung, Lamsal- Kabir, Kim- Young-Jae, Kim- Seung Bin Jung- Mooyoung, Sim- Sang-Jun, Kim- Ha-Sun, Chang- Seok-Joon, Kim- Jong Kuk, Lee- Youn Su; 2009; an in vitro study of the antifungal effect of silver nanoparticles on oak wilt pathogen *Raffaelea spp*; *Journal Microbiology and Biotechnology*; 19(8), 760–764.

Sang Woo- Kim.; Jung- Jin Hee, Lamsal- Kabir, Kim- Yun Seok, Min- Ji Seon, Lee- Youn Su; 2012; antifungal effect effects of Silver nanoparticles (AgNPs), against various plant pathogenic fungi; department of applied plant science; kangwon national university; *The Korea Society of Mycology*; 40(1) : 53-58.

Tchameni- S.N., Ngonkeu- M.E.L., Begoude- B.A.D., Wakam Nana- L., Fokom- R., Owona- A.D., Mbarga- J.B., Tchana- T., Tondje- P.R., Etoa- F.X., Kuate- J.; 2011; Effect of *Trichoderma asperellum* and arbuscular mycorrhizal fungi on cacao growth and resistance against black pod disease, *Crop Protection*; 30 1321-1327.

Tondje- P.R., Robert- D.P., Bon- M.C., Widmer- T., Samuels- G.J., Ismaiel- A., Begoude- A.D., Tchana- T., Nyemb-Tshomb- E., Ndoumbe-Nkeng- M., Bateman- R., Fontem- D., Hebbar- K.P.; 2012; Isolation and identification of mycoparasitic isolates of *Trichoderma asperellum* with potential for suppression of black pod disease of cacao in Cameroon; *Biological Control*; 43 202–212.

Yamanaka- M.; 2005; Bactericidal actions of a silver ion solution on *Escherichia coli*, studied by energy-filtering transmission electron microscopy and proteomic analysis; *Applied Environmental Microbiology*; 71, 7589-7593.

Zhang- X., Niu- H., Yan- J., Cai- Y.; 2011; Immobilizing silver nanoparticles onto the surface of magnetic silica composite to prepare magnetic disinfectant with enhanced stability and antibacterial activity. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 375, 186-192.

Jaimes - Yeirme, Aranzazu Fabio; 2010; Manejo de las enfermedades del cacao (*Theobroma cacao* L.) en Colombia, con énfasis en monilia (*Moniliophthora roreri*), Colombia; Corpoica. 90 p.

AF.12.P. Efecto del acondicionamiento hídrico en la germinación de semillas de dos especies de cactáceas en zonas áridas de México

C. Barbosa-Martínez, L. Ponce de León-García, F. Pérez-Díaz, S. Arias-Durán, A. Pineda-Villedas, M. Sayas-Rivera, V. Patiño-López, M. Torres-Caballero, A. Quintana-Armas, D. Arellano-Carranza

Departamento de Biología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México, D.F. clbm@xanum.uam.mx,

lpig@xanum.uam.mx, tel:(52)55 58044697.

RESUMEN

Escontria chiotilla (Weber) Rose endémica y *Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxb nativa, son cactáceas del matorral xerófilo y del bosque tropical caducifolio que se localizan en la Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán, México. Se prevé la extinción de al menos tres especies de cactáceas en el año 2100 en sitios de baja precipitación de la Región de la Mixteca, donde la pluviometría promedio anual varía entre 100 y 700 mm, lo que justifica estudios de germinación de semillas en relación a la disponibilidad de agua. En este trabajo se compara el efecto del acondicionamiento hídrico mediante ciclos de hidratación/deshidratación sobre la germinación de semillas de *E. chiotilla* y *S. pruinosus*. Las semillas se colectaron en los años 2010 y 2012 y se almacenaron en laboratorio a $25\pm 3^{\circ}\text{C}$ durante 1 y 3 años. Se aplicaron dos tratamientos pre-germinativos distintos: tres y cinco ciclos de hidratación discontinua, cada ciclo de 24h incluye 6h de hidratación y 18h de secado. Se sembraron tres lotes de 50 semillas tratadas y no tratadas (control) en agar (1%) a 25°C , fotoperiodo 12/12h luz/oscuridad y se determinó la capacidad de germinación (CG) y el tiempo medio de germinación (TMG). En ambas especies, las semillas tratadas y no tratadas presentan una elevada CG, superior a 75%; las semillas control no presentan diferencias con respecto al tratamiento de tres ciclos. En cuanto al TMG, en ambas especies se incrementa con el tratamiento de cinco ciclos, lo cual podría acentuarse en semillas con mayor tiempo de almacenamiento (colectadas en 2010). Las semillas de *E. chiotilla* de la colecta 2012 presentan un menor TMG en tres ciclos. Los resultados sugieren que en *E. chiotilla* y *S. pruinosus*, la hidratación discontinua no reduce la viabilidad pero tampoco reduce el TMG ni incrementa la CG, como en el caso de otras especies.

Palabras clave: Semillas almacenadas, capacidad de germinación, tiempo medio de germinación.

INTRODUCCIÓN

Escontria chiotilla (Weber) Rose endémica y *Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxb cultivada, son dos especies de cactáceas presentes en el matorral xerófilo y el bosque tropical caducifolio de la Reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán localizada en los estados de Puebla y Oaxaca, México. La Reserva de la Biosfera ocupa alrededor de 10,000 Km² y contiene casi 3,000 especies de plantas vasculares, de las cuales una tercera parte son endémicas (Dávila *et al.*, 1993). En esta Región de la Mixteca Baja Oaxaqueña, la pluviometría promedio es de 400 a 800 mm anuales (Valiente-Banuet *et al.*, 2000), pero como resultado del cambio climático algunos autores predicen una reducción de la precipitación entre 10 y 15% aproximadamente entre los años comprendidos de 2060 a 2100, en estas condiciones se prevé la extinción de al menos tres especies de cactáceas: *Cephalocereus columna-trajani*, *Mammillaria huitzilopochtli* y *Pachocereus hollianus*, de entre 20 especies estudiadas (Téllez-Valdés y Dávila-Aranda, 2003). Las formaciones vegetales de la Reserva de Tehuacán-Cuicatlán impiden la erosión del suelo y el avance de los procesos de desertificación por lo que su conservación es prioritaria, lo que justifica la investigación en germinación de semillas en relación a la disponibilidad de agua.

En el proceso de germinación de semillas se reconocen tres fases: imbibición, germinación *sensu stricto* y crecimiento. La rehidratación de las semillas secas quiescentes es el evento que marca el inicio del proceso de germinación. Cuando el aporte de agua es continuo las semillas hidratadas durante la fase de imbibición, entran en la segunda fase en la que se reparan las membranas celulares, se recupera la tasa respiratoria mediante la reparación de las mitocondrias y/o biogénesis mitocondrial y se reinicia la actividad metabólica, que conduce a la fase de crecimiento que ocurre en primera instancia por expansión celular generalmente de la radícula. Cuando el aporte de agua se suspende la semilla puede: 1) regresar al estado de quiescencia, 2) germinar, ó 3) morir, dependiendo del estado de la semilla y la fase que haya alcanzado en el momento en que el agua falta (Nonogaki *et al.*, 2007).

El acondicionamiento hídrico, que implica la hidratación parcial de semillas antes de la siembra, se ha utilizado para incrementar el rendimiento de diversos cultivos (Bradford, 1986). En este trabajo se determina el efecto del acondicionamiento hídrico en la germinación de las semillas de *E. chiotilla* y *S. pruinosus*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las semillas de *E. chiotilla* y *S. pruinosus* utilizadas en este estudio se colectaron en al menos 10 plantas de la Región de la Mixteca Baja Oaxaqueña en el período de producción de los años 2010 y 2012, las semillas se extrajeron y se almacenaron en laboratorio a 25 ± 3 °C hasta abril de 2013, momento en el cual se aplicaron dos tratamientos pre-germinativos distintos: tres y cinco ciclos de hidratación discontinúa, cada ciclo de 24 h incluye 6 h de hidratación y 18 h de secado a temperatura ambiente (25 ± 3 °C). Se sembraron tres lotes de 50 semillas tratadas y no tratadas (control) en cajas de Petri con agar (1%) y se colocaron en una germinadora a 25 °C, fotoperiodo 12/12 h luz/oscuridad. Diariamente se determinó el porcentaje de germinación y se

calculó la capacidad de germinación (CG) y el tiempo medio de germinación (TMG*), que es el tiempo en días que tarda el 50% de las semillas sembradas por lote para germinar.

$$*TMG = \sum (Dn) / \sum n$$

En donde n es igual al número de semillas que germinan en el día D y D es el número de días a partir de la fecha de siembra (Ellis y Roberts, 1981; Flores *et al.*, 2011).

RESULTADOS

En ambas especies, las semillas tratadas y no tratadas tanto las que tienen un mayor tiempo de almacenamiento (colecta 2010) y aquellas con menor tiempo de almacenamiento (colecta 2012) presentan una elevada CG, superior a 75% (tabla 1). Las semillas tratadas no presentan diferencias en la CG con respecto al tratamiento de tres ciclos. Sin embargo; las semillas de *S. pruinosus* de la cosecha 2010, que tienen casi tres años de edad, presentan la capacidad de germinación más baja en el tratamiento con cinco ciclos. En cuanto al TMG, en ambas especies se incrementa con el tratamiento de cinco ciclos, lo cual podría acentuarse en semillas con mayor tiempo de almacenamiento (colectadas en 2010). Las semillas de *E. chiotilla* (2012) presentan un menor TMG en tres ciclos. Los resultados sugieren que en *E. chiotilla* y *S. pruinosus*, la hidratación discontinúa no reduce la viabilidad, tampoco el TMG, ni incrementa la CG, como en el caso de otras especies de hortalizas comerciales.

Tabla 1. Parámetros de germinación de semillas de *E. chiotilla* y *S. pruinosus* sometidas a acondicionamiento hídrico, cosechadas en los años 2010 y 2012.

Tratamiento	<i>E. chiotilla</i>				<i>S. pruinosus</i>			
	2010		2012		2010		2012	
	CG* (%)	TMG** (días)	CG (%)	TMG (días)	CG (%)	TMG (días)	CG (%)	TMG (días)
Control	96.0±4 a	6.35±0.4 a	95.3±2.3 b	5.3±0.2 1 b	92.0±5.2 9 b	5.32±0. 6 a	88.0±2 a	3.7±0.1 a
3 ciclos	96.0±2.0 a	7.27±0.0 1 b	95.3±2.3 b	4.5±0.2 7 a	86.0±2 b	6.5±0.5 a	90.6±6. 4 a	3.6±0.4 a
5 ciclos	95.3±3.0 5 a	7.31±0.2 4 b	85.3±3.0 5 a	6.4±0.2 7 c	75.3±2.3 a	9.4±0.6 b	87.3±1 1.54 a	7.16±0.0 4 b

1 ciclo = 6 h de hidratación y 18 h de secado a temperatura ambiente (25 ± 3 °C). Promedios y desviación estándar (prom ± DS); a, b y c, promedios en una columna con diferente letra indican diferencias significativas con la prueba de comparación de medias de Tukey, $\alpha \leq 0.05$. *Capacidad de Germinación; **Tiempo Medio de Germinación.

DISCUSIÓN

Las semillas ortodoxas sobreviven mejor que las semillas recalcitrantes, a periodos de deshidratación repetidos, en semillas de hortalizas se ha reportado que el acondicionamiento hídrico reduce el TMG, elimina latencias y homogeniza la germinación de los lotes de semillas, como ocurre en el caso de *Cucumis sativus* (Sánchez *et al.*, 1997; Sánchez *et al.*, 2001) y otras cucurbitáceas. Las semillas que mantienen proteínas LEA -asociadas a la deshidratación (Weitbrecht *et al.*, 2011; Chen y Arora, 2012)- hasta el final de la fase II de germinación, pueden volver al estado de quiescencia pero cuando estas proteínas ya no están presentes la semilla o germina o se muere (Weitbrecht *et al.*, 2011; Chen y Arora, 2012). Las semillas de las especies estudiadas son ortodoxas y pueden conservarse viables en laboratorio por más de tres años (datos no publicados). Los resultados muestran que la capacidad de germinación de las semillas no se reduce drásticamente a pesar de enfrentar condiciones de hidratación discontinúa por lo menos en 3 a 5 ciclos, que podría ser comparable a eventos de 5 días de lluvia en condiciones naturales. Sin embargo la germinación procede más lentamente conforme al número de veces en que la semilla es expuesta a un proceso de hidratación discontinúa, por ello las diferencias en el TMG resultan significativas. Por el contrario en otras especies de la familia de las Cucurbitáceas o de los cítricos las semillas comerciales son acondicionadas (priming) para obtener lotes de semillas con una germinación más rápida y más homogénea (Sánchez *et al.*, 1997; Sánchez *et al.*, 2001). Por otra parte, los resultados muestran que en los lotes control de *E. chiotilla* y *S. pruinosus* la capacidad de germinación se mantiene, pero en las semillas tratadas se muestra una tendencia hacia la reducción de la capacidad de germinación por mortalidad.

CONCLUSIÓN

El priming que se utiliza en semillas comerciales no tiene el mismo resultado en las semillas estudiadas en el presente trabajo. Las semillas de *E. chiotilla*, silvestre y endémica son menos sensibles a los efectos de hidratación discontinúa que *S. pruinosus* que es cultivada. Las semillas de *E. chiotilla* y *S. pruinosus* colectadas en 2010 y 2012 en la Región de la Mixteca Baja resisten periodos cortos de deshidratación discontinúa y mantienen elevada la CG. Sin embargo, después de 5 ciclos de 24 h - cada uno los cuales incluyen 6 h de hidratación y 18 h en medio seco-, la capacidad de germinación se reduce porque las semillas mueren. Para el resto de las semillas la germinación es más lenta, que se reporta con el incremento en el TMG. Consideramos

que este comportamiento fisiológico que favorece la persistencia de semillas en el banco está asociado a mecanismos de adaptación para sobrevivir en ambientes áridos.

En el matorral las semillas están sujetas naturalmente a eventos de hidratación discontinúa, por lo que los resultados contribuyen a explicar la dinámica y predecir efectos ante el escenario de cambio climático.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bradford, K. J. (1986). Manipulation of seed water relation via osmotic priming to improve germination under stress conditions. *HortScience* 21:1005-1112.

Chen, K. y Arora, R. (2012). Priming memory invokes seed stress tolerance. *Experimental Botany*. doi: 10.1016/j.envexpbot.2012.03.005

Dávila, A. P. D., Villaseñor, R. J. L., Medina, L. R., Ramírez, R. A., Salinas, T. A., Sánchez, K. J., Tenorio, P. (1993). Listados florísticos de México: flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, México. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.

Ellis R.A., Roberts, E. H. (1981). The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Sci. Technol.* 9: 373-409.

Flores, J., Jurado E., Chapa Vargas, L., Ceroni-Stuve, A., Dávila-Aranda, P., Galíndez, G., Gurvich, D., León-Lóbos, P., Ordoñez, C., Ortega-Báez, P., Ramírez-Bullón, N., Sandoval, A., Seal, C.E., Ullian, T., Pritchard, H.W. (2011). Seeds photoblastism and its relationship with some plant traits in 136 cacti taxa. *Environmental. and Experimental Botany* 71:79-88.

Nonogaki, H., Chen, F., Bradford, K. J. (2007). Mechanisms and genes involved in germination *sensu stricto*. In Seed Development, dormancy and germination. Bradford K. and Nonogaki H. (Eds.). *Annual Plant Reviews Vol. 27.* (pp. 264-295). USA: Blackwell Pub.

Sánchez, A. J., Calvo, E., Orta, R., Muñoz, B. (1997). Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación para semillas de pepino (*Cucumis sativus*). *Acta Botánica Mexicana* 38:13-20.

Sánchez, A. J., Orta, R., Muñoz, C. B. (2001). Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación de las semillas y sus efectos de interés agrícola. *Agronomía Costarricense* 25:67-91.

Téllez-Valdés, O., Dávila-Aranda, P. (2003). Protected Areas and Climate change: a case study of the Cacti in the Tehuacan-Cuicatlan Biosphere Reserve, México. *Conservation Biology* 17(3):846-853.

Valiente-Banuet, A., Casas, A., Alcántara, A., Dávila, P. Flores-Hernández, N., Arizmendi, M. C., Villaseñor, J.L., Ortega, J. R. (2000). La vegetación del Valle de Tehuacán Cuicatlán. *Bol. Soc. Bot.* 67: 24-74.

Weitbrecht, K., Müller, K., Leubner-Metzger, G. (2011). First off the mark: early seed germination. *Journal of Experimental Botany* 62(10):3289-3310.

