



TECNOLOGÍA *en marcha*

Contenido

Estudio preliminar del contenido polifenólico y capacidad antioxidante de la especie *Malus domestica* cultivada en Costa Rica

Preliminar study on poliphenolic contents and antioxidant capacity of *Malus domestica* cultivated in Costa Rica

Mirtha Navarro-Hoyos, Ileana Moreira-González, Elizabeth Arnáez-Serrano, Renato Murillo-Masís, William Rivera-Méndez, William Zamora-Ramírez, Ana Yury Saravia-Arguedas, Felipe Vargas-Huertas..... 3

Evaluación de rendimiento y calidad de tres genotipos de pepino tipo mini (*Cucumis sativus* L.) cultivados bajo invernadero en Costa Rica, durante la época seca

Evaluation of yield and quality of three genotypes of mini cucumber (*Cucumis sativus* L.) grown under greenhouse conditions in Costa Rica, during the dry season

Karla Chacón-Padilla, José Eladio Monge-Pérez..... 14

Evaluación in vitro de diez cepas de hongos nematófagos para el control de *Meloidogyne exigua*, *Meloidogyne incognita* y *Radopholus similis*

In vitro assessment of ten strains of nematophagous fungi to control *Meloidogyne exigua*, *Meloidogyne incognita* and *Radopholus similis*

Ingrid Varela-Benavides, Joaquín Durán-Mora, Tomás Guzmán-Hernández..... 27

Establecimiento de calogénesis somática en *plantago mayor* e identificación de compuestos con actividad biológica

Identification of biological-active compounds in somatic callus cultures in *plantago mayor*

Karol Jiménez-Quesada, Giovanni Garro-Monge 38

Impacto en el inventario de seguridad por la utilización de la desviación estándar de los errores de pronóstico Impact on safety stock due to the use of the standard deviation of forecast errors <i>Marco Arias-Vargas</i>	49
Enfermedades de Transmisión Sexual (ETS) y la Salud Sexual del Costarricense. Tema III. Hábitos sexuales y normativa legal. Sexually Transmitted Diseases (STDs) and Sexual Health Costarricense. Topic III. Sex habits and legal normative <i>William Gutiérrez-Sandí, Taciano Lemos-Pires, Aymara Arochena-Hernández</i>	55
Optimización de la fertilización orgánica e inorgánica del cacao (<i>Theobroma Cacao L.</i>) con la inclusión de Trichoderma endófito y Micorrizas arbusculares Optimization of organic and inorganic fertilization cocoa (<i>Theobroma cacao L.</i>) with the inclusion of Trichoderma endophyte and arbuscular mycorrhizae <i>Ángel Luis Tuesta-Pinedo, Erick Trigozo-Bartra, Jaime José Cayotopa-Torres, Enrique Arévalo-Gardini, Cesar Osvaldo Arévalo-Hernández, Luis Benigno Zúñiga-Cernadez, Betsabé Leon-Ttacca</i>	67
Desarrollo de un modelo de confiabilidad para el análisis del desempeño de puentes. Un caso de estudio en Costa Rica Development of a reliability model for performance analysis of bridges. A case study in Costa Rica <i>Federico Picado-Alvarado, Giannina Ortiz-Quesada</i>	79
Estudio de la dinámica de polinizadores del cultivo de cacao (<i>Theobroma cacao</i>) en tres sistemas de producción Study of the dynamics of cocoa (<i>Theobroma cacao</i>) pollinators in three production systems <i>Ricardo Salazar-Díaz, Virginia Torres-Coto</i>	90
Inventario de la calidad de fuentes de abastecimiento operadas por el Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados para el año 2015 Stock of drinking-water sources managed by Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados during 2015 <i>Jimena Orozco-Gutiérrez, Yuliana Solís-Castro</i>	101
Extracción y evaluación de los metabolitos secundarios de extractos etéreos del fruto <i>Syzygium cumini</i> (Jambol) Extraction and evaluation of the secondary metabolites of ether extracts of <i>Syzygium cumini</i> (Jambol) fruit <i>Oscar Ivan Camacho-Romero, Sandra Melgarejo-Gómez, Catalino De-la-Rosa-Torres</i>	113

Estudio preliminar del contenido polifenólico y capacidad antioxidante de la especie *Malus domestica* cultivada en Costa Rica

Preliminar study on polyphenolic contents and antioxidant capacity of *Malus domestica* cultivated in Costa Rica

Mirtha Navarro-Hoyos^{1*}, Ileana Moreira-González², Elizabeth Arnáez-Serrano², Renato Murillo-Masís¹, William Rivera-Méndez², William Zamora-Ramírez¹, Ana Yury Saravia-Arguedas³, Felipe Vargas-Huertas¹

Fecha de recepción: 28 de abril de 2016
Fecha de aprobación: 30 de setiembre de 2016

Navarro-Hoyos, M; Moreira-González, I; Arnáez-Serrano, E; Murillo-Masís, R; Rivera-Méndez, W; Zamora-Ramírez, W; Saravia-Arguedas, A; Vargas-Huertas, F. Estudio preliminar del contenido polifenólico y capacidad antioxidante de la especie *Malus domestica* cultivada en Costa Rica. *Tecnología en Marcha*. Vol. 30-1. Enero-Marzo 2017. Pág 3-13.

DOI: 10.18845/tm.v30i1.3060



1 Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica
2 Instituto Tecnológico de Costa Rica, Cartago, Costa Rica
3 Universidad Nacional de Costa Rica, Heredia, Costa Rica
* Correspondencia debe ser dirigida a: mnavarro@codeti.org

Palabras clave

Malus domestica; manzana; capacidad antioxidante; polifenoles; microorganismos; flavonoides; ácidos fenólicos; flavan-3-oles.

Resumen

Especies como la manzana de altura han sido sometidas en Costa Rica a un proceso de domesticación para adaptarlas a las condiciones climáticas de ese país y específicamente a las de la Zona de los Santos de Costa Rica. Este esfuerzo ha llevado a la obtención en la actualidad de productos que son bien aceptados en el mercado por su sabor, olor, facilidad de manipulación, entre otros. Con el avance del conocimiento biológico y químico, los estudios del contenido de polifenoles en este tipo de frutos se han incrementado, demostrando que estos poseen propiedades bioactivas, tal como su potencial antioxidante, siendo este conocimiento un factor importante en la creciente utilización de frutas y suplementos nutricionales con contenido polifenólico importante a nivel internacional y en la dieta de los costarricenses. De allí, que el presente trabajo se enfoca en realizar estudios en frutos de altura cultivados en Costa Rica, tanto desde el punto de vista de mejora agroecológica, así como de la determinación del contenido de polifenoles y su capacidad antioxidante. Se adquirieron frutos de dos variedades de la especie *Malus domestica*, a saber, manzana variedad Ana y Jonas, que fueron procesados en el laboratorio con el fin de ser utilizados para estas determinaciones. Además, se trabajó en la mejora de las condiciones agroecológicas para el cultivo con el uso de microorganismos de biocontrol contribuyendo a la protección de suelo. Esta publicación presenta información preliminar de estos estudios, dada su relevancia para el conocimiento científico con resultados que se publican por primera vez para esta especie económicamente importante cultivada en Costa Rica.

Keywords

Malus domestica; apple; polyphenols; antioxidant capacity; microorganisms; flavonoids; phenolic acids; flavan-3-ols.

Abstract

Species such as high altitude fruits, such as *Malus domestica* have been introduced in Costa Rica and adapted to its climatic conditions, being cultivated specifically in Los Santos region. These efforts have allowed to obtain fruits that are well accepted in the market because of their flavor, aroma and easiness of handling. On the other hand, the advancement of biologic and chemical techniques have enabled more detailed research on polyphenols –abundant in these fruits- because of their bioactive properties such as antioxidant potential. This scientific knowledge has in turn been an important factor in a higher consumption of fruits with high polyphenolic contents both fresh and in nutritional supplements. Hence, the present work focuses in the study of these high altitude fruits cultivated in Costa Rica, regarding agro-ecologic improvement as well as determination of polyphenolic contents and antioxidant capacity. Two cultivars of *Malus domestica* were acquired, namely Ana and Jonas, which were processed to carry out analyses. Also, work was performed in agro-ecologic conditions amelioration and biocontrol for soil protection. This publication includes preliminary data because of the relevance of the scientific results published for the first time for this economic important species cultivated in Costa Rica.

Introducción

Los estudios interdisciplinarios que permiten determinar las condiciones agroecológicas óptimas para el cultivo de especies, así como el contenido de los compuestos activos polifenólicos y de su bioactividad, tal como la antioxidante, son la premisa de donde parte este estudio sobre la especie *Malus domestica*, que pertenece a la familia Rosaceae y fue introducida en Costa Rica por productores de la zona de Los Santos, pertenecientes a la cooperativa FRUTALCOOP.

La comercialización de esta fruta se ha visto afectada por la carencia de posicionamiento en el mercado [1] debido a la competencia de productos importados. La conservación de germoplasma es de gran importancia cuando se caracteriza fitoquímicamente una especie o variedad, ya que la actividad agrícola que propicia cultivos mejorados productos de la selección, ha sufrido disminución de su base genética lo cual incrementa su vulnerabilidad a enfermedades e insectos propiciando así la erosión genética [2]. De ahí que los aspectos botánicos deben ser contemplados en cualquier investigación que propicie la conservación de germoplasma.

En efecto, los polifenoles han sido reconocidos como importantes principios activos, desde las primeras referencias a la “paradoja francesa” [3], en que numerosos estudios han mostrado el potencial saludable de estos compuestos, por ejemplo en relación a actividad antiinflamatoria, anticancerígena, neuroprotectora [4] [5] y antimicrobiana [6], [7], donde los flavan-3-oles y sus polímeros, las proantocianidinas, son potentes protectores del organismo contra especies reactivas de oxígeno [8], utilizándose como ingredientes funcionales en suplementos nutricionales [9].

Un estudio reciente realizado sobre el contenido polifenólico de especies costarricenses [10] ha mostrado diversidad en contenido de proantocianidinas, con unidades de catequina y epicatequina, así como propelargonidinas, con unidades de afzelequina y epiafzelequina, incluyendo dímeros, trímeros y oligómeros de hasta once unidades monoméricas; flavalignanos y ácidos fenólicos.

Estudios exploratorios han mostrado que la manzana posee un alto contenido de flavonoides, compuestos que previenen el estrés oxidativo y que poseen propiedades antiinflamatorias y antitumorales [11]; [12]. Por otro lado [13] ha descrito que los polifenoles extraídos de frutas inmaduras de manzana poseen actividades antialérgicas en ensayos in vitro.

En cuanto a compuestos fenólicos obtenidos en *Malus domestica*, incluyendo hojas [14] y frutos [15], se han reportado ácidos coumaroil quínicos [16], rutina y fenilpropanoides [17]; glicósidos de quercetina y ramnetina, procianidina B2 y floridzina [18]. Por otro lado, se ha reportado capacidad antioxidante [19]; [20]; [11] en frutos de manzana, correlacionada con el contenido fenólico; habiéndose descrito asimismo propiedades antiinflamatorias, demostrando que un extracto condensado de taninos preparado a partir de manzanas, inhibe la liberación de histamina en línea celular murina de leucemia RBL-2H3 [13].

En el presente estudio se presentan resultados preliminares del trabajo agroecológico y de biocontrol para protección del suelo, así como de la caracterización de los compuestos polifenólicos de cáscara y pulpa de la especie y la valoración del potencial antioxidante de los extractos obtenidos de los frutos de manzana (*Malus domestica*) de tres diferentes muestras compuestas de dos variedades, Ana y Jonas, cultivadas en la zona de Los Santos.

Materiales y Métodos

El trabajo se llevó a cabo de agosto 2014 a marzo 2016, con la especie *Malus domestica* cultivada por productores de la cooperativa FRUTALCOOP en Copey de Dota, en la zona de Los Santos, San José.

Componente 1. Manejo agro-ecológico y biocontrol

Se localizaron junto con los productores de la zona de Copey de Dota y San Marcos de Tarrazú los árboles de las variedades de manzana (*Malus* sp) Jonas y Ana más productivos. Se georreferenciaron y se colectó una muestra de la primera variedad y dos muestras de la segunda, correspondiendo a la variedad más comercializada en el país. Cada una de estas muestras se depositó en el Herbario del Museo Nacional de Costa Rica, con su respectiva descripción botánica.

Se hizo un muestreo de suelos para determinar la composición física y química de los mismos, usando el método de cuarteo de muestras compuestas de 20 sitios donde están estos cultivos. Por otro lado, se hizo un análisis de la biodiversidad de microorganismos presentes en los cultivos, para lo cual se obtuvieron muestras de los árboles de manzana (tallo, ramas y hojas) y de algunos insectos (*Phyllophaga* sp) asociados al sistema radical. Las mismas fueron trasladadas al laboratorio del CIB (Centro de Investigaciones en Biotecnología del ITCR) para la búsqueda de microorganismos antagonistas o entomopatógenos propios del lugar. Se utilizaron medios enriquecidos para los procesos de aislamiento de algunos organismos deseables. Las cepas fueron identificadas y se conservan en el laboratorio. Se ofreció a los productores un curso-taller sobre Biofábricas en la zona donde se realizó este estudio.

Componente 2. Contenido polifenólico y actividad antioxidante

Se adquirieron 5 Kg de frutos frescos -listos para su comercialización- de *Malus domestica* de la variedad Jonas así como de la variedad Ana, en este último caso de dos localizaciones, ambas de productores de la cooperativa FRUTALCOOP en San Marcos de Tarrazú. El material se preservó en la Escuela de Química de la Universidad de Costa Rica, a -5°C hasta ser procesado, separándose en pulpa y cáscara, para luego someterse a un proceso de liofilización en un liofilizador *FreeZone* -105°C, 4.5 L, *Cascade Benchtop Freeze Dry System*, de Labconco. El material liofilizado fue luego nuevamente preservado a -5°C.

El material liofilizado se sometió a extracción bajo un método que se optimizó con análisis factorial en un instrumento de extracción acelerada por solvente (ASE) marca *Thermo Scientific™ Dionex™ ASE™ 150 Accelerated Solvent Extractor system*, usando acetona:agua como solvente en celdas de 34 mL a 40°C. La acetona fue removida utilizando un rotavapor Buchi™ 215 y el extracto acuoso obtenido fue lavado con CHCl_3 y acetato de etilo consecutivamente. Luego, los solventes orgánicos fueron removidos con el rotavapor Buchi™ 215 y el extracto acuoso fue conservado a -5°C para posterior purificación.

Cada uno de los extractos acuosos fue sometido a separación en una columna conteniendo Amberlite XAD-7 (Sigma-Aldrich), utilizando gradientes de solventes: agua, agua: metanol, metanol en diferentes relaciones, y metanol (2% ácido acético) sucesivamente. Las fracciones recolectadas fueron evaporadas a sequedad en un rotavapor Buchi™ 215.

Análisis de polifenoles totales

Las muestras fueron evaluadas según una modificación propia del método de Singleton y Rossi [21], el cual se basa en la oxidación de los grupos hidroxilo en medio básico por el reactivo de *Folin-Ciocalteu* (FC), en el que la absorbancia es medida a 750 nm en un espectrofotómetro *UV-Vis Thermo Scientific™ GENESYS 10S*. Para la cuantificación, los valores de absorbancia fueron extrapolados en una curva de calibración de ácido gálico y los valores de FC fueron expresados en mg de ácido gálico equivalentes (GAE) / g muestra. Los análisis fueron realizados en triplicado.

Análisis de polifenoles por HPLC-MS

El sistema de cromatografía líquida (HPLC) y espectrometría de masas (MS) usado para analizar las muestras de *Malus domestica* variedad Ana, consistió en un LTQ Orbitrap XL con una bomba binaria Accela 1250, un automuestreador PAL HTC Accela TMO, un detector PDA (*ThermoFisher Scientific, San Jose, CA*), y un compartimiento de columna G1316A (*Agilent, Palo Alto, CA*). La separación fue llevada a cabo en una columna Hypersil Gold AQ RP- C18 UHPLC (200 mm x 2.1 mm i.d., 1.9 μm , *ThermoFisher Scientific*) con una pre-columna UltraShield (*Analytical Scientific Instruments, Richmond, CA*) con un flujo de 0.3 mL/min. La fase móvil consistía de A (0.1% ácido fórmico en agua, v/v) y B (0.1% ácido fórmico en acetonitrilo, v/v). El gradiente lineal cambió de 4% a 20% B (v/v) a 40 min, hasta 35% B a 70 min y a 100% B a 71 min, y se conservó a 100% B hasta 75 min. El espectro UV/Vis fue registrado entre 200-700 nm. Se utilizó modo de ionización negativo y las condiciones fueron gas a 70 (unidades arbitrarias), auxiliar y gas de barrido a 15 (unidades arbitrarias), voltaje spray a 4.8 kV, temperatura capilar a 300 °C, voltaje capilar a 15 V, y de lente de tubo a 70 V. El rango de masas fue de 100 a 2000 amu con una resolución de 30,000, FTMS AGC target a 2e5, FT- MS/MS AGC target a 1e5, aislamiento de 1.5 amu, y máximo tiempo de inyección de 500 ms. El ion más intenso fue seleccionado para los iones de ms^2 a ms^5 respectivamente, con una energía normalizada de colisión a 35%.

Análisis de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Los análisis para obtener los espectros de ^{13}C - RMN fueron realizados en un instrumento Bruker Ascend 400 MHz, utilizando como solvente deuterado para la disolución de las muestras $\text{CD}_3\text{OD}:\text{CF}_3\text{COOD}$ (5%).

Evaluación de la capacidad antioxidante

El método ORAC (Oxygen-Radical Absorbance Capacity) se basa en las propiedades fluorescentes de la fluoresceína (FL) en soluciones alcalinas y la medición de la capacidad de absorción de radicales oxígeno. La reacción se llevó a cabo a 37 °C en una solución tampón de fosfato 75mM (PBS). El compuesto antioxidante (Trolox [1-8 μM] utilizado para la recta de calibrado o el extracto antioxidante en diferentes concentraciones) junto con la fluoresceína se pre-incubó durante 10 min a 37 °C. A continuación, se adiciona AAPH (2,2'-Azobis (2-Amidino-Propano) Dihidroclorado) y se incubó a 37 °C, midiendo la fluorescencia durante 98 minutos, empleando un lector de placas con filtros de emisión y excitación. La medida de fluorescencia del equipo se controla mediante software. Las placas utilizadas son microplacas negras de 96 pocillos. Todas las mezclas de reacción se prepararon por duplicado y se llevaron a cabo por lo menos 3 ensayos independientes para cada muestra. Las curvas de fluorescencia se normalizan con respecto a la curva del blanco (sin antioxidante) y a partir de las curvas normalizadas se calcula el área bajo la curva (área bajo la curva, AUC). Una vez obtenida el área neta se calcula la ecuación de regresión entre el AUCneta y la concentración de antioxidante. La pendiente de la ecuación se utiliza para calcular el valor de ORACFL mediante la recta patrón obtenida a partir del Trolox (análogo hidrosoluble de la vitamina E). Los valores finales de ORAC se expresan en μmol de Trolox equivalentes (TE) por mg de muestra utilizada para la obtención del extracto.

Componente 3 Capacitación y divulgación

Como los resultados de estos estudios pueden añadir un valor agregado a los productores, se ofrecieron capacitaciones para socializar los nuevos conceptos técnicos y se les dio acompañamiento para la divulgación de sus productos con el fortalecimiento del análisis de los datos encontrados en cada componente y en apoyo al proceso de comercialización de

la manzana. Se realizaron talleres de realimentación con la cooperativa FRUTALCOOP y se organizó un programa radial y uno televisivo.

Resultados y Discusión

Componente 1. Manejo agro-ecológico y biocontrol

a) Árboles georeferenciados:

En el cuadro 1 se muestran las georreferencias de los árboles donde se colectó las muestras para los análisis de laboratorio.

Cuadro 1. Georreferencias de árboles de manzana (*Malus domestica*) ubicados en la Zona de los Santos.

Variedad	Georreferencia		
ANA (F)	N 09° 36' 54.2	W 083° 59' 27.3	3m
ANA (C)	N 09°40'16.01	W 083° 54' 12.81	0m
JONAS	N 09° 36' 54.2	W 083° 59' 27.3	3m

b) Estado del suelo:

Los rangos de concentraciones obtenidas de los principales parámetros físicos y químicos analizados en las muestras de suelos de cultivos de manzana recolectados, se presentan en el cuadro 2.

Cuadro 2. Resultados de análisis de suelos estudiados

Parámetro	Rango	
Densidad aparente	0,50 – 0,72	g cm ⁻³
Densidad de partícula	2,38 – 2,60	g cm ⁻³
Porosidad	70,30 – 80,00	%
Espacio aéreo	0,48 – 0,64	%
Densidad volumétrica	11,48 – 16,20	%
Conductividad eléctrica	472 - 655	µs cm ⁻¹
pH	5,36 - 5,64	
Ca	33,83 - 160,4	cmol L ⁻¹
Mg	2,2 - 4,5	cmol L ⁻¹
K	1,26 - 1,96	cmol L ⁻¹
Acidez	0,30 - 0,45	cmol L ⁻¹
P	5,5 - 8,4	mg L ⁻¹
Fe	46 - 79	mg L ⁻¹
Cu	2,8 - 5	mg L ⁻¹
Zn	4,8 - 11,6	mg L ⁻¹
Mn	28,3 - 40,8	mg L ⁻¹
MO	7,90 -10,85	%

De acuerdo con los resultados obtenidos (cuadro 2), es de reconocer preliminarmente que se trata de suelos un poco ácidos con muy buena porosidad y densidad, así como una aireación también óptima. El contenido de materia orgánica es óptimo, lo cual aporta al proceso de determinación de microorganismos de suelo. Los resultados obtenidos de textura mostraron valores de arena, arcilla y limo de aproximadamente 69,19 %, 6,70 % y 24,14 % respectivamente, lo que indica que estos suelos corresponden al tipo franco arenoso.

Es importante indicar que las concentraciones de calcio (Ca) y de magnesio (Mg) en los suelos, son de las características de fertilidad de mayor importancia para la nutrición de los cultivos y los rangos obtenidos de ambos macronutrientes son óptimos para este cultivo. Con respecto al manganeso (Mn), este es indispensable en el fotosistema y la activación de enzimas en el metabolismo vegetal, así como el hierro (Fe) y el cinc (Zn), los cuales ayudan en la nutrición de las plantas.

Las concentraciones encontradas de estos micronutrientes en las muestras analizadas mostraron valores dentro del rango óptimo, 28,3 - 40,8 mg L⁻¹, 46 - 79 mg L⁻¹, 4,8 - 11,6 mg L⁻¹ respectivamente, es decir son suficientes para suplir las necesidades nutricionales de las plantas.

Por otro lado, se encontró que estos suelos presentan deficiencias en la concentración de fósforo, encontrada, pues los valores de los resultados obtenidos son inferiores al nivel crítico, que es de 12 mg L⁻¹ por lo que se considera que es deficiente o bajo. Debido a que el contenido de fósforo ayuda en la formación de los órganos reproductores como los frutos, su contenido debe ser suficiente, por lo que se ha retroalimentado al respecto con los productores para que se tomen las medidas correctivas en cuanto a la disponibilidad de este micronutriente.

c) *Microorganismos*

Para el análisis de las muestras colectadas se utilizaron medios enriquecidos para los procesos de aislamiento de algunos organismos deseables, como hongos de los géneros *Trichoderma*, *Metarhizium*, *Beauveria* y bacterias como *Bacillus*; lográndose aislamientos de los géneros *Trichoderma* a partir de las muestras suelo, y *Metarhizium* a partir de las muestras de hojas y ramas. Además de uno de los insectos se aisló una cepa de *Bacillus thuringiensis*. Las cepas fueron identificadas y conservadas en el laboratorio.

Una vez purificados y conservados los aislamientos se dio inicio a las pruebas de eficacia, antagonismo y patogenicidad. Con esto se seleccionaron los microorganismos más promisorios para su reproducción y cultivo. En efecto, para cada uno de ellos se probó una técnica de reproducción en el laboratorio, buscando la reproducción masiva de microorganismos, a través de una metodología que fuera cien por ciento reproducible (semi-artesanal) por parte de los productores de Frutalcoop.

La escogencia del sustrato adecuado, las cantidades apropiadas y el tipo de fermentación que produjeran el mayor número de esporas o de células, permitieron determinar que la mejor fermentación era la de carácter sólido para tres de los microorganismos y líquida en el caso de *Bacillus* spp, obteniéndose un mínimo de esporas o células esperadas de 1.0 x 10⁷ conidios/g.

Por otro lado, en el caso de *Bacillus* spp, las conclusiones obtenidas para la fermentación de tipo líquido, fueron la utilización de un medio compuesto, de fórmula (g/l): NaNO₃ 15; Sacarosa 60; CaNO₃ 10; K₂HPO₄, 5; Melaza, 20; pH: 6; lográndose condiciones óptimas esterilizando, debiéndose inocular a una temperatura no mayor de 30° C con un disco de 6mm de diámetro del medio de cultivo agar nutritivo totalmente cubierto por la bacteria; incubándose en agitación; para obtener de esta forma, un mínimo de esporas o células esperadas de 1.0 X 10⁸ U.F.C/mL.

Los organismos aislados demuestran como las comunidades de microorganismos se adaptan para buscar la regulación de poblaciones de patógenos y plagas dentro de sistemas agrícolas

con enfoque de manejo integrado y de prácticas sostenibles de cultivo. Además, el aislamiento y el cultivo de los mismos permiten que los productores entiendan y aprovechen el potencial que tiene la biodiversidad que puede encontrarse asociada a los ecosistemas productivos como una herramienta para generar valor agregado a sus productos a través de la conservación y el combate biológico.

Componente 2. Contenido Polifenólico y Capacidad antioxidante

Según se describió en la metodología, se procedió a realizar la liofilización de las muestras de cáscara y pulpa de las manzanas Ana (C), Jonas y Ana (F), obteniéndose para la primera porcentajes de humedad entre 85 y 89.3 %, es decir valores de rendimientos entre 10.7 y 15 % para las muestras; mientras que los porcentajes de humedad para la variedad Jonas variaron entre 81.7% y 85.6%, es decir los rendimientos mostraron rangos entre 14.4% y 18.3%; por último los porcentajes de humedad variaron entre 79% y 85.3% para la variedad Ana (F); para mejores rendimientos promedio de las tres variedades, entre 14.7% y 21%.

Con las muestras liofilizadas, se procedió a realizar la extracción, empleando Extracción Acelerada por Solvente (ASE), con solventes orgánicos y acuosos, empleando condiciones definidas de presión y temperatura, y ciclos de extracción, como se ha explicado. Las muestras liofilizadas obtenidas se purificaron a través de la aplicación de la metodología descrita, con columnas cromatográficas de resina Amberlite XAD-7, que permitieron la obtención de extractos enriquecidos en polifenoles, con rendimientos que variaron entre 10.7 y 29.4 mg de extracto/g liofilizado para la variedad Ana (C); entre 14.5 y 26.1 mg extracto/g liofilizado en el caso de la variedad Jonas; y entre 23.9 y 64.4 mg extracto/g liofilizado para la variedad Ana (F), es decir valores superiores para esta última con respecto a los de las otras variedades.

En cuanto al contenido polifenólico de los extractos, se realizó la aplicación del método de Folin-Ciocalteu, para determinar la cantidad total de polifenoles presentes en los mismos, realizándose estas valoraciones por triplicado, obteniendo valores de desviación estándar adecuados. Se obtuvieron valores promedio que oscilan entre los 579.0 ± 20.9 GAE / g extracto y 619.6 ± 19.6 GAE/ g extracto seco para la variedad Ana (C). Asimismo, la evaluación del contenido total polifenólico para las otras variedades, mostró valores promedio entre los 361.0 ± 7.1 GAE / g extracto y 436.5 ± 6.7 GAE/ g extracto seco, en el caso de la variedad Jonas; mientras que se obtuvieron valores promedio entre los 468.0 ± 4.8 GAE / g extracto y 614.0 ± 4.4 GAE/ g extracto para la variedad Ana (F); observándose mayor contenido total de polifenoles para la variedad Ana.

En lo que respecta a la caracterización de los polifenoles, se logró por UHPLC-HRMS, bajo las condiciones descritas en la metodología, la identificación de 28 compuestos en la cáscara de la manzana variedad Ana (C), de mayor contenido polifenólico, incluyendo nueve flavan-3-oles, entre ellos catequina, epicatequina, dímeros y trímeros y tetrámeros de procianidinas tipo B; tres ácidos, incluyendo derivados de hidroxicinámico y cumárico; ocho flavonoides, incluyendo glicósidos derivados de quercetina, miricetina y kaempferol, así como tres chalconas, incluyendo derivados de fletetina. En cuanto a la pulpa, se encontró un número similar de compuestos, pero de forma distintiva un mayor número y diversidad de flavan-3-oles, incluyendo tres dímeros de procianidina de tipo B, tres trímeros de tipo B y dos dímeros de procianidina de tipo A y derivados de la dihidrochalcona fletetina.

El análisis de ^{13}C -RMN muestra en la región de 175-180 ppm los C=O de las flavonas (como la quercetina y derivados glicosilados), mientras que en la región 160-165 ppm se aprecian los enlaces C-OH del anillo A (carbonos C5 y C7). Estos mismos carbonos en los flavan-3-oles (como catequina, epicatequina y polímeros de procianidina) aparecen en 155-160 ppm, junto a los C2 y C9 de las flavonas. Para flavonas y flavan-3-oles en la zona 143-152 ppm se ubican los

C-OH del anillo C (carbonos C3' y C4'), en 130-135 los C1', en 114-122 los carbonos C2', C5' y C6', en 100-105 ppm los C10. En la región 90-100 ppm se observan los C6 y C8 de las flavonas y flavan-3-oles, así como los carbonos anoméricos de los glicósidos presentes. Asimismo, se aprecian gran cantidad de señales en 65-80 ppm correspondientes con los C-OH de los glicósidos, y un grupo más reducido de señales en aproximadamente 63 ppm que coincide con el CH₂OH de los glicósidos; apreciándose una mayor cantidad e intensidad en las señales de stos últimos en la muestra de cáscara. También son observables señales características del floreto y sus derivados, tal como a 206 ppm la señal de C=O, a 47 ppm la del carbono α y en 30-32 ppm señales que se asocian al carbono β . Finalmente, se observan señales de ácidos hidroxicinámicos tal como la de C1 a 128 ppm, y de ácidos coumáricos tal como las señales a 135-137 ppm del C4.

Por último, se procedió a realizar la evaluación del potencial antioxidante in-vitro por el método ORAC, según lo descrito en la metodología. De esta forma, una vez realizadas las mediciones por triplicado, con el área bajo la curva y la ecuación de regresión, se obtuvieron valores de capacidad antioxidante entre 11.2 ± 0.1 $\mu\text{mol TE/mg extracto}$ y 16.8 ± 0.3 $\mu\text{mol TE/mg extracto}$ para las muestras de *Malus domestica* variedad Ana (C), como se aprecia, con valores de desviación estándar adecuados. Esta evaluación de potencial antioxidante realizada con los extractos de la variedad Jonas mostró valores que oscilan entre 7.6 ± 0.1 $\mu\text{mol TE/mg extracto}$ y 10.2 ± 0.2 $\mu\text{mol TE/mg extracto}$; mientras que en el caso de los extractos de la variedad Ana (F), los valores de potencial antioxidante tuvieron un rango entre 10.3 ± 0.2 $\mu\text{mol TE/mg extracto}$ y 10.6 ± 0.3 $\mu\text{mol TE/mg extracto}$; pudiéndose observar así mejores valores para la variedad Ana (C), lo que es acorde con la cuantificación de fenoles totales en las muestras.

Componente 3. Capacitación y divulgación

Las capacitaciones impartidas consistieron en talleres con la información técnica de los análisis que se llevaron a cabo en los laboratorios de cada universidad, en el tema de polifenoles (alcances internacionales de estos contenidos), análisis de suelos y determinación de microorganismos. Se trabajó en conjunto con los miembros de la cooperativa en el diseño de banners y etiquetas para que se utilicen en los puestos de venta en las Ferias del Agricultor y en los frutos dentro de empaques, caracterizando el producto para fortalecer el encadenamiento productivo.

Se realizó asimismo la transferencia de información y tecnología por parte del Laboratorio de Control Biológico del TEC, en el diseño de biofábricas, a los productores de la zona de Copey de Dota, incluyendo el aislamiento, crecimiento y aplicación de microorganismos al suelo para disminuir los costos en el uso de agroquímicos; preparación de inóculos, matrices y bolsas de reproducción, condiciones adecuadas para la incubación y adecuadas para la conservación de producto final, así como la aplicación segura y eficaz de bioproductos en campo. Por último, se capacitó sobre la infección de insectos para revitalizar hongos entomopatógenos, pruebas de antagonismo y revitalización de hongos antagonistas, así como en materiales, reactivos, e insumos para la biofábrica.

Cabe destacar que se ha logrado complementariedad con la Dirección de Programas Nacionales del MAG, con el INTA e INDER, con el fin de coordinar acciones con los productores, y que dada la relevancia de los resultados y la temática en el ámbito nacional, se dieron eventos de divulgación, como la grabación en el programa radial Costa Rica Campesina de Radio Monumental en agosto del 2015, donde participaron investigadores y el presidente de FRUTALCOOP, así como una entrevista en noviembre del 2015 en el programa radial denominado Impacto TEC; y una grabación en el programa ConCiencia de Canal 15 en Febrero del 2016.