AF.13.P. Sostenibilidad ambiental de explotaciones ganaderas ecológicas y convencionales en agro-ecosistemas mediterráneos de alto valor ecológico: un estudio comparado basado en indicadores agroambientales

Alfredo J. Escribano ^a, Paula Gaspar ^b, Francisco J. Mesías ^c, Ángel F. Pulido ^d, Miguel Escribano ^e

^a Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Avda. Universidad s/n, Cáceres, España. E-mail: ajescc@gmail.com. Tel.: +34 927257100, ext. 51366.

^b Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Escuela de Ingenierías Agrarias, Universidad de Extremadura, Ctra. Cáceres s/n, Badajoz, España. E-mail: pgaspar@unex.es. Tel.: +34924289300, ext. 86264.

^c Departamento de Economía, Escuela de Ingenierías Agrarias, Universidad de Extremadura, Ctra. Cáceres s/n, Badajoz, España. E-mail: fjmesias@unex.es. Tel.: +34924289300, ext. 86207.

^d Departamento de Economía, Escuela de Ingenierías Agrarias, Universidad de Extremadura, Ctra. Cáceres s/n, Badajoz, España. E-mail: angelfpm@gmail.com. Tel.: +34665237327.

^e Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Avda. Universidad s/n, Cáceres, España. E-mail: mescriba@unex.es. Tel.: +34927257100, ext. 51362.

1. INTRODUCCIÓN

El sector ganadero constituye un elemento clave para la Humanidad, ya que es fuente de proteínas de alta calidad (y casi la única en poblaciones cuya correcta nutrición peligra), de ingresos y fijación de población rural (especialmente en países en desarrollo), fibras y pieles. Sin embargo, el aumento estimado de la población, la demanda creciente de productos de origen animal, el aumento de sus estándares de calidad, y el impacto negativo de los sistemas de producción animal en el medioambiente, dificulta la posibilidad de conjugar seguridad alimentaria y sostenibilidad (Garnett, 2009; Godfray et al., 2010).

Por estos motivos, se está investigando intensamente en la evaluación de las externalidades de los diferentes sistemas de producción, con el objetivo de implementar sistemas de producción animal sostenibles. En este sentido, el modelo de producción ecológica está adquiriendo peso como opción productiva sostenible, ya que según diversos autores, estos sistemas presentan ventajas respecto a la producción convencional e intensiva en cuanto a los problemas anteriormente expuestos, debido a:

(i) su menor impacto medioambiental en los ecosistemas (Tuomisto, Hodge, Riordan y Macdonald, 2012); (ii) su menor dependencia energética (Lee et al., 2008); (iii) su menor dependencia externa mejora la autogestión y la soberanía alimentaria; (iv) y a su potencial de contribución al desarrollo y economía local (Lobley, Butler y Reed, 2009).

A pesar de estos hallazgos, ningún sistema de producción es sostenible *per se*, ya que su sostenibilidad dependerá de la configuración y manejos de la finca, así como sus contextos socioeconómico, medioambiental (Tuomisto et al., 2012) y la escala temporal. De modo que, se requiere un marco holístico y dinámico que tenga en cuenta la diversidad de factores específicos que afectan a la sostenibilidad (los contextos socioeconómico, medioambiental y legal). La adaptación del marco MESMIS utilizada en este trabajo es muy adecuada en este sentido.

Además de estos beneficios, la percepción de subsidios agroambientales (a través de la Política Agraria Común) y las demandas del mercado (alimentos de alta calidad, seguros y producidos bajo sistemas basados en la sostenibilidad socio-ambiental), han sido los principales conductores del aumento de la producción ganadera ecológica en las dehesas de la Comunidad Autónoma de Extremadura. De hecho, en esta región podemos encontrar 103 explotaciones de vacuno de carne ecológico (el 4.27% del censo de explotaciones de España). La elevada tasa de conversión de las explotaciones al modelo ecológico ha sido posible debido a las grandes similitudes entre el modelo ecológico y los sistemas de producción animal de esta zona, ya que éstos son principalmente extensivos y low input. Esto permite llevar a cabo el proceso de conversión de forma sencilla.

De acuerdo con lo anterior, es necesario analizar en profundidad los manejos agroambientales llevados a cabo en las explotaciones ganaderas de 'dehesa', ya que la presencia de estos sistemas es clave para la conservación de este ecosistema de alto valor paisajístico, cultural y económico para las poblaciones rurales de la zona. Este análisis permitirá detectar y diseñar los sistemas de producción más sostenibles desde el punto de vista de las prácticas agrarias, ya que dichos manejos son responsables de buena parte de la degradación de las 'dehesas'.

Por ello, este trabajo analiza el sector de ganado vacuno de carne de las dehesas localizadas en la Comunidad Autónoma de Extremadura (SO de España). El objetivo del mismo es la detección de los sistemas más sostenibles en base al pilar medioambiental y a las prácticas agrarias que llevan a cabo.

MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Descripción del área de estudio

El área de estudio fue la Comunidad Autónoma de Extremadura, situada en el cuadrante suroeste de España (Figura 1) y una de las principales zonas de dehesa de España. Aproximadamente el 50% de su superficie agraria útil es considerada 'dehesa', con un total de 2.2 millones de hectáreas.

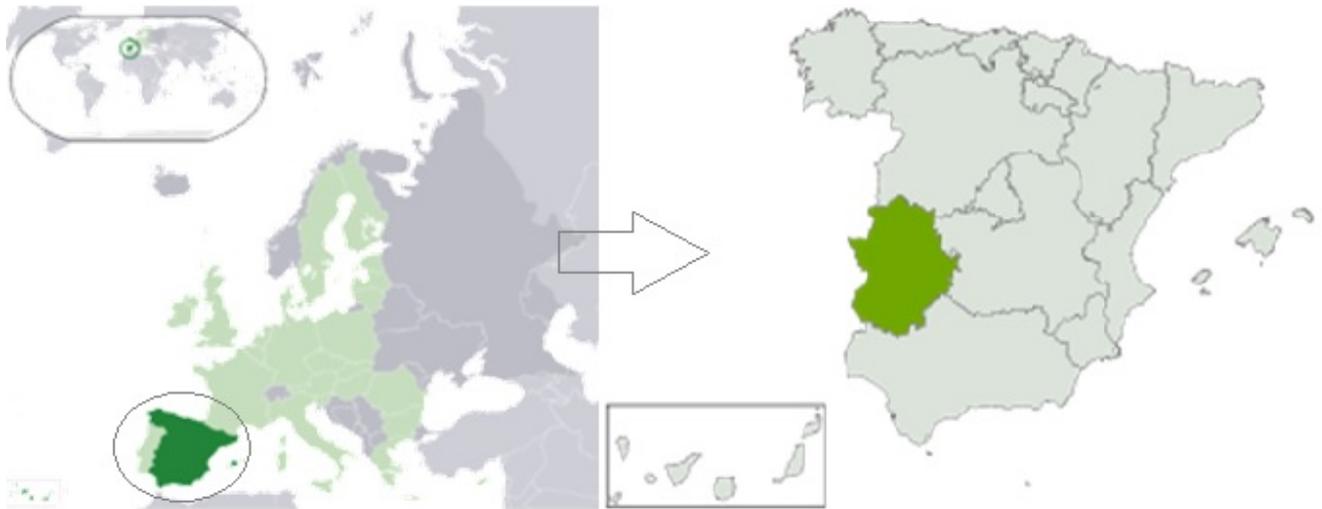


Figura 1: Localización de las dehesas en Extremadura, España

La 'dehesa' es un sistema agroforestal (en concreto, agrosilvopastoral) característico de la Península Ibérica, y uno de los sistemas agroforestales más antiguos de Europa. En este sistema, la vegetación autóctona es la base de los sistemas de producción animal extensivos tradicionales basados en pastoreo que principalmente incluyen ganado vacuno, pero que normalmente integran varias especies ganaderas, como el ovino y el porcino (Gaspar, Mesías, Escribano y Pulido, 2009). Estos sistemas tienen un alto valor ecológico, y su conservación depende estrechamente del manejo agroambiental llevado a cabo en los sistemas de producción animal.

2.2. Recogida de datos

Los datos usados en este trabajo se obtuvieron en el año 2011 y corresponden a explotaciones ganaderas de ganado vacuno de dehesa. Las explotaciones fueron seleccionadas a partir de los datos proporcionados por cooperativas agrarias y asociaciones de productores.

Los datos fueron obtenidos a través de la realización de encuestas directamente al gestor de las explotaciones analizadas y mediante observación directa (n=63), de los cuales 30 fueron explotaciones convencionales y 33 ecológicas, intentando llegar a muestras similares de ambos sistemas de explotación. Debido a que en la muestra se encontraron tres grupos de explotaciones que diferían en su estructura y manejo, los análisis estadísticos se han llevado a cabo comparando tres grupos.

El primer grupo está formado por 30 explotaciones convencionales ('Convencional'). En el segundo grupo ('Ecológico 1') se encuentran 22 explotaciones certificadas como ecológicas pero que no venden productos ecológicos. Esto es debido a que en ocasiones los ganaderos se han visto forzados a vender terneros cebados ecológicos al precio de terneros convencionales, lo cual, no cubre los costes de producción del sistema ecológico. Este hecho ha sido observado en otros países de la zona Mediterránea, como Grecia (Tzouramani, Sintori, Liontakis, Karanikolas y Alexopoulos, 2011; Argyropoulos, Tsiadouli, Sgardelis y Pantis, 2013), y es debido al escaso desarrollo del mercado y de los canales de comercialización. De modo que, finalmente,

los ganaderos deciden vender terneros a la edad de destete, para que sean cebados en otras explotaciones o cebaderos (bajo el sistema convencional), y así reducir sus costes de producción. El tercer grupo está formado por explotaciones certificadas como ecológicas de ciclo completo, es decir, que llevan a cabo el cebo de animales de acuerdo con el modelo ecológico ('Ecológico 2') llegando hasta el último eslabón con la venta del producto ecológico. Este último grupo está formado por 11 explotaciones.

2.3. Evaluación de la sostenibilidad

La evaluación de la sostenibilidad de las explotaciones de vacuno de 'dehesa' se ha llevado a cabo mediante una adaptación metodológica del marco MESMIS (Marco para la Evaluación de Sistemas de Manejo de recursos naturales incorporando Indicadores de Sustentabilidad) propuesto por Masera, Astier y López-Ridaura (1999). La adaptación llevada a cabo por los autores del presente trabajo ha permitido evaluar la sostenibilidad de los sistemas estudiados integrando las características de las explotaciones de 'dehesa', el modelo de producción ecológico establecido en el Reglamento Europeo CE No 834/2007 y los retos actuales de la producción agrícola. Se ha utilizado este marco debido a la facilidad de aplicación en la práctica, ya que puede ser fácilmente adaptado al agro-ecosistema bajo estudio. Este marco permite la derivación, medida y monitorización de los indicadores de sostenibilidad como parte de un proceso de evaluación sistémico, participativo, interdisciplinar y flexible.

A pesar de que esta técnica se ha utilizado ampliamente y se ha aplicado a diferentes sistemas de producción, el interés de este trabajo es que lleva a cabo un estudio comparativo de explotaciones de ganado vacuno ecológico y convencional mediante esta metodología y en base tanto a indicadores, como a atributos de sostenibilidad y a pilares de sostenibilidad (social, económico y medioambiental).

2.4. Selección de indicadores mediante un enfoque participativo

En la literatura científica pueden observarse diversos atributos e indicadores que cada autor ha seleccionado según el enfoque del estudio (más ecológico, económico o social), el background de los investigadores y el contexto de las explotaciones analizadas. De acuerdo con lo anterior, se ha llevado a cabo una metodología de investigación participativa basada en la celebración de un focus group que ha integrado a stakeholders de diferentes áreas. Esta metodología permite la integración de los conocimientos locales, técnicos y científicos, así como los intereses de los stakeholders. En consecuencia, este enfoque aporta información más precisa y adaptada al contexto local, con lo cual, la toma de decisiones y actuaciones llevadas a cabo tienen un impacto positivo mayor.

Para tal fin, los participantes seleccionaron los indicadores que, desde su punto de vista, influyen en la sostenibilidad de este ecosistema. Además, se les atribuyó un peso relativo basado en la importancia de los mismos respecto a la consecución de la sostenibilidad agroambiental. Estos indicadores están relacionados con los conceptos de Resiliencia y Estabilidad medioambiental, que hacen referencia a la capacidad del sistema para encontrar nuevos niveles de equilibrio y seguir siendo sostenible ante perturbaciones externas y cambios (legislativos, económicos y/o medioambientales). La resiliencia guarda una estrecha relación con los sistemas complejos y frágiles, como los

agrosilvopastorales de dehesa y ecológicos, ya que la gran cantidad de trade-offs y el estrecho límite existente entre conservación y explotación inadecuada, hace necesario el ajuste de las prácticas agrarias al agro-ecosistema bajo estudio. Esta complejidad aumenta la resiliencia y estabilidad de los sistemas, influyendo esto, a su vez, en la adaptabilidad de los sistemas.

En la tabla 1 se presentan los indicadores seleccionados para la evaluación de la sostenibilidad medioambiental de los sistemas productivos.

Tabla 1. Indicadores empleados en la evaluación de la sostenibilidad agro-ambiental de los sistemas productivos.

Indicador	Unidad ¹	Criterio ²	Peso relativo	Valor óptimo
Carga ganadera	UGM ³ /ha de SAU	Rec.	21.50	0.33
Continuidad. Planes de futuro ⁴	Escala cualitativa	Max.	19.30	4
Manejo sostenible del agro-ecosistema: suelo y cultivos ⁵	Escala cualitativa	Max.	12.67	5
Uso de pesticidas y/o de fertilizantes minerales ⁶	Sí/No	No	11.23	0
Grado de Diversificación ⁷	Sí/No	Yes	10.30	1
Uso de de antiparasitarios y/o de antibióticos de forma preventiva y sistemática ⁸	Sí/No	No	8.10	0
Manejo de los estiércoles ⁹	Escala cualitativa	Max.	7.90	2
Secuestro de carbon	Toneladas de Carbono/ha	Max. P67	4.90	0.07
Porcentaje de reproductores rumiantes autóctonos	%	Max. C3	4.10	0.86

¹ SAU: Superficie Agraria Útil. ² Max.: valor máximo; min.: valor mínimo; C3: tercer cuartil; P67: percentil 67. ³UGM: Unidades de Ganado Mayor. Es una medida de la cantidad de ganado en pastoreo. 1 vaca adulta = 1 UGM; 1 oveja = 0.12 UGM; 1 cerda= 0.37 UGM. ⁴1: Abandono; 2: Reducción de la cabaña o cambio de especie; 3: Mantener la cabaña o cambiar al sistema ecológico o al convencional; 4: Incrementar el rebaño; ⁵ Número de medidas utilizadas; incluye: cubiertas vegetales, acolchado, intercropping, rotación de cultivos, asociación de cultivos, rotación de parcelas y barbecho. ⁶ 0: No usa ninguno de ellos; 1: usa pesticidas, herbicidas o fertilizantes minerales; 2: usa ambos ⁷ Integra varias especies ganaderas, cultivos y arbolado. 0: no es una explotación de este tipo; 1: si, lo es. ⁸0: No usa ninguno de ellos de forma preventiva. 1: Usa alguno de ellos o ambos. ⁹Manejo de los estiércoles. 0: No hay estiércoles debido al elevado de extensificación; 1: Reparto de estiércoles inmaduros (sin compostar); 2: Amontonamiento de los estiércoles durante cierto tiempo, sin llegar a estar compostado (inmaduro); 3: Compost.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 2 se muestran los valores medios obtenidos para cada índice de sostenibilidad, clasificados según los tres grupos de explotación estudiados.

Desde el punto de vista social, la intención de continuar de los productores es un factor clave para la sostenibilidad de los sistemas, ya que el cese de la actividad es indicativo de que no es aceptable, al menos, desde el punto de vista social. En este sentido, la pertenencia a un sistema u otro tampoco está relacionada con la intención de continuar de los productores.

Desde el punto de vista medioambiental, el ajuste de las cargas ganaderas es un factor decisivo para la estabilidad y resiliencia de los agroecosistemas. En este sentido, debido a las similitudes entre los sistemas bajo estudio, no se han observado diferencias significativas entre grupos.

Tabla 2. Valores medios y nivel de significación de los índices de sostenibilidad para los tres sistemas de explotación.

Indicadores de sostenibilidad	Convencional	Ecológico 1	Ecológico 2	Signific. ¹
Carga ganadera	61.47	69.71	69.46	0.368 n.s.
Continuidad. Planes de futuro	85.67	87.27	88.18	0.935 n.s.
Manejo sostenible del agro-ecosistema: suelo y cultivos	35.33	35.45	41.82	0.717 n.s.
Uso de pesticidas y/o de fertilizantes minerales ⁶	55.00	100.00	100.00	0.000****
Grado de Diversificación ⁷	6.67	13.64	36.36	0.055*
Uso de de antiparasitarios y/o de antibióticos de forma preventiva y sistemática	3.33	100.00	100.00	0.000****
Manejo de los estiércoles	28.33	36.36	54.55	0.187 n.s.
Secuestro de carbon	63.74	65.30	97.31	0.056*
Porcentaje de reproductores rumiantes autóctonos	25.48	36.16	70.50	0.013**
SOSTENIBILIDAD AMBIENTAL	43.46	61.85	69.31	0.000****

n.s.: no significativo; *p<0.01; **p<0.05; ***p<0.01; ****p<0.001.

En relación con el manejo del agro-ecosistema, se ha observado que las explotaciones ecológicas contribuyen a la estabilidad medioambiental en mayor medida que las convencionales debido a la implementación de ciertas prácticas agrarias. En primer lugar, las explotaciones ecológicas (principalmente el sistema Ecológico 2) no usan pesticidas, ni fertilizantes químicos. Esto también fue observado en explotaciones de ganado vacuno de carne en España (Blanco-Penedo et al., 2012), y es debido a que la legislación vigente en materia de producción ecológica a nivel europeo (Reglamento Europeo CE N° 834/2007 y modificaciones posteriores) prohíbe el uso de estos productos. Según Brussaard et al. (2010), existe una necesidad de reducir el uso de pesticidas para reforzar la resiliencia de los agro-ecosistemas, permitiendo conjugar la preservación de la biodiversidad, la heterogeneidad de los paisajes y la seguridad de alimentaria. Esto es necesario debido a la dependencia del ser humano de la agricultura y de los servicios ambientales.

Además, las explotaciones ecológicas (especialmente las pertenecientes al grupo Ecológico 2) presentan mayor integración de especies ganaderas, cultivos y arbolado. Según Anderson, Fredrickson y Estell (2012) y Sanderson et al. (2013), los sistemas mixtos y diversificados de este tipo tienen efectos positivos a nivel medioambiental y económico. Esta integración permite un mejor aprovechamiento de los recursos alimenticios y una conservación de la heterogeneidad de los paisajes, conservando los recursos naturales y promoviendo los servicios ecosistémicos, al tiempo que proveen de inputs agrícolas, y se reducen la dependencia externa y vulnerabilidad de las explotaciones.

Unido a esto, la reducción del uso de antiparasitarios y antibióticos de modo preventivo, aumenta la resiliencia de la cabaña ganadera, así como reduce la contaminación medioambiental y las resistencias a antibióticos. En este sentido, las explotaciones ecológicas (Ecológico 2 y Ecológico 1) obtuvieron las mejores puntuaciones, ya que el uso de estos productos de forma preventiva está prohibido en producción ecológica.

Sin embargo, no se han observado diferencias significativas en cuanto al manejo de los estiércoles. Este aspecto se debe a que la extensificación de los sistemas de dehesa

evita el acúmulo de estiércoles en una zona determinada y en cantidades excesivas, como sucede en los sistemas intensivos de producción animal. De este modo, las deyecciones son gestionadas eficientemente por el agro-ecosistema, lo que mejora la calidad del suelo (ya que son un fertilizante de gran calidad). Además, se reduce la lixiviación de nutrientes y, en consecuencia, la contaminación de los recursos hídricos.

Respecto al manejo del suelo, tampoco se ha observado que en ningún grupo de explotaciones se lleven a cabo medidas para reducir la erosión y mejorar la fertilización y vitalidad del suelo, a pesar de que en diversos estudios se han encontrado prácticas agrarias medioambientalmente más sostenibles en las explotaciones ecológicas que en las convencionales (Darnhofer, Fairweather y Moller, 2010). Esto puede deberse a la escasa formación y concienciación de los gestores en esta materia, así como a una importante desvinculación entre agricultura y ganadería. Además, en los sistemas de dehesa, la superficie de cultivada son praderas cuyo destino es el consumo directo (sin cosechar) por la ganadería. De modo que debe llevarse a cabo una revinculación entre ganadería y agro-ecosistema, en el que nutrientes, energía y materiales orgánicos recirculen de un modo más eficiente (Francis y Doran, 2010).

Asimismo, existe una necesidad de implementar técnicas agroecológicas y un enfoque regenerativo (Darnhofer et al., 2010), utilizando cubiertas vegetales, abonos verdes, intercropping y/o compost. Estas prácticas permitirían mejorar la calidad del suelo, conservar la integridad funcional del mismo y frenar su erosión. Al mismo tiempo se incrementaría la biodiversidad de estos agro-ecosistemas, junto con su sostenibilidad y la seguridad alimentaria (Lal, 2009; Powlson et al., 2011; Halberg, 2012).

Por otro lado, resulta interesante el estudio del secuestro de carbono en los sistemas agroforestales con presencia de sistemas de ganado extensivos ligados al pastoreo, como los de dehesa. Esto es debido a que las prácticas agrarias y la presencia de arbolado contribuyen al secuestro de carbono, mejorando la calidad del suelo (Nair, Kumar y Nair, 2009). En este sentido, se ha observado que las explotaciones pertenecientes al grupo Ecológico 2 han obtenido mejores puntuaciones que las pertenecientes al resto de grupos. Esto es debido a la mayor superficie arbolada, densidad del arbolado y cantidad de biomasa de las especies presentes en dichas explotaciones.

Finalmente, el uso de razas autóctonas, más adaptadas a las condiciones locales, es más adecuada ya que la productividad de los animales se ve menos afectada por condiciones climáticas extremas (como las altas temperaturas estivales). De este modo, se prevé que el sistema será más estable. En este sentido, las explotaciones Ecológico 2 son las que han obtenido mejores puntuaciones en cuanto a las razas utilizadas y la diversidad especies ganaderas integradas en la finca. La explotación de razas autóctonas adaptadas a la zona permite un mejor aprovechamiento de los recursos alimenticios, lo cual, redundará en una mayor estabilidad económica y medioambiental del sistema, además de preservar su patrimonio genético (Nahed, Castel, Mena y Caravaca, 2006).

A nivel general, y en consonancia con lo expuesto anteriormente, las explotaciones ecológicas han presentado las mejor puntuaciones respecto a la sostenibilidad ambiental, especialmente las pertenecientes al grupo Ecológico 2.

4. CONCLUSIONES

La evaluación de la sostenibilidad ambiental de los sistemas de ganado vacuno de dehesas basada en indicadores y en el enfoque de investigación participativa ha permitido establecer diferencias entre los grupos estudiados. Del mismo modo, han podido detectarse los aspectos en los que hay que actuar para mejorar la sostenibilidad de los mismos, así como proponer prácticas agroambientales adaptadas al contexto de cada sistema.

Los resultados muestran que los sistemas ecológicos (especialmente aquellos que completan el ciclo productivo y comercial en ecológico) presentan una sostenibilidad ambiental muy superior a los sistemas convencionales.

No obstante, tanto en las explotaciones ecológicas como en las convencionales, existe una necesidad de revinculación entre la ganadería y el agro-ecosistema, implementando un enfoque regenerativo y técnicas agroambientales más sostenibles, como la utilización de cubiertas vegetales, técnicas para fomentar la biodiversidad, aplicación de compost, intercropping, rotaciones de cultivos y otras.

Respecto a las explotaciones convencionales, se ha detectado la necesidad de reducir el uso de pesticidas, herbicidas y fertilizantes químicos, así como el uso sistemático de antiparasitarios y antibióticos de forma preventiva. Del mismo modo, sería interesante la introducción de mayor censo de reproductores autóctonos y aumentar su grado de diversificación.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anderson, D.M., Fredrickson, E. L. y Estell, R.E. (2012). Managing livestock using animal behaviour: mixed-species stocking and flocks. *Animal*, 6 (8), 1339-1349.

Argyropoulos, C., Tsiafouli, M. A., Sgardelis, S. P. y Pantis J. D. (2013). Organic farming without organic products. *Land Use Policy*, 32, 324-328.

Blanco-Penedo, I., López-Alonso, M., Shore, R. F., Miranda, M., Castillo, C., Hernández, J. y Benedito, J. L. (2012). Evaluation of organic, conventional and intensive beef farm systems: health, management and animal production. *Animal*, 6 (9), 1503-1511.

Brussaard, L., Caron, P., Campbell, B., Lipper, L., Mainka, S., Rabbinge, R., Babin, D. y Pulleman, M. (2010). Reconciling biodiversity conservation and food security: scientific challenges for a new agriculture. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 2, 1-9.

Darnhofer, I., Fairweather, J. y Moller, H. (2010). Assessing a farm's sustainability: insights from resilience thinking. *International Journal of Agricultural Sustainability*, 8, 186-198.

Francis, C. y Doran, J. W. (2010). Editorial: 'Food for life': looking beyond the horizon. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 25, 1-2.

Garnett, T. 2009. Livestock-related greenhouse gas emissions: impacts and options for policy makers. *Environmental science and policy*, 12 (4), 491-503.

Gaspar, P., Mesías, F. J., Escribano, M. y Pulido, F. (2009). Sustainability in Spanish extensive farms (Dehesas): an economic and management indicator-based evaluation. *Rangeland Ecology and Management*, 62, 153-162.

Godfray, H. C. J., Beddington, J. R., Crute, I. R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J. F., Pretty, J., Robinson, S., Thomas, S. M. y Toulmin, C. (2010). Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People. *Science*, 327 (5967), 812-818.

- Halberg, N. (2012). Assessment of the environmental sustainability of organic farming: Definitions, indicators and the major challenges. *Canadian Journal of Plant Science*, 92, 981-996.
- Lal, R. (2009). Soil degradation as a reason for inadequate human nutrition. *Food Security*, 1, 45-57.
- Lee, H. C., Walker, R., Haneklaus, S., Philips, L., Rahmann, G. y Schnug, E. (2008). Organic farming in Europe: A potential major contribution to food security in a scenario of climate change and fossil fuel depletion. *Landbauforschung Volkenrode*, 58 (3), 145-151.
- Lobley, M., Butler, A. y Reed, M. (2009). The contribution of organic farming to rural development: An exploration of the socio-economic linkages of organic and non-organic farms in England. *Land Use Policy*, 26, 723-735.
- Masera, O., Astier, S. y López-Ridaura, S. (1999). *Sustentabilidad y manejo de los recursos naturales. El marco de evaluación MESMIS*. 109 pp. México, México: Mundi-Prensa, S.S., Gira, IE-UNAM.
- Nahed, J., Castel, J. M., Mena, Y. y Caravaca, J. (2006). Appraisal of the sustainability of dairy goat systems in southern Spain according to their degree of intensification. *Livestock Science*, 101, 10-23.
- Nair, P. K. R., Kumar, B. M. y Nair, V. D. (2009). Agroforestry as a strategy for carbon sequestration. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 172, 10-23.
- Powelson, D. S., Gregory, P. J., Whalley, W. R., Quinton, J. N., Hopkins, D. W., Whitmore, A. P., Hirsch, P. R. y Goulding, K. W. T. (2011). Soil management in relation to sustainable agriculture and ecosystem services. *Food Policy*, 36, 72-87.
- Reglamento Europeo UE No 834/2007. Council Regulation (EC) No 834/2007 of 28 June 2007 on organic production and labelling of organic products and repealing Regulation (EEC) No 2092/91.
- Sanderson, M. A., Archer, D., Hendrickson, J., Kronberg, S., Liebig, M., Nichols, K., Schmer, M., Tanaka, D. y Aguilar, J. (2013). Diversification and ecosystem services for conservation agriculture: outcomes from pastures and integrated crop-livestock systems. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 28 (2), 129-144.
- Tuomisto, H. L., Hodge, I. D., Riordan, P. y Macdonald, D. W. (2012). Does organic farming reduce environmental impacts? - A meta-analysis of European research. *Journal of Environmental Management*, 112, 309-320.
- Tzouramani, I., Sintori, A., Lontakis, A., Karanikolas, P. y Alexopoulos, G. (2011). An assessment of the economic performance of organic dairy sheep farming in Greece. *Livestock Science*, 141 (2-3), 136-142.

AF.14.P. Evaluación de la morfología aérea y de raíces proteoideas de *Lupinus albus* en un sustrato arenoso y un sistema aeropónico con diferente disponibilidad de fósforo

Aerial and proteoid root morphology of *Lupinus albus* growing in sandy substrate and aeroponic system with different levels of phosphorus supply

Juan Carlos Ramírez Flores^{1,2}, Marcelo Panichini Panichini^{1,2}, Fernando Borie Borie^{1,2}

Correo: juan.ramirez@ufrontera.cl

¹*Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales, Universidad de La Frontera, Chile.*

²*BIOREN (Scientific and Technological Bioresource Nucleus) Chile.*

RESUMEN

Las raíces proteoideas presentan conglomerados densos de raicillas, que aumentan su superficie de absorción. Conglomerados proteoideos (CP) pueden encontrarse en diferentes especies, principalmente con déficit de fósforo. Este trabajo se enmarca en una investigación que relaciona los CP con propiedades del suelo. Para dilucidar el rol del ambiente físico en atributos morfológicos, se utilizaron dos sistemas contrastantes: sustrato arenoso (SA) y aeroponía (AE). En cada sistema se establecieron dos tratamientos nutritivos: I. control y II. deficiencia de fósforo. Como modelo se utilizó *Lupinus albus* (lupino). Las plantas (30 por tratamiento) se evaluaron luego de 60 días en invernadero. En la parte aérea, si bien no hubo diferencias significativas entre tratamientos nutricionales, el largo del tallo fue significativamente mayor en SA que AE (17.6 y 5.5 cm respectivamente) ($\alpha= 0.1$), sin embargo, la biomasa aérea fue sólo levemente superior en SA que AE (1.2 y 1.1 g respectivamente). El largo del eje de la raíz tampoco presentó diferencias significativas, sin embargo, en ambos sistemas se observó que las plantas con deficiencia de fósforo tuvieron mayor desarrollo de CP. En SA, 20% del peso radical corresponde a conglomerados en plantas control, y 30% en plantas con deficiencia. Esta diferencia fue mayor en AE, con 1 y 20%, respectivamente. Esto puede explicarse por la presencia natural de fósforo en el sustrato arenoso, reduciendo las diferencias entre los tratamientos nutricionales. Mientras CP más desarrollados se localizan principalmente en el tercio superior de la raíz en SA, ellos predominan en el tercio inferior en AE. Se concluye que el déficit de fósforo en la primera parte del ciclo de vida de lupino no produce diferencias en la parte aérea, sin embargo, la morfología radicular sí se ve afectada respecto a la aparición y desarrollo de CP, mientras que el ambiente físico parece afectar su distribución.

Palabras clave: conglomerado proteoideo / aeroponía / lupino

ABSTRACT

Proteoid roots are characterized by the presence of clusters of dense and short lateral rootlets. Cluster roots (CP) can be found in different plant species, mostly under phosphorus deficiency conditions. This research is part of an investigation relating CP with soil properties. We used two contrasting systems in order to describe the role of physical environment on plants morphological attributes: sandy substrate (SA) and aeroponics (AE). Two nutritional treatments in each system were established: I. control and II. Phosphorus deficiency. As model plant we used *Lupinus albus* (white lupin). Plants (30 in each treatment) were evaluated 60 days after the establishment in greenhouse. Regarding the aerial section, no significant differences between nutritional treatments were found, however, the stem length was significantly higher in SA than AE (17.6 and 5.5 cm respectively) ($a = 0.1$). Dry weight was only slightly higher in SA compared to AE (1.2 and 1.1 g respectively). The root length showed no significant differences; however, in both systems we observed that plants with phosphorus deficiency increased CP development. In SA, 20% of root weight corresponds to CP (control treatment) and 30% in plants with phosphorus deficiency. This difference was greater in AE, with 1 and 20% of the root dry weight, respectively. This can be explained by the presence of phosphorus in the sandy substrate, reducing the differences between nutritional treatments. While in SA the most well-developed CP are located mainly in the upper third of the root, in AE they predominate in the lower third. We conclude that phosphorus deficiency in the first part of the life cycle of lupin does not produce differences in the aerial plant section; however, root morphology is indeed affected regarding the occurrence and development of CP, while the physical system seems to affect mainly the CP distribution along the root.

Keywords: cluster roots / aeroponics / white lupin.