Lo anterior evidencia la vinculación de la universidad pública con diferentes organizaciones, lo que le permite ser facilitadora en el desarrollo y quehacer nacional.

Conclusiones

En la presente investigación se desarrollaron estudios del contenido polifenólico en tres muestras compuestas de dos variedades de la especie *Malus domestica*, cultivadas en la zona de Los Santos, en Costa Rica, por su importancia económica para los productores de la región. Se cuenta con productores capacitados en el manejo agroecológico de las especies no solo con agricultura tradicional sino con la obtención y aplicación de microorganismos como agentes de biocontrol para disminuir el consumo de agroquímicos. Asimismo, se lograron obtener extractos enriquecidos en polifenoles, de las cáscaras y pulpas de las variedades estudiadas, y evaluar su contenido polifenólico total, así como su capacidad antioxidante, lo que mostró valores importantes para todas las variedades, comparativamente con mejores resultados para la variedad Ana (C). Cabiendo sin embargo remarcar que los rendimientos del extracto polifenólico, luego de los procesos de liofilización, extracción y cromatografía, son mejores para la variedad Ana (F). Los resultados de cromatografía líquida y espectrometría de masa, apoyados por los análisis de RMN, indican variabilidad de contenido, con riqueza en oligómeros de flavan-3-oles, reconocidos por su potencial bioactivo, lo que muestra la importancia de este conocimiento científico y su transferencia a los productores, como contribución al posicionamiento de sus cultivos y su desarrollo sostenible.

Agradecimientos

Se agradece al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT), a través de su Fondo FORINVES, del gobierno de Costa Rica, por el financiamiento para el presente trabajo de investigación e innovación. Asimismo, se agradece la colaboración del Laboratorio de Investigación en Nutrición del USDA, en análisis de espectrometría de masas. Por último, se agradece la colaboración del Lic. Alonso Quesada en la asignación de *vouchers* en el Herbario Nacional, así como a la Universidad de Costa Rica, al Instituto Tecnológico de Costa Rica, la Universidad Nacional de Costa Rica, y a los productores de la Cooperativa FRUTALCOOP, por el acceso a sus cultivos y la colaboración hacia el desarrollo sostenible de la región.

Bibliografía

- [1] C. Rodríguez, «Antecedentes de la producción de ciruela (*Prunus domestica*, *Prunus cerasifera*) y manzana var. ana (*Malus domestica*) en la zona de Los Santos. FrutalCoop SRL. Copey de Dota, Costa Rica,» San José, 2014.
- [2] M. y M. C. C. I. Lobo Arias, «Conservación de recursos genéticos de la agrobiodiversidad como apoyo al desarrollo de sistemas de producción sostenibles.» *Revista Corpoica-Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, vol. 10, n° 1, pp. 33-42, 2009.
- [3] S. Renaud y M. De Lorgeril, « Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease.» *Lancet*, vol. 339, pp. 1523-1526, 1992.
- [4] M. Leopoldini, N. Russo y M. Toscano, «The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants.» *Food Science*, vol. doi:10.1016/j.foodchem.2010.08.012, 2010.
- [5] M. E., C. Kandaswami y T. Theoharides, «The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer.» *Pharm. Rev.* , vol. 52, p. 673-839, 2000.
- [6] T. Requena, M. Monagas, M. Pozo-Bayón, P. Martín-Álvarez, B. Bartolomé, R. Del Campo, M. Ávila, M. Martínez-Cuesta, C. Peláez y M. Moreno, «Perspectives of the potential implications of wine polyphenols on human oral and gut microbiota.» *Trends in Food Science & Technology*, vol. 21, pp. 332-344, 2010.

- [7] X. Tzounis, J. Vulevic, G. Kuhnle, T. George, J. Leonczak, G. Gibson, C. Kwik-Urbe y J. Spencer, «Flavonolmonomer-induced changes to the human faecal microflora.,» *British Journal of Nutrition*, vol. 99, pp. 782-792., 2008.
- [8] A. Tapas, D. Sakarkar y R. Kakde, «Flavonoids as Nutraceuticals: A Review.,» *Trop. J. of Pharm. Res.*, vol. 7, n° 3, pp. 1089-1099, 2008.
- [9] R. De la Iglesia, F. Milagro, J. Campión, N. Boqué y A. Martínez, «Healthy properties of proanthocyanidins.,» *BioFactors*, vol. 36, n° 3, pp. 159-168, 2010.
- [10] M. Navarro Hoyos, F. Sánchez-Patán, R. Murillo Masis, P. Martín-Álvarez, W. Zamora Ramirez, M. Monagas y B. Bartolomé, «Phenolic Assesment of Uncaria tomentosa L. (Cat's Claw): Leaves, Stem, Bark and Wood Extracts.,» *Molecules*, 20, 22703-2271, vol. 20, pp. 22703-22717, 2015.
- [11] T. Kahlon y G. Smith, « In vitro binding of bile acids by blueberries (*Vaccinium* spp.), plums (*Prunus* spp.), prunes (*Prunus* spp.), strawberries (*Fragaria X ananassa*), cherries (*Malpighia punicifolia*), cranberries (*Vaccinium macrocarpon*) and apples (*Malus sylvestris*).,» *Food Chemistry*, vol. 100, pp. 1182-1187, 2007.
- [12] E. De la Cruz, J. Pino, M. Moreno, M. Cañadas y J. Ruiz-Risueño, «Micronutrientes antioxidantes y actividad física: evidencias de las necesidades de ingesta a partir de las nuevas tecnologías de evaluación y estudio del estrés oxidativo en el deporte,» *Retos: Nuevas tendencias en Educación Física, Deporte y Recreación.*, vol. 13, pp. 11-14, 2008.
- [13] T. Kanda, H. Akiyama, A. Yanagida, M. Tanabe, Y. Goda, M. Toyoda, R. Teshima y Y. Saito, « Inhibitory Effects of Apple Polyphenol on Induced Histamine Release from RBL-2H3 Cells and Rat Mast Cells. Biosci.,» *Biotechnol. Biochem*, vol. 62, n° 7, pp. 1284-1289, 1998.
- [14] W. S. K. D. K. V. B. S. Mayanka, (2012) Chemical Composition and in vitro Cytotoxic Activity of Essential Oil of Leaves of *Malus domestica* Growing in Western Himalaya (India)., India: Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Article ID 649727, 6 p., 2012.
- [15] M. B. U. Stopar, A. Vanzo y U. Vrhovsek, «Lower Crop Load for Cv. Jonagold Apples (*Malus domestica* Borkh.) Increases Polyphenol Content and Fruit Quality.,» *J. Agric. Food Chem.*, vol. 50, pp. 1643-1646., 2002.
- [16] M. Hossain, S. Salehuddin, M. Kabir, S. Rahman y H. Vasantha, «Sinensetin, rutin, 30-hydroxy-5, 6, 7, 40-tetramethoxyflavone and rosmarinic acid contents and antioxidative effect of the skin of apple fruit,» *Food Chemistry*, vol. 113, pp. 185-190, 2009.
- [17] A. Schieber, P. Keller, P. Streker, I. Klaiber y R. Carle, «Detection of Isorhamnetin Glycosides in Extracts of Apples (*Malus domestica* cv. "Brettacher") by HPLC-PDA and HPLC-APCI MS/MS.,» *Phytochem. Anal.*, vol. 13, pp. 87-94, 2002.
- [18] E. Weichselbaum, L. Wyness y S. Stanner, «Apple polyphenols and cardiovascular disease – a review of the evidence.,» *Nutrition Bulletin*, vol. 35, pp. 92-101, 2010.
- [19] M. G. S. Leontowicz, H. Leontowicz, R. Krzeminski, A. Lojex, E. Katrich, M. Ciz, O. Martin-Belloso, H. R. Soliva-Fortuny y S. Trakhtenberg, «Apple and Pear Peel and Pulp and Their Influence on Plasma Lipids and Antioxidant Potentials in Rats Fed Cholesterol-Containing Diets,» *J. Agric. Food Chem.*, vol. 51, pp. 5780-5785, 2003.
- [20] S. Fiskaa, G. Borge, G. Bengtsson, W. Bilger, A. Berge, K. Haffner y K. Solhaug, «Phenolic contents and other health and sensory related properties of apple fruit (*Malus domestica* Borkh, cv. Aroma): Effect of postharvest UV-B irradiation.,» *Postharvest Biology and Technology*, vol. 45, pp. 1-10, 2007.
- [21] R. J. Singleton VL, «Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdicphosphotungstic acid reagent.,» *Am J Enol Vitic.*, vol. 16, pp. 144-158, 1965.

Evaluación de rendimiento y calidad de tres genotipos de pepino tipo mini (*Cucumis sativus* L.) cultivados bajo invernadero en Costa Rica, durante la época seca*

Evaluation of yield and quality of three genotypes of mini cucumber (*Cucumis sativus* L.) grown under greenhouse conditions in Costa Rica, during the dry season

Karla Chacón-Padilla¹, José Eladio Monge-Pérez²

Fecha de recepción: 25 de abril de 2016
Fecha de aprobación: 18 de julio de 2016

Chacón-Padilla, K; Monge-Pérez, J. Evaluación de rendimiento y calidad de tres genotipos de pepino tipo mini (*Cucumis sativus* L.) cultivados bajo invernadero en Costa Rica, durante la época seca. *Tecnología en Marcha*. Vol. 30-1. Enero-Marzo 2017. Pág 14-26.

DOI: 10.18845/tm.v30i1.3061

* Este trabajo forma parte de la tesis de licenciatura en Agronomía de la primera autora, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Santa Clara, San Carlos, Costa Rica.

1 Costarricense, ingeniera agrónoma. Correo electrónico: kchpadilla@hotmail.com. Investigadora Independiente. Desamparados, Costa Rica.

2 Costarricense, ingeniero agrónomo. Correo electrónico: melonescr@yahoo.com.mx. Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit Moreno y Sede de Guanacaste, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.



Palabras clave

Cucumis sativus; pepino tipo mini; rendimiento; calidad; partenocárpico; invernadero; genotipos.

Resumen

Se realizó una evaluación de rendimiento y calidad de tres genotipos de pepino partenocárpico tipo mini cultivados bajo condiciones de invernadero. La cosecha inició a los 31 días después del trasplante para los tres genotipos. Los datos muestran una amplia variabilidad entre genotipos en cuanto a longitud del fruto (17,83 – 18,41 cm), diámetro del fruto (42,68 – 43,81 mm), número total de frutos por planta (33,81 – 41,35), peso promedio del fruto (224,24 – 239,71 g), rendimiento por planta (7717,07 – 9720,08 g/planta), rendimiento comercial (15,63 – 21,13 kg/m²), rendimiento total (20,05 – 25,25 kg/m²), y porcentaje de sólidos solubles totales (2,97 – 3,10 °Brix). El genotipo Katrina obtuvo el mayor rendimiento comercial (21,13 kg/m²) y de primera calidad (15,73 kg/m²).

Abstract

Yield and quality of three parthenocarpic mini cucumber genotypes grown under greenhouse conditions were evaluated. The harvest begun at 31 days after transplant for all genotypes. Data show a wide variability between genotypes with respect to fruit length (17,83 – 18,41 cm), fruit diameter (42,68 – 43,81 mm), total number of fruits per plant (33,81 – 41,35), mean fruit weight (224,24 – 239,71 g), yield per plant (7717,07 – 9720,08 g/plant), commercial yield (15,63 – 21,13 kg/m²), total yield (20,05 – 25,25 kg/m²), and percentage of total soluble solids (2,97 – 3,10 °Brix). Katrina genotype obtained the highest commercial (21,13 kg/m²) and first quality yield (15,73 kg/m²).

Keywords

Cucumis sativus; mini cucumber; yield; quality; parthenocarpic; greenhouse; genotypes.

Introducción

El uso de ambientes protegidos puede incrementar la productividad de hortalizas como el pepino, pues las plantas se mantienen por mucho más tiempo en producción; sin embargo, para la aplicación de estos sistemas es importante adaptar el tipo de cobertura, el manejo del cultivo y los genotipos a las condiciones ambientales que prevalecen en cada zona [1].

En Costa Rica la producción de hortalizas bajo ambiente protegido se ha incrementado en los últimos años. En 2010 el cultivo de cucurbitáceas alcanzó el 13,28 % del área protegida dedicada a hortalizas [2]. En este país, la producción de pepino se lleva a cabo en varias zonas y se encuentra orientada principalmente a satisfacer el mercado local. Sin embargo, entre 2005 y 2009 existió un proyecto de exportación de pepino de frutos largos (tipo holandés) a EEUU y Canadá [3], el cual finalmente fracasó debido entre otras razones a la baja productividad alcanzada [4]; dicho proyecto se implementó sin que existiera investigación previa sobre el comportamiento del genotipo utilizado en las condiciones de Costa Rica, ni sobre el manejo del cultivo bajo ambiente protegido en general.

El pepino es una planta de la familia Cucurbitaceae que posee varios cultivares en el mercado, con diferente tamaño, forma y coloración de los frutos, sabor y características vegetativas; se clasifica en cinco grupos: pepino para ensalada, tipo “caipira”, tipo japonés, tipo holandés,

y tipo industrial (para conserva) [5]. Por otra parte, otros autores indican que los tipos más comunes de pepino son: americano, europeo, del este medio, holandés y oriental [6].

Los pepinos tipo mini (Beit Alfa) toleran un rango más amplio de temperaturas (entre 10,0 y 40,0 °C) que otras variedades de pepino. Asimismo, presentan frutos más cortos, pero tienen mayor capacidad productiva, en comparación a otros tipos de pepino, pues producen varios frutos en cada nudo y también en los brotes laterales, y sus frutos tienen una cáscara más lisa y más gruesa, lo que les brinda un mejor comportamiento en poscosecha [7], [8].

El objetivo de esta investigación fue realizar una evaluación de rendimiento y calidad de tres genotipos de pepino partenocárpico tipo mini, cultivados bajo ambiente protegido en Alajuela, Costa Rica, durante la época seca.

Materiales y métodos

Se sembraron tres genotipos de pepino partenocárpico tipo mini (*Cucumis sativus* L.), en condiciones hidropónicas en el invernadero de Hortalizas de la Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit Moreno (EEAFBM), ubicada en Barrio San José de Alajuela, Costa Rica, a una altitud de 883 msnm. Los genotipos seleccionados se presentan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Genotipos de pepino tipo mini utilizados en el ensayo.

Genotipo	Empresa	Tipo de pepino
Katrina	Enza Zaden	Mini
22-20-782	Pandia Seeds	Mini Beit-Alfa
22-20-783	Pandia Seeds	Mini Beit-Alfa

El almácigo se sembró el 27 de enero de 2015 en la empresa Almatropic S. A., ubicada en San Rafael de Alajuela; se utilizaron bandejas de 98 celdas, y turba (“peat moss”) como sustrato. El trasplante se realizó el 9 de febrero de 2015, 13 días después de la siembra, cuando las plántulas tenían una hoja verdadera. El período de cultivo abarcó hasta el 14 de mayo de 2015, es decir hasta los 94 días después del trasplante (ddt), para un período de cosecha de 10 semanas.

El cultivo se realizó en sacos de fibra de coco, de 1 m de largo, 20 cm de ancho y 15 cm de altura. La distancia de siembra fue de 25 cm entre plantas y 1,54 m entre hileras, para una densidad de 2,60 plantas/m². Todas las plantas se manejaron a un solo tallo, eliminando todos los tallos secundarios. Las labores de amarre de la planta, deshijas y deshojas se realizaron en forma periódica. Se eliminaron los primeros cuatro frutos de cada planta con el fin de lograr una cosecha más uniforme. Se recopilaban datos de temperatura, humedad relativa y radiación PAR dentro del invernadero, por medio de sensores y equipo especializado.

Se clasificó la cosecha según las categorías de calidad que se describen en el cuadro 2.

Se consideró como rendimiento comercial la suma de las categorías de primera y segunda calidad, y como rendimiento total la suma de las tres categorías de calidad.

Cuadro 2. Parámetros utilizados para clasificar los frutos de pepino por su calidad.

Parámetro	Categoría de calidad		
	Primera	Segunda	Rechazo
Deformación de frutos	Ausente	Leve	Severa
Daños en la cáscara del fruto	Ausente	Menor o igual a 1 cm ²	Mayor a 1 cm ²

Se evaluaron las siguientes variables:

1. Longitud del fruto (cm): se midió esta característica a 20 frutos de cada categoría de calidad, y se obtuvo el promedio.
2. Diámetro del fruto (mm): se midió esta característica en la parte media de 20 frutos de cada categoría de calidad, y se obtuvo el promedio.
3. Presencia de espinas: se determinó en forma cualitativa en cada genotipo mediante las siguientes categorías: ausencia de espinas, cantidad intermedia de espinas, y muchas espinas.
4. Edad al inicio de la cosecha, en días después del trasplante (ddt): se realizó un conteo de días transcurridos desde la fecha del trasplante hasta la del primer corte de frutos.
5. Número de frutos por planta: se contabilizó el número total de frutos por parcela, y se dividió entre el número de plantas de la parcela.
6. Peso promedio del fruto (g): se midió el peso total de la producción en cada parcela, y se dividió entre el número total de frutos por parcela.
7. Rendimiento por planta (g/planta): se midió el peso total de la producción en cada parcela, y se dividió entre el número de plantas por parcela.
8. Rendimiento por área (kg/m²): se calculó a partir del rendimiento por planta y de la densidad de siembra.
9. Porcentaje de sólidos solubles totales (°Brix): se midió en la parte media (pulpa y placenta) de 20 frutos de cada categoría de calidad, y se obtuvo el promedio.

El peso de los frutos se determinó por medio de una balanza electrónica marca Ocony, modelo UWE HGM, con una capacidad de 20000 ± 1 g. Para obtener la longitud del fruto se utilizó una cinta métrica marca Assist, modelo 32G-8025, con una capacidad de 800,0 ± 0,1 cm. El diámetro de los frutos se determinó con un calibrador digital marca Mitutoyo, modelo CD, con una capacidad de 15,00 ± 0,01 cm. El porcentaje de sólidos solubles totales se midió con un refractómetro manual marca Boeco, con una capacidad de 32,0 ± 0,2 °Brix.

Se utilizó un diseño experimental irrestricto al azar, con cuatro repeticiones. La parcela consistió de ocho plantas (dos sacos), y todas las plantas fueron evaluadas. Para las variables cuantitativas se realizó un análisis estadístico de variancia, utilizando la prueba de LSD Fisher con una significancia de 5 % para confirmar o descartar diferencias entre los genotipos.

Resultados y discusión

Durante el desarrollo del ensayo, la temperatura dentro del invernadero varió entre los 14 y 41 °C, la humedad relativa entre 18 y 95 %, y la radiación PAR entre 250 y 2250 W/m².

Edad al inicio de la cosecha

Los tres genotipos iniciaron su cosecha a los 31 ddt. Algunos autores han indicado que la cosecha de pepino inicia a los 40 – 45 ddt [9], [10], [3]. Los datos obtenidos en el presente ensayo se acercan a lo informado para pepino producido en invernadero por otros autores; en un caso la cosecha inició entre los 28 y 39 ddt en genotipos tipo “caipira” en Brasil en el verano [11], y en otro caso se estableció que la cosecha inició a los 35 ddt en genotipos tipo mini en Irán [12].

Sin embargo, en un trabajo sobre producción de pepino en invernadero, se evaluaron cinco genotipos en Colombia a 2650 msnm y se determinó que la cosecha inició entre los 86 y 91 ddt; en ese ensayo la temperatura promedio fue de 16 °C y la humedad relativa promedio de 90,5 % [13]. Asimismo, en México, a 2250 msnm, se encontró que el inicio de la cosecha se produjo a los 49 ddt [14]. En el presente estudio el inicio de la cosecha fue más precoz que lo informado por esos autores, probablemente debido a la mayor temperatura y radiación que prevalecen en el invernadero de la EEAFBM, lo cual ocasionó un aumento en el metabolismo de las plantas.

Por otra parte, en una evaluación de genotipos de pepino tipo japonés en invernadero en Brasil, se encontró que en verano la cosecha inició entre los 24 y 28 ddt, y en invierno entre los 51 y 56 ddt [15]. Estos datos enfatizan la importancia de la temperatura sobre la edad del cultivo al inicio de la cosecha; además, los valores obtenidos en el verano por dichos autores son inferiores a los encontrados en la presente investigación.

Presencia de espinas

Todos los genotipos presentaron frutos sin espinas, lo cual es característico de los pepinos tipo mini o Beit Alfa [16].

Longitud del fruto

Se encontraron diferencias significativas entre los genotipos para la longitud total y la de los frutos de primera calidad (cuadro 3). Además, los frutos de primera calidad presentaron una mayor longitud que los de segunda y rechazo, y los de segunda calidad también mostraron una mayor longitud que los de rechazo.

Cuadro 3. Longitud del fruto de tres genotipos de pepino tipo mini.

Genotipo	Longitud del fruto (cm), según categoría de calidad			
	Total	Primera	Segunda	Rechazo
22-20-783	18,41 a	20,76 a	17,86 a	16,60 a
22-20-782	18,31 ab	19,96 b	17,69 a	17,29 a
Katrina	17,83 b	19,52 b	17,37 a	16,59 a
Categoría de calidad				
Primera	20,08 a			
Segunda	17,64 b			
Rechazo	16,83 c			

*Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) según la prueba de LSD Fisher.

Los datos obtenidos en la presente investigación se ubican dentro del rango encontrado en un ensayo con seis genotipos de pepino tipo Beit Alfa (mini), cultivados en invernadero en Florida, EEUU, en el cual la longitud del fruto varió entre 14,5 y 21,9 cm [7].

Sin embargo, en un trabajo sobre producción de pepino tipo mini en invernadero en Irán, se evaluaron 15 genotipos y se encontró que la longitud del fruto osciló entre 12,43 y 16,27 cm [12]. En Florida, EEUU, en un ensayo se cultivaron 12 genotipos durante el invierno, y se obtuvo un rango entre 13,6 y 17,8 cm para esta variable [17]. Además, en otra investigación se cultivó un genotipo en Murcia, España, y se encontró que la longitud del fruto varió entre 14,4 y 16,4 cm [18]. Asimismo, en Florida, EEUU, se evaluó un genotipo y se obtuvo que esta característica osciló entre 14,9 y 15,0 cm [19]. Todos estos resultados son inferiores a los obtenidos en el presente ensayo, lo que demuestra la diversidad existente entre los pepinos tipo mini.

Por otra parte, otros investigadores cultivaron una variedad de pepino en invernadero en Torreón, México, a 1150 msnm, y encontraron una longitud del fruto de 19,3 cm [20], el cual es un resultado superior a los obtenidos en el presente trabajo.

Diámetro del fruto

Solamente se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre genotipos para esta variable en la categoría de primera calidad (Cuadro 4). Asimismo, los frutos de primera calidad presentaron un mayor diámetro que los de segunda y rechazo, y los de segunda calidad también mostraron un mayor diámetro que los de rechazo.

Cuadro 4. Diámetro del fruto de tres genotipos de pepino tipo mini.

Genotipo	Diámetro del fruto (mm), según categoría de calidad			
	Total	Primera	Segunda	Rechazo
22-20-783	43,81 a	46,09 ab	43,48 a	41,87 a
Katrina	43,26 a	47,18 a	43,17 a	39,43 a
22-20-782	42,68 a	44,76 b	43,11 a	40,16 a
Categoría de calidad				
Primera	46,01 a			
Segunda	43,25 b			
Rechazo	40,49 c			

*Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) según la prueba de LSD Fisher.

Los resultados obtenidos en el presente ensayo se encuentran dentro del rango establecido por otros autores, en el cual el diámetro del fruto varió entre 38 y 44 mm [7].

Sin embargo, en ensayos de pepino tipo mini en invernadero, otros investigadores obtuvieron un diámetro del fruto que osciló entre 26,4 y 27,7 mm [17]. Asimismo, en otro trabajo se encontró un rango entre 28,4 y 35,1 mm para esta variable [12], y en otra evaluación se obtuvieron valores entre 35 y 37 mm para esta característica [19]. Todos estos resultados son inferiores a los obtenidos en la presente evaluación.

Por otra parte, otros autores encontraron que el diámetro del fruto osciló entre 46 y 58 mm [18], y en otra investigación se obtuvo un valor de 49 mm para esta variable [20]. Estos datos son superiores a los obtenidos en la presente investigación.

Número de frutos por planta

Se presentaron diferencias significativas entre los genotipos para el número de frutos de primera calidad y el número total de frutos por planta (cuadro 5). El genotipo Katrina presentó el mayor número de frutos de primera calidad por planta (21,97).

Cuadro 5. Número de frutos por planta de tres genotipos de pepino tipo mini.

Genotipo	Número de frutos por planta, según categoría de calidad			
	Total	Primera	Segunda	Rechazo
Katrina	41,35 a	21,97 a	9,29 a	10,09 a
22-20-782	38,67 ab	18,56 b	9,27 a	10,84 a
22-20-783	33,81 b	13,69 c	9,70 a	10,42 a

*Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) según la prueba de LSD Fisher.

Los datos obtenidos en el presente trabajo coinciden con los encontrados por otros investigadores en evaluaciones de pepino en invernadero. En un ensayo se cultivaron siete genotipos en Brasil en época de verano, y se obtuvo entre 19,1 y 41,3 frutos comerciales/planta [11]. En EEUU, se evaluaron 12 genotipos tipo mini durante el invierno, y se encontró que la producción comercial varió entre 13,0 y 38,7 frutos/planta [17]. Además, en otro trabajo se cultivaron dos genotipos tipo mini, y se obtuvieron en total entre 36,40 y 39,50 frutos/planta [21]. Asimismo, en otra investigación se compararon seis genotipos tipo mini y se encontró que el rendimiento comercial osciló entre 27,6 y 36,7 frutos/planta en otoño, y entre 34,3 y 66,8 frutos/planta en primavera [7]. En Brasil, otros autores evaluaron genotipos tipo japonés; en verano obtuvieron un rango de producción comercial entre 17,83 y 25,42 frutos/planta, mientras que en invierno la producción total varió entre 23,85 y 38,00 frutos/planta y la producción comercial entre 16,07 y 26,85 frutos/planta [15].

Sin embargo, otros investigadores encontraron en pepino cultivado en invernadero, un rendimiento total que osciló entre 24 y 31 frutos/planta [22]. Asimismo, en otro trabajo se cultivó un genotipo de pepino monoico tipo japonés en invernadero, y se obtuvo una producción total de 27,64 frutos/planta y una producción comercial de 16,01 frutos/planta [23]. Todos estos datos son inferiores a los obtenidos en el presente ensayo.

Peso promedio del fruto

Con respecto a esta característica, solamente se determinaron diferencias significativas entre genotipos para la categoría de primera calidad y para el peso promedio total (cuadro 6). El genotipo 22-20-782 presentó frutos de primera calidad con un menor peso promedio en comparación con los otros dos genotipos, lo cual está relacionado a que fue el que presentó el menor diámetro de fruto en esta categoría de calidad.

Los datos obtenidos en el presente ensayo coinciden con los encontrados por otros autores, quienes al cultivar un pepino tipo mini en invernadero en España, encontraron un rango de peso del fruto entre 190 y 330 g [18], y también con los hallados en otro trabajo en que se compararon genotipos de pepino tipo mini cultivados en invernadero, y se obtuvo para esta característica una variación entre 156 y 247 g en otoño, y entre 122 y 256 g en primavera [7].

Por otra parte, en evaluaciones de pepino en invernadero, un autor evaluó siete genotipos en Brasil en verano, y encontró que el peso promedio del fruto osciló entre 279,2 y 300,8 g [11].

Además, otros investigadores cultivaron una variedad en México y obtuvieron un valor de 285 g para esta variable [20]. Estos datos representan valores superiores a los obtenidos en la presente investigación, aunque se debe tomar en cuenta que se trata de otras tipologías de pepino.

Cuadro 6. Peso promedio del fruto de tres genotipos de pepino tipo mini.

Genotipo	Peso promedio del fruto (g), según categoría de calidad			
	Total	Primera	Segunda	Rechazo
Katrina	239,71 a	275,73 a	227,82 a	167,36 a
22-20-783	233,93 ab	281,74 a	233,29 a	167,61 a
22-20-782	224,24 b	257,00 b	222,25 a	168,14 a

*Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) según la prueba de LSD Fisher.

Sin embargo, en otros ensayos de pepino en invernadero, se evaluaron dos genotipos tipo mini y se obtuvo un rango de peso promedio del fruto entre 134,71 y 150,70 g [21]. Además, otros autores cultivaron genotipos tipo japonés en Brasil, y obtuvieron que el peso del fruto varió entre 133,28 y 159,55 g en verano, y entre 117,44 y 159,52 g en invierno [15]. En Brasil, se evaluó un genotipo monoico tipo japonés y se obtuvo un valor de 186,7 g para esta característica [23]. Asimismo, otros investigadores encontraron que el peso promedio del fruto osciló entre 132,92 y 145,81 g [22]. Todos estos datos son inferiores a los obtenidos en el presente ensayo, lo que enfatiza la diversidad de tamaños, y por lo tanto de peso del fruto, entre los pepinos tipo mini.

Rendimiento por planta

Se encontraron diferencias entre genotipos para el rendimiento total y el de primera calidad por planta (cuadro 7). El genotipo Katrina obtuvo el mayor rendimiento por planta en la categoría de primera calidad (6057,31 g/planta), lo cual está relacionado con el hecho de que también fue el que produjo el mayor número de frutos por planta en esa categoría de calidad.

Cuadro 7. Rendimiento por planta de tres genotipos de pepino tipo mini.

Genotipo	Rendimiento por planta (g), según categoría de calidad			
	Total	Primera	Segunda	Rechazo
Katrina	9720,08 a	6057,31 a	2075,83 a	1586,95 a
22-20-782	8637,22 ab	4791,32 b	2057,08 a	1788,83 a
22-20-783	7717,07 b	3858,18 c	2158,62 a	1700,28 a

*Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) según la prueba de LSD Fisher.

En ensayos de pepino en invernadero, un investigador en México, a 2250 msnm y a una densidad de 3,33 plantas/m², encontró un rango de rendimiento total entre 6380 y 8200 g/planta [24]. En Brasil, otro autor evaluó siete genotipos tipo “caipira” a una densidad de 2,0 plantas/m² en verano, y obtuvo una producción comercial que varió entre 5600 y 11560 g/planta [11]. Asimismo, otros investigadores, al cultivar un genotipo tipo mini en España a una

densidad de 2,08 plantas/m², encontraron que el rendimiento total osciló entre 2000 y 3300 g/planta en invierno, y entre 7300 y 8300 g/planta en primavera [18]. Además, en otro ensayo se compararon seis genotipos tipo mini y se obtuvo un rango de producción comercial entre 5500 y 8600 g/planta en otoño, y entre 5800 y 13800 g/planta en primavera [7]. Todos estos datos se acercan a los obtenidos en el presente trabajo, excepto los encontrados en invierno en uno de los ensayos [18].

Sin embargo, un autor indica que, para un período de cosecha de 12 semanas, en un cultivo de pepino bien manejado en invernadero, el rendimiento total puede variar entre 9070 y 11340 g/planta [25]; los resultados obtenidos en la presente investigación (excepto para el genotipo Katrina) fueron inferiores a los apuntados por dicho investigador, pero se debe tomar en cuenta que el período de cosecha fue solamente de 10 semanas.

Por otra parte, en ensayos de pepino en invernadero, otros autores encontraron un rango de rendimiento total entre 3190 y 4520 g/planta [22]. Además, varios investigadores cultivaron 12 genotipos tipo mini en EEUU a una densidad de 3,36 plantas/m² durante la época de invierno, y obtuvieron una producción comercial que osciló entre 1393 y 2637 g/planta [17]. Asimismo, en otro ensayo se evaluaron dos genotipos tipo mini y se encontró que el rendimiento total varió entre 4150 y 5480 g/planta [21]. En Colombia, se cultivaron dos genotipos a 1522 msnm y se obtuvo un rango de producción total entre 1690 y 2280 g/planta [26]. En Brasil, dos investigadores evaluaron 12 genotipos tipo japonés en verano y 14 genotipos en invierno; en verano el rendimiento comercial osciló entre 2400 y 3790 g/planta, y en invierno el rendimiento total varió entre 2800 y 5590 g/planta y el rendimiento comercial entre 1950 y 4120 g/planta [15]. También en Brasil, otros autores cultivaron un genotipo monoico tipo japonés y obtuvieron una producción total de 4890 g/planta y una producción comercial de 2840 g/planta [23]. En México, varios investigadores evaluaron un genotipo a una densidad de 4,0 plantas/m² y encontraron un rendimiento total de 2470 g/planta [20]. Todos estos resultados son muy inferiores al rendimiento por planta obtenido en el presente ensayo.

Rendimiento por área

Se presentaron diferencias en el rendimiento total, comercial y de primera calidad por área entre los genotipos (cuadro 8). Katrina fue el genotipo que obtuvo el mayor rendimiento comercial (21,13 kg/m²) y de primera calidad (15,73 kg/m²), lo cual nuevamente se asocia a la mayor producción de frutos de primera calidad por planta.

Cuadro 8. Rendimiento por área de tres genotipos de pepino tipo mini.

Genotipo	Rendimiento por área (kg/m ²), según categoría de calidad				
	Total	Comercial	Primera	Segunda	Rechazo
Katrina	25,25 a	21,13 a	15,73 a	5,39 a	4,12 a
22-20-782	22,44 ab	17,79 b	12,45 b	5,35 a	4,65 a
22-20-783	20,05 b	15,63 b	10,02 c	5,61 a	4,42 a

*Letras distintas indican diferencias significativas (p<0,05) según la prueba de LSD Fisher.