INTRODUCCIÓN

Las raíces proteoideas se caracterizan por presentar conglomerados densos de raicillas, que permiten aumentar la superficie de absorción de agua y nutrientes de la raíz, mejorando así el desarrollo general de la planta, especialmente ante condiciones de estrés (Ramírez, Valenzuela y San Martín, 2004). Si bien el desarrollo de conglomerados proteoideos (CP) fue observado inicialmente en especies de la familia proteaceae, éstos pueden encontrarse en diferentes familias, surgiendo por lo general como respuesta a un déficit nutricional, especialmente de fósforo (Lamont, 1983; Lambers, Clements y Nelson, 2013). Dadas estas características, las plantas que desarrollan raíces proteoideas son normalmente pioneras, estableciéndose en sustratos por lo general poco desarrollados. Diferentes estudios mencionan que los CP tienen la capacidad de aglomerar las partículas del suelo gracias a sus exudados, propiedades que pierden una vez que el CP muere (Ramírez et al., 2004). Un ejemplo de especie con raíces proteoideas es *Lupinus albus*, (Fabaceae), planta que en Chile se encuentra

establecida principalmente en la Provincia de Cautín (Región de La Araucanía) (Mera y Galdames, 2007). *L. albus* es una planta anual, de elevada tasa de germinación y desarrollo, resistente a suelos moderadamente ácidos (Guerrero, 1999). El presente trabajo se enmarca en una investigación que busca relacionar el desarrollo de los CP con diferentes propiedades del suelo. Como objetivo general, el presente trabajo busca caracterizar algunos aspectos morfológicos del desarrollo temprano de *Lupinus albus* entre dos condiciones físicas contrastantes, de manera de establecer el efecto del sustrato, especialmente en aspectos morfológicos de las plantas, tales como la presencia y desarrollo de los CP.

METODOLOGÍA

Para los ensayos se utilizaron dos sistemas físicos contrastantes: un sustrato arenoso (SA), consistente de una mezcla de 90% de arena y 10% de un suelo arcilloso (% volumétrico). Ambos materiales se obtuvieron en la Región de La Araucanía (Chile). La Tabla 1 resume variables físicas y químicas de ambos materiales. El sustrato una vez homogenizado se distribuyó en macetas de polietileno de 1 l de volumen. Paralelamente, se habilitaron cámaras de aeroponía (AE), de 45 l de capacidad. Estas cámaras se programaron para inyectar periódicamente una solución nutritiva a las raíces por medio de rociadores, permitiendo mantenerlas permanentemente húmedas. Las soluciones nutritivas se renovaron periódicamente. Como planta modelo se utilizó una variedad de la especie *L. albus* (lupino blanco). En el sistema SA, se sembró directamente en el sustrato, mientras que para el sistema AE las plantas se establecieron una vez germinadas en placas Petri. En cada sistema se establecieron dos tratamientos nutritivos: T1. Tratamiento con aplicación periódica de una solución nutritiva estándar, según los valores determinados por Taylor y Foy (1985). T2: Tratamiento con aplicación periódica de la misma solución, con valores reducidos de fósforo (50%). Las plantas (30 por tratamiento) se evaluaron luego de 60 días de crecimiento en condiciones de invernadero. En la parte aérea se evaluó el largo del tallo, diámetro de cuello, número de hojas y peso seco. En las raíces se evaluó el largo del eje central, número y tamaño de CP, clase morfológica, ubicación en la raíz y peso seco. Para la determinación de la clase morfológica se diseñó un criterio de cinco clases (0 a 4), siendo 0 un CP muy poco desarrollado y 4 un CP maduro. La Figura 1 muestra la forma en que el ensayo se estableció.

Tabla 1. Resumen de variables físicas y químicas utilizadas para preparar el sustrato arenoso en los ensayos de macetas.

material	DA ¹ (g cm ⁻³)	Por ² (%)	pH	MO ³ (%)	CICE ⁴ (cmol+/kg)	N (mg/kg)	P Olsen (mg/kg)	K (mg/kg)
Arena	1.46	44.8	5.97	2	1.54	14	8	23
Suelo arcilloso	0.99	62.3	5.67	7	13.64	33	32	282

¹densidad aparente, ²porosidad, ³materia orgánica, ⁴capacidad de intercambio catiónico efectiva.

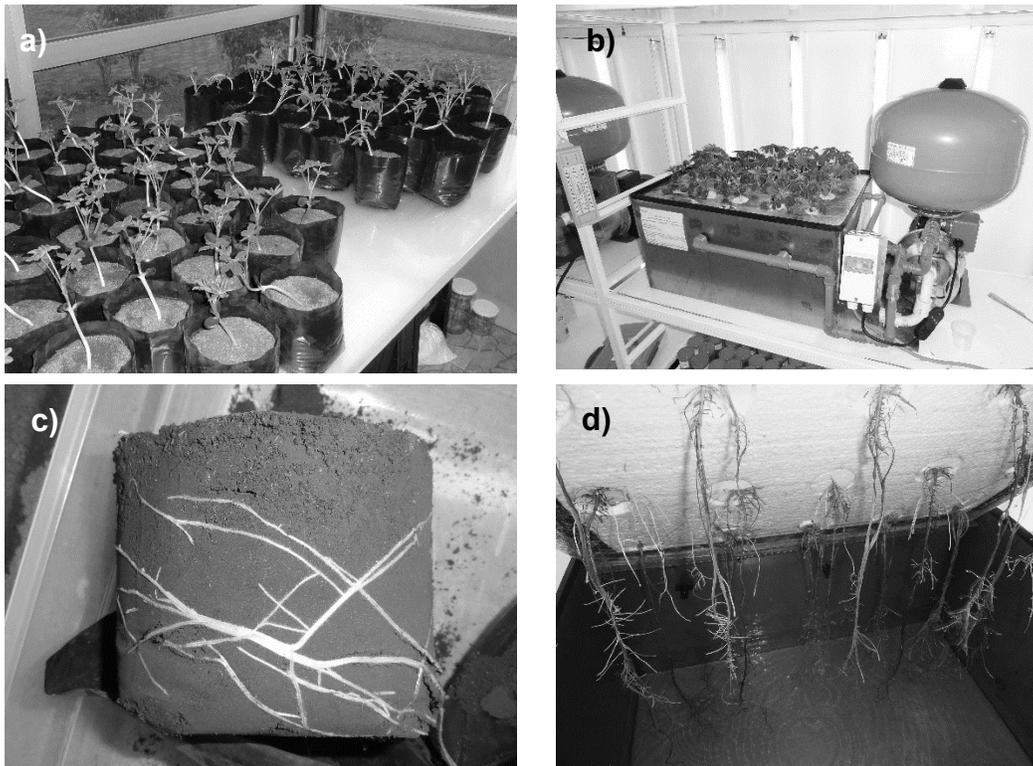


Figura 1. Ensayo de plantas de *Lupinus albus*. a) Ensayo de macetas en invernadero, b) Cámaras de aeroponía, c) Ejemplo de desarrollo de la raíz en maceta, d) Ejemplo de desarrollo de las raíz en condiciones aeropónicas

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 2 resume los resultados de variables morfológicas de longitud y número de hojas observados en los diferentes tratamientos, luego de 60 días de crecimiento. En la parte aérea no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos nutricionales, sin embargo, el largo del tallo fue significativamente mayor en SA que AE (17.6 y 5.5 cm en promedio, respectivamente) ($\alpha = 0.1$). Por su parte, el diámetro del cuello fue levemente mayor en AE, así como también el número de hojas. El largo del eje de la raíz tampoco presentó diferencias significativas entre los sistemas físicos (40.5

y 38.2 cm en promedio para el sustrato arenoso y cámaras de aeroponía, respectivamente). La poca diferencia observada entre tratamientos nutricionales puede deberse al relativamente corto tiempo transcurrido para la evaluación, impidiendo que las diferencias nutricionales se expresen de manera más significativa, especialmente en el desarrollo de la parte aérea (Peñaloza, Martínez, Montenegro y Corcuera, 2004).

Tabla 2. Resumen de variables morfológicas de longitud y número de hojas. T1: tratamiento con solución nutritiva estándar. T2: tratamiento con solución nutritiva y déficit de fósforo.

sistema	tratamiento	largo del tallo (cm)	diámetro del cuello (cm)	número medio de hojas	largo de la raíz (cm)
Arena (SA)	T1	17.3	0.37	14.3	41.1
	T2	17.9	0.38	15.3	39.9
Aeroponía (AE)	T1	5.1	0.48	16.1	34.1
	T2	5.9	0.47	18.2	42.2

La Figura 1 resume los resultados de evaluación de biomasa (peso seco) para cada sistema físico y tratamiento nutritivo aplicado. Como se observa, la biomasa aérea fue sólo levemente superior en SA que AE (1.2 y 1.1 g en promedio, respectivamente), a pesar que el largo del tallo fue significativamente más largo en SA. Esto puede explicarse por un mayor grosor del tallo y un levemente mayor número de hojas en AE (Figura 1a). Por otra parte, SA muestra un levemente mayor peso seco de la raíz, siendo en ambos sistemas físicos, levemente superior el peso seco del tratamiento nutritivo estándar (Figura 1b). En ambos sistemas físicos se observó que las plantas sometidas a tratamiento con deficiencia de fósforo tuvieron un mayor desarrollo de CP. En SA, 20% del peso radical corresponde a conglomerados en plantas con solución nutritiva estándar, y 30% en plantas con deficiencia. Esta diferencia fue mayor en AE, con 1 y 20%, respectivamente. Estos resultados concuerdan con Lambers et al. (2013), en el sentido que P es uno de los elementos dominantes en definir el desarrollo de los CP. En el caso de SA, las diferencias en los tratamientos nutritivos con respecto a P pueden verse compensadas con la presencia natural de fósforo en los materiales utilizados para preparar el sustrato arenoso (ver Tabla 1), lo cual actuó reduciendo las diferencias morfológicas entre los tratamientos nutricionales con respecto a los CP. Como se esperaba, la diferencia con respecto a los CP fue mucho mayor en AE, ya que la única fuente disponible de agua y nutrientes proviene de las soluciones nutritivas aplicadas, sin fuentes adicionales tales como en presencia de un sustrato físico.

La Figura 2 resume los resultados de distribución porcentual de CP según su clase morfológica (clase 0: muy poco desarrollado, clase 5: desarrollado), para cada sistema físico y tratamiento nutritivo. Como se observa, en SA se observaron todas las clases morfológicas, mientras que en AE sólo algunas clases de desarrollaron, especialmente en las plantas sometidas a la solución nutritiva estándar (T1), que sólo mostraron las clases menos desarrolladas de conglomerados. En este sentido, en SA, las clases dominantes fueron las 1 y 2, sin embargo, hubo presencia de clases 3 y 4 en las plantas sometidas a déficit de fósforo (T2) (14 y 7% respectivamente). Por otra, en AE, las plantas sometidas a T2 también mostraron mayor presencia de las clases 0 y 1 (entre 30 y 40% para ambas clases), sin embargo, fueron igualmente capaces de

desarrollar conglomerados de clases 2 y 3 (aproximadamente un 10% de los CP en cada clase morfológica).

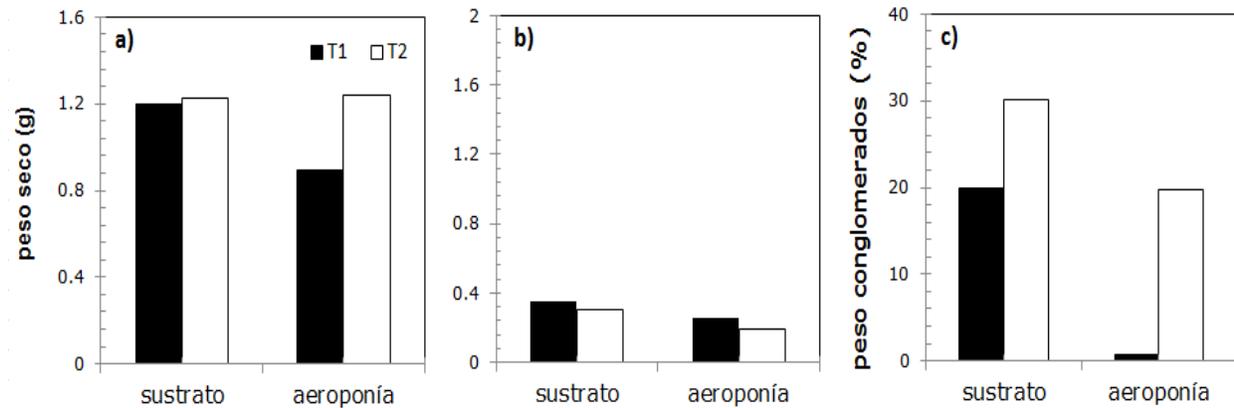


Figura 1. Resultados de evaluación de biomasa (peso seco) por cada sistema físico. a) Parte aérea (tallo y hojas), b) Raíces, c) Porcentaje del peso de la raíz correspondiente a conglomerados proteoideos. T1: tratamiento con solución nutritiva estándar. T2: tratamiento con solución nutritiva y déficit de fósforo.

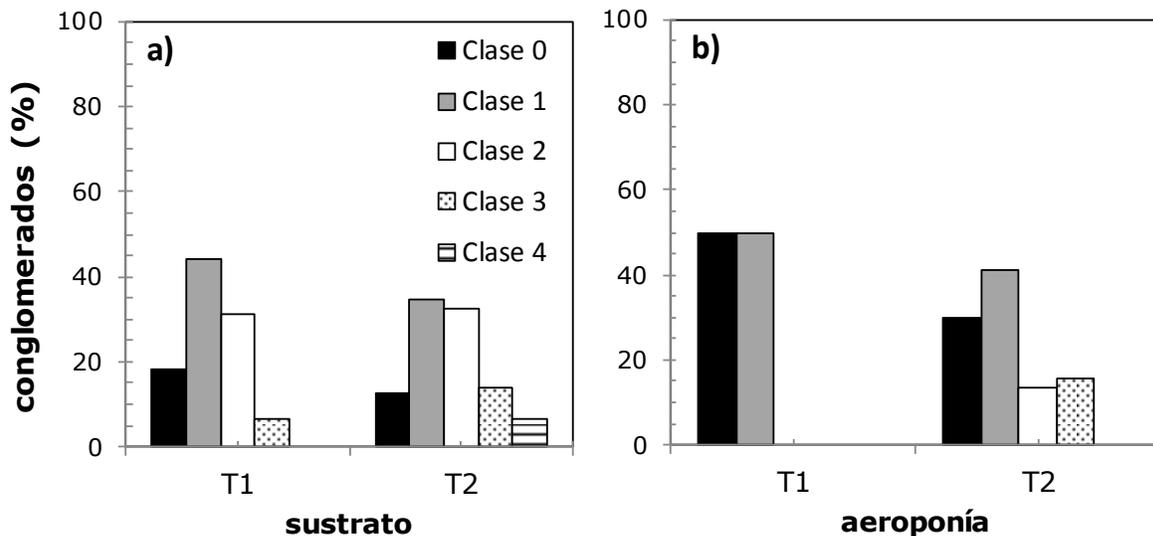


Figura 2. Distribución porcentual de conglomerados por clase morfológica (clase 0: muy poco desarrollado, clase 4: desarrollado). a) Sustrato arenoso, b) Cámaras de aeroponía. T1: tratamiento con solución nutritiva estándar. T2: tratamiento con solución nutritiva y déficit de fósforo.

La Figura 3 muestra la distribución porcentual de los CP según su ubicación en cada tercio de la raíz. Como se observa, si bien en SA los dos tratamientos nutritivos poseen tendencias similares, los porcentajes varían. En este sistema, los CP se

ubican principalmente en el tercio superior, llegando a un 47% en T1 y 63% en T2. En AE, el 100% de los CP se ubican en el tercio superior en el tratamiento T1, los cuales, como se mencionó, corresponden a clases morfológicas muy poco desarrolladas. Sin embargo, en las plantas con déficit de fósforo (T2) los CP se distribuyen en los tercios extremos de las raíz (30 y 50% en los tercios superior e inferior, respectivamente). Dado que la diferencia entre SA y AE son del sistema físico en que las raíces se desarrollan, las diferencias en la distribución de los CP entre ambos sistemas pueden relacionarse a la distribución del agua disponible. En este sentido, en SA las plantas son regadas periódicamente hasta humedecer la parte superior de la maceta, mientras que en AE, los rociadores se ubican a la altura del cuello, con lo que el agua aplicada se llega rápidamente a la parte superior de la raíz, descendiendo luego por acción de la gravedad y acumulando humedad en la parte inferior de los contenedores aeropónicos. Este resultado coincide con la afirmación de Ramírez et al. (2004), en el sentido que las raíces proteoideas tienen como objetivo no sólo incrementar la absorción de nutrientes por parte de la planta, sino también de agua.

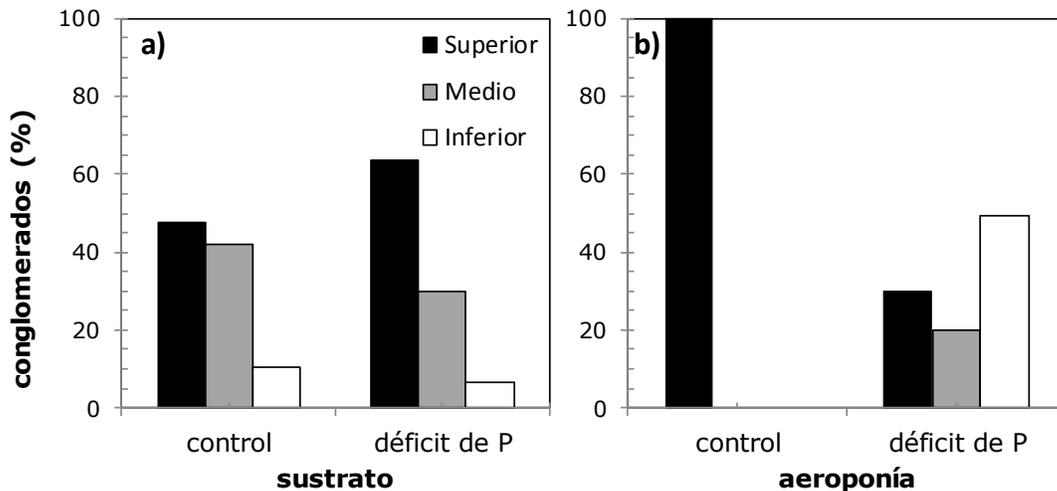


Figura 3. Distribución porcentual de conglomerados proteoideos en cada tercio de la raíz. a) Sustrato arenoso, b) Aeroponía.

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se enmarca en una investigación que busca relacionar el desarrollo de los CP con diferentes propiedades de suelo. En este sentido, su objetivo fue evaluar y cuantificar el rol del ambiente físico en diferentes atributos morfológicos de *L. albus*, especialmente en la raíz y desarrollo de los CP. Los resultados obtenidos permiten concluir que concluye que el déficit de fósforo en la primera parte del ciclo de vida de lupino no produce diferencias en la parte aérea en cuanto al nivel de biomasa, si bien el eje del tallo resultó significativamente más largo en SA. En concordancia con

la literatura disponible, la aparición y desarrollo de los CP parece estar dominada por la disponibilidad de P, sin embargo, se concluye que el sistema físico puede afectar la distribución de los CP en cada tercio de la raíz, al influir posiblemente sobre la distribución del agua disponible.

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por el proyecto de postdoctorado FONDECYT N° 3120070.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Guerrero, A. (1999). *Cultivos herbáceos extensivos*. 6a ed. Bilbao, España: Mundi-Prensa Libros.

Lambers, H., Clements, J., & Nelson, M. (2013). How a phosphorus-acquisition strategy based on carboxylate exudation powers the success and agronomic potential of lupines (*Lupinus*, Fabaceae). *American Journal of Botany*, 100(2), 263-288.

Lamont, B. (1983). Proteoid roots in the South African Proteaceae. *South African Journal of Botany*, 49(2), 103-123.

Mera, M., & Galdames, R. (2007). Boroa-INIA, primera variedad de lupino (*Lupinus albus*) amargo exportable obtenida en Chile. *Agricultura Técnica*, 67(3), 320-324.

Peñaloza, E., Martínez, J., Montenegro, A., & Corcuera, L. (2004). Respuesta de dos especies de lupino a aluminio fitotóxico. *Agricultura Técnica*, 64(2), 127-138.

Ramírez, C., Valenzuela, E., & San Martín, C. (2004). Nuevos antecedentes sobre desarrollo temprano, morfología y anatomía de las raíces proteiformes de *Gevuina avellana*. *Agro Sur*, 32(2), 33-44.

Taylor G., & Foy, C. (1985). Mechanisms of aluminum tolerance in *Triticum aestivum* L. (Wheat). I. Differential pH induced by winter cultivars in nutrient solutions. *American Journal of Botany*, 72(5), 695-701.

AF.15.P. Tolerancia de semillas de dos especies de cactáceas a tratamientos de cortas exposiciones a 50°C previos a la siembra

L. Ponce de León-García, C. Barbosa-Martínez, V. Patiño-López, E. Tapia-García, O. Castro-Martínez, M. Torres-Caballero, A. Quintana-Armas, D. Arellano-Carranza, S. Arias-Durán, F. Pérez-Díaz, M. Sayas-Rivera

Departamento de Biología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México, D.F. lplg@xanum.uam.mx,
clbm@xanum.uam.mx

INTRODUCCIÓN

La temperatura es uno de los factores determinantes para la germinación y la longevidad de semillas. Estudios realizados en semillas de especies de cactáceas y aizoáceas muestran cierta tolerancia a temperaturas extremas que podría explicar la persistencia de estas plantas en zonas áridas (Nobel, 1986; Daws, *et al.*, 2007).

En la reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán, México se predice para el año 2100 un incremento de 2 °C (Téllez-Valdés y Dávila-Aranda, 2003) sobre la temperatura media anual registrada (21 °C) (Valiente-Banuet *et al.*, 1991; CONAGUA, 2013). En la superficie del suelo del matorral xerófilo en la reserva hemos registrado temperaturas hasta de 50 °C en los últimos tres años. En determinaciones realizadas en la superficie del suelo del desierto de Chihuahua y otros desiertos se registran incluso temperaturas superiores a 70 °C (Nobel *et al.*, 1986; Ooi *et al.*, 2009).

Las investigaciones realizadas para conocer la respuesta germinativa al calentamiento de semillas previo a la siembra se han realizado hasta ahora con semillas recién cosechadas o almacenadas en laboratorio. Los resultados reportados son variables según las especies, en algunos casos la germinación se incrementa, y en otros es menor o no se afecta. En cuanto al tiempo medio de germinación puede haber un retraso después del tratamiento térmico (Pérez-Sánchez *et al.*, 2010). Pero, hasta ahora estas investigaciones no se han realizado en semillas que hayan sido enterradas *in situ* y permanecido en el suelo desde la cosecha hasta antes de la aplicación de los tratamientos térmicos. Dado que las semillas una vez dispersadas se localizan en los primeros centímetros del suelo de su comunidad de origen, consideramos necesario incluirlas en este estudio. Por ello, en este trabajo se utilizaron semillas de cosecha reciente, almacenadas en laboratorio, y semillas que permanecieron enterradas *in situ* en el suelo del matorral desde la cosecha hasta el momento de someterlas a 50 °C antes de la siembra. Dicho tratamiento fue aplicado con el propósito de conocer la termotolerancia de las semillas comparando parámetros de germinación de semillas tratadas y no tratadas de *Escontria chiotilla* (Weber) Rose y *Stenocereus pruinosus* (Otto) Buxb. Las especies estudiadas son cactáceas columnares, presentes en la

reserva de la Biosfera Tehuacán-Cuicatlán. *E. chiotilla* “jiotilla” es endémica y silvestre, dominante del matorral xerófilo y, *S. pruinosus* “pitaya es cultivada (Dávila *et al.*, 1993). Las preguntas de investigación de este trabajo son ¿El porcentaje de viabilidad, la capacidad de germinación y el tiempo medio de germinación de las semillas recién cosechadas en 2010 y 2012, se modifican durante el almacenamiento en el laboratorio por uno, dos o tres años? Los parámetros anteriores, ¿también se modifican después de que las semillas permanecen enterradas en el suelo del matorral durante dos años? ¿La exposición de semillas secas a 50 °C por 2 h diariamente antes de la siembra modifica la germinación? Para responder a dichas preguntas en este trabajo se compara la germinación de semillas de ambas especies: 1) recién cosechadas, 2) almacenadas en laboratorio durante uno a tres años, 3) enterradas en el suelo del matorral durante dos años, y 4) semillas de los lotes anteriores expuestas dos horas diarias a 50 °C durante 7 y 14 días antes de la siembra.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las semillas de *E. chiotilla* y *S. pruinosus* utilizadas en este estudio se colectaron en al menos 10 plantas de la Región de la Mixteca Baja Oaxaqueña en el período de producción de los años 2010 y 2012. Las semillas se extrajeron y se almacenaron en frascos de vidrio a la oscuridad en condiciones de laboratorio de 25 ± 3 °C durante uno a tres años. De manera simultánea las semillas cosechadas en 2010 se enterraron a menos de siete centímetros de la superficie del suelo durante dos años en cuatro sitios del matorral xerófilo georeferenciados en la tabla 1.

Para explicar el efecto de la temperatura aplicamos la máxima registrada por nosotros en el suelo del matorral que es de 50 °C, cabe señalar que esta temperatura sólo permanece en el sitio en el momento de mayor insolación durante el día; por lo que, en este trabajo semillas secas almacenadas en laboratorio y exhumadas del suelo del matorral se expusieron sólo por 2 h diarias a dicha temperatura. Previo a la siembra, las semillas secas se colocaron en cajas Petri de vidrio y se sometieron diariamente a 50 °C durante 2 h y 22 h a temperatura ambiente (25 ± 3 °C). El primer tratamiento se realizó durante 7 d y el segundo por 14 d. Después de los tratamientos, tanto las semillas tratadas y no tratadas (control) se sembraron en cajas Petri con agar (1%) a 25 °C y 12/12 h luz/oscuridad. La germinación de semillas se cuantificó diariamente durante 15 d. Se comparó la capacidad de germinación (CG) y tiempo medio de germinación (TMG*).

$$*TMG = \sum (Dn) / \sum n$$

En donde n es igual al número de semillas que germinan en el día D y D es el número de días a partir de la fecha de siembra (Ellis y Roberts 1981; Flores *et al.*, 2011). Calculado para las semillas germinadas por lote de 50 semillas con tres réplicas.

Tabla 1. Sitios de banco de semillas enterradas en el suelo del matorral de la Mixteca Baja Oaxaqueña, colecta 2010.

Sitio	Localidad	Georeferencia	Altitud (msnm)
S1	Municipio de San Juan Oaxaca.	de San Joluxtla, 18°16'37"N 97°74'36"O	2,665
S2	Municipio de San Juan Oaxaca.	de San Joluxtla, 17°31'0"N 97°32'0"O	1,820
S3	Municipio de Santiago Chazumba Oaxaca.	de Santiago Chazumba, 18°16'96"N 97°71'18"O	1,805
S4	Municipio de Santiago Chazumba Oaxaca.	de Santiago Chazumba, 18°16'24"N 97°70'93"O	1,794

RESULTADOS

Una de las diferencias morfológicas más notables entre las semillas de las dos especies es que *S. pruinosus* tiene un peso promedio de alrededor de 1.85 mg y *E. chiotilla* de 0.59 mg, cabe señalar que la germinación de semillas es más rápida en *S. pruinosus* que presenta un TMG más corto que *E. chiotilla*.

En ambas especies las semillas recién cosechadas y las almacenadas por uno a tres años en laboratorio presentan viabilidad y CG elevadas, no así en semillas enterradas en el matorral donde la viabilidad de semillas se reduce después de haber estado enterradas en el suelo durante dos años (tablas 2 y 3).

La CG y TMG de las semillas no se modifica con la edad, en tanto estos parámetros son comparables en las semillas recién cosechadas y después de uno, dos y tres años de almacenamiento en laboratorio (tablas 2 y 3).

Por el contrario, después de que las semillas permanecen enterradas dos años en el suelo del matorral, la CG se reduce en ambas especies (tabla 2). En semillas de *S. pruinosus* el TMG se alarga y es variable para *E. chiotilla*. En cada uno de los 4 sitios del matorral donde fueron enterradas las semillas se observa un comportamiento diferente, la CG y el TMG varían significativamente, por ejemplo, en semillas de *E. chiotilla* enterradas en el micrositio 3, la CG es de 91.6 % y de 2.6 % en el micrositio 4, mientras que el TMG es de 5 y 3.4 días, para las semillas del micrositio 3 y del micrositio 4, respectivamente. Estas diferencias se registran también para las semillas de *S. pruinosus*, en el micrositio 2 la CG es de 74.7 % y en el micrositio 1 es de 12.7 %, y el TMG es de 4.2 y 5.1 días en las semillas del micrositio 2 y el micrositio 1, respectivamente (tabla 2).

Las semillas recién cosechadas de ambas especies, las almacenadas uno a tres años en laboratorio o las que permanecieron en el suelo del matorral durante dos años,

después de haber sido sometidas a los tratamientos térmicos y una vez sembradas no presentan diferencias significativas ni en la CG ni en el TMG, respecto a las no tratadas (tablas 2 y 3).

Tabla 2. Germinación de semillas de *E. chiotilla* y *S. pruinosus* (colecta 2010), almacenadas durante dos y tres años en condiciones de laboratorio, o dos años en el suelo del matorral de la Mixteca Baja Oaxaqueña, y tratadas a 50 °C durante 7 y 14 d antes de la siembra.

Tratamiento de semillas	de	Condición	Tiempo de almacenamiento (años)	Colecta 2010			
				<i>E. chiotilla</i>		<i>S. pruinosus</i>	
				CG* (%)	TMG** (días)	CG* (%)	TMG** (días)
No tratadas	Laboratorio		0 (a la cosecha)	95.33±0.57	7.87±0.15	98.66±0.57	3.2±0.51
			2	89.3 ± 6.1	10.3 ± 0.15	88.0±4.6	3.82±0.2
			3	94.67±4.16	6.16±0.22	88.67±2.31	5.22±0.65
	Matorral		2: S1	-----	-----	12.7 ± 3.1	5.1 ± 0.1
			2: S2	10.6 ± 7	6.0 ± 0.7	74.7 ± 8.1	4.2 ± 0.2
			2: S3	91.6 ± 2.8	5.0 ± 0	38.0 ± 2	5.6 ± 0.3
			2: S4	2.6 ± 3	3.4 ± 3	20.7 ± 2.3	4.8 ± 0.2
Tratamiento 1: 50 °C/7 d	Laboratorio		2	88.0 ± 4	6.0 ± 0.2	90.7 ± 4.6	3.4 ± 0.1
			3	93.3±3.06	5.65±0.9	84.67±6.11	4.97±0.33
			2: S1	-----	-----	13.3 ± 4.6	5.4 ± 0.4
	Matorral		2: S2	16 ± 8	5.8 ± 5	72 ± 13.8	5.1 ± 0.1
			2: S3	78.6 ± 6	6.7 ± 0.5	38.7 ± 8.3	5.8 ± 0.4
			2: S4	2.6 ± 2.3	3.6 ± 3.2	17.3 ± 6.1	4.1 ± 0.1
			2: S1	84 ± 10.5	4.9 ± 0.1	85 ± 6.1	3.3 ± 0.3
Tratamiento 2: 50 °C/14 d	Laboratorio		3	98.67±1.15	5.54±0.16	86.0±3.46	4.74±0.45
			2: S1	-----	-----	13.3 ± 8.3	3.9 ± 0.6
			2: S2	22.6 ± 11.5	4.7 ± 4	54.7 ± 18.1	4.4 ± 0.4
	Matorral		2: S3	69.3 ± 2.3	5.8 ± 0	44.0 ± 0	4.6 ± 0.1
			2: S4	2.6 ± 3	3.3 ± 2.8	20.0 ± 14.4	5.1 ± 0.2

Promedio ± Desviación estándar de tres lotes de 50 semillas cada uno. La letra S en la tercera columna se refiere al micrositio en el suelo del matorral. *Capacidad de germinación; **Tiempo medio de germinación. NOTA: las líneas punteadas indican que no se recuperaron las semillas de *E. chiotilla* del micrositio 1.

Tabla 3. Germinación de semillas de *E. chiotilla* y *S. pruinosus* (colecta 2012), de reciente cosecha, almacenadas durante un año en laboratorio y tratadas a 50 °C durante 7 y 14 días antes de la siembra.

Tratamiento	Colecta 2012			
	<i>E. chiotilla</i>		<i>S. pruinosus</i>	
	CG* (%)	TMG** (días)	CG* (%)	TMG** (días)
A la cosecha (NT)	88.0±8.7	6.7±0.2	98.0±2.0	5.0±0.2
Tratamiento 1: 50° C/7 d	85.3±6.1	5.83±0.2	86.7±6.1	4.1±0.2
Tratamiento 2: 50° C/14 d	78.6±10	6.2±0.3	85.3±4.6	3.6±0.3
1 año de almacenamiento (NT)	92.0±6	5.63±0.09	80.67±9.24	5.08±0.39
Tratamiento 50° C/7 d	99.3±1.15	4.78±0.09	97.3±1.15	3.39±0.37
Tratamiento 50° C/14 d	90±7.21	4.16±0.81	85.3±5.03	4.88±0.23

Promedio ± Desviación estándar de tres lotes de 50 semillas cada uno. NT, no tratadas. *Capacidad de germinación; **Tiempo medio de germinación.