Los datos obtenidos en el presente ensayo se acercan a los encontrados en otras investigaciones sobre producción de pepino en invernadero. En Sonora, México, varios autores evaluaron tres genotipos partenocárpicos a 150 msnm, a una densidad de 3,3 plantas/m², y obtuvieron un rango de rendimiento comercial entre 15,8 y 17,3 kg/m² [27]. Además, un investigador evaluó

siete genotipos en Brasil en verano, y encontró que la producción comercial varió entre 11,20 y 23,12 kg/m² [11]. Asimismo, otros autores cultivaron 15 genotipos tipo mini en Irán a una densidad de 11,1 plantas/m², y encontraron que el rendimiento total osciló entre 14,29 y 23,81 kg/m² [12].

Sin embargo, en Costa Rica, una investigadora evaluó la producción de pepino tipo holandés (híbrido Fuerte) cultivado en invernadero en la EEAFBM a una densidad de 2,60 plantas/m², y el mejor tratamiento mostró un rendimiento total de 15,56 kg/m² [28]; este valor fue superado por todos los genotipos evaluados en esta investigación, lo que parece confirmar la tendencia a una mayor productividad de los genotipos tipo mini, con respecto a los pepinos tipo holandés (J. Monge-Pérez, datos sin publicar).

De igual forma, en un ensayo de pepino en invernadero, se evaluaron cinco genotipos en Colombia a una densidad de 1,4 plantas/m², y se obtuvo un rango de producción total entre 6,0 y 8,5 kg/m² [13]. En Guerrero, México, otros autores cultivaron un genotipo partenocárpico a 640 msnm, a una densidad de 3,8 plantas/m², y encontraron que el rendimiento comercial osciló entre 8,09 y 8,89 kg/m², y el rendimiento total entre 8,86 y 9,48 kg/m² [29]. Asimismo, en otro ensayo se obtuvo una producción total que varió entre 4,51 y 5,95 kg/m² [22]. En EEUU, otros investigadores evaluaron 12 genotipos tipo mini durante el invierno y encontraron un rango de rendimiento comercial entre 4,69 y 8,87 kg/m² [17]. Además, en otro trabajo se cultivaron dos genotipos tipo mini y se obtuvo una producción total que varió entre 10,24 y 13,72 kg/m² [21]. En España, otros autores evaluaron un genotipo tipo mini y encontraron que el rendimiento total osciló entre 4,16 y 6,86 kg/m² en invierno, y entre 15,18 y 17,26 kg/m² en primavera [18]. En Brasil, se cultivaron genotipos tipo japonés, y en verano se obtuvo un rango de producción comercial entre 4,80 y 7,58 kg/m², y en invierno la producción total varió entre 5,60 y 11,18 kg/m² y la producción comercial entre 3,90 y 8,24 kg/m² [15]. También en Brasil, otros autores evaluaron un genotipo tipo japonés y encontraron un rendimiento total de 9,78 kg/m² y un rendimiento comercial de 5,68 kg/m² [23]. En México, en otro ensayo se obtuvo una producción total de 9,87 kg/m² [20]. Todos estos resultados son muy inferiores a los obtenidos en el presente estudio.

Por otra parte, otro investigador cultivó pepino en invernadero a una densidad de 3,33 plantas/m², y encontró un rango de rendimiento total entre 21,27 y 27,33 kg/m² [24]; los resultados obtenidos en el presente trabajo fueron un poco inferiores a los encontrados por dicho investigador, debido probablemente a que se utilizó una menor densidad de siembra (2,60 plantas/m²).

Porcentaje de sólidos solubles totales (°Brix)

Para esta variable se presentaron diferencias significativas únicamente entre los genotipos 22-20-782 y 22-20-783, al considerar todas las categorías de calidad juntas (cuadro 9). Además, los frutos de calidad de rechazo presentaron un mayor porcentaje de sólidos solubles totales que los de primera calidad.

En frutos de pepino producidos en invernadero, un investigador encontró que el porcentaje de sólidos solubles totales de la pulpa varió entre 3,60 y 4,07 °Brix [14], y otros autores obtuvieron un resultado de 3,3 °Brix [6]; estos valores son superiores a los obtenidos en la presente investigación.

Por otra parte, en otro ensayo se encontró en pepino un porcentaje de sólidos solubles totales de 2,5 °Brix [20], lo cual es un valor inferior al obtenido en el presente ensayo.

En otras hortalizas, una alta concentración de sólidos solubles totales en el fruto es una característica que le confiere calidad al mismo [30], [31]; sin embargo, se requeriría evaluar la

preferencia de los consumidores de pepino con respecto a esta característica para determinar su importancia como criterio de calidad en esta hortaliza.

Cuadro 9. Porcentaje de sólidos solubles totales de tres genotipos de pepino tipo mini.

Genotipo	Porcentaje de sólidos solubles totales (°Brix), según categoría de calidad			
	Total	Primera	Segunda	Rechazo
22-20-782	3,10 a	3,06 a	3,04 a	3,20 a
Katrina	3,05 ab	2,95 a	3,04 a	3,15 a
22-20-783	2,97 b	2,90 a	3,01 a	3,01 a
Categoría de calidad				
Primera	2,97 b			
Segunda	3,03 ab			
Rechazo	3,12 a			

*Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) según la prueba de LSD Fisher.

Conclusiones y recomendaciones

La caracterización agronómica de genotipos de hortalizas es importante para tomar decisiones en cuanto a cuál variedad utilizar, según cada sitio y sistema de producción, pues se genera información acerca del rendimiento esperado y los estándares de calidad que se pueden llegar a producir, y permite la selección de los genotipos mejor adaptados a cada zona de producción.

Se encontraron diferencias significativas entre genotipos en muchas de las variables evaluadas. Todos los genotipos iniciaron cosecha a los 31 ddt. La longitud de los frutos de pepino tipo mini varió entre 17,83 y 18,41 cm.

El genotipo Katrina fue el que obtuvo el mayor número de frutos de primera calidad por planta (21,97), y el mayor rendimiento comercial (21,13 kg/m²) y de primera calidad (15,73 kg/m²), por lo que se considera que es el mejor adaptado a las condiciones en que se desarrolló esta investigación.

Agradecimientos

Los autores agradecen el financiamiento recibido por parte de CONARE así como de la Universidad de Costa Rica, para la realización de este trabajo. Asimismo, agradecen la colaboración de los señores Julio Vega, Andrés Oviedo y Carlos González en el trabajo de campo, y del señor Mario Monge en la revisión de la traducción del resumen al idioma inglés.

Bibliografía

- [1] R. Ramírez, J. Aguilar y R. León, Introducción a los cultivos protegidos bajo cobertura plástica en Costa Rica, San José, Costa Rica: Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2010.
- [2] F. Marín, Cuantificación y valoración de estructuras y procesos de producción agrícola bajo ambientes protegidos en Costa Rica, San José, Costa Rica: Programa Nacional Sectorial de Producción Agrícola Bajo Ambientes Protegidos, 2010.

- [3] Ministerio de Agricultura y Ganadería, Caracterización de la agrocadena de pepino holandés, Alajuela, Costa Rica: Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2007.
- [4] J. A. Valenciano, A. M. Salas y R. Díaz, «Sistemas de financiamiento en cadenas agrícolas rurales: un caso no exitoso en la producción de pepino en Zarcero, Costa Rica,» *Revista ABRA*, vol. 33, n° 46, pp. 13-29, 2013.
- [5] M. A. N. Sedyama, J. L. M. Nascimento, I. P. C. Lopes, P. C. Lima y S. M. Vidigal, «Tipos de poda em pepino dos grupos aodai, japonés e caipira,» *Horticultura Brasileira*, vol. 32, n° 4, pp. 491-496, 2014.
- [6] J. López-Elías, S. Garza, M. A. Huez, J. Jiménez, E. O. Rueda y B. Murillo, «Producción de pepino (*Cucumis sativus* L.) en función de la densidad de plantación en condiciones de invernadero,» *European Scientific Journal*, vol. 11, n° 24, pp. 25-36, 2015.
- [7] N. L. Shaw, D. J. Cantliffe, J. C. Rodríguez, S. Taylor y D. M. Spencer, «Beit Alpha cucumber: an exciting new greenhouse crop,» *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, vol. 113, pp. 247-253, 2000.
- [8] E. M. Lamb, N. L. Shaw y D. J. Cantliffe, «Beit Alpha cucumber: a new greenhouse crop for Florida,» 2001. [En línea]. Available: <http://www.hos.ufl.edu/protectedag/EDIS/CV27700.pdf>. [Último acceso: 2016].
- [9] Fundación de Desarrollo Agropecuario, Cultivo de pepino; boletín técnico No. 15, Santo Domingo, República Dominicana: Fundación de Desarrollo Agropecuario, 1992.
- [10] S. Arias, Manual de producción de pepino, La Lima, Honduras: Agency International Development, 2007.
- [11] A. I. I. Cardoso, «Avaliação de cultivares de pepino tipo caipira sob ambiente protegido em duas épocas de sementeira,» *Bragantia (Campinas)*, vol. 61, n° 1, pp. 43-48, 2002.
- [12] A. Soleimani, A. Ahmadihah y S. Soleimani, «Performance of different greenhouse cucumber cultivars (*Cucumis sativus* L.) in southern Iran,» *African Journal of Biotechnology*, vol. 8, n° 17, pp. 4077-4083, 2009.
- [13] O. I. Monsalve, H. A. Casilimas y C. R. Bojacá, «Evaluación técnica y económica del pepino y el pimentón como alternativas al tomate bajo invernadero,» *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, vol. 5, n° 1, pp. 69-82, 2011.
- [14] F. V. Barraza-Álvarez, «Calidad morfológica y fisiológica de pepinos cultivados en diferentes concentraciones nutrimentales,» *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, vol. 9, n° 1, pp. 60-71, 2015.
- [15] A. I. I. Cardoso y N. Silva, «Avaliação de híbridos de pepino tipo japonês sob ambiente protegido em duas épocas de cultivo,» *Horticultura Brasileira*, vol. 21, n° 2, pp. 170-175, 2003.
- [16] Johnny's Selected Seeds, «Cucumber types and terminology,» 2014. [En línea]. Available: <http://www.johnny-seeds.com/assets/information/cucumbers-types-terminology-8989.pdf>. [Último acceso: 2014].
- [17] R. C. Hochmuth, L. L. L. Davis, W. L. Laughlin, E. H. Simonne, S. A. Sargent y A. Berry, «Evaluation of twelve greenhouse mini cucumber (Beit Alpha) cultivars and two growing systems during the 2002-2003 winter season in Florida,» 2004. [En línea]. Available: <http://svaec.ifas.ufl.edu/docs/pdf/svreports/greenhousehydroponics/2003-04.pdf>. [Último acceso: 2016].
- [18] M. D. Gómez-López, J. P. Fernández-Trujillo y A. Baille, «Cucumber fruit quality at harvest affected by soilless system, crop age and preharvest climatic conditions during two consecutive seasons,» *Scientia Horticulturae*, vol. 110, pp. 68-78, 2006.
- [19] C. Jasso-Chaverria, G. J. Hochmuth, R. C. Hochmuth y S. A. Sargent, «Fruit yield, size, and color responses of two greenhouse cucumber types to nitrogen fertilization in perlite soilless culture,» *Hort Technology*, vol. 15, n° 3, pp. 565-571, 2005.
- [20] F. V. Galindo, M. Fortis, P. Preciado, R. Trejo, M. A. Segura y J. A. Orozco, «Caracterización físico-química de sustratos orgánicos para producción de pepino (*Cucumis sativus* L.) bajo sistema protegido,» *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, vol. 5, n° 7, pp. 1219-1232, 2014.
- [21] T. Z. Sarhan y S. F. Ismael, «Effect of low temperature and seaweed extracts on flowering and yield of two cucumber cultivars (*Cucumis sativus* L.),» *International Journal of Agricultural and Food Research*, vol. 3, n° 1, pp. 41-54, 2014.
- [22] M. H. Rahil y A. Qanadillo, «Effects of different irrigation regimes on yield and water use efficiency of cucumber crop,» *Agricultural Water Management*, vol. 148, pp. 10-15, 2015.
- [23] E. S. Nomura y A. I. I. Cardoso, «Redução da área foliar e o rendimento do pepino japonês,» *Scientia Agricola*, vol. 57, n° 2, pp. 257-261, 2000.



- [24] F. V. Barraza, «Acumulación de materia seca del cultivo de pepino (*Cucumis sativus* L.) en invernadero,» *Temas Agrarios*, vol. 17, n° 2, pp. 18-29, 2012.
- [25] R. C. Hochmuth, «Greenhouse cucumber production - Florida greenhouse vegetable production handbook, vol. 3,» 2015. [En línea]. Available: <http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/CV/CV26800.pdf>. [Último acceso: 2016].
- [26] D. Hoyos, J. G. Morales, H. Chavarría, A. P. Montoya, G. Correa y S. C. Jaramillo, «Acumulación de grados-día en un cultivo de pepino (*Cucumis sativus* L.) en un modelo de producción aeropónico,» *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, vol. 65, n° 1, pp. 6389-6398, 2012.
- [27] J. López-Elías, J. C. Rodríguez, M. A. Huez, S. Garza, J. Jiménez y E. I. Leyva, «Producción y calidad de pepino (*Cucumis sativus* L.) bajo condiciones de invernadero usando dos sistemas de poda,» *Idesia (Chile)*, vol. 29, n° 2, pp. 21-27, 2011.
- [28] C. Meneses, «Valoración de sustratos obtenidos a partir de diferentes materias primas en el cultivo de pepino (*Cucumis sativus* L.) tipo holandés, en invernadero,» Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica, 2013.
- [29] V. M. Olalde, A. A. Mastache, E. Carreño, J. Martínez y M. Ramírez, «El sistema de tutorado y poda sobre el rendimiento de pepino en ambiente protegido,» *Interciencia*, vol. 39, n° 10, pp. 712-717, 2014.
- [30] J. E. Monge-Pérez, «Evaluación de 60 genotipos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivados bajo invernadero en Costa Rica,» *Intersedes*, vol. 16, n° 33, pp. 84-122, 2015.
- [31] J. E. Monge-Pérez, «Caracterización de 14 genotipos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivados bajo invernadero en Costa Rica,» *Tecnología en Marcha*, vol. 27, n° 4, pp. 58-68, 2014.

Evaluación *in vitro* de diez cepas de hongos nematófagos para el control de *Meloidogyne exigua*, *Meloidogyne incognita* y *Radopholus similis*

In vitro assessment of ten strains of nematophagous fungi to control *Meloidogyne exigua*, *Meloidogyne incognita* and *Radopholus similis*

Ingrid Varela-Benavides¹, Joaquín Durán-Mora²,
Tomás Guzmán- Hernández³

Fecha de recepción: 23 de mayo de 2016
Fecha de aprobación: 21 de agosto de 2016

Varela-Benavides, I; Durán-Mora, J; Guzmán-Hernández, T.
Evaluación *in vitro* de diez cepas de hongos nematófagos para el control de *Meloidogyne exigua*, *Meloidogyne incognita* y *Radopholus similis*. *Tecnología en Marcha*. Vol. 30-1. Enero-Marzo 2017. Pág 27-37.

DOI: 10.18845/tm.v30i1.3062



- 1 Laboratorio de Nematología, Centro de Investigación y Desarrollo Sostenible para el Trópico Húmedo, Instituto Tecnológico de Costa Rica, sede San Carlos. Costa Rica. Correo electrónico: invarela@itcr.ac.cr.
- 2 Centro de Investigación y Desarrollo Sostenible para el Trópico Húmedo, Instituto Tecnológico de Costa Rica, sede San Carlos. Costa Rica. Correo electrónico: jduran@itcr.ac.cr.
- 3 Miembro del Consejo Institucional. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Doctorado en Ciencias Naturales para el Desarrollo. Correo electrónico: tjguzman@itcr.ac.cr.

Palabras clave

Hongos nematófagos; control biológico; *Meloidogyne*; *Radopholus similis*.

Resumen

El desarrollo de alternativas al uso de nematicidas, plaguicidas altamente tóxicos, es un tema de importancia en la actualidad. En esta línea ha habido un creciente reconocimiento de la efectividad del control biológico por medio de hongos nematófagos. Por tales razones, y con el fin de determinar la capacidad nematófaga de hongos que habían sido previamente aislados de fincas en la Región Huasteca Norte, se establecieron ensayos *in vitro*, en los que se evaluó la mortalidad de individuos de *Radopholus similis*, *Meloidogyne incognita* y *M. exigua* expuestos a estos hongos. Según los criterios establecidos, las cepas de *Hypocrea virens* y *Penicillium janthinellum* no presentaron actividad nematicida contra ninguna de las especies de nematodos. *Monacrosporium megalosporum*, *Trichoderma spirale* y *T. asperellum* 2 presentaron actividad nematicida contra *R. similis* y *M. exigua*. Mientras que *Gliocladium roseum* y *Fusarium oxysporum* mostraron actividad únicamente en contra de *R. similis*. *T. asperellum* y *Gongronella butleri* también mostraron potencial de control en contra de *M. exigua*. Ninguna de las cepas cumple con lo establecido para considerarla con actividad nematicida contra juveniles de *M. incognita*. Además, *P. lilacinus* y *F. oxysporum* mostraron capacidad para parasitar huevos de las dos especies de *Meloidogyne* evaluadas. *T. asperellum* y *T. spirale* parasitaron huevos de *M. incognita*, mientras que *M. megalosporum* parasitó un 56% de los huevos de *M. exigua*. Estos resultados deben ser confirmados con pruebas en campo, estudiar posibles metabolitos producidos por estos hongos, evaluar la posibilidad de mejoramiento genético de los mismos y estudiar los genes involucrados en su capacidad para parasitar nematodos.

Keywords

Nematophagous fungi; biological control; *Meloidogyne*, *Radopholus similis*.

Abstract

The search of alternative strategies to the use of nematicides to control plant parasitic nematodes is a major issue today. On this matter there has been a growing interest in the effectiveness of biological control using nematophagous fungi. Therefore, the objective of this research was to determine the predatory capacity of several fungal strains were isolated from soil from plantations located in the Región Huasteca Norte. To reach this goal, laboratory experiments were established to evaluate the *in vitro* mortality of individuals of *Radopholus similis*, *Meloidogyne incognita* and *M. exigua*, in the presence of each one of these fungal strains. According to the criteria, *Hypocrea virens* and *Penicillium janthinellum* strains had no predatory activity against the nematode species tested. *Monacrosporium megalosporum*, *Trichoderma spirale* and *T. asperellum* 2 strains showed nematicide activity against *R. similis* and *M. exigua*. Meanwhile, *Gliocladium roseum* and *Fusarium oxysporum* showed predatory activity against *R. similis*, only. Furthermore, *T. asperellum* and *Gongronella butleri*, showed potential for controlling *M. exigua*. None of the strains had the capability to control *M. incognita*. Moreover, *P. lilacinus* and *F. oxysporum* showed the capability to parasitize the eggs of both *Meloidogyne* species tested. In the same way, the eggs of *M. incognita* were parasitized by *T. asperellum* and *T. spirale*, and 56% of the eggs of *M. exigua* were parasitized by *M. megalosporum*. These results should be confirmed by field tests. It is also important, to study the secondary metabolites produced by

these fungi, evaluate the possibility of genetic improvement and study the mechanisms involved in their nematode predatory capacity.

Introducción

Los nematodos fitófagos se encuentran entre los parásitos que causan más impacto en el rendimiento de plantaciones a nivel mundial. Muchos cultivos de importancia comercial son afectados por nematodos, los cuales, además de parasitar las raíces, predisponen a la planta a infecciones por bacterias, hongos y virus [1].

Costa Rica no es ajena a esta realidad, entre los cultivos de importancia económica afectados por nematodos en el país se encuentran el café, el banano y el tomate; en estos dos últimos el uso de nematicidas sintéticos de uso restringido por su toxicidad, es común [2] [3].

En Latinoamérica *Radopholus similis* es el nematodo de mayor importancia en la mayoría de las plantaciones comerciales de banano, que junto con otros nematodos, son los responsables del deterioro gradual del sistema radical de las plantas, siendo el segundo problema fitosanitario del cultivo, ya que provocan pérdidas económicas estimadas entre el 10 y 50% [4] [5].

Por otro lado, en el cultivo del tomate el nematodo de mayor importancia en las plantaciones costarricenses es *Meloidogyne*, varias especies de este nematodo pueden reducir el rendimiento de una plantación hasta en un 68%, afectando la cantidad y calidad de los frutos [6]. La reducción del rendimiento puede causar que los costos de producción superen los ingresos económicos [7].

El café es otro cultivo afectado por varias especies de nematodos, siendo *Meloidogyne exigua* uno de los más importantes en Centroamérica [8]. Este nematodo produce en plantas susceptibles raíces más cortas, reduciendo el rendimiento hasta en un 55%, además se le atribuye la disminución en el rendimiento de las plantaciones de Río de Janeiro, en Brasil [9].

Como se mencionó anteriormente, en estos cultivos el control de nematodos se realiza con nematicidas sintéticos que son altamente tóxicos, y que por sus efectos en la salud y el ambiente, se ha restringido su uso y en algunos casos han sido removidos del mercado [10] [4].

El desarrollo de alternativas al uso de plaguicidas ha sido una prioridad para los investigadores durante los últimos años. En esta línea, ha habido un creciente reconocimiento de la función de algunos enemigos naturales para combatir los nematodos parásitos de las plantas, entre ellos, el control biológico por medio de hongos nematófagos el cual ha demostrado tener potencial para ser integrado en los programas de manejo [11] [12].

A pesar de haber demostrado su potencial, en las investigaciones sobre el uso de hongos nematófagos se han obtenido resultados variables, y aunque se han realizado numerosas investigaciones, solamente se han estudiado en detalle un reducido grupo de especies, de las cuales muy pocas se han desarrollado como productos para el control biológico [12]. En [13], atribuyen estas limitaciones al escaso conocimiento sobre la biología y ecología de los hongos, que son determinantes para establecer los factores clave que afectan su eficacia como agentes biocontroladores, y proponen realizar más investigación para reducir la falta de información.

En Costa Rica, la diversidad de hongos existente en los ecosistemas naturales y agrícolas del país, es indicadora del potencial para utilizar los nematófagos como medio de control biológico, y la capacidad de cepas de hongos para controlar nematodos ya ha sido demostrada [14] [15].

Por estas razones, el objetivo de la presente investigación fue determinar la capacidad nematófaga de diez cepas de hongos sobre los fitonematodos *Meloidogyne exigua*, *Meloidogyne incognita* y *Radopholus similis*, mediante un ensayo *in vitro*, los resultados obtenidos serán el

punto de partida para la realización de investigaciones posteriores en campo y laboratorio, que permitan el desarrollo de productos eficientes e inocuos para el control de nematodos.

Materiales y métodos

Selección y reactivación de los hongos

Las cepas de los hongos que fueron objeto de este estudio se aislaron del suelo de plantaciones de piña, plátano y arroz en la Región Huetar Norte, en el año 2010. Las mismas habían sido identificadas a nivel de género por sus características morfológicas y se mantenían almacenadas en aceite mineral.

Una selección de veinte de estas cepas fue reactivada y colocada en medio PDA para su crecimiento y multiplicación según la metodología propuesta por [16]. Se procuró incluir hongos aislados de todos los cultivos, y se evitó incluir cepas que podrían tratarse de duplicados (hongos aislados de una misma plantación y pertenecientes al mismo género).

Seguidamente y antes de iniciar los ensayos, un duplicado de cada hongo fue enviado al Laboratorio de Técnicas Moleculares Aplicadas a la Fitoprotección, del Centro de Investigaciones en Protección de Cultivos, de la Universidad de Costa Rica, para confirmar su identidad mediante secuenciación de una región del gen ITS.

Entre las cepas reactivadas, diez fueron seleccionadas para estudiar su patogenicidad sobre los nematodos (cuadro 1), la selección se realizó tomando en cuenta la diversidad de cultivos y lugares de muestreo de los que provinieran. Además, únicamente se probaron hongos en los que se logró confirmar la identificación morfológica a través de técnicas moleculares.

Cuadro 1. Hongos aislados de plantaciones de piña, plátano y arroz en la Región Huetar Norte, y que fueron seleccionados para evaluar su potencial nematófago en pruebas *in vitro*.

Hongo	Cultivo	Lugar de muestreo
<i>Hypocrea virens</i>	piña	Pital
<i>Penicillium janthinellum</i>	piña	Guatuso
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	plátano	Fortuna
<i>Gliocladium roseum</i>	piña	Guatuso
<i>Trichoderma asperellum</i>	plátano	Fortuna
<i>Monacrosporium megalosporum</i>	plátano	Fortuna
<i>Fusarium oxysporum</i>	piña	Guatuso
<i>Trichoderma spirale</i>	piña	Pital
<i>Trichoderma asperellum 2</i>	piña	Guatuso
<i>Gongronella butleri</i>	piña	Talamanca

Establecimiento de poblaciones de nematodos

Previo a la preparación de las pruebas de patogenicidad se establecieron poblaciones puras de *Radopholus similis*, *Meloidogyne incognita* y *M. exigua*. Las poblaciones de *R. similis* se establecieron en discos estériles de zanahoria (*Daucus carota*) según la metodología

propuesta por [17], los discos de zanahoria con la población inicial fueron proporcionados por el Laboratorio de Nematología de la Corporación Bananera Nacional.

Por otro lado, las poblaciones de *M. incognita* y *M. exigua* fueron establecidas en plántulas de tomate y café respectivamente que fueron inoculadas con huevos obtenidos de plantaciones infectadas.

Una vez establecidas las poblaciones, la identidad de las especies fue confirmada por análisis molecular mediante PCR-RFLP, utilizando el protocolo descrito por [18].

Durante la realización de las pruebas de patogenicidad se prepararon suspensiones de nematodos y huevos a partir de las poblaciones establecidas. Los discos de zanahoria se lavaron con agua destilada estéril, y por otro lado, de las raíces de tomate y café fueron extraídos y a la vez desinfectados huevos y juveniles de *M. incognita* y *M. exigua* separadamente, con una solución de NaOHCl al 0,5% según la metodología propuesta por [19].

Pruebas de patogenicidad

Las pruebas de patogenicidad se realizaron utilizando la metodología descrita por [14]. Platos petri con agar agua fueron inoculados con 200 µl de una solución de esporas (5 000 a 7 500 esporas/µl), que fue distribuida en toda la placa con una espátula de Drigalski.

Los platos Petri se incubaron por cuatro días a 25°C y fotoperiodo de 12 horas. Transcurridas 96 horas, se depositó 0,5 ml de una suspensión conteniendo 150 individuos y 100 huevos del nematodo de interés. Las cajas se incubaron por cuatro días más en oscuridad a 25°C.

Pasado este tiempo se evaluó cada plato petri en un microscopio Olympus BX 51 para verificar la capacidad depredadora de cada aislamiento mediante la presencia de individuos muertos y huevos parasitados, y se calculó el porcentaje de mortalidad en cada repetición.

Para cada hongo y especie de nematodo se prepararon 10 repeticiones. Además se prepararon 5 platos inoculados con el hongo y cinco platos control (sólo con nematodos y huevos).

Cada prueba fue trabajada de forma individual tanto para cada hongo como para cada especie de nematodo. Todas las pruebas se realizaron de forma independiente por tal razón no se realizaron comparaciones entre ellas.

Basado en resultados obtenidos por otros autores se consideró como hongos con potencial nematófago para controlar *M. incognita*, *M. exigua* o *R. similis* aquellos que cumplieran lo siguiente:

1. Porcentajes de mortalidad de nematodos significativamente mayores que las de su respectivo testigo, según las pruebas estadísticas.
2. Porcentaje de mortalidad sobre los nematodos o porcentaje de huevos parasitados mayor a un 50%.

Para determinar diferencias entre el porcentaje de mortalidad del tratamiento y el de su respectivo control, se realizó un análisis de varianza entre objetos de un solo factor.

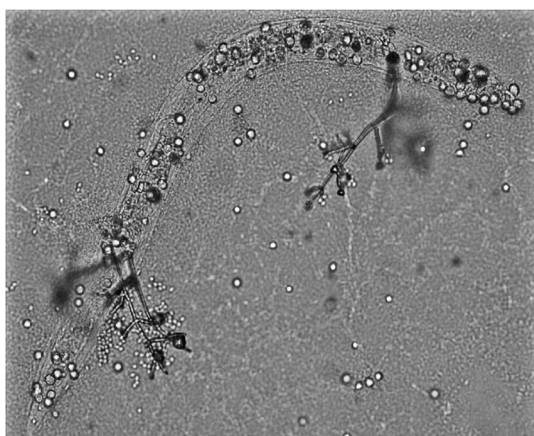
Resultados y discusión

Según los criterios establecidos en la metodología, para establecer el potencial nematófago de los hongos, las cepas de *H. virens* y *P. janthinellum* no presentaron actividad nematocida contra ninguna de las especies de nematodos (cuadro 2, 3 y 4).

M. megalosporum, *T. spirale* y *T. asperellum 2* presentaron actividad nematocida en las pruebas realizadas contra *R. similis* y *M. exigua*. Mientras que *G. roseum* y *F. oxysporum* mostraron actividad únicamente en contra de *R. similis* (cuadros 2 y 3, figura 1).

Cuadro 2. Porcentajes de mortalidad estimados de *Radopholus similis*, en pruebas *in vitro*, con hongos nematófagos aislados de plantaciones de piña, plátano y arroz en la Región Huetar Norte (Valores con asterisco (*) son significativamente mayores que el testigo ($p < 0,05$)).

Hongo	Porcentaje	
	nematodos muertos	nematodos muertos en el testigo
<i>Hypocrea virens</i>	21,0	9,4
<i>Penicillium janthinellum</i>	31,6	27,2
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	37,2*	14,0
<i>Gliocladium roseum</i>	54,1*	31,8
<i>Trichoderma asperellum</i>	45,2*	24,2
<i>Monacrosporium megalosporum</i>	76,4*	35,8
<i>Fusarium oxysporum</i>	72,0*	48,4
<i>Trichoderma spirale</i>	59,7*	35,1
<i>Trichoderma asperellum 2</i>	71,3*	47,1
<i>Gongronella butleri</i>	38,3	25,5



A



B

Figura 1. Individuos de *Radopholus similis* parasitados por aislamientos de *Trichoderma asperellum* proveniente de una plantación de piña en la localidad de Guatuso (A) y *Monacrosporium megalosporum* proveniente de una plantación de plátano en la localidad de La Fortuna (B) (Fotos Laboratorio de Nematología, ITCR, San Carlos, 2014).

En las pruebas realizadas contra *Radopholus similis*, las cepas de *Monacrosporium megalosporum*, *Trichoderma asperellum 2* y *Fusarium oxysporum*, evaluadas demuestran un potencial para el control de este nematodo con porcentajes de mortalidad mayores al 70%.

Además de *M. megalosporum*, *T. spirale* y *T. asperellum 2*, *T. asperellum* y *G. butleri* también mostraron potencial de control en contra de *M. exigua*, estos dos últimos no mostraron actividad nematocida en las pruebas realizadas con *R. similis* y *M. incognita*.

Cuadro 3. Porcentajes de mortalidad estimados de *Meloidogyne exigua*, en pruebas *in vitro*, con hongos nematófagos aislados de plantaciones de piña, plátano y arroz en la Región Huetar Norte (Valores con asterisco (*) son significativamente mayores que el testigo ($p < 0,05$)).

Hongo	Porcentaje		
	nematodos muertos	nematodos muertos en el testigo	huevos parasitados
<i>Hypocrea virens</i>	47,2	39,2	29,9
<i>Penicillium janthinellum</i>	58,1	48,9	33,6
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	66,7	60,5	73,9
<i>Gliocladium roseum</i>	72,0	87,8	0
<i>Trichoderma asperellum</i>	60,3*	48,3	36,4
<i>Monacrosporium megalosporum</i>	50,3*	34,8	56,8
<i>Fusarium oxysporum</i>	60,0	53,5	53,7
<i>Trichoderma spirale</i>	71,0*	57,2	18,8
<i>Trichoderma asperellum</i>	66,7*	46,2	46,1
<i>Gongronella butleri</i>	58,6*	45,0	48,3

Ninguna de las cepas cumple con lo establecido para considerarla con actividad nematocida contra juveniles de *M. incognita*, únicamente con *T. asperellum 2* se obtuvieron porcentajes de mortalidad significativamente mayores que los del testigo, sin embargo, este porcentaje no alcanza el 50%, es de apenas un 43% (cuadro 4).

Por otro lado, *P. lilacinus* y *F. oxysporum* mostraron capacidad para parasitar huevos de las dos especies de *Meloidogyne* evaluadas. Además, *T. asperellum* y *T. spirale* parasitaron un porcentaje de huevos de *M. incognita* mayor al 70%, y *M. megalosporum* parasitó un 56% de los huevos de *M. exigua* (figura 2).

En las pruebas realizadas contra *Meloidogyne incognita* y *M. exigua*, es notable el porcentaje de parasitación de huevos observado en las pruebas realizadas con *Paecilomyces lilacinus* y *Trichoderma asperellum*, mayores al 80%, además de que se observaron altos porcentajes de mortalidad de juveniles en las pruebas realizadas con *Trichoderma spirale*, *Trichoderma asperellum* y *Fusarium oxysporum*.