DISCUSIÓN

La contribución de este trabajo es analizar semillas que han permanecido enterradas en el suelo del matorral de la Mixteca Baja Oaxaqueña durante dos años y una vez exhumadas y secas han sido sometidas a temperaturas altas de 50°C antes de la siembra.

Las semillas de *E. chiotilla* y *S. pruinosus* después de los tratamientos térmicos mantienen un porcentaje de viabilidad comparable al de las semillas recién cosechadas, almacenadas en condiciones de laboratorio, o al de las semillas recién exhumadas y sin tratamiento. Nuestros resultados muestran que las semillas de *E. chiotilla* y *S. pruinosus* pierden viabilidad en el curso de su estancia por dos años en el banco por efecto de las condiciones ambientales en el suelo del matorral; pero soportan exposiciones cortas a 50 °C por 7 y 14 d, sin que se reduzca ni la viabilidad ni la CG por efecto de los tratamientos.

Hasta ahora se reportan resultados del efecto de tratamientos térmicos previos a la siembra a partir de semillas secas de reciente cosecha o almacenadas en laboratorio, pero no en semillas recuperadas directamente del banco de semillas en el suelo. Ooi y col. (2009) reportan que siete de ocho especies localizadas en zonas áridas de Australia permanecen viables y con una capacidad de germinación elevada después de haber sido sometidas a tratamientos térmicos de 70/25 °C y 60/20 °C durante 70 d previos a la siembra; tal como ocurre en las semillas de cosecha reciente y las almacenadas en laboratorio de nuestro estudio, así como en semillas de *Agave salmiana*, *Ferocactus histrix* y *Prosopis laevigata*, reportadas por Pérez-Sánchez *et al.* (2011).

Las semillas que provienen del suelo del matorral en muchos de los micrositios presentan porcentajes de viabilidad bajos en ambas especies. La reducción de la viabilidad es muy variable dependiendo de las condiciones de los micrositios, las condiciones ambientales que influyen en los micrositios de manera determinante son el agua y la temperatura.

CONCLUSIONES

Las semillas *E. chiotilla* y *S. pruinosus* almacenadas en laboratorio durante uno a tres años o enterradas *in situ* en el matorral durante dos años sometidas a los tratamientos térmicos de 50 °C durante 2 h diarias de exposición por 7 y 14 d, una vez sembradas no presentan cambios en la CG ni en el TMG.

Los resultados de este estudio muestran cierta tolerancia de las semillas de *E. chiotilla* y *S. pruinosus* cuando son expuestas a cortas exposiciones a 50 °C previos a la siembra, coincidiendo con los reportes que sugieren que las cactáceas son termotolerantes. Sin embargo, otros muchos factores están interrelacionados entre ellos el agua, que cambia el estado fisiológico de las semillas y podría modificar las propiedades de termotolerancia que se observan en semillas secas. Estudios sobre banco de semillas en cactáceas están en curso.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CONAGUA. 2013. http://smn.conagua.gob.mx/emas/graf/PU07temp_24h.gif. Fecha de consulta: septiembre 2, 2013.

Dávila, A. P. D., Villaseñor, R. J. L., Medina, L. R., Ramírez, R. A., Salinas, T. A., Sánchez, K. J. y Tenorio, P. (1993). Listados florísticos de México: flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, México. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.

Daws, M. I., Kabadajic, A., Manger, K., Kranner, I. (2007). Extreme thermo tolerance in seed of desert succulents is related to maximum annual temperature. *South African Journal of Botany* 73:262-265.

Ellis R.A., Roberts, E. H. (1981). The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Sci. Technol.* 9: 373-409.

Flores, J., Jurado E., Chapa Vargas, L., Ceroni-Stuve, A., Dávila-Aranda, P., Galíndez, G., Gurvich, D., León-Lóbos, P., Ordoñez, C., Ortega-Báez, P., Ramírez-Bullón, N., Sandoval, A., Seal, C.E., Ullian, T., Pritchard, H.W. (2011). Seeds photoblastism and its relationship with some plant traits in 136 cacti taxa. *Environmental. and Experimental Botany* 71:79-88.

Nobel, P.S., Geller G.N., Kee, S.C., Zimmerman, D. (1986). Temperature and thermal tolerances for cacti exposed to high temperatures near the soil surface. *Plant Cell and Environment* 9:279-287.

Ooi, M. K. J., Auld, T. D., Denham, A. J. (2009). Climate change and bet-hedging: interactions between increases soil temperatures and seed banks persistence. *Global Change Biology* 15:2375-2386.

Ooi, M .K. J. (2012). Seed bank persistence and climatic change. *Seed Science Research* 22:S53-S60.

Pérez-Sánchez, R. M., Jurado, E., Chapa-Vargas, L., Flores, J. (2011). Seed germination of Southern Chihuahuan desert plants in response to elevated temperatures. *Journal of Arid Environments* 75:978-980.

Téllez-Valdés, O., Dávila-Aranda, P. (2003). Protected areas and climate change: a case study of the cacti in the Tehuacán-Cuicatlán Biophere Reserve, México. *Conservation Biology* 17(3): 846-853.

Valiente-Banuet, A., Bolongaro-Crevenna, A., Briones, O., Escurra, E. Rosas, M. Nuñez, H. Barnard, G., Vazquez, E. (1991). Spatial relationships between cacti and nurse shrubs in a semi-arid environment in central Mexico. *Journal of vegetation seeds* 2: 15-20.

AF.16.P. Aislamiento y capacidad lignocelulolítica de micromicetos en compostas de bagazo de caña de azúcar y bagazo de agave

¹Artemio Méndez Matías, ¹Patricia Santiago García, ¹Celerino Robles
¹Lab. de Suelos, CIIDIR-IPN-Un. Oaxaca, Oaxaca, México croblesp@ipn.mx

RESUMEN

El reciclaje de subproductos y residuos de origen agrícola y agroindustrial para usos en agricultura requiere de su procesamiento y estabilización por medio del compostaje. En residuos fibrosos, con alta relación C/N, el proceso es lento, llegando a tardar hasta seis meses. Es posible acortar el tiempo, entre otras formas, por incremento en la densidad de hongos con alta capacidad hidrolítica de las moléculas resistentes a la degradación microbiana, celulosas y ligninas. Se muestrearon pilas de bagazos de caña de azúcar y agave “mezcalero” (*Agave angustifolia* Haw.) en diferentes etapas del proceso de compostaje. Con las muestras se realizaron series de diluciones al décimo. Se sembraron las diluciones 10^{-3} y 10^{-4} en placas con agar de papa y dextrosa, se incubaron durante siete días a 35°C. Se aislaron siete hongos con claras diferencias morfológicas. Los cultivos fueron purificados por resiembra en el mismo medio. Se identificaron, por características coloniales y morfológicas microscópicas, como: *Aspergillus* aff. *fumigatus*, *Absidia* sp., *Aspergillus* aff. *niger*, *Cladosporium* sp., *Fusarium* aff. *oxysporum*, *Rhizopus* sp., *Trichoderma harzianum*. Los hongos se multiplicaron en arroz para la formulación de inóculos experimentales. Se aplicaron los inoculantes a los mismos residuos frescos en microcosmos. Actualmente está en evaluación la capacidad de cada uno de ellos para reducir el tiempo para alcanzar la maduración de la composta generada. Se logró el aislamiento e identificación de siete especies de hongos saprofitos con capacidad lignocelulolítica en residuos en compostaje de bagazos de caña de azúcar y agave mezcalero.

Palabras clave: compostaje, hongos saprofitos, residuos agroindustriales.

INTRODUCCIÓN

El panorama de contaminación ambiental provocado por la acumulación de residuos ha generado la necesidad de identificar opciones viables para su manejo y posible aprovechamiento (Gordillo et al., 2011). Los residuos orgánicos de origen urbano, agrícola y agroindustrial son los más abundantes en México. Engloban principalmente restos de alimentos, restos de poda, de rastros, de mercados, restos forestales, pesqueros, agrícolas, excretas de animales, lodos residuales no considerados como peligrosos y residuos agroindustriales (Guadalajara, 2011).

Los constituyentes principales de este tipo de residuos son moléculas solubles en agua, féculas, aminoácidos y diversos ácidos orgánicos, hemicelulosas, grasas aceites y ceras, lignina, celulosa y proteínas (Soto y Meléndez, 2003). Los compuestos

lignocelulósicos componen la mayor parte de la biomasa vegetal, por lo que la degradación de los residuos en el suelo es un proceso fundamental para la continuidad del ciclo de carbono. Durante el proceso, en condiciones aerobias, los microorganismos utilizan los compuestos de carbono como fuente de energía y en consecuencia el contenido de carbono va en decremento (Isaza-Arias et al. 2009).

La transformación agroindustrial del maguey mezcalero (*Agave angustifolia* Haw.) y la caña de azúcar tienen gran importancia en el estado de Oaxaca, México. El estado ocupa el primer lugar en producción de mezcal (Financiera Rural, 2011; COMERCAM, 2012), y ocupa el quinto lugar en producción de caña molida bruta (SAGARPA-ASERCA, 2010). Durante los procesos de transformación se generan una considerable cantidad de líquidos y residuos sólidos que generan diversos y graves problemas ambientales (Suthar, 2010).

Según Pernalette *et al.* (2008), se obtienen de 250-400 kg de bagazo por cada tonelada de tallos que se procesan en la obtención del jugo de caña. En la industria del mezcal por cada litro producido de esta bebida se obtienen de 15 a 20 kg de bagazo húmedo (Colunga, 2007), lo que se traduce en una gran cantidad de material residual. En el año 2011 se procesaron en Oaxaca 10,107 ton de maguey, con un rendimiento total de 1,387,260 litros de mezcal (COMERCAM, 2012), lo que nos resulta en un estimado de 24,277 ton de bagazo húmedo. En el caso de la caña de azúcar, en el estado se tiene calculada una producción de 3,482,389 ton de caña de azúcar hasta junio de 2012 (OEIDRUS- PORTAL), lo que resulta en una producción de 8,706 ton de bagazo.

Enfocado a su utilización en la producción agrícola, Rodríguez (2004) menciona que se pueden obtener biofertilizantes y sustratos orgánicos a partir de estos residuos después de someterlos a procesos de biodegradación, como son el compostaje y el vermicompostaje. Una mezcla de biosólidos y bagazo de maguey sometidos a compostaje dieron como resultado un producto libre de olores y con propiedades fisicoquímicas mucho mejores que los materiales iniciales (Íñiguez *et al.* 2006). En cuanto al bagazo de caña, una vez terminado el proceso de biodegradación, las características que presenta son favorables para su utilización en producción agrícola al no presentar toxicidad debido a la estabilización del material (Chandler *et al.* 2008; López 2011). Cuevas (1997) desarrolló la tecnología para el compostaje rápido de residuos, basada en la inoculación con cultivos puros de *Trichoderma harzianum* Rifai.

Los ensayos en placa de Petri constituyen herramientas poderosas para reconocer la capacidad lignocelulolítica de los hongos (Devi and Kumar, 2012). Estos ensayos permiten verificar, en forma semicuantitativa, la producción de enzimas hidrolíticas y probar de manera simultánea y barata un gran número de aislamientos para varias capacidades específicas.

El objetivo de esta investigación fue evaluar, en cultivo en placa, la capacidad de hidrólisis lignocelulósica de siete aislados fúngicos provenientes de bagazo de maguey mezcalero y caña de azúcar sometidos a proceso de compostaje.

METODOLOGÍA

Se muestrearon pilas de bagazos de caña de azúcar y maguey mezcalero (*Agave angustifolia* Haw.) en diferentes etapas del proceso de compostaje. Con las muestras

se realizaron series de diluciones al décimo en agua peptonada. Se sembraron las diluciones 10^{-3} y 10^{-4} en placas de Petri con agar de papa y dextrosa, se incubaron durante siete días a 35°C . Los hongos crecidos se resembraron en tres ocasiones consecutivas en el mismo medio, por la técnica del parche, hasta su purificación. Se aislaron nueve hongos con claras diferencias morfológicas coloniales y en observación microscópica. La identificación se realizó por características coloniales y morfológicas microscópicas (<http://thunderhouse4-yuri.blogspot.ca/2013>). Se efectuaron ensayos en placa de Petri utilizando medios específicos para medir semi-cuantitativamente las capacidades de hidrólisis de celulosa y lignina de los hongos aislados. Se utilizaron agar celulosa, agar carboximetil celulosa y agar lignina y se midieron los halos de hidrólisis, de acuerdo a lo sugerido por Gómez-Sarmiento (2011) y Devi and Kumar (2012).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se identificaron nueve organismos con claras diferencias coloniales y microscópicas. De acuerdo a estas características, su clasificación taxonómica es la siguiente: *Trichoderma harzianum* (Th), *Rhizopus* sp. (Rsp), *Aspergillus* aff. *fumigatus* (Af), *Aspergillus* aff. *niger* (An), *Absidia* sp1. (Asp1), *Fusarium* aff. *oxysporum* (Fo), *Absidia* sp2. (Asp2), *Cladosporium* sp.1 (Csp1), *Cladosporium* sp.2 (Csp2).

En los bioensayos de crecimiento en placa (Figura 1), medida como diámetro equivalente de la colonia, destacaron por la magnitud de su crecimiento, en agar lignina los hongos Th, Af, An, Asp1 y Asp2. Como solubilizadores de celulosa en medio CMC los hongos que destacaron fueron An y Asp2, en tanto que en medio C solamente se registró un crecimiento importante del hongo Asp2.

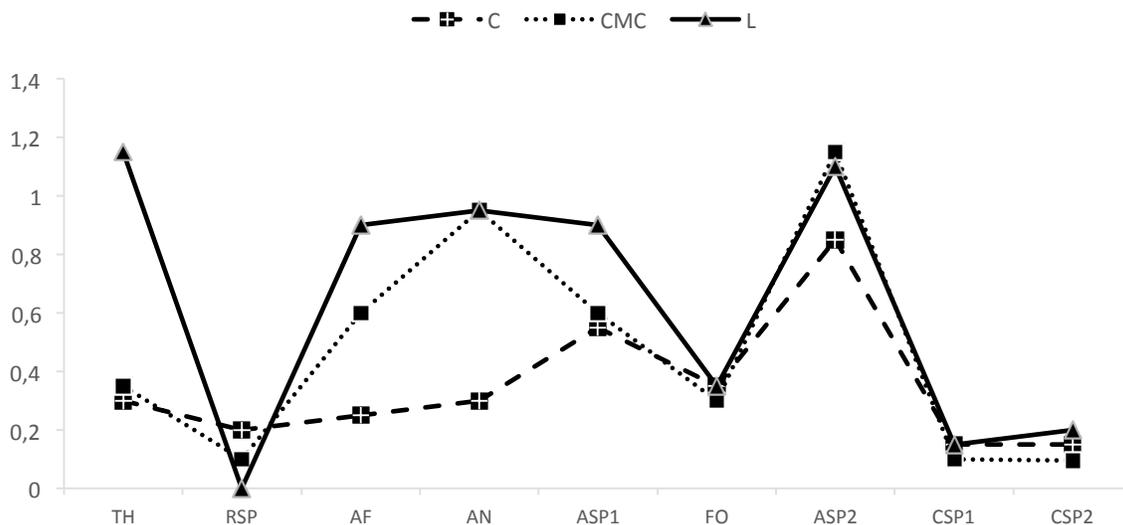


Figura 1. Magnitud del crecimiento colonial de nueve hongos aislados de bagazo de caña y bagazo de maguey mezcalero, en agar celulosa (C), agar carboximetil celulosa (CMC) y agar lignina (L).

De acuerdo a la formación de un halo claramente visible de hidrólisis en cada uno de los medios de crecimiento, solamente en agar celulosa se registró la formación clara de este halo por la mayoría de los hongos ensayados, mientras que en agar CMC y agar lignina solamente con uno de los hongos se registró la presencia del halo de hidrólisis, aunque de un tamaño pequeño en relación a su crecimiento colonial (Figura 2).