Los porcentajes de mortalidad obtenidos en estos ensayos están cercanos a los determinados en ensayos similares. Por ejemplo [20] determinaron porcentajes de parasitación de *P. lilacinus* sobre masas de huevos de *Meloidogyne javanica*, entre 45 y 52% después de tres semanas de inoculación.

Cuadro 4. Porcentajes de mortalidad estimados de *Meloidogyne incognita*, en pruebas *in vitro*, con hongos nematófagos aislados de plantaciones de piña, plátano y arroz en la Región Huetar Norte (valores con asterisco (*)

son significativamente mayores que el testigo ($p < 0,05$).

Hongo	Porcentaje		
	nematodos muertos	nematodos muertos en el testigo	huevos parasitados
<i>Hypocrea virens</i>	3,0	2,5	4,3
<i>Penicillium janthinellum</i>	5,8	6,0	0
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	15,2	15,2	84,3
<i>Gliocladium roseum</i>	10,7	11,8	31,0
<i>Trichoderma asperellum</i>	15,7	12,4	82,6
<i>Monacrosporium megalosporum</i>	24,8	17,2	24,0
<i>Fusarium oxysporum</i>	42,9	35,6	52,8
<i>Trichoderma spirale</i>	42,7	32,8	73,3
<i>Trichoderma asperellum*</i>	42,9	27,8	38,3
<i>Gongronella butleri</i>	26,8	28,5	1,1

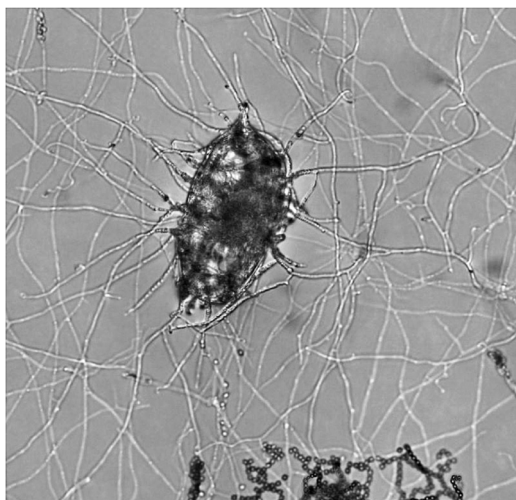


Figura 2. Huevo de *Meloidogyne incognita* parasitado por un aislamiento de *Paecilomyces lilacinus* proveniente de una plantación de plátano en la localidad de La Fortuna. (Fotos Laboratorio de Nematología, ITCR, San Carlos, 2014).

[14] también obtuvieron porcentajes de mortalidad-parasitación mayores al 60% con dos cepas de *Monacrosporium* y *Trichoderma*, y porcentajes de parasitación de huevos cercanos al 50% con tres diferentes cepas de *P. lilacinus*, una de *F. oxysporum* y varias de *Trichoderma*.

También [21], determinaron porcentajes de parasitación de *T. viride* y *P. lilacinus* sobre *M. incognita* de 60% y 25% respectivamente en pruebas *in vitro*. Además ambos hongos disminuyeron la eclosión en más de un 40% y *P. lilacinus* parasitó el 70% de los huevos después de una semana de realizada la inoculación

Todos los hongos estudiados en esta investigación que tienen potencial para el control de nematodos ya han sido reportados como hongos nematófagos por otros autores, a excepción de *Gongronella butleri*.

Trichoderma ha sido ampliamente estudiado y se reconoce como parasitador de nematodos y otros organismos, siendo un hongo antagonista muy agresivo. Cepas específicas se han utilizado en el control de otros hongos, insectos y además nematodos [22]. Se cree que su capacidad de controlar nematodos se debe a la producción de nematotoxinas, tales metabolitos ya han sido aislados [23] [24].

Monacrosporium es reconocido por ser un hongo que forma trampas que le permiten parasitar nematodos vivos, la formación de trampas es estimulada por condiciones ambientales o compuestos liberados por los nematodos [25], además se ha determinado que también produce proteasas con efecto nematocida [26].

La capacidad de *Fusarium oxysporum* de parasitar nematodos también se basa en la producción de compuestos nematotóxicos, mismos que ya han sido aislados y probados para el control de diversas especies de nematodos [27] [28]. Además tiene la ventaja de comportarse como un hongo endofítico, por lo que su actividad ya ha sido comprobada contra nematodos endoparásitos [29].

Paecilomyces lilacinus es uno de los hongos más utilizados para control biológico, y ha sido ampliamente estudiado como parasitador de huevos de nematodos [30], su efecto se basa en su capacidad quitinolítica que destruye la quitina en la cubierta de los huevos de los nematodos [31], además se han aislado compuestos nematocidas de algunas cepas [32].

Gliocladium roseum y *Gongronella butleri*, son hongos sin actividad nematocida reconocida. De algunas cepas de *G. roseum*, se han aislado compuestos nematocidas [32] [33]. En el caso de *G. butleri* se conoce que produce una gran cantidad de quitosano, que se utiliza en agricultura como estimulante del crecimiento y la inmunidad, sin embargo las referencias a su capacidad nematocida son casi nulas [34].

Conclusiones

Entre los hongos evaluados, únicamente las cepas de *Hypocrea virens* y *Penicillium janthinellum* no presentaron actividad nematocida en ninguna de las pruebas.

Las cepas evaluadas de *Monacrosporium megalosporum*, *Trichoderma* spp., *Fusarium oxysporum* y *Paecilomyces lilacinus*, demostraron buen potencial para el control de diferentes estadios de *Meloidogyne* incognita, *M. exigua* y *Radopholus similis*.

Los porcentajes obtenidos de mortalidad y parasitación de huevos, son similares a los apuntados en estudios similares, además se logró determinar causalidad entre la mortalidad y parasitación de los nematodos y la presencia de las cepas evaluadas.

El potencial demostrado por estas cepas para el control de nematodos debe ser probado en posteriores investigaciones en invernadero y campo. Según [30] [26] [35] es indiscutible la importancia de las pruebas *in vitro* para aislar los factores que pudieran afectar el establecimiento de relaciones de causalidad, pero, una vez establecida tal causalidad es necesario realizar pruebas en el campo, ya que la temperatura, la densidad de inóculo, las fuentes de carbono y otras condiciones afectan directamente la eficiencia de los hongos nematófagos como controladores.

Por otro lado, las pruebas *in vitro* realizadas aportan importante información, que puede ser utilizada con ayuda de técnicas moleculares, para la obtención de hongos más patogénicos. Como ya lo apuntan otros autores [36], es posible de desarrollar cepas altamente eficientes en el control, y resistentes a diferentes condiciones ambientales, además de identificar los genes relacionados con la patogenicidad que permitan entender mejor los mecanismos moleculares y evolucionarios de la interacción hongos-nematodos.



Bibliografía

- [1] S. Casas-Flores & A. Herrera-Estrella, "Antagonism of Plant Parasitic Nematodes by Fungi". En C. P. Kubicek, I. S. Druzhinina, & K. Esser (Ed.), *The Mycota: Environmental and Microbial Relationships* (Vol. 4, págs. 147-158). Berlin: Springer Science & Business Media. 2007.
- [2] M. Araya & T. Moens, "Los nematodos parásitos de *Musa* AAA (Subgrupo Cavendish cvs. "Grand Nain", "Valery" y "Williams")", en D. W. Turner, & F. E. Rosales (Ed.), Simposio Internacional: Sistema radical del banano: hacia un mejor conocimiento para su manejo productivo. San José, 2003, pp. 57.
- [3] V. Bravo, E. de la Cruz *et al.*, "Uso de plaguicidas en cultivos agrícolas como herramienta para el monitoreo de peligros en salud", *Uniciencia*, vol.27, no.1, pp. 351-376, 2013.
- [4] L. A. Pocasangre *et al.*, "Hongos endofíticos como agentes de control de fitonematodos en banano", en *XVII Reunión Internacional para la Cooperación de la Investigación en Banano en el Caribe y América Tropical. Banano un negocio sustentable*, Santa Catarina. 2006, pp. 249-254.
- [5] C. A. Gauggel *et al.*, "La problemática del deterioro radical del banano y su impacto en la producción: Experiencia en América Latina". En D. W. Tuner, & F. E. Rosales (Ed.), *Sistema Radical del Banano: hacia un mejor conocimiento para su manejo productivo*. Memorias de un Simposio Internacional, San José. 2003, pp. 13.
- [6] M. Moens *et al.*, "*Meloidogyne* species – a diverse group of novel and important plant parasites". En CAB International, R. N. Perry, M. Moens, & J. L. Starr (Edits.), *Root knot nematodes*. Wallingford, UK, 2009, pp. 1-17.
- [7] W. Salazar & T. Guzman, "Efecto de poblaciones de *Meloidogyne* sp. en el desarrollo y rendimiento del tomate". *Agronomía Mesoamericana*, vol.24, no.2, pp. 419-426, 2013.
- [8] V. P. Campos & L. Villain, "Nematode parasites of coffee and cocoa". En M. Luc, R. A. Sikora, & J. Bridge (Edits.), *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture* (Segunda ed., págs. 529-579). CAB International. 2005.
- [9] D. H. Barbosa *et al.*, "Effect of graft and *Meloidogyne exigua* (nemata) infestation on coffee's root growth and yield", *Coffee Science*, vol.9, no.4, pp. 427-434, 2014.
- [10] G. Saxena, "Biocontrol of nematode-borne diseases in vegetable crops". En K. G. Mukerji (Ed.), *Fruit and Vegetable Diseases*, Springer Netherland, 2004, pp. 397-450.
- [11] L. V. López *et al.*, "Mode of action and interactions of nematophagous fungi". En A. Ciancio, & K. G. Mukerji (Edits.), *Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crops nematodes*, Springer Netherlands, 2008, pp. 51-76.
- [12] L. Gómez & L. Hidalgo, "Hongos nematófagos como agentes de control biológico". *Revista de Protección Vegetal*, vol.15, no.1, pp. 1-6, 2000.
- [13] H. Jansson & L. V. López, "Control of nematodes by fungi". En D. K. Arora (Ed.), *Fungal biotechnology in agricultural, food, and environmental applications*, Marcel Dekker, Inc., 2004, pp. 205-215.
- [14] W. Peraza *et al.*, "Evaluación *in vitro* de hongos nematófagos en zonas arroceras de Costa Rica contra el nematodo agallador *Meloidogyne javanica*", *Agronomía Costarricense*, vol.38, no.2, pp. 19-32, 2014.
- [15] N. Soto *et al.*, "In-vitro predatory activity of nematophagous fungi from Costa Rica with potential use for controlling sheep and goat parasitic nematodes", *Revista de Biología Tropical*, vol.59, no.1, pp. 37-52, 2011.
- [16] R. A. Humber, "Fungi: Preservation of Cultures", en L. Lacey (Ed.), *Manual of Techniques in Insect Pathology*, Academic Press, pp. 269-278, 1997.
- [17] D. T. Kaplan & E. L. Davis, "Improved nematode extraction from carrot disk culture", *Journal of Nematology*, vol.22, no.3, pp. 399, 1990.
- [18] T. O. Powers & T. S. Harris, "A polymerase chain reaction method for identification of five major *Meloidogyne* species", *Journal of Nematology*, vol.25, no.1, pp. 1-6, 1993.
- [19] K. R. Barker, "Nematode extraction and bioassays. An advanced treatise on *Meloidogyne*", en K. R. Barker, C. C. Carter, & J. N. Sasser (Edits.), *Dept. of plant pathology*, North Carolina State University, 1985.
- [20] A. A. Mokbel & A. A. Alharbi, "Suppressive effect of some microbial agents on root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* infected eggplant", *Australian Journal of Crop Science*, vol.8, no.10, pp. 1428-1434, 2014.
- [21] B. K. Goswami & A. Mittal, "Management of root-knot nematode infecting tomato by *Trichoderma viride* and *Paecilomyces lilacinus*", *Indian Phytopathology*, vol.57, no.2, pp. 235-236, 2004.
- [22] R. Hermosa *et al.*, "Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes", *Microbiology*, vol.158, no.1, pp. 17-25, 2012.

- [23] T. Benítez *et al.*, "Biocontrol mechanism of *Trichoderma* strains", *International Microbiology*, vol.7, no.4, pp. 249-260, 2004.
- [24] Z. Yang *et al.*, "Nematicidal effect of volatiles produced by *Trichoderma* sp.", *Journal of Asia-Pacific Entomology*, vol.15, no.4, pp. 647-560, 2012.
- [25] K. M. Andersson *et al.*, "Characterization of the proteome of the nematode-trapping cells of the fungus *Monacrosporium haptotylum*", *Applied and environmental microbiology*, vol.79, no.16, pp. 4993-5004, 2013.
- [26] F. E. Soares *et al.*, "In vitro activity of a serine protease from *Monacrosporium thaumasium* fungus against first-stage larvae of *Angiostrongylus vasorum*", *Parasitology Research*, vol.110, no.6, pp.2423-2427, 2012.
- [27] H. R. Kwon *et al.*, "Nematicidal activity of bikaverin and fusaric acid isolated from *Fusarium oxysporum* against pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*", *The Plant Pathology Journal*, vol.23, no.4, pp. 318-321, 2007.
- [28] A. Shimada *et al.*, "Nematicidal activity of beauvericin produced by the fungus *Fusarium bulbicola*", *Journal of biosciences*, vol.65, no.3, pp. 207-210, 2010.
- [29] A. A. Dababat & R. A. Sikora, "Influence of the mutualistic endophyte *Fusarium oxysporum* 162 on *Meloidogyne incognita* attraction and invasion", *Nematology*, vol.9, no.6, pp. 771-776, 2007.
- [30] S. Kiewnick & R. A. Sikora, "Evaluation of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 for the biological control of the northern root-knot nematode *Meloidogyne hapla* Chitwood", *Nematology*, vol.8, no.1, pp. 69-78, 2006.
- [31] Y. Xiujuan *et al.*, "Chitinases by *Paecilomyces lilacinus* and its studies in biocontrol of plant parasitic nematodes", *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, vol.22, no.1, pp. 86-89, 2000.
- [32] G. Li *et al.*, "Nematicidal substances from fungi", *Recent Patents on Biotechnology*, vol.1, no.3, pp. 212-233, 2007.
- [33] J. Y. Dong *et al.*, "Nematicidal epipolysulfanyldioxopiperazines from *Gliocladium roseum*", *Journal of natural products*, vol.68, no.10, pp. 1510-1513, 2005.
- [34] N. Nwe & W. F. Stevens, "Production of fungal chitosan by solid substrate fermentation followed by enzymatic extraction", *Biotechnology letters*, vol.24, no.2, pp. 131-134, 2002.
- [35] E. Pathak *et al.*, "Use of real-time PCR to discriminate parasitic and saprophagous behaviour by nematophagous fungi", *Fungal biology*, vol.116, no.5, pp. 563-573, 2012.
- [36] J. Yang *et al.*, "Genomic and proteomic analyses of the fungus *Arthrobotrys oligospora* provide insights into nematode-trap formation", *PLoS pathogens*, vol.7, no.9, pp. 1-12, 2011.

Establecimiento de calogénesis somática en *Plantago major* e identificación de compuestos con actividad biológica

Identification of biological-active compounds in somatic callus cultures in *Plantago major*

Karol Jiménez-Quesada¹, Giovanni Garro-Monge²

Fecha de recepción: 26 de mayo de 2016

Fecha de aprobación: 13 de agosto de 2016

Jiménez-Quesada, K; Garro-Monge, G. Establecimiento de calogénesis somática en *Plantago major* e identificación de compuestos con actividad biológica. *Tecnología en Marcha*. Vol. 30-1. Enero-Marzo 2017. Pág 38-48.

DOI: 10.18845/tm.v30i1.3063

1 Centro de investigación en Biotecnología (CIB), Instituto Tecnológico de Costa Rica.
Correo electrónico: kjimenez@itcr.ac.cr

2 Centro de investigación en Biotecnología (CIB), Instituto Tecnológico de Costa Rica.
Correo electrónico: ggarro@itcr.ac.cr



Palabras clave

Aucubina; compuestos bioactivos; cultivos celulares; embriogénesis somática; iridoides; *Plantago major*; verbascósidos.

Resumen

Ante el creciente interés en el aprovechamiento de las propiedades de las plantas medicinales, el estudio de compuestos bioactivos de las mismas se convierte en un campo de investigación interesante y novedoso, con el cual se busca relacionar y comprender la sinergia entre las sustancias naturales y su impacto positivo sobre la salud humana. Una importante utilidad del establecimiento de cultivos celulares es justamente que éstos ofrecen la oportunidad de analizar a nivel bioquímico el aprovechamiento industrial o clínico que tiene una determinada especie debido a la presencia de ciertos compuestos en sus órganos, con la posibilidad de producirlos a nivel celular e in vitro. En este trabajo se logró la inducción de callogénesis somática partir de la germinación de semillas in vitro de *Plantago major*, las cuales fueron desinfectadas utilizando un protocolo previamente establecido. Luego se tomaron explantes de hoja (1.0-1,5 cm²) de las vitro plantas y fueron cultivados en medio semi-sólido (M&S), para lo cual se generó una matriz de 28 tratamientos que combinaban diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento (2,4-D y TDZ) en medio M&S. A partir de esta matriz se seleccionaron 3 medios de cultivo (M14, M27 y M28) con los mejores resultados tanto en la inducción de callogénesis como para embriogénesis somática. Para la identificación y cuantificación de los compuestos bioactivos presentes en los extractos liofilizados de callos, se realizaron análisis de dos estándares para comprobar su efectividad como marcadores químicos en la cuantificación de verbascósidos e iridoides con base en aucubina en *P. major*. Los extractos hidro-alcohólicos crudos de *P. major*, fueron elaborados según los protocolos establecidos por la empresa Laboratorios Lisan. Los mismos se prepararon en una concentración de 10% p/v utilizando etanol al 95%. Con el análisis mediante HPLC para ambos marcadores se generaron señales con línea base estable y buena resolución, siendo más efectivo el de verbascósido, por lo que se continuó con las pruebas necesarias para lograr establecer un protocolo de cuantificación en extractos provenientes de los callos generados. La metodología establecida para la detección y cuantificación de los metabolitos bioactivos en este sistema de callogénesis somática, aún debe ser depurada con base en un solvente de extracción que otorgue estabilidad a los extractos en un período de tiempo determinado.

Keywords

Plantago major; cell cultures; somatic embryogenesis; bioactive compounds; aucubin; verbascoside; iridoids.

Abstract

With growing interest in the use of the properties of medicinal plants, the study of bioactive compounds thereof becomes a field of exciting new research, which seeks to relate and understand the synergy between natural substances and their positive impact on human health. An important utility of establishing cell cultures is precisely that they offer the opportunity to analyze the biochemical level industrial or clinical use having a given species due to the presence of certain compounds in their bodies with the ability to produce them at the cellular level and in vitro. In this work the induction of somatic callus formation from seed germination of *Plantago major* was achieved in vitro, which were disinfected using a previously established

protocol. Then leaf explants (1.0-1.5 cm²) of plants were taken *in vitro* and cultured in semi-solid medium (M&S), for which a matrix of 28 treatments combining different concentrations of growth regulators (2,4-D and TDZ) in M&S medium. From this matrix 3 medium cultures (M14, M27 and M28) with the best results in the induction of callus formation as somatic embryogenesis were selected. For identification and quantification of bioactive compounds present in the extracts lyophilized callus analysis of two standards were performed to test their effectiveness as chemical markers in quantifying verbascosides and iridoids aucubin based on *P. major*. Hydro-alcoholic extracts of raw *P. major*, were prepared according to the protocols established by the company Laboratorios Lisan. They were prepared at a concentration of 10% w/v using 95% ethanol. With HPLC analysis for both markers signals with stable baseline and good resolution they were generated, being the most effective of verbascósido, so we continued with the evidence necessary to achieve establish a protocol of quantification in extracts from corns established. The established methodology for the detection and quantification of bioactive metabolites in this system can be refined based on an extraction solvent that gives stability to the extracts in a determined time period.

Introducción

La especie *Plantago major* es una planta herbácea, procedente de la familia Plantaginaceae. Se caracteriza por poseer una altura aproximada de 15 cm, con hojas en forma de roseta ovaladas hasta elípticas; presenta inflorescencias tipo espigas en colores del café al verde que dan origen a gran cantidad de semillas diminutas, alrededor de 20 mil por planta, contenidas en cápsulas [1]. En la semilla se ha determinado la presencia de triterpenos, iridoides, aceites fijos, alcaloides monoterpénicos y carbohidratos. Además, se conoce de la presencia de otros compuestos, principalmente en órganos aéreos, como es el caso de alcaloides como la plantagonina, flavonoides como luteolinas, hispidulinas, baicaleina, plantaginina y homoplantaginina, algunos de los cuales tienen propiedades antioxidantes; los glicósidos iridoides como la aucubina, se consideran responsables tanto de la capacidad antiinflamatoria como de la acción antiespasmolítica [2]-[3].

En el seguimiento de investigaciones acerca de esta especie y su potencial para la producción de compuestos bioactivos, la técnica de inducción de cultivos celulares se plantea como una prometedora opción para el estudio a nivel celular de la presencia de estos compuestos y la posibilidad de su producción a mayor escala. Con el uso de la técnica de cultivos celulares, se minimiza el gasto energético de regenerar plantas completas y se incrementa el nivel de asepsia del manejo de los compuestos de interés farmacológico. Este modelo facilita la realización de estudios *in vitro* con independencia de los factores climatológicos que afectan las condiciones de producción de los compuestos a nivel del desarrollo fenológico de las plantas. Además bajo esta técnica, los compuestos de interés presentes bajo estas condiciones “celulares” pueden ser identificados, estudiados y cuantificados, con el apoyo de técnicas cromatográficas y espectrofotométricas sin la interrupción o ruido químico que representa la clorofila y los demás componentes propios de una planta.

Para el caso específico de *P. major* y *P. lanceolata*, ambas son especies empleadas en el tratamiento de cicatrización de heridas, abscesos y acné; internamente para el tratamiento de la diabetes, infecciones urinarias, cáncer, infecciones virales, entre otras. En general, el género *Plantago* sp. se caracteriza por su actividad antitumoral, antiinflamatoria, antifúngica, antibacteriana, analgésica, antiespasmódica, antiviral y hepatoprotector. Las propiedades mencionadas podrían aprovecharse para combatir uno de los principales problemas de salud actuales, el cáncer, que se define como una proliferación celular incontrolada, y que, como se mencionó, es una enfermedad grave que amenaza a la salud humana con una morbilidad

y mortalidad considerables, razón por la cual, las investigaciones sobre los compuestos antioxidantes con potencial para tratar este mal adquieren gran relevancia [4].

Este trabajo tuvo por objetivo generar una exploración inicial y sistematizada en el estudio y detección de los compuestos bioactivos de *P. major* por medio del establecimiento de un sistema de callogénesis somática. Así mismo se logró la implementación de una metodología estandarizada para la preparación de extractos a partir de callos liofilizados de *P. major* en los cuales se pueda detectar la presencia de los principales compuestos bioactivos con propiedades cicatrizantes y antimicrobianas.

Metodología

Germinación de semillas provenientes de campo: Las semillas requeridas para la introducción *in vitro* del material fueron facilitadas por Laboratorios Lisan, a partir del material de campo con el que cuentan para su Departamento de Investigación y Desarrollo. El protocolo de desinfección de semillas se estableció a partir del elaborado por Garro y Alvarenga [3] y consistió en los siguientes pasos: Se extrajeron las semillas de la cubierta externa, se lavaron con agua destilada y 2 gotas del producto comercial Tween 20, durante 15 minutos en agitación; posteriormente se colocaron en una solución de Agrymycin® y Benlate® en concentración de 1 g/l de cada uno, durante 30 minutos en agitación; en cámara de flujo laminar se lavó las semillas con agua destilada estéril para ser trasladadas a una solución de hipoclorito de sodio (3.5% i.a.) al 85% durante 40 minutos en agitación, finalmente se lavaron con agua destilada estéril y se introdujeron en un medio de cultivo semisólido con sales y vitaminas M&S [5] al 50%, suplementado con 3% m/v de sacarosa y pH 5,7. Por otra parte, el medio de multiplicación también semisólido se compuso de sales y vitaminas M&S [5] al 100 %, con 3% m/v de sacarosa y pH 5,7.

Establecimiento de cultivos celulares: El establecimiento de cultivos celulares de *P. major* se realizó a partir de explantes de 1 cm² de hoja *in vitro* joven, colocando el envés de la hoja en contacto directo con el medio. El medio de inducción de callogénesis contuvo una base de sales y vitaminas M&S [5] al 100 %, suplementado con 3% m/v de sacarosa y pH 5,7, excepto para los medios 25, 26, 27 y 28. En total se elaboraron 28 medios de cultivo diferentes en los que la principal modificación fue el uso de los reguladores de crecimiento 2,4-D y tidiazurón (TDZ) en diferentes concentraciones (cuadro 1). Los explantes fueron colocados a una temperatura de 22°C y en condiciones de oscuridad durante 3 semanas.

El crecimiento celular indiferenciado fue evaluado de acuerdo con las variables cualitativas de color, porcentaje de formación de callo y friabilidad. Se excluyó la evaluación de las variables cualitativas de peso seco y fresco debido a la pérdida de material *in vitro* que esto suponía, principalmente ante el requerimiento de material para la elaboración de extractos crudos. Una vez alcanzada la desdiferenciación celular, los callos fueron subcultivados en el mismo medio de inducción, pero suplementado con 250 mg/l de carbón activado.

Cuantificación de metabolitos secundarios: El personal de Laboratorios Lisan trabajó en el desarrollo de una metodología para la selección de un marcador químico apropiado para ser utilizado en la cuantificación de extractos de *P. major*, basados en la técnica de HPLC. Todos los protocolos ejecutados en esta sección de la investigación son propiedad exclusiva de Lisan S.A. Se ejecutaron análisis de dos estándares para comprobar su efectividad como marcadores químicos para la cuantificación de verbascósidos e iridoides con base en aucubina en *P. major*. Como segundo paso, se realizaron las cuantificaciones de los analitos mencionados, en muestras liofilizadas de callo. Los extractos hidro-alcohólicos crudos de *P. major*, elaborados por Laboratorios Lisan, se prepararon en una concentración de 10% p/v utilizando etanol al 95%.

Cuadro 1. Reguladores de crecimiento y suplementos empleados en medios de cultivo vegetal M&S [5] para inducción de callogénesis en *Plantago major*.

Medio	Regulador de crecimiento (mg/l)				Suplementos (mg/l)
	2,4-D	TDZ	BAP	Kinetina	
M1	0.0	-	0	-	-
M2	0.5	-	0	-	-
M3	1.0	-	0	-	-
M4	1.5	-	0	-	-
M5	2.0	-	0	-	-
M6	0.0	-	1	-	-
M7	0.5	-	1	-	-
M8	1.0	-	1	-	-
M9	1.5	-	1	-	-
M10	2.0	-	1	-	-
M11	-	0.5	0	-	-
M12	-	1.0	0	-	-
M13	-	1.5	0	-	-
M14	-	2.0	0	-	-
M15	-	0.5	1	-	-
M16	-	1.0	1	-	-
M17	-	1.5	1	-	-
M18	-	2.0	1	-	-
M19	2	-	-	0.5	0.5 Ac. Cítrico, 0.5 Ac. Ascórbico
M20	3	-	-	0.5	
M21	4	-	-	0.5	
M22	2.5	-	-	0.5	250 Carbón activado
M23	3.5	-	-	0.5	
M24	5	-	-	0.5	
M25 *	2.5	-	1	-	-
M26 *	3.5	-	1	-	-
M27 *	-	2.5	-	-	-
M28 *	-	3	-	-	-

Medios de cultivo preparados con sales M&S al 50%, 3% de maltosa y pH 7.

Resultados

Germinación *in vitro* de semillas provenientes de campo

El porcentaje de germinación promedio en el laboratorio, para las semillas de *P. major* fue de 98%. En la figura 1 se presentan fotografías del desarrollo *in vitro* de las plántulas.

Establecimiento de callogénesis somática

Los resultados más favorables para la inducción de callo en *P. major* se generaron con los medios M14, M27 y M28 (cuadro 2). En las figuras 2 y 3 se presentan fotografías del proceso de desdiferenciación celular obtenido.

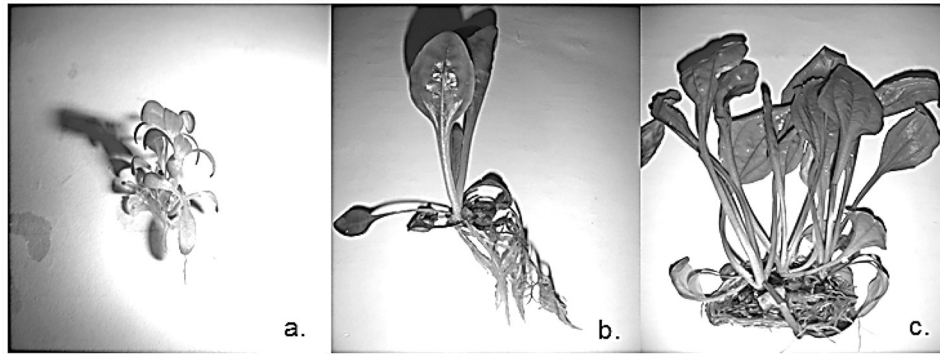


Figura 1. Plántulas *in vitro* de *Plantago major* en diferentes estadios: a. Introducción, b. Micropropagación, c. Aclimatación.

Cuadro 2. Evaluación de medios de cultivo utilizados en la inducción de callogenésis en *Plantago major*.

Medio	Variable		
	Color	Formación de callo	Friabilidad
M1	2	0	0
M2	0	0	0
M3	1	1	0
M4	0	0	0
M5	1	2	0
M6	0	0	0
M7	0	0	0
M8	1	2	0
M9	1	1	0
M10	1	1	0
M11	0	0	0
M12	0	0	0
M13	0	0	0
M14	2	1	1
M15	0	0	0
M16	2	1	0
M17	0	0	0
M18	0	0	0
M19	1	1	0
M20	2	1	0
M21	2	1	0
M22	1	1	0
M23	1	1	0
M24	1	1	0
M25	2	1	0
M26	2	1	0
M27	3	2	1
M28	3	2	1

Donde:
Color: 3 - Amarillo cremoso Formación de callo: 3 - 100% callo formado Friabilidad: 1 - Sí
2 - Amarillo verdoso 2 - 50% callo formado 0 - No
1 - Café amarillo 1 - Inicio de callo
0 - Café 0 - Ausencia de callo

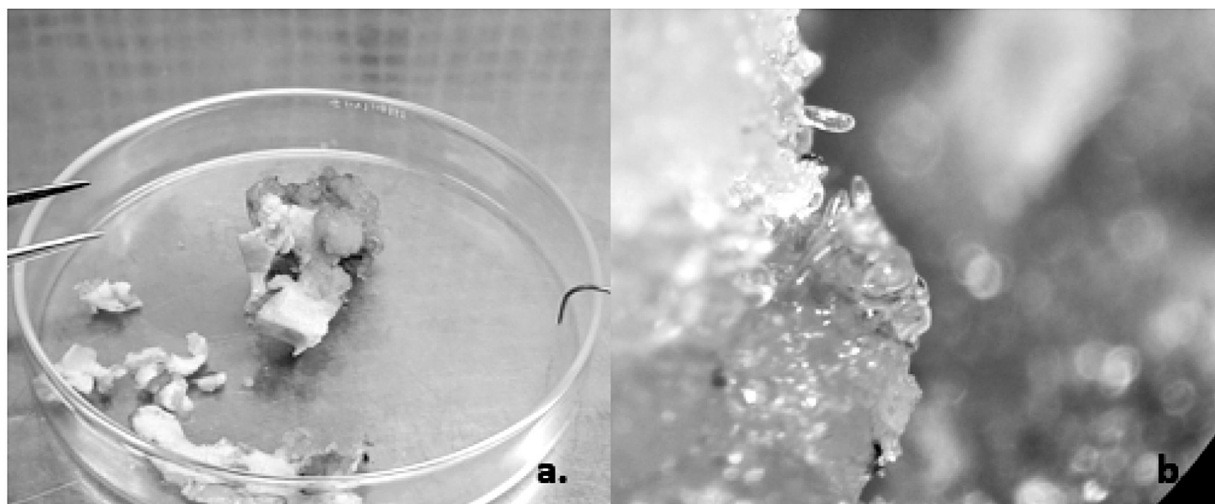


Figura 2. Inducción de callogénesis en *Plantago major* : a. Subcultivo de callo, b. Estructuras en forma de torpedo evidenciando el proceso de Embriogénesis somática

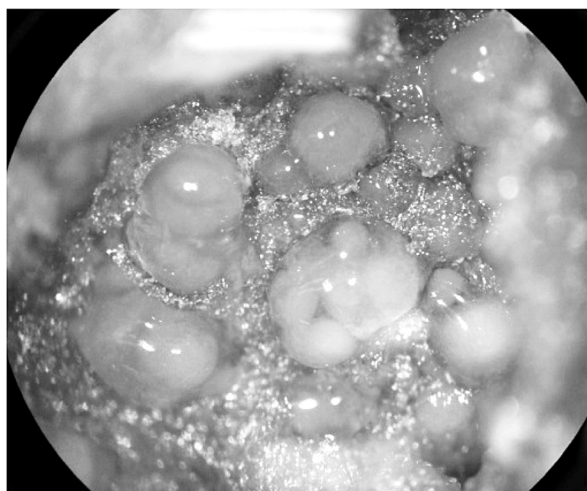


Figura 3. Callos de *Plantago major* mostrando estructuras globulares típicas pro-embriogénicas

Cuantificación de metabolitos secundarios

Cuantificación de Cinamatos. Estándar: Verbáscosido

A partir del estándar se dio una buena resolución en el cromatograma y se tuvo una línea base estable además de una buena señal (figura 4); por tanto, se continuó con la cuantificación de cinamatos en muestras liofilizadas de cultivos celulares de llantén (figura 5).

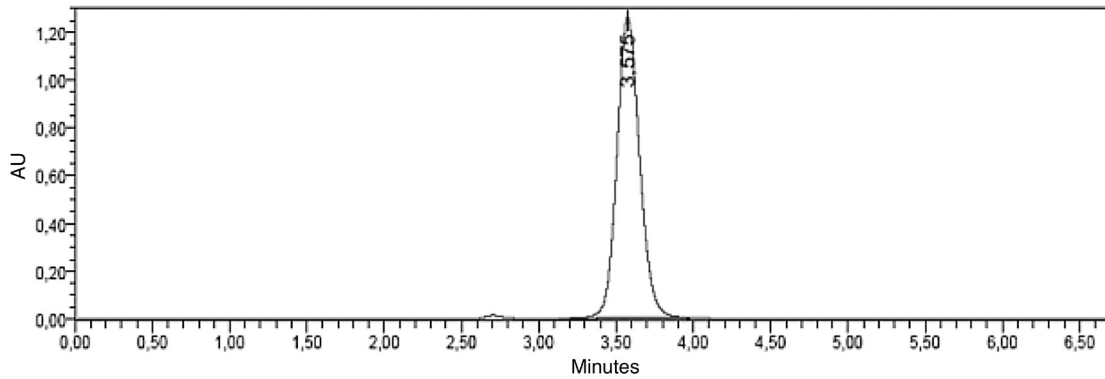


Figura 4. Cromatograma obtenido con estándar de Verbascósido para la cuantificación de Cinamatos.

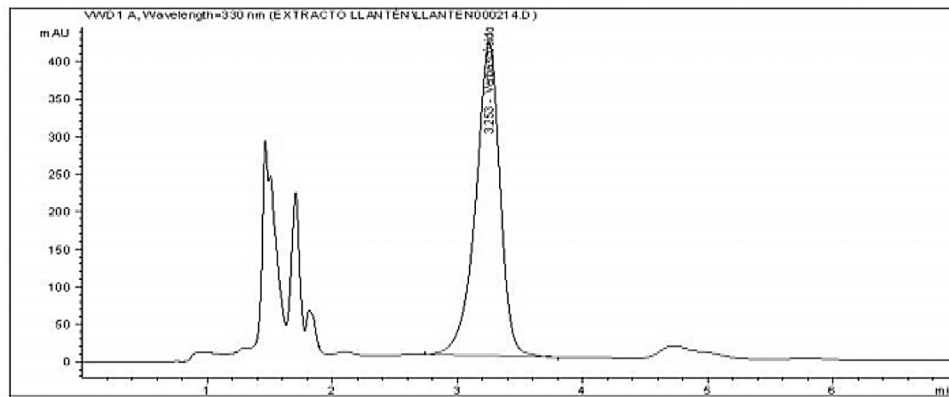


Figura 5. Análisis de Cinamatos en el día de la extracción a partir de muestra de extracto de callo liofilizado de *P. major*.

Cuantificación de Iridoides. Estándar: Aucubina

Se obtuvo una señal con línea base estable y buena resolución. Sin embargo, como se puede observar en la figura 5, el tiempo de retención es alto, por lo que la duración de cada una de las inyecciones debe ser de 20 min como mínimo (figura 6); se continuó con la cuantificación de iridoides en muestras liofilizadas de cultivos celulares de llantén (figura 7).

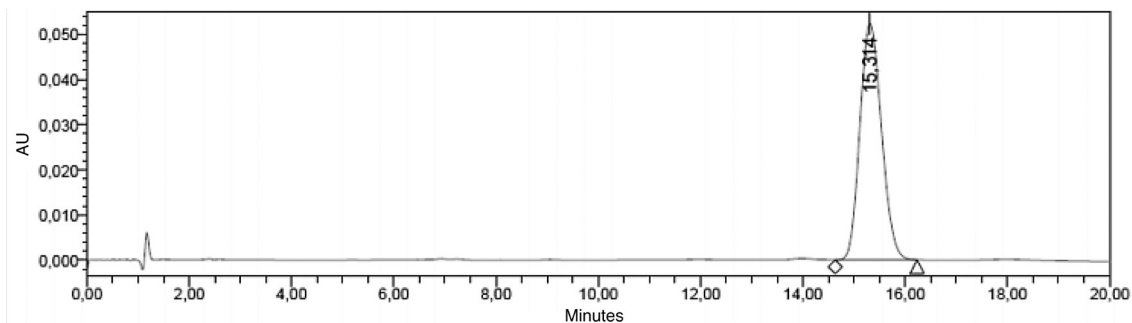


Figura 6. Cromatograma obtenido con el estándar de Aucubina para la cuantificación de Iridoides.

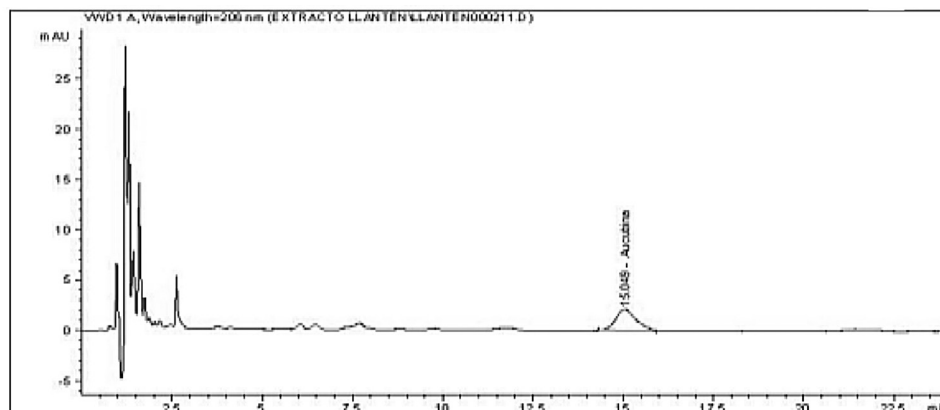


Figura 7. Análisis de Iridoides en el día de la extracción a partir de muestra de extracto de callo liofilizado de *P. major*.

Como se puede observar en los resultados de las figuras 6 y 7 se logró detectar en niveles apreciables o significativos la presencia de los metabolitos secundarios tales como verbascósidos e iridoides (aucubina) con importancia biológica reportados en la planta y a los cuales se les atribuye el mayor potencial como cicatrizantes y antimicrobianos respectivamente. No obstante, la cuantificación fue efectiva únicamente el día de la extracción ya que los cromatogramas de cuantificaciones en días posteriores, mostraron una degradación progresiva de los metabolitos de interés.

Discusión

Plantago major es una planta medicinal que ha sido catalogada como de crecimiento espontáneo. Estas plantas se caracterizan por un rápido crecimiento y adaptabilidad a su hábitat que le permiten sobrevivir aún en condiciones ambientales poco favorables [6]. La razón anterior es quizás la que más benefició el rápido establecimiento *in vitro* del material, el cual prácticamente subsiste con un medio basal, como lo es el M&S [5], sin necesidad de añadir ningún otro regulador de crecimiento. Se considera que un porcentaje de germinación *in vitro* de semillas del 98% es sumamente prometedor, tanto en términos de viabilidad de la semilla como de éxito con el protocolo de desinfección propuesto.

En campo, Laboratorios Lisan ha logrado establecer una cultivo de esta planta en condiciones favorables y con conocimiento sobre las variables que influyen directamente en su desarrollo, incluyendo la composición del suelo [7]. Por lo anterior, se determinó que este sería un buen semillero para la colecta de material para la introducción *in vitro*.

Así mismo, el establecimiento del material multiplicado fue sencillo, ya que la planta regenerada no presentó requerimientos nutricionales extra, y su traslado a nuevo medio pudo realizarse de manera mensual, con el fin de mantener un lote de material joven para ser utilizado en la etapa de inducción de calogénesis.

Los cultivos celulares de llantén fueron establecidos en un medio basal M&S [5] al 50%, lo que nos indica que los requerimientos de sales y vitaminas se ve disminuido con respecto a la etapa de multiplicación. El medio de calogénesis 14 fue suplementado con el regulador 2,4-.D, auxina comúnmente empleada para este fin [8], mientras que los medios de cultivo 27 y 28 fueron suplementados con TDZ (citocinina), el mismo ha sido reportado en diversas publicaciones científicas relacionadas con el cultivo de tejidos vegetales para la inducción de calogénesis a través de la promoción de la proliferación celular [9]. Lo anterior respalda el éxito en esta etapa.

El cambio a un pH más neutral evitó en gran manera la oxidación de los explantes, de esto se puede inferir que probablemente durante el proceso de desdiferenciación se generan ácidos que ocasionan una disminución del pH, el cual al inicio de las pruebas se mantenía en 5,7, o bien, el empleo de derivados de úrea como el TDZ promovió también la acidificación del medio de cultivo.

Se conoce que el grado de acidez o alcalinidad en el medio de cultivo es específico para cada planta, y va a incidir tanto en el aprovechamiento de los compuesto como en la liberación de compuestos fenólicos; el rango de pH normal para el crecimiento de plantas está entre los 4,5 y 7, por lo que es necesario buscar su ajuste según la especie [10]. Aún así, es importante considerar la sinergia que existe entre los factores pH, temperatura y luz para la inducción de procesos de desdiferenciación celular [11].

El uso de maltosa como fuente de carbono retrasa el proceso de desdiferenciación celular en llantén, lo que resultó de utilidad para evitar una rápida oxidación en cortos períodos y en sí, una formación de callo mayor y más efectiva. El uso de carbohidratos en los medios de cultivo de tejidos vegetales se da para su aprovechamiento como fuentes de carbono y también como reguladores osmóticos en el medio de cultivo; siendo los dos usos anteriores críticos para el desarrollo de callos y embriones. Se ha reportado que el remplazo de la sacarosa por maltosa es de gran utilidad no sólo en la inducción de callos, sino también, en la regeneración de plántulas a partir de los mismos [12].

Para poder definir un protocolo de cuantificación de metabolitos, primero es necesario definir el marcador químico que se empleará como referencia base para medición de los analitos de interés. En esta etapa Laboratorio Lisan, seleccionó 2 posibles marcadores, verbascósido y aucubina. La selección anterior se fundamenta en que la aucubina junto con el catalpol y el o-catalpol, son tres de los compuestos iridoides más representativos en plantas medicinales; en cuanto al verbascósido, éste forma parte del grupo de los fenilpropanoides, por lo que puede emplearse como una medida de referencia para la presencia de los ácidos cinámicos en plantas. Además, a la explicación anterior se debe añadir que los compuestos iridoides guardan relación con propiedades antibacterianas, mientras que a los fenilpropanoides se les atribuyen efectos analgésicos, bactericidas (especialmente el verbascósido) y antidepresiva [13]-[14].

Con el análisis mediante HPLC para ambos marcadores se generaron señales con línea base estable y buena resolución, siendo más efectivo el de verbascósido, por lo que se continuó con las pruebas necesarias para lograr establecer un protocolo de cuantificación en callos de llantén. A pesar de las pruebas de resuspensión de los extractos en distintos solventes (agua y alcohol) y fases móviles, fue evidente que los analitos de interés, en este caso, iridoides y ácidos cinámicos, no podían ser efectivamente detectados después de un día de extracción dada su degradación en la muestra. De aquí surge la urgente necesidad de establecer nuevas estrategias de extracción, a partir de una hidrólisis ácida, por ejemplo, para lograr la cuantificación de ácidos cinámicos a partir del estándar de verbascósidos. La idea sería lograr la estabilidad del extracto de manera que sus compuestos activos permanezcan viables durante un período mayor a sólo 24 horas. En este caso, se buscaría estandarizar sólo un protocolo y descartar el uso de la aucubina.

Conclusiones

La metodología implementada para la inducción de callogénesis somática fue efectiva en lograr la proliferación adecuada de los callos y promover la formación de estructuras globulares pro-embriónicas. Estos resultados son relevantes pues a pesar de que no se pretende aún la

regeneración de plantas, si resulta muy positivo el contar con un sistema de callogénesis que además permita la embriogénesis somática.

El estudio que ha realizado el Departamento de Investigación y Desarrollo de Laboratorios Lisan en los últimos años ha demostrado que los marcadores químicos aucubina y verbascósido no son los apropiados para el análisis de *P. major*, ya que estos compuestos se degradan rápidamente en los extractos. Gracias a estos resultados, se trabaja en el desarrollo de un método de ensayo basado en la hidrólisis ácida para la cuantificación de ácidos cinámicos totales.

Los extractos producidos a partir de callos somáticos de *Plantago major* pueden ser utilizados para detectar la presencia de los verbascósidos e iridoideas relacionados con las propiedades de cicatrización de heridas y actividad antimicrobiana. Los ensayos de la actividad de los extractos sobre tejidos celulares en modelos *in vitro* y *in vivo* se realizarán en futuras investigaciones para los cuales podrá ser adecuado el ensayo con compuestos y condiciones inductoras que promuevan una mayor producción de los compuestos *in vitro*.

Bibliografía

- [1] A. Samuelsen, "The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review," *J Ethnopharmacol*, vol 71(1-2), pp. 1-21, 2000.
- [2] B. Blanco, A. Saborío, y G. Garro, "Descripción anatómica, propiedades medicinales y uso potencial de *Plantago major* (llantén mayor)," *Tecnología en Marcha*, vol 21 (2), pp. 17-24, 2008.
- [3] G. Garro, y S. Alvarenga, "Un protocolo para el cultivo *in vitro* y la micropropagación masiva de llantén (*Plantago major*)," *Tecnología en Marcha*, vol 22 (3), pp 25-33, 2009.
- [4] U. Harput, Y. Genc, y I. Saracoglu, "Cytotoxic and antioxidative activities of *Plantago lagopus* L. and characterization of its bioactive compounds," *Food and Chemical Toxicology*, vol 50 (5), pp. 1554–1559, 2012.
- [5] T. Murashige, y F. Skoog, "A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures," *Physiologia plantarum*, vol 15(3), pp. 473-497, 1962.
- [6] M. Cotés-Clavijo, "Identificación de plantas de crecimiento espontáneo encontradas en techos de las localidades de Bosa y La Candelaria (Bogotá, Colombia) y su posible uso en diseño de techos verdes," Tesis de Bachillerato para optar por el título de Ecólogo. Pontificia Universidad Javeriana, Colombia. 2014.
- [7] C. Venegas, Comunicación personal, Laboratorios Lisan, enero 2013.
- [8] R. Litz, y R. Jarret, "Regeneración de plantas somáticas en el cultivo de tejidos: Embriogénesis Somática y Organogénesis," Cultivo de Tejidos en la Agricultura. Tropical Research and Education Center. Florida, Estados Unidos, 1991.
- [9] A. T. Pérez, "Multiplicación *in vitro* de brotes de guayaba (*Psidium guajava* L.) var. Enana Roja Cubana EEA 18-40 obtenidos a partir de semillas," *Cultivos Tropicales*, vol 23(3), pp. 57-61, 2013.
- [10] A. Abdelnour-Esquivel, y J. Vincent, "Conceptos Básicos del cultivo de Tejidos Vegetales," CATIE. Turrialba, Costa Rica, 1996.
- [11] W. Roca, y L. Mroginski, "Cultivo de Tejidos en la Agricultura, Fundamentos y Aplicaciones," Publicación CIAT (151). Cali, Colombia, 1993.
- [12] Z. Lentini, C. Martínez, y W. Roca, "Cultivo de anteras de arroz en el desarrollo de germoplasma," Publicación CIAT (293). Cali, Colombia, 1997.
- [13] A. Gil, "Tratado de Nutrición. Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos," 2da ed, Editorial Médica Panamericana. Madrid, España, 2010.
- [14] O. Muñoz, M. Montes, y T. Wilkoirsky, "Plantas medicinales de uso en Chile. Santiago, Chile," Editorial Universitaria, 2004.

Impacto en el inventario de seguridad por la utilización de la desviación estándar de los errores de pronóstico

Impact on safety stock due to the use of the standard deviation of forecast errors

Marco Arias-Vargas¹

Fecha de recepción: 8 de mayo de 2016
Fecha de aprobación: 12 de setiembre de 2016

Arias-Vargas, M. Impacto en el inventario de seguridad por la utilización de la desviación estándar de los errores de pronóstico. *Tecnología en Marcha*. Vol. 30-1. Enero-Marzo 2017. Pág 49-54.

DOI: 10.18845/tm.v30i1.3064



¹ Profesor Universidad de Costa Rica. Costa Rica. Socio Consultor de la empresa Macrologística. Correo electrónico: marco.ariasvargas@ucr.ac.cr.

Palabras clave

Desviación estándar; error de pronóstico; desviación absoluta media; inventario de seguridad; factor de seguridad; tiempo de reaprovisionamiento.

Resumen

Es común el uso de la desviación estándar de los datos históricos para calcular el inventario de seguridad, pero esto es lo mismo que asumir que el modelo de pronóstico será un promedio simple, lo cual puede llevar a un incremento innecesario en la inversión en inventario de seguridad. Para evitar esa situación, se debe utilizar la desviación estándar de los errores del pronóstico y esto, aunado a la selección correcta del modelo para pronóstico, llevará a una reducción en el inventario de seguridad, manteniendo el mismo nivel de servicio. El impacto de la reducción en esta inversión puede ser alta, como en el caso presentado en este artículo, de dos empresas que tienen oportunidades de reducir en más de 40% el inventario de seguridad.

Keywords

Standard deviation; forecast error; mean absolute deviation; safety stock; safety factor; lead time.

Abstract

It is common to use the standard deviation of the historical data in safety stock calculations, but this is the same as assuming that the forecasting model will be a simple average, thus this can lead to an unnecessary increase in the safety stock investment. In order to avoid that situation, the standard deviation of the forecasts errors must be used, and this, along with the right selection of the forecasting model, will lead to a reduction in the safety stock, maintaining the same service level. The impact of the mentioned reduction in this investment could be high as in the examples of two companies shown in this article, where they have opportunities of reductions of more than 40% in the safety stock.

Introducción

En el entorno macroeconómico actual, las empresas requieren cada vez ser más eficientes en el uso de sus recursos, principalmente los que afectan el flujo de efectivo. La inversión en inventario derivada de las políticas y modelos técnicos utilizados en la planificación de las compras y en la manufactura, impacta directamente la eficiencia de la cadena de suministros y dicho flujo de efectivo, y en la realidad competitiva del mundo empresarial actual, cada vez se requiere que dicha inversión sea menor, pero que, a la misma vez, no afecte el nivel de servicio al cliente que la promesa de valor de la empresa exige. El inventario medio de una empresa se compone del inventario cíclico (basado en la cantidad de pedido) y del inventario de seguridad, donde este último se define como el inventario a mano en el momento que llega el pedido [1]. Este tipo de inventario es muy utilizado en ambientes de distribución y de manufactura tipo “*make to stock*” [2].

El inventario de seguridad busca asegurar un nivel de servicio, aun cuando existan variaciones en el tiempo de reaprovisionamiento y la presencia de errores en los pronósticos de la demanda. Una de las variables requeridas para calcular el inventario de seguridad es la desviación estándar, sin embargo, existe una diferencia en los resultados, dependiendo de cuál serie de

datos se utilice para calcular este estadístico; esto entre los datos históricos y los datos de los errores de los pronósticos.

En la determinación del inventario de seguridad, los resultados que se obtienen al utilizar la serie de los datos históricos para el cálculo de la desviación estándar, son frecuentemente distintos a los resultados cuando se utiliza la serie de los datos de los errores de los pronósticos, y pueden llegar a presentar variaciones significativamente diferentes que afectan la inversión en inventario y, por ende, el flujo de caja de la empresa. La principal diferencia está relacionada con la mejora en el error de pronóstico obtenida mediante el uso de un mejor modelo para el cálculo de los valores futuros de la demanda.

El cálculo del inventario de seguridad

Existen diversas metodologías para el cálculo del inventario de seguridad, algunas basadas en minimización de costos y otras basadas en el alcance de un nivel de servicio [1].

A continuación, se amplían los detalles de la metodología basada en el alcance de un nivel de servicio expresado como la probabilidad de no tener faltantes durante el ciclo de reaprovisionamiento (existen otras metodologías que expresan de forma diferente el nivel de servicio, como por ejemplo el uso del “fill rate” o tasa de disponibilidad [3]). Las formulaciones están basadas en distribuciones normales de probabilidad.

Las variables que componen el inventario de seguridad en la metodología en cuestión son las siguientes:

- Factor de seguridad (k): Se calcula como la distribución normal estándar inversa de la probabilidad deseada de no tener faltantes en un ciclo de abastecimiento (esta probabilidad es una métrica de nivel de servicio).
- Desviación estándar de un periodo (σ_1)
- Tiempo de reaprovisionamiento (L): Tiempo que transcurre desde que se coloca la orden hasta que el producto ya está disponible para la venta. Para esta metodología se asume que este tiempo no tiene variabilidad.

El cálculo del inventario de seguridad (ss) se lleva a cabo de la siguiente manera [1]:

$$ss = k \cdot \sqrt{L} \cdot \sigma_1 \quad (1)$$

Como primer paso se define la probabilidad de no faltantes deseada (nivel de servicio) en el ciclo de abastecimiento, con base en esta, se calcula el factor de seguridad y luego se sustituyen las demás variables.

Es común utilizar la relación entre la desviación estándar y la desviación absoluta media (MAD), que para una distribución normal es:

$$\sigma_1 = \sqrt{\frac{\pi}{2}} \cdot MAD \quad (2)$$

$$MAD = \frac{\sum_{t=1}^T |D_t - F_t|}{T} \quad (3)$$

El MAD se calcula como el promedio de las desviaciones absolutas de cada dato real (D_t) y su pronóstico (F_t) (Hill, 2012), como se observa en la ecuación 3.

Con respecto a la relación del MAD y la desviación estándar que se muestra en la ecuación 2 se debe tener precaución, ya que dicha relación aplica cuando la desviación estándar (σ_1) se

obtiene a partir de los errores del pronóstico. De esta manera, si se utiliza la desviación estándar de los datos históricos, la fórmula del MAD cambia, y se debe calcular como el promedio de las desviaciones absolutas de cada dato real (x_t) y la *media* (μ) de todos los datos [4]. Esto se presenta en la ecuación (4):

$$MAD = \frac{\sum_{i=1}^n |x_t - \mu|}{n} \quad (4)$$

A partir de la ecuación 1 se deduce que a mayor desviación estándar existe un mayor inventario de seguridad, cuando se mantienen las otras variables constantes. Esto a su vez le implica a la empresa un mayor inventario medio, que consiste en la suma del inventario medio cíclico ($\frac{Q}{2}$) más el inventario de seguridad (ss), como se expresa en la siguiente ecuación [3]:

$$I_{medio} = \frac{Q}{2} + ss \quad (5)$$

En la anterior ecuación, Q representa la cantidad de pedido. Este inventario medio afecta negativamente la liquidez de la empresa y su flujo de caja, por lo que debe ser lo menor posible, siempre y cuando, cumpla con el nivel de servicio que la empresa requiere para ser competitiva.

El impacto de la desviación estándar

Es común encontrar en libros de texto y artículos en internet [5], ejemplos que utilizan la desviación estándar de los datos históricos como (σ_1) para el cálculo del inventario de seguridad, esto tiene las siguientes características:

- Facilidad de cálculo.
- Desconocimiento del modelo a usar para pronosticar.

Lo anterior significa que se asume para los cálculos, que el modelo de pronóstico es un promedio simple (uno de los modelos más ingenuos) y esto puede llevar a incrementar el inventario de seguridad, porque la desviación estándar utilizada es frecuentemente más alta que cuando se utilizan otros modelos para pronosticar la demanda.

En contraposición a lo anterior, cuando se utiliza la desviación estándar de los datos de los errores de pronóstico como (σ_1), si el modelo utilizado para pronosticar se desempeña mejor que un promedio simple, esta desviación estándar será menor y por ende el inventario de seguridad también disminuiría, sin afectar el nivel de servicio de la política de inventarios.

Estos argumentos explican lo mencionado anteriormente con respecto a la relación de la desviación estándar con el MAD, ya que cuando el modelo de pronóstico es un promedio simple, los errores absolutos se calculan como el valor absoluto de la resta del dato real y el *promedio* de los datos, en cambio, cuando el modelo de pronóstico es otro, los errores absolutos se calculan como el valor absoluto de la resta del dato real y el *dato pronosticado*, que en este caso ya no sería el promedio simple, ya que va a depender del modelo usado para pronosticar (por ejemplo: suavización exponencial, ARIMA o regresión, que son de los más utilizados en los negocios en la actualidad [6]).

Para medir el impacto del uso de la desviación estándar de los datos históricos comparado con la de los datos de los errores de pronóstico, se seleccionó como muestra a dos empresas de venta de productos de pastelería, con diferente cantidad de productos a pronosticar, se realizaron los pronósticos con el modelo de promedio simple y luego, con el uso del software

ForecastPRO®, se asignaron los modelos de pronóstico que minimizan los errores [7] y se calculó la relación de las desviaciones estándar, que a su vez sabemos por la ecuación 1 que incide proporcionalmente en el inventario de seguridad.

La cantidad de artículos con los que se trabajaron las empresas A y B fueron quince y cuarenta y tres, respectivamente.

En las figuras 1, 2 y cuadro 1, se detallan los resultados para ambas empresas:

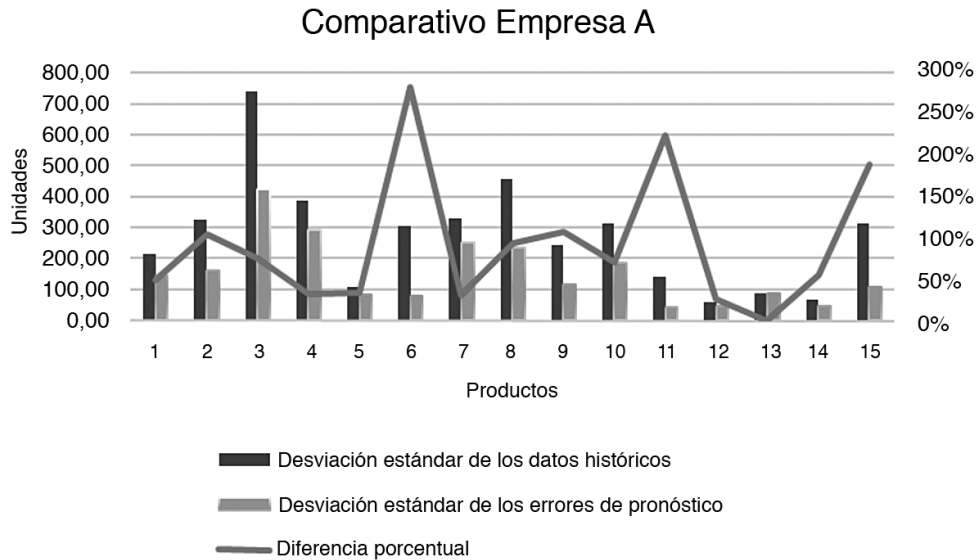


Figura 1. Relación de las desviaciones estándar en la empresa A.

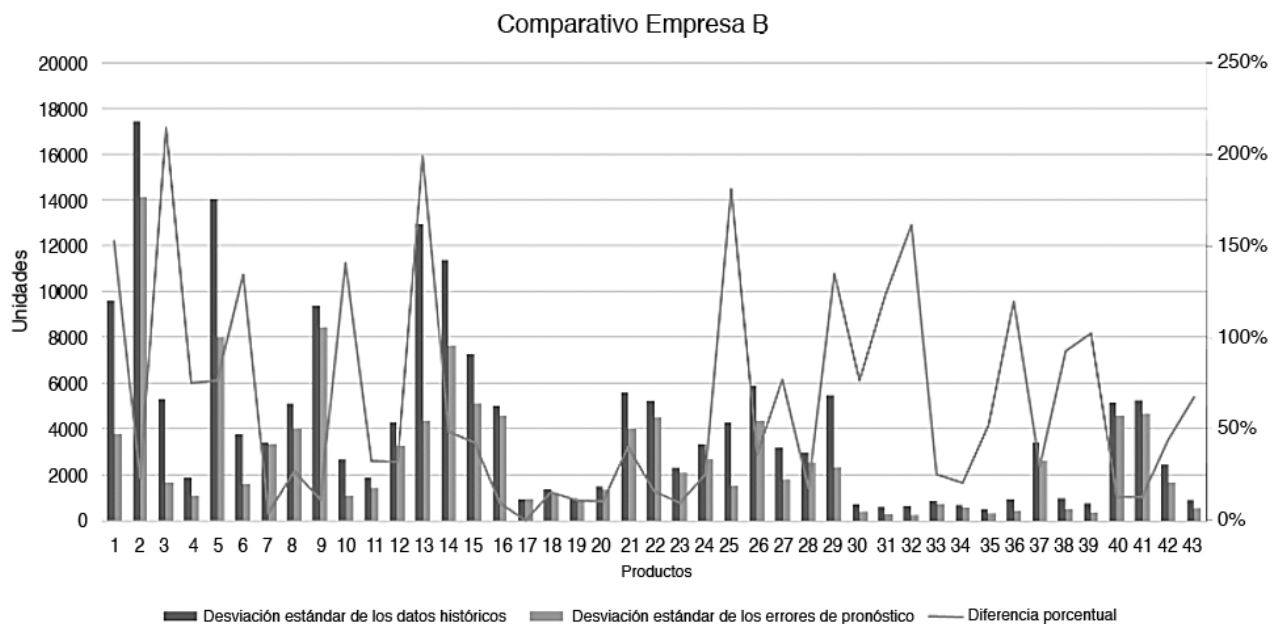


Figura 2. Relación de las desviaciones estándar en la empresa B.

Cuadro 1. Resumen de resultados para ambas empresas.

	Cantidad de productos	Cantidad de periodos históricos	Desviación estándar de los datos históricos vs desviación estándar de los errores de los pronósticos		
			Percentil 25	Percentil 50	Percentil 75
Empresa A	15	39	32%	70%	106%
Empresa B	43	66	17%	40%	97%

Como se puede observar, tanto en las figuras 1 y 2 como en el cuadro 1, la desviación estándar de los datos históricos es mayor que la obtenida a partir de los datos de los errores de los pronósticos.

En la empresa A las diferencias son del orden del 70% en el percentil 50 y en la empresa B, en este mismo percentil, las diferencias son del orden del 40%. Para este caso, de acuerdo con los resultados obtenidos, si las dos empresas en estudio utilizan para sus cálculos de inventario de seguridad la desviación estándar de los datos históricos, corren el riesgo de incrementar dicho inventario en porcentajes cercanos a los mencionados anteriormente, con el consecuente impacto negativo en la Cadena de Suministros, en la liquidez y en el flujo de efectivo de la empresa.

Conclusiones

Entender correctamente el impacto de las diferentes variables en la política de inventario de una empresa, es vital para la salud financiera y la eficiencia de ésta, ya que es posible alcanzar los niveles de servicio mínimos requeridos con menos inventario de seguridad.

Para obtener esos beneficios se requiere implementar la ecuación para calcular el inventario de seguridad, y utilizar la desviación estándar de los datos de los errores del pronóstico (o en su lugar, el error estándar de los pronósticos, que conlleva un ajuste por la cantidad de parámetros que contiene el modelo de pronóstico) y no utilizar la desviación estándar de los datos históricos, ya que esto es el equivalente a asumir un modelo de promedio simple para pronosticar y, por ende, la desviación estándar será mayor y a su vez el inventario también.

Las empresas deben revisar este detalle en sus modelos y políticas de inventarios, como parte de esto, es muy importante que soliciten a sus proveedores de software empresarial (ERP u otros) que les aseguren que los cálculos se trabajan como lo indicado en este artículo, ya que en muchas empresas puede que los modelos y algoritmos que utilizan los sistemas de información, no sean explícitos ni conocidos por la gerencia y, por ende, el riesgo existe.

Bibliografía

- [1] E. A. Silver, D. F. Pyke y R. Peterson, *Inventory Management and Production Planning and Scheduling*, NJ: John Wiley & Sons, 1998.
- [2] APICS The Association for Operations Management, *APICS CPIM Exam content manual*, Chicago, IL, 2014.
- [3] R. H. Ballou, *Logística: Administración de la cadena de suministro*, Estado de México: Pearson Educación de México, S.A. de C.V., 2004.
- [4] A. Hill, *The Encyclopedia of Operations Management*, New Jersey: Pearson Education, Inc., 2012.
- [5] P. L. King, «Crack the code,» *APICS magazine*, pp. 33-36, 2011.
- [6] C. Jain y J. Malehorn, *Fundamentals of Demand Planning & Forecasting*, New York: Graceway Publishing Company, Inc., 2012.
- [7] E. A. Stellwagen y R. L. Goodrich, *ForecastPRO: Statistical Reference Manual*, Boston, 2011.

Enfermedades de Transmisión Sexual (ETS) y la Salud Sexual del Costarricense

Tema III. Hábitos sexuales y normativa legal

Sexually Transmitted Diseases (STDs) and Sexual Health Costarricense. Topic III. Sex habits and legal normative

William Gutiérrez-Sandí¹, Taciano Lemos-Pires²,
Aymara Arochena-Hernández³

Fecha de recepción: 20 de mayo de 2016
Fecha de aprobación: 17 de julio de 2016

Gutiérrez-Sandí. W; Lemos-Pires, T; Arochena-Hernández, A. Enfermedades de Transmisión Sexual (ETS) y la Salud Sexual del Costarricense. Tema III. Hábitos sexuales y normativa legal. *Tecnología en Marcha*. Vol. 30-1. Enero-Marzo 2017. Pág 55-66.