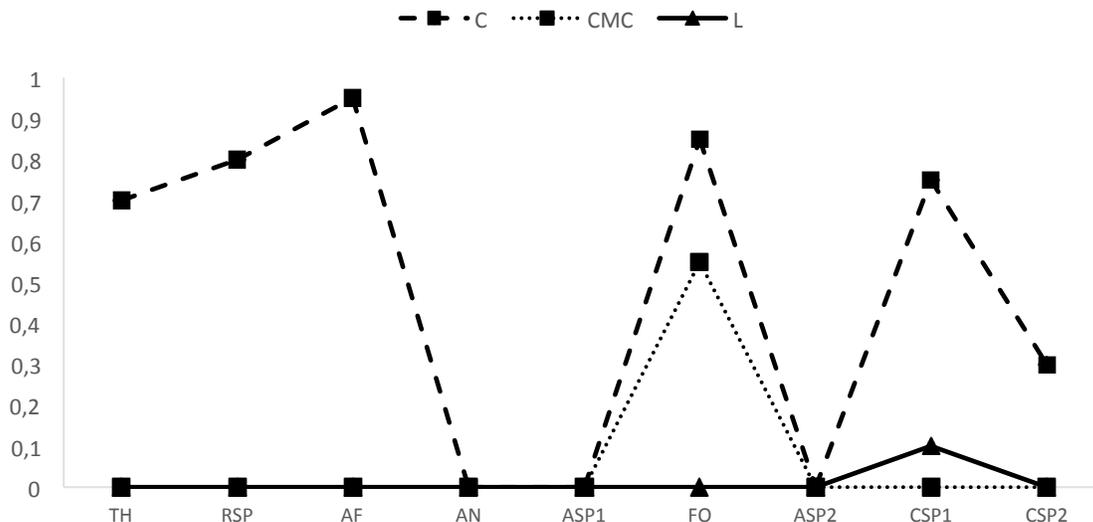


Figura 2. Magnitud del halo visible de hidrólisis de nueve hongos aislados de bagazo de caña y bagazo de maguey mezcalero, creciendo en agar celulosa (C), agar carboximetil celulosa (CMC) y agar lignina (L).

CONCLUSIONES

La riqueza de hongos con capacidad lignocelulolítica fue amplia en los residuos en compostaje, bagazo de caña de azúcar y bagazo de maguey mezcalero, reportando en este estudio nueve especies. La capacidad hidrolítica de lignina y celulosa quedó evidenciada tanto por la magnitud del crecimiento colonial como por la formación de un claro halo de hidrólisis en los medios agar celulosa, agar carboximetil celulosa y agar lignina. Futuros ensayos “in vivo” proporcionarán mayor información de la posibilidad de seleccionar algunos de estos organismos para ser utilizados como inoculantes en el proceso acelerado de compostaje de residuos fibrosos.

BILBIOGRAFÍA

Chandler, C.; Ferrer, J.; Mármol, Z.; Páez, G.; Ramones, E.; Perozo, R. 2008. Efecto de la aireación en el compostaje del bagacillo de la caña de azúcar. *Multiciencias*. 19-27

Colunga, G.P.; Larque, A.; Eguiarte, L.; Zizumbo-Villarreal, D. 2007. En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves. *CONABIO*. México. 304p.

Cuevas, V.C. 1997. Rapid composting technology in the Philippines; its role in producing good-quality organic fertilizers. Institute of Biological Sciences. University of Philippines at Los Baños. Laguna, Philippines. 12pp.

Devi, M.C.; Kumar, M.S. 2012. Isolation and screening of lignocellulose hydrolytic saprophytic fungi from dairy manure soil. *Ann. Biol. Res.* 3(2): 1145-1152

Gómez-Sarmiento, M. 2011. Comparación de propiedades edáficas y procesos ecosistémicos entre plantaciones forestales y bosques secundarios subandinos. Tesis de Magister. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia.

Gordillo, F., Peralta, E., Chávez, E., Contreras, V., Campuzano, A., Ruiz, O. 2011. Producción y evaluación del proceso de compostaje a partir de desechos agroindustriales de *Saccharum officinarum* (caña de azúcar). *Revista de Investigaciones Agropecuarias* 37, 140-149.

Íñiguez, G.; Parra, J.; Velasco, P.A. 2006. Utilización de subproductos de la industria tequilera. Parte 8. Evolución de algunos constituyentes de la mezcla de biosólidos y bagazo de agave durante el compostaje. *Rev. Intern. Contam. Amb.* 22: 83-93.

Isaza-Arias, G., Pérez-Méndez, M., Laines-Canepa, J. y Castañón-Nájera, G (2009). Comparación de dos técnicas de aireación en la degradación de la materia orgánica. *Universidad y Ciencia*, 25(3) 233-243.

López, C.X.A. 2011. Caracterización de compostas derivadas de residuos orgánicos enfocadas a su uso como sustratos. Tesis de Maestría en Ciencias. CIIDIR-Unidad Oaxaca.

Pernalet, Z.; Piña, F.; Suárez, M.; Ferrer, A.; Aiello, C. 2008. Fraccionamiento del bagazo de caña de azúcar mediante tratamiento amoniacal: efecto de la humedad del bagazo y de la carga de amoníaco. *Bioagro* 2: 3-10.

Rodríguez, M.R. 2004. Desarrollo y caracterización de sustratos orgánicos a partir del bagazo de agave tequilero. Tesis Doctoral. Colegio de Postgraduados. 134 p.

Soto, G. y Meléndez, G. 2003. Indicadores químicos de calidad de abonos orgánicos. In: Soto, G; Meléndez, G; Uribe, L. (eds.) *Abonos orgánicos: Principios, aplicaciones e impacto en la Agricultura*. Centro de Investigaciones Agronómicas, Costa Rica. p. 59.

AF.17.P. Influencia de la calidad del recurso hídrico para riego en la sostenibilidad de los productores de la sabana de Bogotá, Colombia

Influence of the quality of water resources for irrigation in the sustainability of the producers of the savanna of Bogotá, Colombia

Faindry Milena Gamba Camacho¹ faindry622@gmail.com - Tel (57) 2418800
María Ximena Sánchez Jimenez¹ jeanvillamil2@gmail.com - Tel (57) 2418800
Ligia Consuelo Sánchez Leal², ligiasanchezle@gmail.com – Tel (57) 2418800

¹Bacteriólogos y Laboratoristas Clínicos con énfasis en Microbiología Ambiental.
Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Colombia.

²Profesora Investigadora Principal grupo CEPARIUM. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Colombia

RESUMEN

El recurso hídrico más utilizado en Colombia para riego son los ríos, le siguen el agua lluvia y los pozos profundos. En la sabana de Bogotá, región central de Colombia, tanto el río como los pozos están altamente contaminados con agua residual de industrias que funcionan en la zona y se agrava con los lixiviados y escorrentía del cauce del río, sus afluentes y pozos sépticos que funcionan como alternativa sanitaria en la zona. La principal actividad económica de la región es la agricultura, se cultivan frutales, hortalizas y ornamentales que sufren de múltiples enfermedades y el agua de riego podría ser una de las causas de dispersión de patógenos en la zona. El objetivo de esta investigación fue determinar la carga microbiana en aguas de riego en 21 fincas agrícolas de la cuenca alta del río Bogotá y su posible relación con las enfermedades que presentan los cultivos en cada finca y por zonas. La metodología incluyó la sensibilización de los agricultores sobre el problema, recolección de muestras de agua de riego en cada finca, identificación de microorganismos reportados como fitopatógenos y pruebas de patogenicidad en las variedades vegetales cultivadas en cada finca con los microorganismos encontrados en agua. Se encontraron hongos y bacterias en el agua de riego que enfermaban los cultivos en algunas de las fincas y nemátodos reportados como fitopatógenos para algunos de los cultivos. Se concluyó que el agua de riego tiene una alta carga de microorganismos y es un factor de dispersión de fitopatógenos en las fincas en estudio que podrían afectar la sostenibilidad de los productores. A futuro se espera realizar transferencia de tecnología a los agricultores sobre la importancia de los cuerpos de agua para su actividad económica y presentar una alternativa para garantizar la calidad de este recurso natural.

Palabras Clave: agua de riego, dispersión, microorganismos fitopatógenos, sabana de Bogotá, sostenibilidad.

ABSTRACT

The most widely used water resources for irrigation in Colombia are rivers, followed by rain and water from deep wells. In the savannah of Bogotá, Colombia's central region, both the river and the wells are highly contaminated wastewater industries operating in the area and is exacerbated by leachate and runoff of the river, its tributaries and septic tanks function as sanitary alternative in the area. The main economic activity of the area is agriculture, it is cultivated fruit trees, vegetables and ornamentals who are suffering from multiple diseases and irrigation water could be one of the causes of spread of pathogens in the area. The objective of this research was to determine the microbial load in irrigation water in 21 farms in the high basin of the river Bogotá and its possible relation to diseases with crops on each farm and area. The methodology included sensitizing farmers about the problem, collecting water samples on each farm irrigation, identification of microorganisms reported as pathogens of plants and pathogenicity tests on plant varieties cultivated in each farm with microorganisms found in water. Fungi and bacteria were found in the irrigation water sick crops in several farm and reported as pathogenic nematodes for some crops. It was concluded that irrigation water has a high load of microorganisms and it is a dispersion factor pathogens on farms in a study that could affect the sustainability of producers. In the future is expected to perform technology transfer to farmers about the importance of water bodies for economic activity and to present an alternative to assure the quality of this natural resource.

Keywords: irrigation water dispersion pathogenic microorganisms, savannah of Bogota, sustainability.

INTRODUCCIÓN

El agua es el recurso más importante para los seres vivos, el planeta es mucho más agua que suelo y eso le permite la estabilidad geológica y atmosférica que ha brindado por millones de años la posibilidad de albergar vida. Se estima que solo el 1% del agua es potable y eso no es del todo verdad, porque esa potabilidad se mide en función del hombre, pero en consideración a los millones de especies que viven en el mar, el agua realmente es una fuente potable e ilimitada para la vida de cualquier organismo que viva en este medio.

Colombia es un país privilegiado, la mayoría del territorio nacional cuenta con diversas fuentes hídricas, podría decirse que la riqueza fluvial es ilimitada, estos ríos se alimentan de los manantiales en donde nacen, los cuales recuperan su caudal en la medida que el agua realiza su ciclo, además nuestro territorio por estar en la zona tórrida cuenta con un nivel de precipitación alto lo que permite la recuperación de buena parte del agua que se utiliza. La riqueza hídrica hace de nuestro país uno de los más ricos en recursos naturales en el planeta, situación que garantiza la subsistencia

económica, social y de productividad de la cual carecen otros países pero la responsabilidad social que se tiene sobre este recurso aún es muy pobre.

La sabana de Bogotá cuenta con un sistema hídrico que le ha dado sustento y desarrollo económico a la región, aunque se cuenta con aguas subterráneas, hasta el momento la población que habita en esta región no ha necesitado realmente hacer uso de ella. En varios municipios de la sabana, los agricultores toman agua de pozos profundos, convencidos de que están tomando fuentes hídricas limpias para esta labor, pero realmente están tomando aguas lixiviadas de la lluvia o de las fuentes hídricas que pasan al subsuelo, que se combina con aguas de pozos sépticos y de otras procedencias, lo cual aumenta la concentración de microorganismos que pueden ser patógenos para cualquier organismo vivo.

La calidad del agua de riego es uno de los factores de los cuales depende la productividad de cultivos agrícolas; la presencia de microorganismos puede significar un efecto benéfico o uno perjudicial, las microalgas son el ejemplo de microorganismos benéficos en el agua, más cuando ríos, lagunas tienen grandes cantidades si la calidad es buena; estos microorganismos se alimentan generalmente de bacterias, son fotosintéticos y utilizan la energía solar para fijar CO₂ (Rawat, R, Ranjith, T. & Mutanda, F, 2011). Por otra parte, algunos patógenos han sido reportados en aguas de riego para los seres vivos, las plantas y el hombre como *E. coli*, *Salmonella sp*, *Bulkolderia cepacia*. (Agrios, 2005). Generalmente las investigaciones han estado orientadas a la búsqueda de microorganismos patógenos para la salud humana y muy pocos a determinar la carga de microorganismos fitopatógenos, solamente cuando se presenta una epifitía se investiga toda la epidemiología. Este estudio permite tener una visión general de la carga microbiana encontrada en el agua de riego utilizada por 21 fincas agrícolas y establecer si hay fitopatógenos que estén relacionados con los cultivos que manejan estas fincas.

El proyecto generó un interés muy alto en los agricultores de la sabana, en la red de usuarios del río Bogotá y en la Contraloría General de la Nación, desde las veedurías ciudadanas, razón por la cual el grupo espera realizar una transferencia de tecnología para sensibilizar a los usuarios con la compañía de estas entidades, poner en contexto a quienes hacen uso del sistema hídrico de la sabana de Bogotá para la agricultura, cual es el estado actual del agua de riego y entiendan su responsabilidad social con el cuidado y buen uso de ella, además, entiendan que el agua es un dispersor de microorganismos patógenos para las plantas y puede afectar la productividad de sus cosechas y cómo esta agua lleva consigo problemas de salud para ellos, pues muchos microorganismos encontrados producen enfermedades graves en el hombre.

A futuro, se espera hacer un trabajo con un gran número de agricultores de las cuencas alta, media y baja, para lo cual será necesario establecer alianzas estratégicas con las entidades de control, agroindustrias y demás usuarios del río para que se pueda hablar de un verdadero desarrollo sostenible de esta región en donde confluyan estudios ambientales, económicos y sociales en pro de garantizar un uso racional del agua de la región.

MATERIALES Y MÉTODOS

El proyecto se desarrolló en 4 fases, la primera fue la selección de las fincas para la investigación, se programaron 40 fincas, 5 en cada municipio de la cuenca alta del río Bogotá pero solo aceptaron participar los productores de 21 fincas. En la primera visita se explicaron las razones del estudio, se entregó un folleto informativo y se hizo una entrevista en la cual se recolectaron los datos sobre la variedad vegetal, tipo de riego, síntomas de enfermedad que han presentado los cultivos y estado de salud de los trabajadores. Se documentó fotográficamente cada cultivo y los puntos de entrada del agua que utilizaban para riego.

En la segunda fase se recolectaron las muestras de agua de riego, las cuales se hicieron teniendo en cuenta: época de lluvia, sequía y fechas de cosecha. Se recolectaron también muestras vegetales sanas y enfermas para la realización de las siguientes fases. La cantidad de muestra de agua fue de 10 litros en recipientes plásticos, se rotularon y llevaron al laboratorio; las muestras vegetales se depositaron en bolsas plásticas y se transportaron para su procesamiento.

En la tercera fase se procesaron las muestras de agua para reconocer nemátodos por observación en fresco y por concentración de acuerdo con el protocolo de Rodríguez (2012); la identificación de hongos y bacterias se realizó utilizando la técnica de concentración por filtración de membrana, siembra en medios especiales para esta técnica y posterior aislamiento de los microorganismos en medios selectivos. Los microorganismos aislados fueron mantenidos en congelación para bacterias y en agua para hongos filamentosos.

Las muestras de tejido vegetal fueron procesadas de acuerdo con los protocolos de Stangoulis, J. y Sison, C. (2009) los microorganismos fueron aislados en agar PDA, McConkey, ENDO y Standard.

RESULTADOS

Primera fase. Las 21 fincas que aceptaron participar en el estudio están ubicadas en los municipios de Villapinzón, Chocontá, Suesca, Sesquilé, Gachancipa, Tocancipa, Cajica y Chía. En la tabla 1 se presentan los cultivos que se estudiaron en cada finca. El periodo de recolección fue en el mes de abril del año 2012; se muestrearon dos fincas por día empezando por Villapinzón y finalizando en Chía.

En la figura 2 se muestran los datos arrojados por la encuesta.

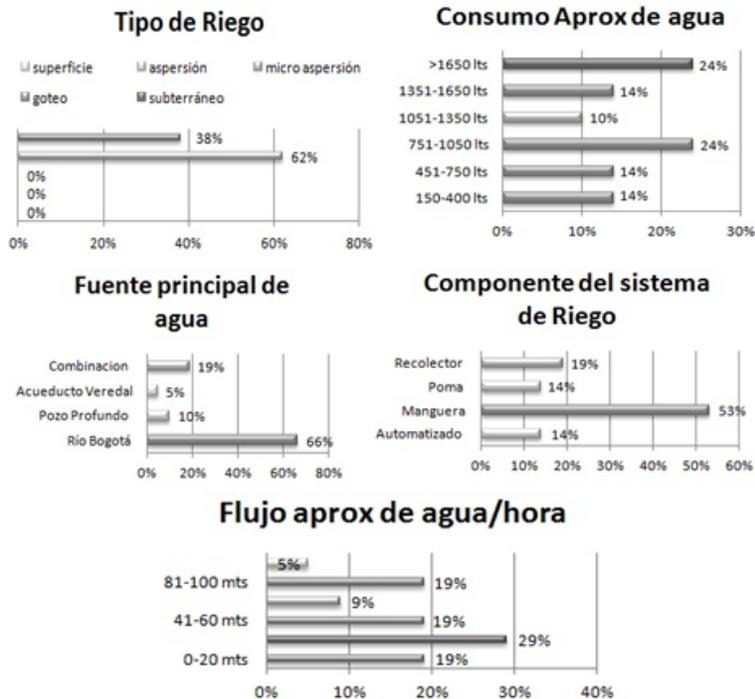


Figura 2. Datos arrojados por la encuesta. Investigadoras, 2012

Segunda fase. Las muestras fueron colectadas, empacadas y transportadas de acuerdo con los protocolos citados en la metodología.

Tercera fase. Las pruebas en fresco permitieron evidenciar los nemátodos *Meloidogyne spp*, *Heterodera spp*, *Ditylenchus spp*. y *Rotylenchus spp*. en el agua de riego de las fincas Verdelifé, El Tomate, Santa Ana, Lechuga y Vida, Casa Quinta Sendero de Dios, El Cerezo y El Laurel, para la primera especie, Manciti y Agrocalima para la segunda especie, Vivero la esperanza y Agricoland para la tercera y cuarta especie respectivamente. En la tabla 2 se presentan los microorganismos bacterianos y micóticos aislados e identificados del agua de riego de las fincas. Solamente el cultivo de guisantes del municipio de Sesquile no presenta ningún patógeno bacteriano o micótico. Este resultado es coincidente con el estado de sanidad del cultivo manifestado por los agricultores en la encuesta y observado por las investigadoras.

Tabla 2. Bacterias y hongos identificados en aguas de riego por localización y tipo de cultivo.

Localización	Cultivo	Bacterias en aguas de riego	Hongos en aguas de riego
Villapinzón	lechuga	<i>Proteus</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.
Villapinzón	tomate	<i>Proteus</i> sp. & <i>Cedevecea</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.
Choconta	Fresas	<i>Proteus</i> sp., <i>Cedevecea</i> sp., <i>Enterobacter</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.
Choconta	Fresas	<i>Proteus</i> sp.	No hubo crecimiento
Choconta	Fresas	<i>Proteus</i> sp.	No hubo crecimiento
Suesca	Tomate	<i>Bulkolderia</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.
Suesca	Calabacín	<i>Proteus</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.
Sesquilé	Calabacín	<i>Proteus</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.
Sesquilé	Tomate	<i>Proteus</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.
Tocancipa	Rosas	<i>Proteus</i> sp.	No hubo crecimiento.
Tocancipa	Rosas	<i>Proteus</i> sp.	No hubo crecimiento
Gachancipa	Lechuga	<i>Proteus</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp. <i>Geotrichum</i> sp.
Gachancipa	Espinaca	<i>Proteus</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.
Gachancipa	Calabacín	<i>Proteus</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.
Cajica	lechuga	<i>Proteus</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp. <i>Alternaria</i> sp.
Cajica	Fresas	<i>Proteus</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.
Cajica	Tomate	<i>Proteus</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp.
Chía	Espinaca	No hubo crecimiento	<i>Fusarium</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp.
Chía	Espinaca	<i>Proteus</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.

En la tabla 3 se presentan los microorganismos aislados e identificados provenientes de las muestras vegetales.

Tabla 3. Bacterias y hongos identificados en el material vegetal por localización y tipo de cultivo.

Localización	Cultivo	Bacterias en material vegetal	Hongos en material vegetal
Villapinzón	lechuga	No hubo crecimiento	<i>Alternaria</i> sp.
Villapinzón	tomate	No hubo crecimiento	<i>Alternaria</i> sp.
Choconta	Fresas	<i>Cedevecea</i> sp.	No hubo crecimiento
Sesquilé	Calabacín	No hubo crecimiento	<i>Epicoccum nigrum</i>
Sesquilé	Guisantes	No hubo crecimiento	No hubo crecimiento
Sesquilé	Tomate	No hubo crecimiento	<i>Penicillium</i> sp.
Tocancipa	Rosas	No hubo crecimiento	No hubo crecimiento
Tocancipa	Rosas	No hubo crecimiento	S.P.
Gachancipa	Lechuga	No hubo crecimiento S.P.	<i>Fusarium</i> sp
Cajica	lechuga	<i>Cedevecea</i> sp.	No hubo crecimiento
Chía	Espinaca	No hubo crecimiento	<i>Fusarium</i> sp

Cuarta fase. Las pruebas de fitopatogenicidad para comprobar los postulados de Koch se presentan en la tabla 4.

Tabla 4. Resultados de las pruebas de fitopatogenicidad por finca y material vegetal con los síntomas que presentaron.

Finca	Cultivo	Pruebas de fitopatogenicidad			
		Bacterias	Síntomas	Hongos	Síntomas
Verdelife	lechuga	---	----	<i>Alternaria</i> sp	Necrosis
Santa Ana	Fresas	<i>Cedevecea</i> sp.	Pudrición externa e interna/	<i>Alternaria</i> sp	Pudrición además de presentar micelios aéreos
		<i>Enterobacter</i> sp.	Pudrición interna		
La puerta de oro	Tomate	—	—	<i>Aspergillus</i> sp	Necrosis y pudrición
Calabacín	Calabacín	<i>Proteus</i>	Pudrición interna	<i>Alternaria</i> sp	Pudrición externa e interna
Frescuras del campo	Calabacín	<i>Proteus</i>	Pudrición interna	<i>Alternaria</i> sp	Pudrición externa e interna
				<i>Epicoccum nigrus</i> sp	Pudrición externa e interna con micelios
La esperanza	Rosas	<i>Proteus</i>	marchitez vascular en el tallo y caída de pétalos	—	—
Lechuga y vida	Lechuga	<i>Proteus</i>	clorosis, necrosis y marchitez vascular	<i>Alternaria</i> sp	Necrosis
				<i>Fusarium</i> sp	Clorosis, necrosis y marchitez vascular
Vivero la esperanza	Espinaca	<i>Proteus</i>	Clorosis	<i>Aspergillus</i> sp	Necrosis
Agrocalima	Calabacín	<i>Proteus</i>	Pudrición interna	<i>Fusarium</i> sp	pudrición, ruptura de tejidos
Casa Quinta Sendero de Dios	Lechuga	<i>Cedevecea</i>	Necrosis	<i>Fusarium</i> sp	clorosis, necrosis y marchitez vascular
Agros villanueva	Fresas	—	—	<i>Alternaria</i> sp	Pudrición y presencia de micelios
El Progreso	Tomate	—	—	<i>Aspergillus</i> sp	Necrosis y pudrición
El Cerezo	Espinaca	—	—	<i>Fusarium</i> sp	Clorosis y Necrosis
				<i>Aspergillus</i> sp	Necrosis
Agricoland	Espinaca	—	—	<i>Aspergillus</i> sp	Necrosis

DISCUSIÓN

Los agricultores de la sabana de Bogotá deben comprender que el agua proveniente del río o la que procede de pozos que reciben su influencia, no tiene la calidad requerida para garantizar la productividad de sus cosechas. Si bien, fue importante verificar si el agua llevaba patógenos de plantas, el hecho de encontrar patógenos humanos significa un grado bajo de inocuidad en los alimentos que se van a ofrecer para la venta y por supuesto, es una situación que puede influir a futuro para su comercialización.

La selección de la localización de las fincas se efectuó teniendo en cuenta trabajos preliminares del grupo CEPARIUM Pinzón (2012) y Rodríguez (2012) en donde ya se habían colectado muestras de agua del río Bogotá en la cuenca alta y algunas aguas de riego sin entrar a las fincas y sin hacer un estudio de los biosistemas en cada una de ellas. En estas muestras, se trató de establecer la presencia de microorganismos fitopatógenos y gracias a los aportes de estas investigaciones previas se siguieron las recomendaciones y se hizo una intervención en fincas de los municipios ubicados en la cuenca alta, con la participación de los agricultores.

El mayor problema en esta primera fase fue la dificultad de acceder a las fincas y a información válida y completa, pues el agricultor oculta información o la cambia ya sea por miedo o simplemente porque no le interesa evidenciar las problemáticas que tiene en su cultivo. Esta situación se reflejó en el muestreo, pues de 40 fincas que se habían planeado muestrear, solo se pudo acceder a 21 de ellas.

En los resultados se evidenció que con excepción del cultivo de guisantes, todos los cultivos estaban sufriendo alguna enfermedad confirmada por la presencia de bacterias, hongos y nemátodos del material vegetal que presentaba síntomas. El estudio no incluyó virus ni fitoplasmas por la dificultad para su comprobación por métodos convencionales.

En la finca Verdelifé, al momento de la toma de la muestra, el cultivo presentaba manchas oscuras en la periferia y algo de necrosis en un alto porcentaje de lechugas que finalmente llevó a una pérdida total de la producción. El cultivo era hidropónico, así que el medio contaminante fue el agua de riego y el patógeno reportado fue *Alternaria*. En el trabajo de Lardizábal se reporta *Alternaria* como la principal plaga y la más seria enfermedad en cultivos de lechuga ocasionando pérdida total, como lo muestra Lardizábal R. (2005); Blancard D, Lot H, & Maisonneuve B. (2005) también describen *Alternaria* como un hongo importante parásito de las hojas de lechuga difícil de controlar.

Las bacterias Gram negativas que se aislaron e identificaron en el agua de riego están reportadas como patógenas para el hombre, investigadores del grupo CEPARIUM (Pinzón, 2012 & Castaño 2012) ya habían reportado algunos de estos microorganismos bacterianos y micóticos: *Proteus*, *Epicoccum*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*. Las bacterias encontradas no han sido reportadas como fitopatógenas, pero algunas de ellas presentaron síntomas en el momento en que se realizaron las pruebas de fitopatogenicidad, *Enterobacter* sp., *Proteus* sp y *Cedevecea* sp, razón por la cual las investigadoras recomiendan hacer pruebas génicas y proteómicas para determinar si estos microorganismos tienen mecanismos de interacción planta – patógeno que puedan hacerlos patógenos para las plantas.

Si bien, el aire es considerado el mayor dispersor de microorganismos fitopatógenos, es importante para el caso concreto de los agricultores de nuestra región de la sabana de Bogotá, verificar la calidad del agua de riego utilizada para evitar dispersiones por esta vía pues ella ha sido reportada por Agrios y otros fitopatólogos (Agrios 2005 & Ciampi, 2002)

El agricultor puede pensar que los inóculos por estar en el agua no son importantes o son muy pequeños, pero en procesos de infección, una sola espora puede ser suficiente para que un hongo se instale y disemine, como lo demuestra Trigos, A. Ramírez, K. Salinas A. (2008); en el caso de las bacterias por ser una especie unicelular, el inóculo debe ser más abundante para sobrevivir e instalarse en un tejido vivo como lo señala Gonzales I, Arias, Y & Peteira, B. (2009)

Estos géneros están reportados en los resultados de varios trabajos de investigación realizados con aguas del río Bogotá, descritos como potencialmente peligrosos para la salud humana, animal y de las plantas, pues estos producen compuestos químicos fisiológicamente activos, como alcaloides y toxinas, *Alternaria* por ejemplo produce manchas foliares como lo menciona Malaguti, G. Subero, J. & Gómez, N. (1972), *Aspergillus* es causante de afecciones al hígado y pulmón como lo refiere Cárdenas, *Fusarium* como lo menciona Garcés (2001).

Con relación a la presencia de nemátodos, la cantidad encontrada fue muy baja, solo 11 de las 21 fincas presentaron morfología característica de estos organismos con la presencia de nematodos fitopatógenos en estadio larval. La baja carga presentada puede no ser significativa para la dispersión de la enfermedad a través del agua de riego. Será necesario hacer estudios posteriores para verificar este supuesto, posiblemente aumentando el volumen de muestra de agua, para que sea más representativo el recuento de nemátodos. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que el nematodo *Meloidogyne* fue encontrado como el más frecuente en la mayoría de los cultivos analizados y ocasiona graves daños económicos en los cultivos pues es formador de nódulos en raíces como lo cita Bent, E. Loffredo, A. Mckenry, MV. Becker JO & Borneman J. (2008).

Con relación a las pruebas de patogenicidad se verificó que algunos de los microorganismos aislados en este estudio eran patógenos para los cultivos en algunas de las fincas.

Los resultados obtenidos en las fincas fueron presentados a cada uno de los dueños a través de un informe técnico. En esta finca se encontró un elevado porcentaje de patógenos y gracias al sistema propuesto por el investigador, se logró disminuir el recuento microbiano en el agua.

Es necesario elaborar programas de sensibilización para los agricultores sobre educación ambiental para que inicien un proceso de cambio de hábitos, adopten el agua como el recurso indispensable para su sostenibilidad para minimizar pérdidas económicas y dar un uso más eficiente y responsable del agua.

CONCLUSIONES

1. El estudio permitió comprobar que el agua de riego es un dispersor de microorganismos fitopatógenos que puede infectar algunos de los cultivos en fincas de la Sabana de Bogotá ubicadas en la Cuenca Alta del río Bogotá.
2. Existe una relación entre algunos microorganismos fitopatógenos y las enfermedades que se presentan en algunos cultivos de hortalizas, frutales y ornamentales de las fincas ubicadas en la Cuenca alta del río Bogotá como se aclaran en los resultados de esta investigación.
3. El agua de riego de todas las fincas en estudio demostró tener una carga microbiana elevada, la cual puede representar un alto riesgo para la salud de animales y plantas ya que se correlacionan los síntomas de la enfermedad con la presencia de tales microorganismos y además puede ser bioindicadora en relación con la salud pública humana.
4. Es necesario implementar medidas de sensibilización a los agricultores sobre la problemática del agua de riego pues de ella dependen en buena medida la fitosanidad de sus cultivos y por supuesto de las pérdidas o ganancias de la producción. Las condiciones de riego favorecen el desarrollo de ciertas enfermedades o la fitosanidad en los cultivos, por lo cual los controles y prevención en ellos deben ser más intensos, para obtener un producto de calidad.
5. Los protocolos establecidos previamente por otros trabajos de investigación del grupo CEPARIUM permitieron mejorar la captura de microorganismos en agua y calidad de muestreos, demostrada en la carga microbiana obtenida en este estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrios, G. (2005). *Plant pathology*. (5^oEds.) Elsevier Academic Press.
- Blancard D, Lot H, & Maisonneuve B. (2005). *Enfermedades de las Lechugas*. Mundiprensa Libros S.A., (Volumen 1, pp. 110-123). Madrid, España.
- Bent, E. Loffredo, A. Mckenry, MV. Becker JO & Borneman J. (2008). Detection and Investigation of Soil Biological Activity against *Meloidogyne incognita*. *J. Nematol*, 40, (2), 109-118. Recuperado el día 22 de Marzo de 2012. De la base de datos NCBI.
- Castaño, J. & L. del Río. (1997). *Guía para el Diagnóstico y Control de Enfermedades en Cultivos de Importancia Económica*. (3^a Eds). Zamorano Academic Press, (pp. 290) Honduras.
- Ciampi R. (2002) *Introducción a la patología vegetal*. Universidad Austral de Chile. Nuova Firenze. Chile.
- Garcés E, Orozco M, Bautista G & Valencia H. (2001). *Fusarium oxysporum El hongo que nos falta conocer*. (Volumen. 6). Acta Biológica Colombiana. Bogotá, Colombia.
- Gonzales I, Arias, Y & Peteira, B. (2009). *Interacción planta-bacterias fitopatógenas:*

caso de estudio ralstonia solanacearum- plantas hospedantes. Revista de protección vegetal, 24, (2), 2224-4697. Recuperado el día 13 de febrero de 2012. De la base de datos Scielo. Cuba.

Lardizábal R. (2005). *Manual de procedimientos numero 1 lechuga*. Fintrac, INC. (pp. 1-15).

Malaguti, G. Subero, J. & Gómez, N. (1972). *Alternaria sesamicola en ajonjolí (Sesamun indicum)*. Agronomía Trpical, 22, (1), 75-80. Recuperado el día 13 de febrero de 2012. De la base de datos Sian, inian.gov. Ve. Caracas, Venezuela.

Marchand D. (2002). *Microorganismos indicadores de la calidad de agua de consumo humano en Lima Metropolitana*. Proyecto de grado. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

Pinzón E. (2012). *Elaboración de un protocolo para el aislamiento e identificación de bacterias fitopatógenas en aguas de riego de la sabana de Bogotá*. Informe final proyecto de grado. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Bogotá, Colombia.

Rawat, R, Ranjith, T. & Mutanda, F. (2011). *Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production*. Institute for Water and Wastewater Technology. (pp. 3411–3424). Durban University of Technology, Applied Energy South Africa.

Rodriguez L. (2012). *Elaboración de un protocolo para la identificación de nematodos fitopatógenos en aguas de riego de la sabana de Bogotá*. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca (pp. 18-37). Bogotá, Colombia.

Stangoulis, J. & Sison, c. (2009). *Protocolos de Muestreo en Cultivos para Análisis de Micronutrientes*. Serie de Monografías Técnicas. HarvestPlus.

Trigos, A. Ramírez, K. Salinas A. (2008). *Presencia de hongos fitopatógenos en frutas y hortalizas y su relación en la seguridad alimentaria*. Revista Mexicana de Micología, (volumen 28, pp. 125-129). México.