DOI: 10.18845/tm.v30i1.3084



- 1 Estudiante de Licenciatura en Medicina y Cirugía. Universidad Internacional de las Américas, San José. Costa Rica. Correo electrónico: wgutierrezs@hotmail.com
- 2 Director General Hospital Rafael Ángel Calderón Guardia. Costa Rica. Coordinador de Catedra de Salud Pública II. Universidad Internacional de las Américas. Correo electrónico: drtaciano@medicocr.com
- 3 Directora de Escuela de Medicina y Cirugía, Universidad Internacional de las Américas, San José, Costa Rica. Correo electrónico: arochena@yahoo.com



Palabras clave

Enfermedades de Transmisión Sexual (ETS); SIDA; VIH; marco legal en salud; planificación familiar; métodos anticonceptivos; actividad sexual.

Resumen

En Costa Rica, el inicio de la vida sexual cada vez se presenta a una edad más joven en la población. Estos cambios en las costumbres y hábitos sexuales de la población, una mayor precocidad sexual han llevado a modificaciones en cuanto tener que realizar ajustes con respecto a los esquemas de planificación familiar. Sin embargo, el conocimiento de los actuales métodos de planificación familiar no está disponible para toda la población, y ello genera en algunos casos desigualdades que llevan que personas sanas y productivas pasen a ser una carga para la seguridad social. Adicionalmente, existe en la población un desconocimiento con respecto al marco legal, en donde se establecen los derechos, deberes, obligaciones y beneficios para la población costarricense es también un tema poco conocido en nuestra población.

Las Organizaciones No Gubernamentales (ONG) tienen un rol, y un impacto real en los mecanismos de promoción de la salud sexual y reproductiva de la población del país. Así, como una influencia en los esquemas de salud Pública, que son aplicados por parte de los organismos rectores de los sistemas de salud como lo son el Ministerio de Salud (MS) y la Caja Costarricense del Seguro Social (CCSS).

Keywords

Sexually Transmitted Diseases (STDs); AIDS; HIV; legal framework on health; family planning; contraception; sexual activity.

Abstract

In Costa Rica, the begin of sexual life ever presented at a younger age in the population. These changes in sexual habETS and customs of the population, greater sexual precocity have been changes as having to make adjustments with respect to family planning schemes. However, current knowledge of family planning methods is not available for the entire population, and in some cases it generates inequalities that lead to healthy and productive people they become a burden on the social security. Additionally, there is a lack in the population with respect to the legal framework, which sets out the rights, duties, obligations and benefETS for the Costa Rican population is also a little-known in our community.

Non-Governmental Organizations (NGOs) have a role, and a real impact on the mechanisms for promoting sexual and reproductive health of the population. So, as an influence on public health schemes, which are applied by the governing bodies of health systems such as the Health's Ministry (HM) and the Costa Rican Social Security Fund (CSSF/CCSS).

Introducción

A pesar de los considerables esfuerzos realizados para identificar intervenciones simples que puedan reducir los comportamientos sexuales de riesgo, los cambios de esos comportamientos siguen suponiendo un desafío complejo. La información recolectada de investigaciones realizadas ha demostrado la necesidad de centrar la atención en poblaciones cuidadosamente

definidas, consultar ampliamente con las poblaciones destinatarias identificadas e incorporarlas en las actividades de diseño, aplicación y evaluación. Este es el tercer volumen de una serie de publicaciones relacionadas con las ETS en Costa Rica y América Latina.

Las personas necesitan servicios de detección y tratamiento de ETS deben afrontar numerosos problemas. Estos incluyen la escasez de recursos, la estigmatización, la calidad insuficiente de los servicios y el limitado o inexistente seguimiento de las parejas sexuales.

- i. En muchos países, los servicios de ETS se proporcionan separadamente y no están disponibles en el ámbito de la atención primaria de salud, la planificación familiar y otros servicios sanitarios ordinarios.
- ii. En numerosos entornos los servicios no pueden detectar infecciones asintomáticas dado que carecen de personal idóneo, capacidad de laboratorio y suficientes suministros de medicamentos adecuados.
- iii. Las poblaciones marginadas que registran las tasas más altas de ETS, incluidos trabajadores sexuales, hombres homosexuales, consumidores de drogas inyectables, reclusos, poblaciones nómadas y adolescentes, con frecuencia carecen de acceso a servicios de salud apropiados.

El desconocimiento con respecto al marco legal, en donde se establecen los derechos y deberes, obligaciones y beneficios para la población costarricense es también un tema poco conocido en nuestra población. Han existido cambios en las costumbres sexuales de los costarricenses, variaciones en la edad de inicio de las relaciones sexuales. Sin embargo, el conocimiento de los actuales métodos de planificación familiar no está disponible para toda la población, y ello genera en algunos casos desigualdades que llevan que personas sanas y productivas pasen a ser una carga para la seguridad social.

Será importante también conocer como las Organizaciones No Gubernamentales (ONG) tienen un rol, y un impacto real en los mecanismos de promoción de la salud sexual y reproductiva de la población del país. Así, como una influencia en los esquemas de salud Pública [1], [2].

Materiales y Métodos

Para efectos de este trabajo de investigación y revisión bibliográfica se realizó la recolección de fuentes primarias y secundarias. Para ello se utilizaron varios instrumentos básicos de recolección de información utilizados en actividades de investigación.

Recolección de datos de fuentes primarias

Para efectos de esta investigación se procedió a buscar toda la información de manera personal en el servicio de vigilancia epidemiológica del Ministerio de Salud de Costa Rica.

Además, se contó con la asesoría de profesionales de salud que se desempeñan como médicos asistentes y/o epidemiólogos con una estrecha relación con el área de infecciones.

Recopilación de datos de fuentes secundarias

Como segunda fuente para la recopilación de datos de esta investigación, se utilizó el internet, ya que, esta herramienta nos sirvió para acceder a información y estudios realizados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización Panamericana de la Salud (OPS), el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC), el Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (INCIENSA), la sección de Vigilancia Epidemiológica del Ministerio de Salud de Costa Rica, acceso a estudios realizados por sociedades internacionales relacionadas con el manejo de las infecciones de transmisión sexual.

Instrumentos de medición para la recolección de datos

Para dicha investigación, se utilizaron algunos instrumentos de medición poder recopilar y analizar la información, entre ellos se realizaron los siguientes:

1. *Entrevista.* Se realizó una entrevista con expertos en epidemiología y Enfermedades Infecciosas de manera que los temas por revisar tuviesen una orientación dirigida.
2. *Instrumentos para la recopilación de datos.* En este instrumento de levantamiento de datos consiste en la elaboración de una base de datos con las estadísticas generadas por la OMS, OPS, sección de Vigilancia Epidemiológica del Ministerio de Salud de la República de Costa Rica. A partir de dicha información se procedió a realizar un análisis en línea descendente, partiendo de lo más general (estado de la enfermedad a nivel global) a lo más particular (estado de la enfermedad a nivel de Costa Rica).
2. *Resultados.* Por último, fue posible integrar la información de manera que el lector pueda tener de manera filtrada y a nivel de comprensión básica, sin tener que ser un profesional del área de la salud, las limitaciones y problemática actual con respecto a las ETS bajo estudio, en este caso sobre los hábitos, usos y costumbres sexuales de los costarricenses, así como pate de la normativa vigente sobre dicho tema.

Levantamiento de datos y discusión de resultados

La Actividad Sexual en Costa Rica

El comportamiento con respecto al inicio de las relaciones sexuales también ha variado. En el reporte del INEC 2012, en Costa Rica las personas declararon una edad de inicio de las relaciones sexuales entre los 15 a 44 años, como lo muestra la figura 1. De ellos, el 22% correspondiente a hombres y un 11.2% correspondiente a mujeres había tenido relaciones sexuales antes de cumplir los 15 años. Un 67.9% de los hombres y un 51.4% de las mujeres había tenido relaciones sexuales antes de cumplir los 18 años.

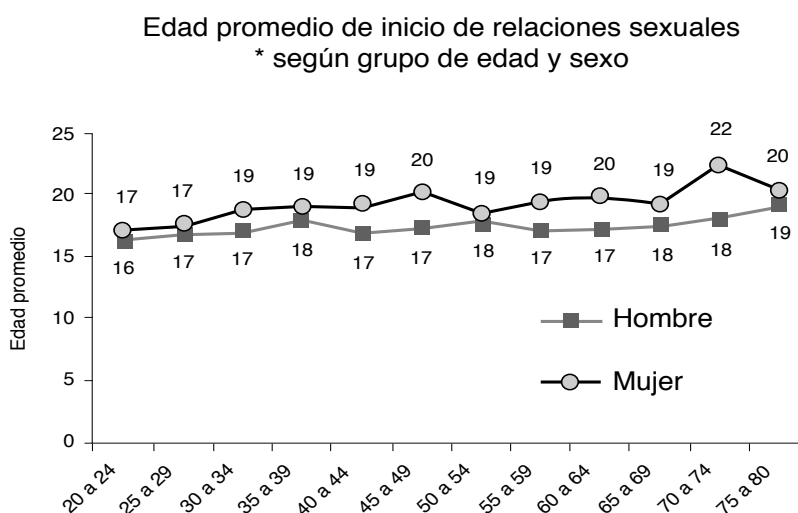


Figura 1. Rango de edad por grupo etario para el inicio de la actividad sexual. Fuente: Encuesta de Salud Sexual y Reproductiva, 2010. Ministerio de Salud. Consultado: viernes 1 enero 2016, a las 17:23 horas GMT-06. <http://www.unfpa.or.cr/index.php/actualidad/3-actualidad/537-salud-presenta-resultados-de-la-encuesta-nacional-de-salud-sexual-y-reproductiva>.

Cuadro 1. Tendencias en el porcentaje de uso de métodos de planificación familiar en mujeres unidas (15-49 años)

Método	ENF-76	EFS-86	ESR-92	ENSR-99	ENSR-09	ENSSR-10
TOTAL	67,0	69,0	75,0	80,0	81,1	82,1
Modernas	29,9	27,8	27,7	38,4	35,7	33,9
Orales	23,0	19,2	18,0	25,6	24,7	21,0
DIU	5,0	7,4	8,7	6,9	2,8	3,3
Inyectables	1,9	1,2	1,0	5,9	8,1	9,3
Nor plant	-	-	-	-	0,10	0,30
Esterilización	15,7	17,2	22	21,9	35	35
Estirilización Femenina	14,7	16,7	19,7	21,4	28,3	29,6
Esterilización masculina	1	0,5	1,3	0,5	4,7	5,8
Barrera	8,6	12,9	15,7	10,9	7,7	9,4
Condón Masculino	8,6	12,9	15,7	10,9	7,7	8,9
Condón Femenino	-	-	-	-	-	8,9
Naturales y Tradicionales	10	11	10	8,3	4,6	3,2

Fuente: Encuesta de Salud Sexual y Reproductiva (ESSR), 2010. Ministerio de Salud. Consultado: viernes 1 enero 2016, a las 17:23 horas GMT-06. <http://www.unfpa.or.cr/index.php/actualidad/3-actualidad/537-salud-presenta-resultados-de-la-encuesta-nacional-de-salud-sexual-y-reproductiva>

Con respecto a los métodos de planificación familiar, como se muestra en el cuadro 1, el reporte de Vigilancia Epidemiológica del Ministerio de Salud de Costa Rica [3], que se tiene para el 2010, la prevalencia anticonceptiva se muestra similar a las encuestas de 1999 y 2009, con 82,1%, y la píldora anticonceptiva es el método más utilizado en los métodos orales. Sin embargo, el uso de los anticonceptivos orales muestra una disminución de 4,6%, respecto a 1999, situándose actualmente en 21%. El anticonceptivo de mayor uso es la esterilización femenina (29,6%) que presenta un aumento del 8.2% respecto a la reportada en 1999.

Los anticonceptivos inyectables cuya prevalencia ha aumentado en un 3,4 % respecto a la encuesta de 1999 y los métodos anticonceptivos cuyo uso ha disminuido en mayor proporción son el Dispositivo intrauterino (DIU) que pasó de 6,9% en 1999 a 3,3% en el 2010, y el Ritmo, pasando de 6,0% en 1999 a menos de un 1% en el 2010.

El condón masculino, se registra una disminución sostenida de su uso desde 1992 (cuando presentaba una prevalencia de 15,7%), para alcanzar un 8,9% en el 2010. El condón de uso femenino, es utilizado por el 0,5% y el 0,2% de mujeres. En el cuadro 2 se muestra la frecuencia de uso del dispositivo anticonceptivo de acuerdo al grupo de edad.

Métodos de Prevención de las ETS

Para la prevención de ETS y SIDA son importantes los métodos anticonceptivos de barrera y aún más efectivo es la abstinencia. Sin embargo, los adolescentes se interesan más en estos con el fin de evitar embarazos y no como métodos de prevención de ETS.

Cuadro 2. Reporte de uso del condón masculino como método anticonceptivo

Variables	Mujeres		Hombres	
	Ha usado alguna vez	Uso en la última relación sexual con Penetración Vaginal	Ha usado alguna vez	Uso en la última relación sexual con Penetración Vaginal
Edad				
15-19	76,1	43,7	93,9	66,1
20-24	85,9	24,4	92,9	57,8
25-29	80,1	19,2	88,4	33,1
30-34	76,30	17,30	90,20	21,30
35-39	80,3	15,2	86,6	32,2
40-44	65,6	9,2	81,7	12,5
45-49	62,1	14,4	76,9	21,5
Zona de Residencia				
Central urbana	69,7	22,0	89,5	40,0
Central rural	67,6	19,8	83,4	29,6
Resto del país rural	53,1	17,7	86,3	32,4
Resto del país rural	67,1	17,0	86,7	28,7
Nivel Educativo				
Primaria	67,9	10,8	82,4	24,6
Secundaria	62,1	23,6	90,2	38,7
Universitario	74,3	25,0	91,5	42,9

Fuente: Encuesta de Salud Sexual y Reproductiva (ESSR), 2010. Ministerio de Salud. Consultado: viernes 1 enero 2016, a las 17:23 horas GMT-06. <http://www.unfpa.or.cr/index.php/actualidad/3-actualidad/537-salud-presenta-resultados-de-la-encuesta-nacional-de-salud-sexual-y-reproductiva>

Dentro de los métodos de barrera se conoce el condón masculino más tradicional y el femenino, los geles con nonoxinol-9; asimismo para prevención del Síndrome de Papiloma Humano se ha desarrollado la vacuna.

Método 01. Abstinencia

Según Santelli, la abstinencia puede definirse en términos conductuales como “posponer la relación sexual” o “nunca haber tenido una relación sexual vaginal”; o bien, abstenerse de coitos sexuales posteriores si ya se tuvo experiencias sexuales. Para el Instituto Tecnológico de Monterrey existen varios tipos de estrategias que confieren diversos grados de “garantía” en la prevención de la infección por VIH y de enfermedades de transmisión sexual (ETS), para ellos la garantía absoluta se obtiene en la abstinencia sexual, la cual ofrece una efectividad del 100% en la prevención de infección por VIH y de enfermedades de transmisión sexual [4].

Una publicación realizada sobre los países africanos en donde se estudió la influencia de las exhortaciones de abstinencia, se evidenció una disminución por la infección de VIH, pero en otros países donde la edad de inicio de la relación sexual era muy temprano había menores índices de infección, porque hubo concomitantemente una disminución del número de parejas sexuales, agregado al uso correcto del condón, por lo que el estudio concluyó que las disminuciones de frecuencia de VIH probablemente se debían más que nada a una disminución

del número de compañeros o compañeras; aunque la abstinencia, la postergación de la iniciación sexual y el uso de condones con compañeros o compañeras no habituales también contribuyeron a las disminuciones.

En otro estudio realizado en jóvenes entre 15 y 20 años los autores encontraron que tan sólo 3,7% de los jóvenes (sexo masculino) la consideran como primera opción que la estrategia más eficaz para evitar la transmisión sexual del virus del sida, mientras que ninguna de las mujeres la considera. Ya como segunda medida los porcentajes aumentan siendo para mujeres un 17,7 y un 18,5 para los hombres [4].

El estudio realizado por Society for Adolescent Medicine concluyó que a pesar de que la abstinencia sea el método que teóricamente evita la infección por VIH en un 100 %, en lo que corresponde a la práctica no tiene una eficacia alguna, lo que hace que estas políticas contradigan las investigaciones científicas en lo que corresponde a la prevención del VIH.

Método 02. Condón femenino

En 1993, en EEUU se estudió el condón femenino y se estimó que reduce en un 97% la tasa de ETS. Este método anticonceptivo en cuanto a prevención de ETS ha sido muy aceptado según estudios recientes en mujeres que asisten a clínicas de planificación familiar. Sin embargo, en general de todos estos estudios la aceptabilidad del condón femenino ha sido de un 52 a 95 %.

Posteriormente se realizó un estudio en New York en mujeres de alto riesgo de adquirir enfermedades de transmisión sexual ellas eran VIH negativo y mayores de 17 años y con las siguientes condiciones: que hayan tenido sexo anal o vaginal en los tres meses anteriores, y que al menos en el año anterior hayan estado en alguno de los siguientes factores de riesgo; que le hayan diagnosticado una enfermedad de transmisión sexual, que haya tenido más de tres compañeros sexuales, drogas intravenosas, sexo con una persona promiscua o que se inyecte droga. El estudio consistió en dar información a estas mujeres sobre el dispositivo y uso y luego se les hizo entrevistas acerca de cómo percibían el método anticonceptivo. Sin embargo, no se menciona cuantitativamente la efectividad del condón femenino en prevención de ETS y SIDA, solamente se asume que por ser un anticonceptivo de barrera previene estas enfermedades [5].

Con respecto a la percepción del condón femenino se han realizado estudios en jóvenes universitarios, y según esta observación cualitativa se demuestra que el uso de este dispositivo no es de mucha aceptación para los hombres y les parecería más su uso en ocasiones y el uso del condón masculino cuando el sexo es consistente. Y esto es expresado por esta población joven a pesar de no haberlo usado, aunque sí se argumenta que es importante en prevención de enfermedades de transmisión sexual y se cree hay preferencia en general por el condón masculino porque ha sido utilizado más popularmente durante más tiempo, además que el femenino es de mayor costo [6].

En 1996-1998 se realizó un estudio más cuantitativo para observar la eficacia del condón femenino como barrera al semen. Los resultados de este estudio es que el condón femenino previene de un 79% a un 93% la exposición de semen, este lo lograron mediante la medición en el fluido vaginal de antígeno específico prostático antes y después del uso del condón. Además, en este estudio se sugiere que hay más exposición de semen cuando hay problemas de uso.

Método 03. Condón masculino

El condón masculino es de mayor popularidad; sin embargo, según el Ministerio de Salud el 50% de los adolescentes tiene relaciones sexuales antes de los 18 años sin uso del condón. En 1980 se realizó un estudio de permeabilidad y epidemiología que en el servicio de Salud Pública de EEUU y se comprobó que hay mayor incidencia de enfermedades como SIDA, gonorrea, uretritis no gonocócica y herpes genital, cuando no se usaba condón.

Sin embargo, haciendo referencia a otros estudios es muy baja la efectividad del condón en contra del SIDA. En este estudio no se demuestran resultados posteriores a las charlas y videos para prevenir el SIDA y las ETS con el uso del condón. Sin embargo, se menciona que el hecho ser un anticonceptivo le da mucha aceptación entre las personas [7].

Método 04. Nonoxinol- 9

El nonoxinol-9 es un espermaticida y se han realizado estudios para ver si también funciona como microbicidas y así sea efectivo en prevención de ETS. Se hizo un estudio experimental en prostitutas VIH negativas, utilizaron una película con 70mg de nonoxinol-9 colocado en la vagina antes del coito, donde también el compañero usó el condón esto en el 90% de los casos y además había un film placebo Las mujeres fueron evaluadas durante un mes se les realizaron pruebas de ADN en la vagina y endocervix para investigación por clamidia, gonorrea y VIH [8].

Método 05. Vacuna del papiloma humano

Dos de las posibles vacunas que se encuentran en estudio son: a) Vacuna profiláctica para prevenir la infección, generalmente encaminada a generar anticuerpos neutralizadores de la proteína L1 MAJOR CAPSID y b) vacunas terapéuticas incluyendo CTLs, por lo general contra las oncoproteínas virales E6 y/o E7 presentes en displasias asociadas a VPH y lesiones cancerosas, y responsables de la transformación maligna [9].

En el caso de las vacunas profilácticas han desarrollado dos: Gardasil® (Merk, White house Station NJ, USA), aprobada por la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos (FDA por sus siglas en inglés) en junio del 2006 y en Costa Rica se introdujo en el 2007 y Cervarix® (GlaxoSmithKline [GSK], Rixensart, Belgium) la cual fue aprobada por la Agencia Europea de medicamentos (EMA) en septiembre de 2007. Ambas poseen partículas de proteína L1 similares al virus (VLPs) que carecen de ADN viral de tipo oncogénico, aunque ambas usan como base VLPs de VPH tipo 16 y 18; Gardasil® además VLPs del tipo 6 y 11. Cerca del 70% de todos los casos de cáncer de cérvix pueden ser atribuidos a los VPH tipo 16 y 18 los cuales son clasificados como de riesgo oncogénico alto y cerca de un 90% de las verrugas genitales están asociadas con VPH tipo 6 y 1, que son de bajo riesgo oncogénico [10].

Aunque ambas muestran una alta eficacia, todavía quedan algunas dudas o detalles por aclarar como lo es el caso del efecto en la población masculina que, aunque en algunos países ha sido aprobado su uso en hombres no hay estudios que lo respalden. Esto debido a que, aunque este virus ataque a los hombres casi tanto como a las mujeres; pero los síntomas son casi imperceptibles, causando verrugas genitales, o cáncer de pene el cual representa tan sólo un 0.5% de cáncer en los hombres [11].

Para el caso del tiempo de viabilidad para la protección se han usado modelos que muestran una eficacia de 4.5 años para Cervarix® y de 5 años para Gardasil®. Según los modelos usados por Brisson, el uso de una vacuna profiláctica contra VPH tipo 6, 11,16 y 18 tiene el potencial de reducir significativamente las verrugas genitales, la neoplasia cervical intraepitelial y el cáncer cervical [10].

Tanto para Cervarix® como para Gardasil® no se recomienda su administración en mujeres embarazadas debido a la falta de información. Otra de las dudas al respecto es la edad indicada para vacunar la cual se espera que sea antes del inicio de la vida sexual sin hacerlo desde muy temprana edad debido a la vida media efectiva de las vacunas [10].

Marco Legal de ETS y VIH/SIDA en Costa Rica

Se presenta un conflicto y escasez legal, en cuanto a esta situación; a excepción del caso independiente del VIH-SIDA, donde todas las ETS son tratadas por igual.

Existe un único tipo penal para castigar a aquella persona que, sabiendo que padece una enfermedad venérea, contagiare a otro. Esto se conoce como el delito de Contagio Venéreo. No se hace ninguna distinción acerca de cuál enfermedad hace referencia, ni el “cómo” del contagio. Este es considerado como una lesión hacia otra persona y es perseguible únicamente a instancia privada [12].

Si esta persona portadora de una enfermedad infecto-contagiosa, conoce de dicho estado (ya que si el mismo portador no está consciente de su estado por no haberse hecho las pruebas necesarias, no podría constituir en un delito típico) infectase a otro persona mediante una donación de sangre o sus derivados, semen, leche materna, tejidos u órganos; o manteniendo relaciones sexuales con otra persona sin informarle de la condición de infectado, incurrirá en un delito contra la Salud Pública, consignado como propagación de enfermedades infecto-contagiosas [12].

En dado caso se necesitaría solicitar un perito médico para ayudar a determinar las consecuencias de las mismas. A partir del año 1998, mediante la creación de la Ley 7771, dado a la importancia especial que se le dio al tema, se creó una ley especial con el objeto de la educación, la promoción de la salud, la prevención, el diagnóstico, la vigilancia epidemiológica y la atención e investigación sobre el virus del VIH y el Sida; además, trata de los derechos y deberes de los portadores del VIH, los enfermos de Sida y los demás habitantes de la República [13]. El Estado debe velar por la atención de estos pacientes, brindarles no sólo la ayuda médica, sino la preparación e información necesaria que conlleva tener esa enfermedad al igual que guiarlos para poder transmitir dicha noticia.

Es obligación del Ministerio de Salud y demás entidades públicas y privadas, coordinar los servicios y programas de prevención y atención de enfermedades de transmisión sexual, por su relación e importancia como facilitadoras de la transmisión del VIH.

Por tanto, dentro del marco legal se puede concluir que a pesar de las problemáticas que existen hoy en día y el aumento de riesgos en cuanto a las transmisiones de enfermedad sexual, el derecho y la normativa parece ir atrás de las necesidades de los posibles afectados, y facilitar otros medios, ágiles y especiales para esta problemática [12].

Acciones para combatir el impacto de las ETS en los sistemas de salud pública

La OMS desarrolla normas y pautas mundiales para tratar y prevenir las ETS; fortalece los sistemas de vigilancia y seguimiento, incluidos los relativos a la gonorrea farmacorresistente, y dirige el establecimiento del programa mundial de investigaciones sobre ETS.

La labor de la OMS que se encuentra regido por los Objetivos de Desarrollo del Milenio 4, 5 y 6, la Estrategia mundial de prevención y control de las infecciones de transmisión sexual adoptada por la Asamblea Mundial de la Salud en 2006; así como por la Estrategia Mundial del Secretario General de las Naciones Unidas para la Salud de la Mujer y el Niño, de 2010; se destaca la necesidad de acoger un grupo integral de intervenciones medulares, dentro de las que se encuentra incluida la información y los servicios de prevención del VIH y otras [14].

La OMS colabora con los países para poder:

- Reforzar los servicios eficaces de lucha contra las ETS, con inclusión de:
 - gestión de casos de ETS y asesoramiento
 - pruebas y tratamiento de la sífilis, en particular para las embarazadas
 - vacunación contra la hepatitis B y el VPH
- Promover estrategias orientadas a fortalecer la prevención de los efectos de las ETS, con inclusión de:

- servicios de ETS integrados en los sistemas de salud existentes
- promoción de la salud sexual
- evaluación de la carga de morbilidad derivada de las ETS
- seguimiento de la resistencia de las ETS a los antimicrobianos y respuesta pertinente.
- Apoyar el desarrollo de nuevas tecnologías de prevención de las ETS, tales como:
 - pruebas de diagnóstico de ETS en el lugar de atención
 - otros medicamentos contra la gonorrea
 - vacunas y otras intervenciones biomédicas contra las ETS

En América Latina y el Caribe, al menos 15 países tienen redes nacionales y organizaciones sociales y comunitarias interesadas en la infección por el VIH/sida, con innumerables áreas de concentración, incluida la promoción de la causa, la promoción de la adherencia al tratamiento, la investigación operativa y perspectivas más integradas. La mayoría de los países han ejecutado con éxito las intervenciones de prevención, con un efecto positivo. En un estudio reportado en el informe de la PAOH, 2007; la proporción de personas que informaron haber tenido relaciones sexuales sin protección con parejas no primarias descendió 35% en los hombres y 39% en las mujeres que recibieron OPV, comparado con 13% (tanto en hombres como en mujeres) que solo recibieron educación sanitaria [15].

El Informe “3 por 5” de la OPS/OMS (Toward Universal Access to HIV Prevention, Care and Treatment: 3 by 5 Report for the Americas) mostró que todos los países de la Región Latinoamericana han logrado una aceleración sin precedentes en la provisión del tratamiento antirretrovírico, especialmente durante 2004 y 2005, (PAHP, 2007). Desde enero de 2004, más de 100.000 nuevos tratamientos se han iniciado en América Latina y el Caribe solamente. Sin embargo, hay brechas importantes en la Región (figura 02). Por primera vez en la historia, la Región tiene acceso a los recursos necesarios para empezar a ajustar la magnitud de la necesidad de atención y el tratamiento [1], [2].

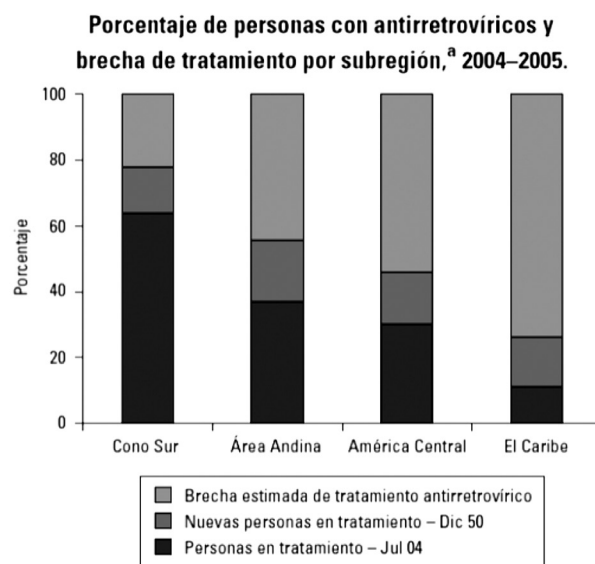


Figura 2. Porcentaje de personas con antirretrovíricos y brecha de tratamiento por subregión,ª 2004-2005. a No incluye Brasil, Canadá, Estados Unidos y México. Fuente: PAHO/WHO. Toward Universal Access to HIV Prevention, Care and Treatment. 3 by 5 Report for the Americas.

La mayoría de los países no tienen sistemas adecuados de información sanitaria, y existen dificultades en cuanto a recopilación de datos sobre VIH, la confidencialidad y la integración a los sistemas existentes. La falta o la disponibilidad limitada de datos oportunos y de calidad se han reconocido como un obstáculo mayor para fundamentar los esfuerzos nacionales y regionales.

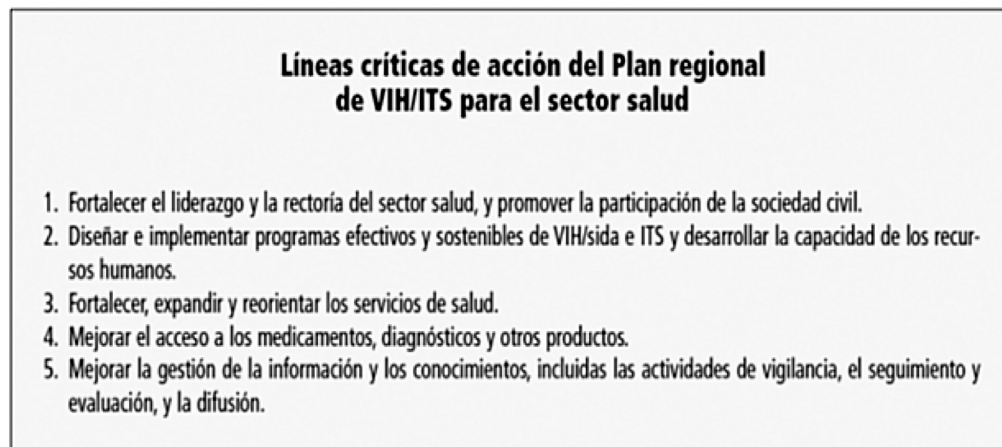


Figura 3. Líneas críticas de acción del Plan Regional de VIH/ETS para el Sector Salud. Fuente: Salud en las Américas 2007 VOLUMEN I-REGIONAL. PAHO (2007). Publicación Científica y Técnica No. 622. Domingo 25 de octubre de 2015, 15:20 GMT-06. Web: http://www.paho.org/cor/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=256&Itemid=PAHO/WHO

Para apoyar el fortalecimiento de la respuesta del sector salud en las Américas, la OPS lanzó el “Plan Regional de VIH/ETS para el Sector Salud 2006–2015” en noviembre de 2005, mírese la figura 3. El Plan “es un paso adicional para promover la prevención y el cuidado eficaces” y guiará el trabajo de la OPS en los años venideros.

Conclusiones sobre los resultados

La tendencia en la sociedad costarricense a tener un inicio de vida sexual cada vez a una edad más temprana. Los anticonceptivos orales se mantienen como el segundo método de planificación familiar con mayor aceptación de acuerdo al reporte de la ESSR del 2010, pero la esterilización femenina es a la fecha de dicha encuesta el método de planificación familiar con mayor preferencia en la población costarricense femenina.

En respecto al uso del condón, se obtuvo una relación proporcional de uso del dispositivo de protección con respecto a la edad; lo cual puede justificarse con respecto a la mayor madurez personal, psicológica emocional y condición laboral de los encuestados; donde, a mayor edad cuentan con mayor conocimiento y toman mayores medidas de prevención para evitar la exposición y contagio de las ETS.

Importante el hecho de que el lector tenga presente que los métodos de planificación familiar son diferentes a los métodos de prevención de las enfermedades de transmisión sexual; aunque, algunos de ellos se utilizan de manera dual como por ejemplo el condón masculino y femenino.

Un aspecto del sistema de prevención de las ETS en Costa Rica el cual a la fecha de este comunicado se encuentra aún con grandes vacíos legales es el referente al manejo de penas

y/o castigos con respecto a las personas que padecen una enfermedad venérea. Este aspecto es una oportunidad de mejora para nuestro ordenamiento jurídico, y el crear las figuras legales correspondientes para la tipificación de delitos y/o faltas a la ley por parte de pacientes; quienes conscientes de su condición afecten mediante contagio sexual a otros miembros de la sociedad con los respectivos costos que ello representa para la seguridad social en Costa Rica.

En este esfuerzo de ordenamiento tanto legal como técnico, las autoridades de salud costarricenses como lo son el Ministerio de Salud (MS) y la Caja Costarricense del Seguro Social (CCSS) cuentan con directrices generales promovidas por ONGs como la WHO y la PAHO quienes brindan guías de buenas prácticas y lineamientos generales para que los rectores de salud las apliquen en sus respectivos sistemas sanitarios.

La ayuda de la PAHO a nivel de Latinoamérica ha sido de gran valor epidemiológico, al establecer marcos de las condiciones actuales en la región, para atacar de manera particular el problema por parte de cada estado de la región.

Bibliografía

- [1] PAHO. (2007). Salud en las Américas 2007 VOLUMEN II-PAÍSES. Publicación Científica y Técnica No. 622. [online]. Disponible: http://www.paho.org/cor/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=257&Itemid=
- [2] PAHO. (2007). Salud en las Américas 2007 VOLUMEN I-REGIONAL. Publicación Científica y Técnica No. 622. [online]. Disponible: http://www.paho.org/cor/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=256&Itemid=
- [3] Ministerio de Salud. (2014). Análisis de Situación de Salud Costa Rica. [online]. Disponible: <http://www.ministeriodesalud.go.cr/index.php/vigilancia-de-la-salud/analisis-de-situacion-de-salud/2618-analisis-de-situacion-de-salud-en-costa-rica/file>
- [4] Planes, M. et al. "Prevención de la transmisión sexual del VIH en adolescentes". Revista. Med. Psicosom, vol.71, no. 72, pp. 76-85. 2004.
- [5] Cortés, A., et al. "Instrumento de trabajo para el estudio de las enfermedades de transmisión sexual y VIH/SIDA en adolescentes". Revista Cubana Medicina Tropical., vol. 52, no.1, pp. 48-54. 2000.
- [6] Florez, C. "Socioeconomic and contextual determinants of reproductive activity among adolescent women in Colombia". Rev Panam Salud Pública. vol.18, no. 6, pp. 388-402. 2005.
- [7] Gonçalves, S., Castellá, J. y Carlotto, M. S. "Predictores de Conductas Sexuales de Riesgo entre Adolescentes". Revista Interamericana de Psicología/Interamerican Journal of Psychology. vol. 41, no. 2, pp. 161-166. 2007.
- [8] Torres, P., et al. "Estrategias novedosas de prevención de embarazo e ETS/VIH/SIDA entre adolescentes escolarizados mexicanos". Revista de Salud Pública México. vol. 48, pp. 308-316. Oct. 2008.
- [9] OPS- Costa Rica. (2010). Reporte de Indicadores de Salud. [online]. Disponible: http://www.paho.org/saludenlasamericas/index.php?id=31&option=com_content
- [10] Díez, M. Díaz A. (2011). "Infecciones de transmisión sexual: epidemiología y control (Sexually transmitted infections. Epidemiology & Control)". Scielo. Rev. esp. sanid. penit. vol.13 no.2. pp. 58 – 66. Oct. 2011. [online]. Disponible: http://scielo.isciii.es/pdf/sanipe/v13n2/05_revision.pdf
- [11] WHO. (2015). Infecciones de transmisión sexual. [online]. Disponible: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs110/es/>
- [12] Chacón, Tatiana, et al. (2009). "ETS Y SIDA en adolescentes: descripción, prevención y marco legal". Revista Medicina Legal. Costa Rica. vol.26, no.2. pp. 79 – 98. Sep. 2009. [online]. Disponible: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152009000200008
- [13] OMS. (2012). Guía sobre indicadores para la vigilancia y notificación de la respuesta del sector salud al VIH/SIDA. [online]. Disponible: http://www.who.int/hiv/data/UA_2012_Indicator_Guia_es.pdf
- [14] ONUSIDA. (2006). Plan Estratégico Nacional para la Prevención, Atención y Asistencia del VIH-SIDA. [online]. Disponible: http://www.who.int/hiv/data/Strategic_Plan_AIDS_HIV.es.pdf
- [15] PAOH. (2012). Análisis de Indicadores de Genero y de Salud en Costa Rica 2012. Binasss. [online]. Disponible: http://www.paho.org/cor/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=301&Itemid=

Optimización de la fertilización orgánica e inorgánica del cacao (*Theobroma Cacao* L.) con la inclusión de *Trichoderma* endófito y Micorrizas arbusculares

Optimization of organic and inorganic fertilization cocoa (*Theobroma cacao* L.) with the inclusion of *Trichoderma* endophyte and arbuscular mycorrhizae

Ángel Luis Tuesta-Pinedo¹, Erick Trigozo-Bartra², Jaime José Cayotopa-Torres⁴, Enrique Arévalo-Gardini³, Cesar Osvaldo Arévalo-Hernández⁵, Luis Benigno Zúñiga-Cernadez⁵, Betsabé Leon-Ttacca⁵

Fecha de recepción: 19 de mayo de 2016
Fecha de aprobación: 6 de agosto de 2016

Tuesta-Pinedo, A; Trigozo-Bartra, E; Cayotopa-Torres, J; Arévalo-Gardini, E; Arévalo-Hernández, C; Zúñiga-Cernadez, L; Leon-Ttacca, B.. Optimización de la fertilización orgánica e inorgánica del cacao (*Theobroma Cacao* L.) con la inclusión de *Trichoderma* endófito y Micorrizas arbusculares. I. *Tecnología en Marcha*. Vol. 30-1. Enero-Marzo 2017. Pág 67-78.

DOI: 10.18845/tm.v30i1.3086



- 1 Ingeniero Agrónomo. Asociación de Productores Kallpa. San Martín, Perú. Correo electrónico: tuestapi@hotmail.com
- 2 Ingeniero Agrónomo. Asociación de Productores Kallpa. San Martín, Perú. Correo electrónico: e.trigozo@gmail.com
- 3 Ingeniero Agrónomo. Instituto de Cultivos Tropicales. San Martín, Perú. Correo electrónico: enriquearevaloga@gmail.com
- 4 Asociación de Productores Kallpa. San Martín, Perú.
- 5 Instituto de Cultivos Tropicales. San Martín, Perú.

Palabras clave

Moniliasis; *Phytophthora*; Escoba de Bruja; Nutrición mineral.

Resumen

El cacao es una planta nativa de América tropical y el Perú ha expandido su área sembrada considerablemente, por lo que es necesario un manejo adecuado del cultivo para obtener rendimientos rentables. Así, el presente trabajo tuvo como objetivo validar la inclusión de *Trichoderma* endófito y micorrizas en la fertilización orgánica e inorgánica para mejorar el rendimiento y la tolerancia a enfermedades del cacao. El experimento fue localizado en dos zonas productivas del Departamento de San Martín (Juanjui y Lamas), cepas de *Trichoderma* (T) y hongos micorrizicos arbusculares (HMA) se inocularon en plantas de cacao de 6 a 12 años en conjunto con aplicación de fertilizantes (F) y Guano de isla (G), dispuestos en DBCA con 10 tratamientos (Aplicación de T; HMA; T+HMA; T+F; T+G; HMA+F; HMA+G; T; G). Se evaluó la dinámica de las principales enfermedades en cacao (Escoba de bruja, Moniliasis y Pudrición parda), número de frutos cherelles, número de mazorcas y peso de grano seco. A partir de los resultados, se puede concluir que las zonas de Juanjui y Lamas, presentaron mayor incidencia de Moniliasis y Pudrición parda, respectivamente; explicado por el posible desbalance nutricional en las plantas producido por el exceso y falta de calcio, respectivamente. De forma general, la localidad de Juanjui tuvo mayor rendimiento de granos de cacao en comparación a Lamas. Los tratamientos con mayores rendimientos fueron los que incluyeron la aplicación de HMA y fertilizante inorgánico indicando la sinergia entre factores.

Keywords

Moniliasis; *Phytophthora*; Witches' broom; mineral nutrition.

Abstract

Cacao is a native plant of tropical America and in Peru has considerably expanded its planted area, so proper crop management to obtain profitable yields is necessary. Thus, this study aimed to validate the inclusion of *Trichoderma* endophyte and mycorrhizae in organic and inorganic fertilization to improve performance and tolerance of cacao to diseases. The experiment was located in two production areas of the Department of San Martin (Juanjui and Lamas), strains of *Trichoderma* (T) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) were inoculated into cacao plants of 10 to 15 years in conjunction with inorganic (F) and organic (G) fertilizer applications, arranged in RCBD with 10 treatments (application of T; HMA; T + HMA; T + F; T + G; HMA + F; HMA + G; T; G). The dynamics of major diseases (Witches' broom, Frosty pod and black pod) in cacao, cherelles, number of fruits, number of ears and grain dry weight was evaluated. From the results, it can be concluded that the towns of Juanjui and Lamas, had a higher incidence of Moniliasis and Black pod, respectively; explained by the possible nutritional imbalance in plants caused by excess and lack of calcium respectively. Overall, the plants showed higher yields in Juanjui in comparison to Lamas. The treatments with higher yields were those that included the application of HMA and inorganic fertilizer, indicating synergy between factors.

Introducción

En los últimos años el cultivo de cacao en el Perú, incrementó sus áreas cultivadas en 32.6 %, pasando de 56 732 ha en el 2006 a más de 98 000 ha en el 2016 [22], sin embargo; los

índices de producción promedio por hectárea alcanzaron apenas 671 kg. El cacao en el Perú ha ganado importancia debido a su uso en la sustitución de cultivos ilícitos de coca y es mayormente manejado en sistemas agroforestales [1], estos sistemas conservan la fertilidad de suelo y mejoran el ciclaje de nutrientes, previenen la erosión de suelo, mejoran atributos físicos y conservan la diversidad microbiana [2]. Dentro de esta diversidad microbiana, los hongos endófitos asociados a las plantas, como es el caso de *Trichoderma* sp. pueden contribuir con un mejor desarrollo de plantas, mayor productividad y calidad de cultivos debido a que disminuyen el estrés causado por enfermedades y estreses abióticos como la falta de agua y metales pesados [3] [4]. Los hongos micorrizicos arbusculares (HMA), forman simbiosis con más del 80% de las plantas terrestres conocidas [6] y son reconocidos por sus amplios beneficios hacia las plantas como una mejor nutrición de P, tolerancia a sequía, acidez, salinidad, metales pesados y patógenos [6] [5] [7]. Sin embargo, el uso de fertilizantes tanto orgánicos como inorgánicos a depender de la dosis y tipo de insumo utilizado, puede afectar la diversidad microbiana, su función en el ecosistema y la dinámica de especies presentes en el suelo [8], logrando que suelos con altos niveles de nutrientes o altas aplicaciones de fertilizantes disminuyan la presencia de microorganismos o su asociación con las plantas como ocurre en caso de los HMA, con altos niveles de P disponible [6]. De esta manera, son necesarias investigaciones que analicen el potencial del uso de microorganismos en la agricultura y los efectos de la fertilización orgánica e inorgánica en la calidad de suelo y productividad del cultivo de cacao. Así, el objetivo del presente trabajo fue validar la inclusión de *Trichoderma* endófito y micorrizas en la fertilización orgánica e inorgánica para mejorar el rendimiento y productividad del cacao.

Materiales y metodos

Localización

El experimento fue realizado en dos localidades. La primera parcela experimental se localizó en la provincia de Mariscal Cáceres, Centro Poblado Chambira – sector el Porvenir (5 km de la ciudad de Juanjui), en una plantación de cacao CCN-51 de 5.5 años de edad con una extensión de 5 hectáreas (3 x 3 m), con una precipitación anual de 1472 mm y temperaturas promedio máxima de 28.4 °C y mínima de 18.7 °C. La segunda parcela experimental en la provincia de Lamas, distrito de Pinto Recodo – sector Huicungo (10 km del distrito de Shanao), en una plantación de cacao de 12 años de edad, bajo un sistema de siembra cuadrado de 3 x 3 m de densidad, en el Fundo “Paraíso Verde”, con una precipitación anual de 1715.3 mm y temperaturas promedio máxima de 33 °C y mínima de 20.6 °C. Los resultados de los análisis de suelo (Textura, pH, Conductividad eléctrica, Materia orgánica, Nitrógeno total, Fosforo disponible, Calcio, Magnesio, Potasio, Sodio y Aluminio) para cada localidad utilizada en el presente experimento son presentados en el cuadro 1.

Cuadro 1. Características físicas y químicas de los suelos donde se realizó el experimento.

Zona	Arena	Limo	Arcilla	pH	C.E	CaCO ₃	M.O	N	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	Al ³⁺ +H ⁺
	-----%-----			1:2.5 Agua	dS/m	-----%-----			mg kg ⁻¹		-----cmolc kg ⁻¹ -----				
Juanjui	52.96	24	23.04	5.18	0.05	0	1.88	0.08	<4	64	1.69	0.56	0.16	0	0
Lamas	17.68	21.28	61.04	7.82	0.26	5.72	4.82	0.22	7.14	119	34.29	2.42	0.3	0	0

Diseño experimental

El experimento fue conducido bajo un Diseño de Bloque Completamente al Azar con 10 tratamientos y 3 repeticiones en cada localidad estudiada (Juanjui y Lamas). Se empleó tratamientos con aplicación de enmiendas orgánicas e inorgánicas en interacción con los microorganismos (cuadro 2). Se realizaron aplicaciones de *Trichoderma atroviride*, HMA y fertilizantes orgánicos e inorgánicos.

Inóculo: aplicación de *Trichoderma* y micorrizas arbusculares

Se realizaron dos ensayos en laboratorio e invernadero (no publicados); con los resultados obtenidos se seleccionó la mejor cepa de *Trichoderma* (*T. atroviride*) e inóculo de hongos micorrízicos arbusculares (HMA). Una cepa de *T. atroviride* (TA), de la colección del Instituto de Cultivos Tropicales (ICT) fue seleccionada y sembrada en placas petri con medio Papa Sacarosa Agar (PSA) e incubada a 24 °C, para obtener el inóculo necesario. El inóculo fue multiplicado en sustrato de arroz y agua destilada (esterilizado a 121°C/ 15Lb/45 minutos). Para la aplicación de *Trichoderma* se separó el inóculo del sustrato de arroz con ayuda de aceite agrícola y agua. Posteriormente se estandarizó la solución inóculo con agua hasta obtener una concentración de 10^7 conidias.ml⁻¹. Finalmente, la solución fue aplicada a razón de 400 ml por árbol de cacao. Para la obtención de inóculo de HMA se extrajeron raíces absorbentes de plantas en producción que fueron trasladadas al Laboratorio de Fitopatología del ICT donde se determinó su presencia. Las raíces colectadas con alta colonización se cortaron en secciones pequeñas y fueron mezcladas con suelo estéril y después sembrados con *Brachiaria brizantha* para incrementar el inóculo de HMA. La concentración de esporas por gramo del sustrato final fue de 122 esporas por gramo de suelo y la cantidad estimada para la aplicación por planta de cacao fue de 100 g. Las micorrizas fueron aplicadas con un sustrato de concentración de 122 esporas/gramo de sustrato y 100 gramos por planta de cacao.

Preparación y aplicación de dosis de fertilizantes.

Los resultados del análisis de suelo sirvieron para determinar la dosis de los fertilizantes orgánicos e inorgánicos a aplicar en las plantas de cacao de las dos parcelas experimentales. Para las dos parcelas experimentales, la aplicación de los fertilizantes orgánicos e inorgánicos se realizó en dos fracciones (cuadro 3). Para la primera fracción de fertilizantes inorgánicos y orgánicos se utilizó: 75 g de Urea + 50 g de Superfosfato Triple (SFT) + 90 g de Cloruro de Potasio (CP) y 105 g de Guanos de Isla (GI) en la parcela de Juanjui; 58 g de SFT + 87.5 g de CP y 105 g de GI en la parcela de Lamas. Para la segunda fracción: 75 g de Urea + 50 g de SFT + 90 g de CP y 255 g de GI en la parcela de Juanjui y 58 g de SFT + 87.5 g de CP y 255 g de GI en el experimento en Lamas. La primera aplicación se realizó a inicios de las lluvias y la segunda dos meses después de la primera aplicación.

Evaluaciones fitosanitarias y de producción

Las evaluaciones fitosanitarias consistieron en determinar el número de frutos con moniliasis (*Moniliophthora roreri*), pudrición parda (*Phytophthora palmivora*), escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa*), presencia de escoba de bruja en cojines florales y brotes tiernos; así mismo, el conteo de número de frutos abortados (Cherelles); los frutos, cherelles, cojines y brotes enfermos fueron removidos de la planta de cacao luego de su evaluación. Se evaluó la producción (cuadro 3), contabilizando el número de mazorcas producidas por árbol; número de frutos maduros cosechados, peso de frutos maduros y peso de granos con mucílago.

Cuadro 2. Interacción de Microorganismos y enmiendas orgánicas e inorgánicas.

Nº	Tratamientos
T1	<i>Trichoderma</i> [400 ml] + Fertilizante orgánico [105 g GI]
T2	<i>Trichoderma</i> [400 ml] + Fertilizante Inorgánico [75 g de Urea + 50 g SFT + 90 g CP]
T3	Micorrizas [100 g] + Fertilizante orgánico [105 g GI]
T4	Micorrizas [100 g] + Fertilizante inorgánico [75 g de Urea + 50 g SFT + 90 g CP]
T5	<i>Trichoderma</i> [400 ml] + Micorrizas [100 g]
T6	<i>Trichoderma</i> [400 ml]
T7	Micorriza [100 g]
T8	Fertilizante orgánico [105 g GI]
T9	Fertilizante inorgánico [75 g de Urea + 50 g SFT + 90 g CP]
T10	Control absoluto (Sin aplicación de fertilizantes y microorganismos)

Cuadro 3. Manejo de plantaciones de parcelas experimentales.

Localidad / Año	2014					2015													
	Sep		Oct		Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep				
JUANJUI	Instalación de Parcela Experimental	Muestreo de suelo para análisis	Aplicación de <i>Trichoderma</i>	Aplicación de Micorrizas	1° Aplicación de Fertilizantes: Orgánico e Inorgánico	Evaluación 1	Evaluación 2	Extracción de chupones de tallos de cacao, desmalezado y podas	2° Aplicación de Fertilizantes: Orgánico e Inorgánico	Evaluación 3	Evaluación 4	Evaluación 5	Evaluación 6	Evaluación 7	Evaluación 8	Evaluación 9	Evaluación 10	Evaluación 11	
LAMAS	X				Instalación de Parcela Experimental	Muestreo de suelo para análisis	Aplicación de <i>Trichoderma</i>	Aplicación de Micorrizas	1° Aplicación de Fertilizantes: Orgánico e Inorgánico	Evaluación 1	2° Aplicación de Fertilizantes: Orgánico e Inorgánico	Evaluación 2	Extracción de chupones de tallos de cacao, desmalezado y podas	Evaluación 3	Evaluación 4	Evaluación 5	Evaluación 6	Evaluación 7	Evaluación 8

Parámetros de evaluación

Para la evaluación de la incidencia de enfermedades, en el caso de escoba de bruja, fueron contabilizados los frutos, brotes y cojines florales afectados por el hongo *Moniliophthora perniciosa*; para Moniliasis, fueron contabilizados los frutos que presentaban los síntomas de la enfermedad producida por *Moniliophthora roreri*; y finalmente para la Pudrición parda, fueron contabilizados los frutos y estructuras de la planta afectadas por el Oomiceto *Phytophthora* sp. Para la evaluación del rendimiento, fueron contabilizadas la presencia en frutos de cherrelles, número de mazorcas producidas por árbol y peso seco de granos por planta (kg).

Análisis estadístico

Para el análisis de datos se realizó un ANOVA usando un coeficiente de significancia de $p \leq 0,05$. Para la comparación de medias se utilizó la prueba de Dunnett (R, core team, 2015).

Resultados y discusión

Los resultados de atributos físicos y químicos del suelo, en las localidades estudiadas, son presentados en el cuadro 1, de forma general, los suelos en la zona de Juanjui presentaron suelos arenosos con pH ácido y bajo contenido nutricional. Lamas, suelos arcillosos (arcilla >60%) y calcáreos ($\text{CaCO}_3 > 5\%$) con pH alcalino con bajo contenido de fosforo y altos niveles de calcio y materia orgánica en el suelo. Estas diferencias podrían afectar significativamente la nutrición del cacao, lo que podría repercutir en la productividad y tolerancia a enfermedades de la planta [9]. El cacao, de forma general, prefiere suelos ácidos (5.5 - 6.5), suelos francos y con altos niveles de potasio [10]. Las medias por localidad para Número de Cherelles, Número de mazorcas, Incidencia de Moniliasis, Pudrición parda y Escoba de bruja son presentadas en el cuadro 4. En las localidades estudiadas, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos aplicados para las variables de Número de Cherelles, Número de mazorcas, Incidencia de Moniliasis, Pudrición parda y Escoba de bruja. No obstante, fueron encontradas diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las zonas estudiadas, en todas las variables analizadas. Se observa que el número de cherelles y número de mazorcas fue mayor ($p < 0.05$) en Lamas.

Cuadro 4. Porcentaje de Cherelles, Total de mazorcas, Incidencia de Moniliasis, Pudrición parda y Escoba de bruja, en las zonas de Juanjui y Lamas.

Localidad	Cherelles (%)	Total de mazorcas	Incidencia de Monilia	Incidencia de <i>Phytophthora</i>	Escoba de Bruja		
					Frutos	Cojines Florales	Brotes
Juanjui	9.56b*	133.01b	0.19b	0.19a	0.00b	0.12b	0.03b
Lamas	16.15a	137.17a	0.72a	0.11b	0.05a	0.35a	0.42a
<i>P value</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

*Promedio de 10 tratamientos. Letras distintas indica diferencias significativas, Dunnett ($p < 0.05$).

En la figura 1 son presentadas las distribuciones de Número de Cherelles, Mazorcas, incidencia de moniliasis y Pudrición parda, por localidad estudiada y por tratamiento aplicado. Es posible observar que no existe una relación entre la mayor proporción de cherelles y la incidencia de enfermedades, indicando que este desorden fisiológico se debió principalmente a factores ambientales [10]. Sin embargo, existe una relación inversa entre el número de cherelles y el número de mazorcas, indicando la influencia de los factores ambientales en la producción del cultivo de cacao. Para la incidencia de Moniliasis, fueron observadas diferencias significativas ($p < 0.05$) entre localidades, pero no entre tratamientos ($p > 0.05$); siendo la localidad de Lamas la que presentó, en media, los mayores valores de incidencia de esta enfermedad. La mayor incidencia de esta enfermedad podría deberse a la alta relación Ca/K que indica que existe competencia entre estos elementos, haciendo que exista baja absorción de K a pesar de su alta disponibilidad en el suelo. La deficiencia nutricional de K está relacionada con una mayor incidencia de enfermedades como fue reportado para palma afectada por *Fusarium* [11], trigo por *Helminthosporium* [12]. Además, [13] en una recopilación de 165 estudios de efectos de potasio en enfermedades fungosas, bacterianas y de nematodos encontraron que el 71% de los casos resultó en una disminución de la incidencia de enfermedades. La incidencia de Pudrición parda (*Phytophthora* sp.) indicó diferencias significativas ($p < 0.05$) entre localidades, pero no entre tratamientos ($p > 0.05$); siendo la zona de Juanjui la que presentó, en media, los mayores valores de incidencia de esta enfermedad. En el cuadro 1, se observa que la zona de Juanjui presenta bajos niveles de Ca ($< 3 \text{ cmolc kg}^{-1}$), indicando que las plantas en esos suelos presentan una deficiencia de Ca en sus tejidos. El Ca está relacionado con el reconocimiento de patógenos en la membrana plasmática e inhibe enzimas utilizadas por los patógenos como las poligalacturonasas [14] [9]. La disminución de la incidencia de enfermedades debido a adecuados niveles de Ca o aplicación de Ca, son reportados en plantas afectadas por *Fusarium* sp.; *Sclerotium* sp.; *Verticilium* sp.; *Pythium* sp.; *Rhizotocnia solani* y *Phytophthora* sp. [15].

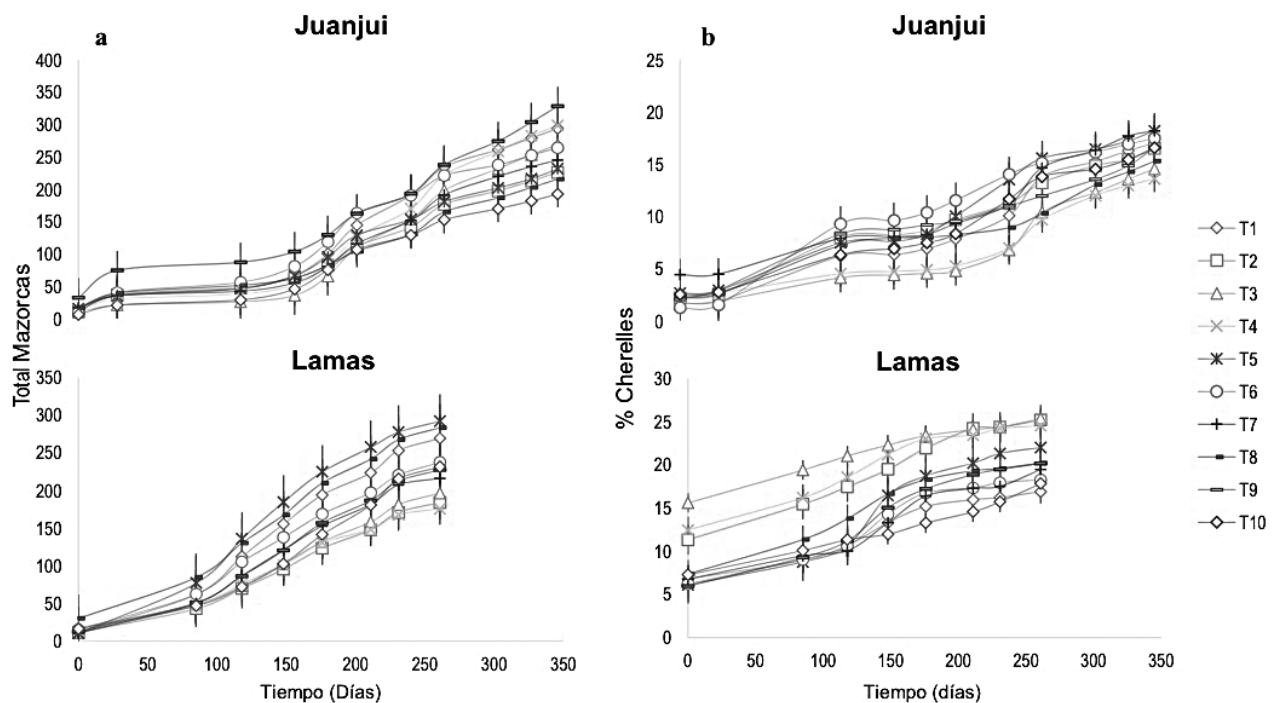


Figura 1a. Gráficos de distribución de Acumulación de Mazorcas (a), Cherelles (b), por localidad estudiada y tratamiento aplicado. Líneas entre puntos indican el error estándar.

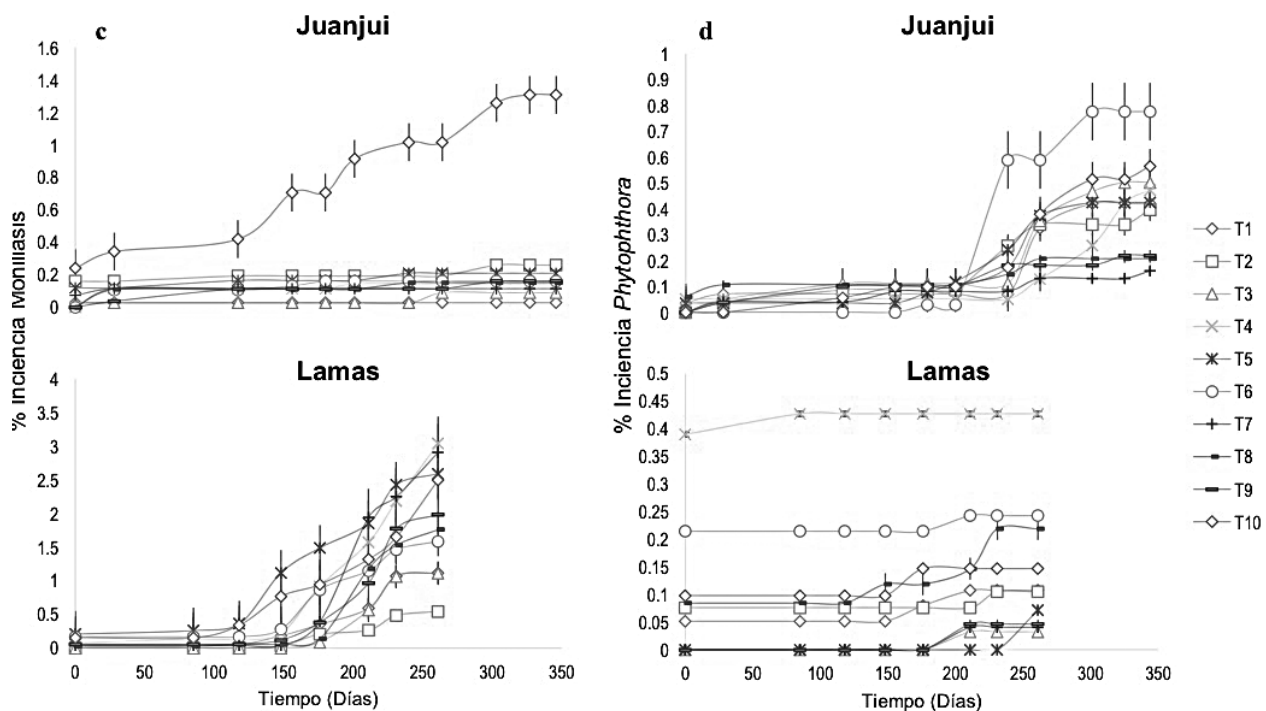


Figura 1b. Gráficos de distribución de Acumulación de Mazorcas, (c) y Pudrición parda (d), por localidad estudiada y tratamiento aplicado. Líneas entre puntos indican el error estándar.

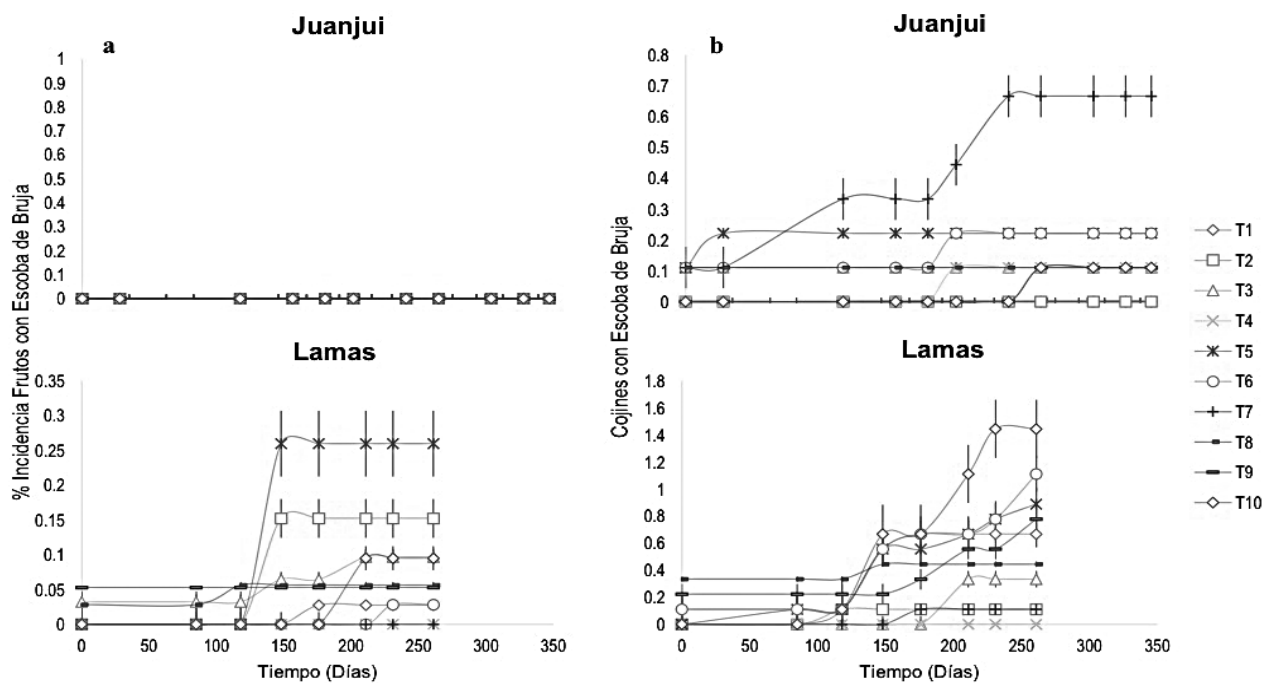


Figura 2a. Gráficos de distribución de Frutos con escoba de bruja (a), Cojines florales (b), por localidad estudiada y tratamiento aplicado. Líneas entre puntos indican el error estándar.

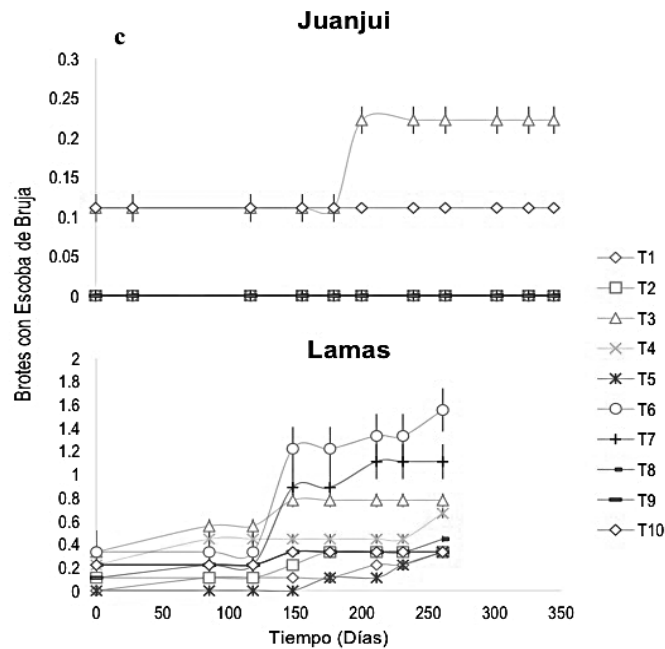


Figura 2b. Gráficos de distribución de Frutos con Brotos (c), por localidad estudiada y tratamiento aplicado. Líneas entre puntos indican el error estándar.

En caso de la evaluación de la incidencia de escoba de bruja no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$), entre los tratamientos aplicados. Sin embargo, fueron notadas diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las zonas estudiadas para Brotos y Frutos con escoba de bruja, siendo la localidad de Lamas la que presentó los mayores valores. Esta mayor incidencia en la localidad de Lamas puede ser atribuida a la nutrición de K, como sugerido anteriormente para el caso de Monilia. No obstante, los contenidos de arcilla en la localidad de lamas, sugieren una alta retención hídrica en los suelos, por lo que existe una mayor probabilidad de sobrevivencia del inóculo [10] y consecuentemente una mayor incidencia de la enfermedad.

Los resultados de rendimiento mínimo, medio y máximo por localidad estudiada son presentados en el cuadro 5. Para las localidades de Juanjui y Lamas, se observaron rendimientos promedios de $1475 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ y $2020 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, respectivamente. Los rendimientos por localidad estudiada, presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$), siendo la localidad de Juanjui la que presentó los mayores rendimientos, en comparación a Lamas.

Cuadro 5. Rendimientos mínimos, medios y máximos, coeficientes de variación en las zonas de Juanjui y Lamas

Localidad	Rendimiento (kg ha^{-1})	Valor F	p value	CV (%)
Juanjui	2020 a (339.9-3972.9)	17.46	<0.001	52.36
Lamas	1475 b (83.1-3550)			

Letras distintas en columna indica diferencias significativas, Prueba F ($p < 0.05$).

Los resultados de rendimiento de granos de cacao por ha (kg) por tratamiento aplicado en cada localidad estudiada son presentados en el cuadro 6. No se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en relación al control en la localidad de Lamas; siendo el T8 el que obtuvo un incremento del 32.4 % en relación al control absoluto con 2082.9 kg.ha⁻¹. Sin embargo, en la localidad de Juanjui fueron observadas diferencias significativas ($p < 0.05$) en relación al control. Todos los tratamientos obtuvieron incrementos porcentuales positivos en el rendimiento con respecto al control absoluto. Los tratamientos de aplicación con fertilizante inorgánico y micorrizas (T4, T7 y T9) fueron los que presentaron mayores valores de rendimiento de cacao por hectárea, que a su vez obtuvieron incrementos respecto al control absoluto, con medias de 2498.0 kg.ha⁻¹ (108.8%); 2502.4 kg.ha⁻¹ (109.2%) y 2488.1 kg.ha⁻¹ (108.0%), respectivamente. Esto indica que la aplicación de fertilizantes inorgánicos y micorrizas actúan sinérgicamente en los rendimientos del cultivo. [16], Investigando en plantas de girasoles (*Helianthus annuus*) encontró que las plantas inoculadas con HMA y fertilizantes minerales incrementaron significativamente la altura, materia seca y área foliar en relación a los controles (con y sin aplicación de micorrizas), explicado por los autores, por el suministro de nutrientes de los fertilizantes aplicados y la mayor acumulación de P, K y Fe en hojas de las plantas inoculadas con HMA. Así [17], observo que en el cultivo de la papa, las plantas inoculadas con HMA aumentaron significativamente la productividad; efectos integrados entre la fertilización inorgánica y estos hongos, fueron reportados, indicando que mejoran el crecimiento y rendimiento de las plantas. Además, en el presente estudio la interacción entre fertilizantes inorgánicos y HMA puede deberse a que estos hongos aumentan la superficie de absorción, de agua y de nutrientes, aumento de la capacidad fotosintética de la planta y de biomasa de las planta [18] [19] [20] [21].

Cuadro 6. Rendimientos (kg.ha⁻¹) por tratamiento e incremento respecto al control absoluto en porcentaje para las zonas de Juanjui y Lamas.

Tratamientos	Juanjui ^a	Incremento con respecto a control (%)	Lamas ^a	Incremento con respecto a control (%)
T1	2285.0	91.0	1730.3	10.0
T2	2008.3	67.9	1246.1	-20.8
T3	2060.4	72.3	1229.6	-21.9
T4	2498.0*	108.8	1061.0	-32.6
T5	1855.3	55.1	1515.5	-3.7
T6	1747.9	46.1	1529.7	-2.8
T7	2502.4*	109.2	1393.6	-11.4
T8	1560.6	30.5	2082.9	32.4
T9	2488.1*	108.0	1385.5	-11.9
T10	1196.1	0.0	1573.5	0.0

^a Promedio de 9 repeticiones. * Diferencias significativas con el tratamiento control (T10), con el test de Dunnett ($p < 0.05$).

Conclusiones

Se investigó el efecto de fuentes orgánicas e inorgánicas en conjunto con la inoculación de *Trichoderma* sp. y HMA en dos localidades de producción de cacao en el Perú. Las localidades de Juanjui y Lamas, presentaron mayor incidencia de Monilia y Pudrición parda,

respectivamente; explicado por el posible desbalance nutricional producido por el exceso y falta de Ca, respectivamente, en las plantas. De forma general, la localidad de Juanjui tuvo mayor rendimiento de granos de cacao en comparación a Lamas. Los tratamientos con mayores rendimientos en Juanjui fueron los que incluyeron la aplicación de HMA y fertilizante inorgánico indicando la sinergia entre estos factores.

Agradecimientos

Al Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad (Innovate Perú), por el soporte financiero, Contrato N° 068-FINCYT-FIDECOM-PIPEI-2013. Al Instituto de Cultivos Tropicales – ICT, por las facilidades de infraestructura y laboratorios; así mismo, por el soporte técnico y financiero.

Bibliografía

- [1] E. Arévalo-Gardini, M. C. J. Alegre, O. Loli, A. Julca y V. Baligar, «Changes in Soil Physical and Chemical Properties in Long Term Improved Natural and Traditional Agroforestry Management Systems of Cacao Genotypes in Peruvian Amazon,» *PLOS ONE*, p. 10(8), 2015.
- [2] K. d. A. Notaro, E. V. d. Medeiros, G. P. Duda, A. O. Silva y P. M. d. Moura, «Agroforestry systems, nutrients in litter and microbial activity in soils cultivated with coffee at high altitude,» *AGRICULTURAL MICROBIOLOGY*, pp. 7(2): 87-95, 2014.
- [3] E. Arnold, L. C. Mejía, D. Kylo, E. I. Rojas, Z. Maynard, N. Robbins y a. E. A. Herreñ, «Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree,» *PNAS*, p. 100(26): 15649–15654, 2003.
- [4] R. J. Rodriguez, J. F. White, A. E. Arnold y a. R. S. and Redman, «Fungal endophytes: diversity and,» *New Phytologist*, p. 182: 314–330, 2009.
- [5] F. Gao, C. Dai y X. Liu, «Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens.,» *Afr. J. Microbiol.*, pp. 4(13), 1346-1351., 2010.
- [6] S. Smith y D. Read, «Mycorrhizal symbiosis, Third edition.,» *Academic, London. Elsevier*, pp. 42-90, 2008.
- [7] I. Lenoir, J. Fontaine y S. Lounes-Hadj, «Arbuscular mycorrhizal fungal responses to abiotic stresses: A review.,» *Phytochemistry*, pp. 123: 4-15, 2016.
- [8] Z. Zhen, H. Liu, L. Guo, J. Meng, N. Ding, G. Wu y G. Jiang, «Effects of manure compost application on soil microbial community diversity and soil microenvironments in a temperate cropland in China.,» *PLoS ONE*, p. 9(10): e108555., 2014.
- [9] D. Huber, V. Romheld y M. Weinmann, «Relationship between Nutrition, Plant disease and Pests. In: Marschner P (ed) Marschner´s Mineral Nutrition of Higher Plants. 3 ed.,» *Elsevier.*, pp. 283-298., 2012.
- [10] R. Valle, *Ciência, tecnologia e manejo do cacauero. 2. ed.,* Ilhéus - Brasil: CEPLAC, 2012, p. 688.
- [11] M. Ollagnier y J. (. P. 1. C. I. P. I. B. p. Renard, «The influence of potassium on the resistance of oil palms to Fusarium.,» *Oleagineux*, p. 31(5): 157–166., 1976.
- [12] S. Sharma, E. Duveiller, R. Basnet, C. Karki y R. Sharma, «Effect of potash fertilization on helminthosporium leaf blight severity in wheat, and associated increases in grain yield and kernel weight.,» *Field Crop Res.*, pp. 93, 142–150., 2005.
- [13] A. Prabhu, N. Fageria, D. Huber y F. Rodrigues, «Mineral Nutrition and Plant Disease,» de *Potassium and plant disease*, St. Paul, Minnesota 55121. United States of America, APS Press, 2007, pp. 57-78..
- [14] D. Bateman y R. Lumsden, «Relation between calcium content and nature of the peptic substances in bean hypocotyles of different ages to susceptibility to an isolate of Rhizoctonia solani.,» *Phytopathology*, pp. 55, 734–738., 1965.
- [15] L. Zambolim, J. Ventura y L. Zañão-Jr, *Efeito da Nutrição mineral no controle de Doenças de Plantas. 1 ed.,* Viçosa: Editorial Viçosa, 2012.
- [16] A. J. Nogueira da Silva, J. Santo da Silva, A. C. de Araújo, R. Alencar da Silva, J. Gomes Junior, J. C. Silva de Medeiros, F. Gomes de Carvalho, C. Jales de Oliveir, L. E. Souza Fernandes da Silva y V. Nogueira da Silva, «Soil chemical properties and growth of sunflower (*Helianthus annuus* L.) as affected by the application of

organic fertilizer and inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi.,» *Revista Brasileira de Ciencia do Solo*, pp. 151-161, 2015.

- [17] H. S. Abdel-Razzak, A. G. Moussa y M. A. a. E.-M. G. A. Abd El-Fattah, «Response of Sweet Potato to Integrated Effect of Chemical and Natural Phosphorus Fertilizer and Their Levels in Combination with Mycorrhizal Inoculation.,» *Journal of Biological Sciencies*, pp. 13(3): 112-122, 2013.
- [18] P. Gosling, A. Hodge, G. Goodlass y G. Bending, «Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming Agric.,» *Ecosyst. Environ.* , pp. 113:17-35., 2006.
- [19] P. Franken, K. Donges, U. Grunwald, G. Kost, K. Rexer, M. Tamasloukh, A. Waschke y D. Zeuske, «Gene expression analysis of arbuscule development and functioning.,» *Phytochemistry*, pp. 68:68-74., 2007.
- [20] M. Akhtar y Z. A. Siddiqui, «Biocontrol of a root-rot disease complex of chickpea by *Glomus intraradices*, *Rhizobium* sp. and *Pseudomonas straita*.,» *Crop Protection - Journal - Elsevier*, pp. 27:410-417., 2008.
- [21] R. Kapoor, D. Sharma y A. Bhatnagar, «Arbuscular mycorrhizae in micropropagation systems and their potential applications.,» *Scientia Horticulturae.* , pp. 116:227-239., 2008.
- [22] MINAGRI., «Ministerio de Agricultura y Riego - Perú,» 20 Abril 2016. [En línea]. Available: <http://frenteweb.minag.gob.pe/sisca/>.

Desarrollo de un modelo de confiabilidad para el análisis del desempeño de puentes. Un caso de estudio en Costa Rica

Development of a reliability model for performance analysis of bridges. A case study in Costa Rica

Federico Picado-Alvarado¹, Giannina Ortiz-Quesada²

Fecha de recepción: 2 de marzo de 2016

Fecha de aprobación: 23 de julio de 2016

Picado-Alvarado, F; Ortiz-Quesada, G. Desarrollo de un modelo de confiabilidad para el análisis del desempeño de puentes. Un caso de estudio en Costa Rica. *Tecnología en Marcha*. Vol. 30-1. Enero-Marzo 2017. Pág 79-89.

DOI: 10.18845/tm.v30i1.3087



¹ Doctor en Ingeniería Industrial, Escuela de Ingeniería en Producción Industrial, Tecnológico de Costa Rica. Correo electrónico: fpicado@itcr.ac.cr

² Máster en Computación con énfasis en Sistemas de Información, Ingeniera en Construcción, Escuela de Ingeniería en Construcción, Tecnológico de Costa Rica. Correo electrónico: gortiz@tec.ac.cr

Palabras clave

Puente; evaluación de puentes; confiabilidad estructural; eBridge.

Resumen

En el año 2013, como parte de los objetivos del proyecto de investigación eBridge del Tecnológico de Costa Rica, se realizaron varias pruebas de carga (no destructivas) en el puente que se ubica sobre el río Purires, en la entrada a San Isidro de El Guarco, Cartago, en la Ruta Nacional 1 o carretera Interamericana Sur. Para ello se utilizó una red inalámbrica de sensores (RIDS). Dicho proyecto pretende proponer un modelo de confiabilidad para evaluar el rendimiento estructural de puentes y de esta manera proveer parámetros específicos que ayuden a estimar su vida útil y saber en qué momento intervenirlos de manera preventiva.

En este artículo se presentan los resultados obtenidos al realizar tres pruebas estáticas de carga, en las que se midieron variables críticas tales como deformación, desplazamiento y deflexión. Se aplicaron técnicas estadísticas de bondad de ajuste para las deformaciones (*strains*) y, mediante pruebas de hipótesis, se determinó si los datos obtenidos en cada caso se ajustan adecuadamente o no a una distribución normal. Seguidamente, se utilizó la simulación Monte Carlo para obtener un índice de confiabilidad basado en la probabilidad de supervivencia y la probabilidad de falla para cada condición de carga estática.

Los resultados arrojaron datos importantes en cuanto a la probabilidad de falla ($P_{\text{probabilidad}} = 0.047$) para un caso de carga estática, posteriormente al estudio realizado, en dicho puente se produjo una falla de impacto moderado en una de las vigas de soporte, constatando así la veracidad del estudio y la utilidad de las herramientas utilizadas.

Keywords

Bridge; bridge evaluation; reliability; eBridge.

Abstract

In 2013, as part of the e-bridge research project developed by the Institute of Technology of Costa Rica (TEC), a series of non-destructive loading tests were performed in a bridge located over the Purires River, San Isidro de El Guarco, Cartago using a Wireless Sensor Network (RIDS) to collect strain data. The research project intends, among other objectives, to develop a reliability model to assess the structural performance of bridges and providing key output variables to estimate reliability parameters such as failure probability, survival probability and reliability index. The latter information would be important to support a decision making system in terms of a bridge maintenance program.

In this paper, the results obtained using three static non-destructive loads over the Purires Bridge are discussed. Statistical techniques such as goodness of fit tests and Monte Carlo simulation were used to calculate critical structural and reliability indicators. Two of the static tests passed the international references in terms of reliability index; however, one of the statics loads (Case I) failed the analysis reporting a failure probability of 0.047 with a low reliability index of 1.667. It is worthwhile to mention that the same bridge suffered a moderate failure in a critical beam which would help to validate the methodologies and tools used in this project.

Introducción

El proyecto *eBridge* nace a partir de un problema nacional (Costa Rica) en cuanto a renovación y mantenimiento de sus infraestructuras, que muchas veces se clasifican como estructuralmente deficientes, puesto que ya alcanzaron el límite de su vida útil de servicio y no son sometidas a ningún proceso de rehabilitación. Al respecto, los puentes de uso vial están entre los más afectados.

Es por esta razón que instituciones del Estado de Costa Rica entre ellas el Ministerio de Obras Públicas y Transportes y el Consejo Nacional vieron la oportunidad de colaborar en el mejoramiento de la infraestructura vial existente, mediante la propuesta de metodologías que permitan la predicción remota de fallas en los puentes. En este sentido, se consideró necesario crear un modelo de confiabilidad integrando variables aleatorias experimentales obtenidas mediante diferentes métodos de simulación.

Los actuales procedimientos analíticos avanzados permiten un análisis numérico exacto pero determinista de la relación tensión/esfuerzo de los componentes de un puente. Existen procedimientos matemáticos para el cálculo de la confiabilidad de los diversos sistemas idealizados: paralelo, serie y combinaciones, así como también hay novedades en cuanto a los materiales, la tecnología y las pruebas de campo que se pueden utilizar para mejorar el diseño del puente y su evaluación [1].

Es de especial interés mencionar que en el pasado se realizaron estudios sobre la detección de daños en las estructuras, la mayoría basados en parámetros dinámicos; además de los avances tecnológicos detectados en la creación de sensores y sistemas de adquisición de datos. En algunas evaluaciones estructurales en obras civiles, se ha comprobado que es posible utilizar el cambio de los parámetros dinámicos para determinar el daño en una estructura [2]. Pero no es sino hasta años recientes que en Costa Rica se está implementando la predicción de manera remota de estos daños o fallas, lo que la hace innovadora en su área; además de que mezcla varias disciplinas ingenieriles para la obtención y análisis confiable de la información.

Lo que se espera al final de este proyecto es un sistema experto que permita determinar la vida útil de los puentes a través de un modelo de confiabilidad estructural, para poder determinar cuándo es necesario su mantenimiento, rehabilitación o reemplazo antes de que colapsen o queden inhabilitados.

Marco teórico

Los conceptos teóricos que fundamentan este trabajo se muestran a continuación. Es importante mencionar que un modelo de confiabilidad es una ecuación matemática que pretende determinar la probabilidad de ocurrencia de una falla [3]

El modelo de confiabilidad estará en función del estado límite, que se puede definir como [1]

$$G = R - S = 0 \text{ Margen de seguridad} \quad (\text{Ecuación 1})$$

donde:

R: Resistencia (capacidad momento)

S: Efecto de carga (momento aplicado)

De esta manera, si $G > 0$, se afirma que la estructura es segura, de lo contrario se considera que la estructura estaría en riesgo de falla. Con respecto a la probabilidad de falla, se tiene:

$$P_f = \text{Prob} (R - S < 0) = \text{Prob} (G < 0) \quad (\text{Ecuación 2})$$

Los conceptos estadísticos de confiabilidad se desarrollan por medio de la determinación del Índice de Confiabilidad (β), que se define como la inversa de la función estándar acumulada de la probabilidad de falla (P_f) [4]):

$$\beta = \Phi^{-1}(P_f) \quad (\text{Ecuación 3})$$

La distribución de la función límite (G) está determinada por la zona de falla donde la media de la función G (m_G) es proporcional a la desviación estándar (S_G). La proporción de estos dos parámetros es el índice de confiabilidad (β) y, asumiendo una distribución normal, esta puede evaluarse como:

$$m_G = \beta * S_G \quad (\text{Ecuación 4})$$

$$\beta = \frac{m_G}{S_G} = \frac{m_R - m_S}{\sqrt{s_R^2 + s_S^2}} \quad (\text{Ecuación 5})$$

donde:

m_R , m_S : medias de la distribución de la resistencia y las cargas

S_R , S_S : desviaciones estándar de la distribución de la resistencia y las cargas.

Los índices de confiabilidad de tres códigos internacionales para el análisis de confiabilidad estructural en puentes, según [5]son los siguientes:

1. Código Europeo: $\beta = 7.0 - 8.0$
2. Código Español: $\beta = 5.1 - 6.8$
3. Código AASHTO: $\beta = 4.5 - 4.9$

En cuanto a las aplicaciones, ventajas y desventajas del uso de la simulación Monte Carlo como una herramienta útil para modelar fenómenos con cierto grado de incertidumbre, las más importantes son confiabilidad, disponibilidad, logística, pronósticos, análisis del riesgo y análisis de interferencias carga-resistencia, lo que es altamente relacionable con el objetivo de la investigación. Se trata de un método iterativo de simulación para evaluar un modelo determinístico utilizando variables y números aleatorios. Se fundamenta en conocer *a priori* las distribuciones de probabilidad de las variables bajo estudio. Los datos generados por una simulación pueden ser representados y analizados mediante técnicas estadísticas tradicionales [2]

Ebeling [6]describe y aplica los pasos a seguir para la adecuada selección de una distribución de probabilidad teórica para una variable aleatoria continua o discreta, mediante pruebas de bondad de ajuste. Las pruebas recomendadas son Anderson Darling, Kolmogorov-Smirnov y Ryan-Joiner. Los valores típicos del nivel de significancia utilizado son $\alpha = 0.05$ y 0.10 .

Por último, cabe mencionar que una prueba de carga es la medición de la respuesta de una estructura de un puente sujeto a cargas conocidas y controladas sin que se causen cambios en la respuesta elástica de esta [7].

Desarrollo

En esta investigación se efectuaron tres pruebas de carga, con los siguientes objetivos principales [8]: Determinar las deformaciones, desplazamientos en juntas, desplazamientos verticales en vigas y aceleraciones asociadas a las cargas dadas.

1. Establecer la capacidad del puente con los datos obtenidos.
2. Revisar las condiciones estructurales y de servicio del puente.

El tipo de prueba realizada, así como su caso de carga, se detalla en el cuadro 1.

Cuadro 1. Tipos de pruebas realizadas en Purires

Tipo de prueba	Variable a medir	Caso de carga	Duración de la prueba
Estática	Deformación	Caso I y Caso II	30 minutos
	Desplazamiento		
	Deflexión		

En las figuras 1 y 2 se ejemplifican el Caso I y el Caso II, respectivamente:

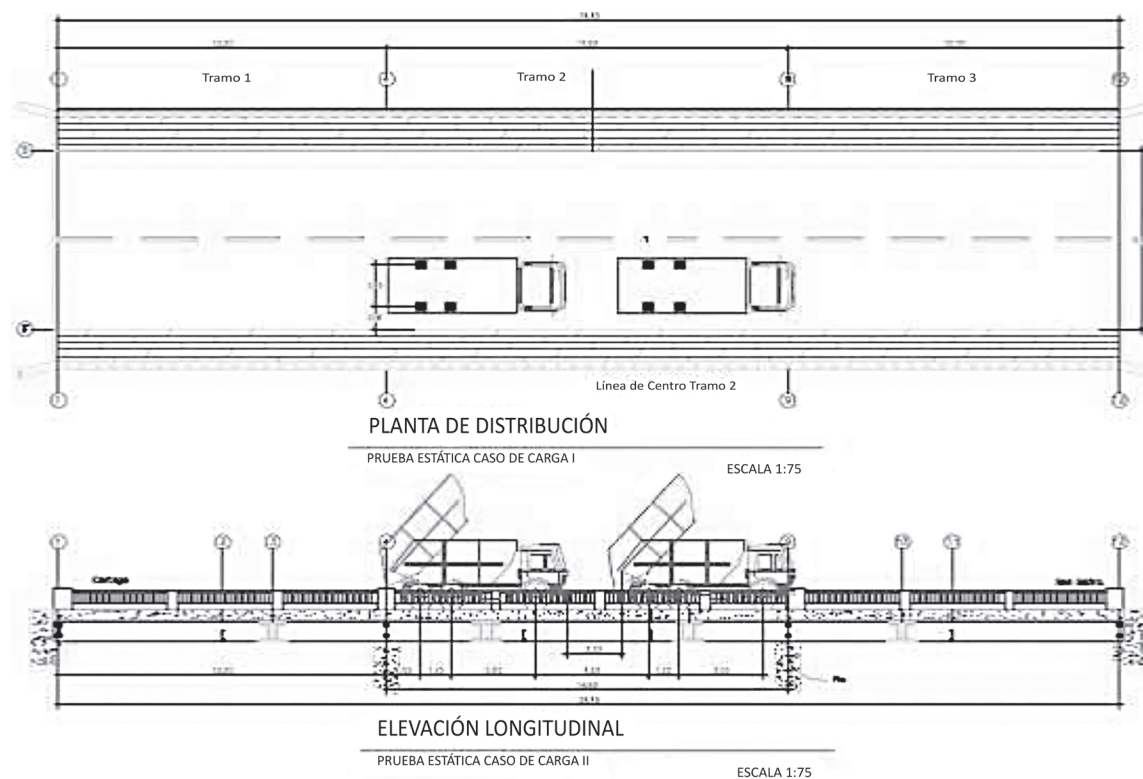


Figura 1. Prueba estática del Caso de carga I

Puente seleccionado: Río Purires, El Guarco, Cartago

El puente llamado “Purires” se ubica en la ruta nacional número 2. Es un puente de vigas continuas de acero W27X94, de 39,45 m de longitud total y una distancia promedio entre apoyos menor a 15 m. Cuenta con cuatro puntos de apoyo. Posee una losa de concreto de 15 cm de espesor con refuerzo de acero #6 cada 15 cm de forma transversal y cada 25 cm longitudinalmente y una sobrecapa de asfalto que varía entre 14 y 7 cm de espesor.

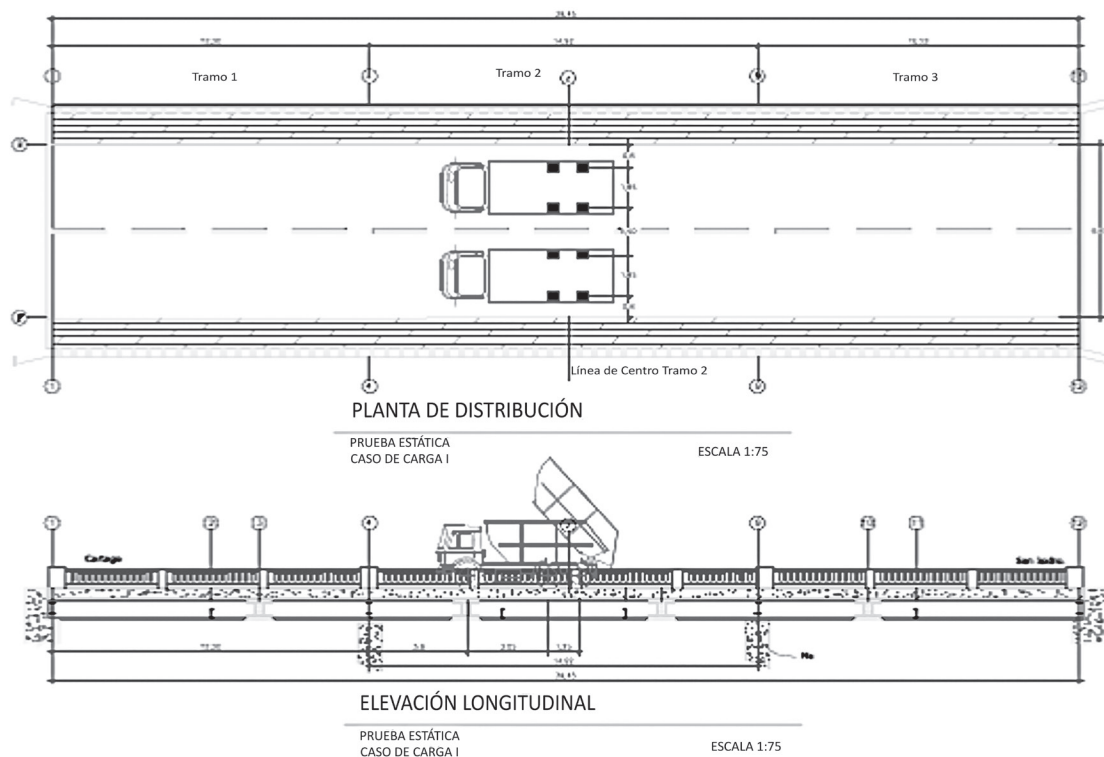


Figura 2. Prueba estática del Caso de carga II

El puente cuenta con dos carriles y doble vía y el promedio diario de vehículos que transitan por él es de 11,318 (conteo vehicular proporcionado por el Ministerio de Obras Públicas y Transportes, MOPT), el ancho de la superficie de ruedo es de 6,6 m y dispone de aceras de 1,5 m. La distancia libre desde el río tiene un promedio de 5 m. Se estima que este puente se construyó en los años 50, aunque se desconoce la fecha exacta [9].

- Propiedades del material
 - Acero A33. W 27x94
 - Módulo de elasticidad = 2,038,901,78 kg/cm²
 - Esfuerzo de fluencia kg/cm²: Promedio: 2574.78, desviación estándar: 295.72.[3].
- Pruebas estáticas
 - Tomado de protocolo presentado por Carvajal [10].
 - Prueba estática: Caso I.
 - Prueba estática: Caso II
 - Prueba estática: Caso IIa
- Análisis estructural realizado con el programa SAP2000
- Pruebas de bondad de ajuste para los valores de deformaciones (*strains*)
- Las pruebas de hipótesis a probar es la siguiente:
 - H₀: datos siguen una distribución normal
 - H₁: datos no siguen una distribución normal
- Para la prueba de hipótesis se utilizará un nivel de significancia $\alpha = 0.05$.

- Caso I: Valor $P(0.10) > \alpha$. No hay suficiente evidencia estadística para concluir H_1 . Los datos siguen una distribución normal (figura 3).

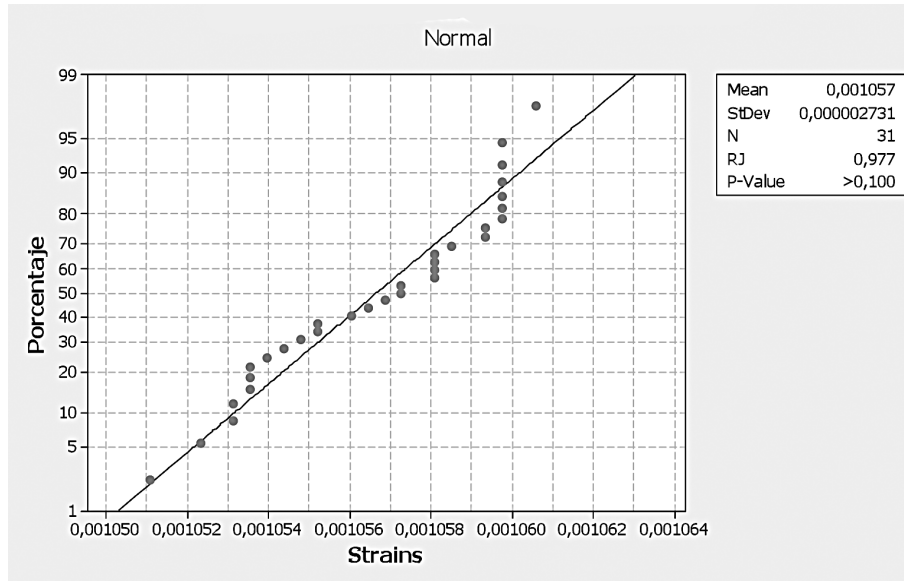


Figura 3. Gráfico de probabilidad Caso I

- Caso II: Valor $P(0.010) < \alpha$. Hay suficiente evidencia estadística para concluir H_1 . Los datos no siguen una distribución normal (figura 4).

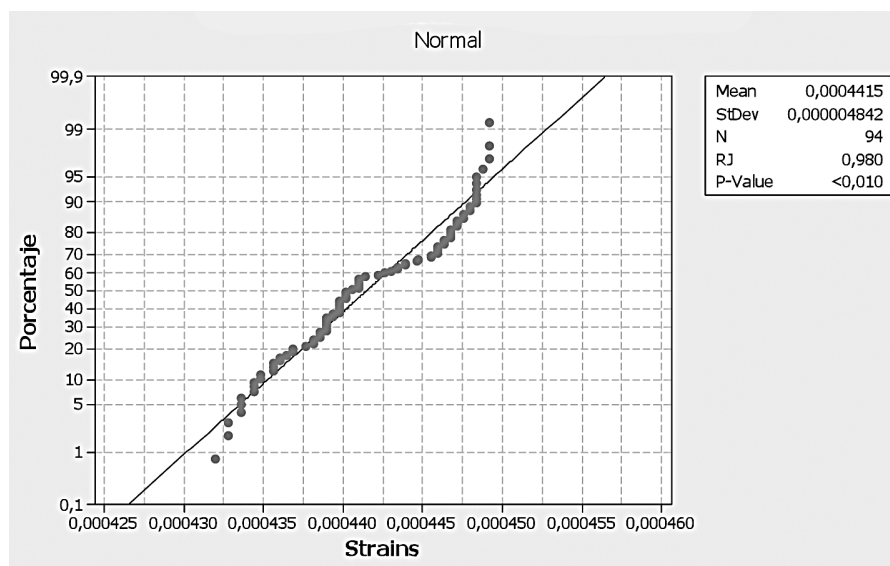


Figura 4. Gráfico de probabilidad Caso II

- Caso III: Valor $P(0.010) < \alpha$. Hay suficiente evidencia estadística para concluir H_1 . Los datos no siguen una distribución normal (figura 5).

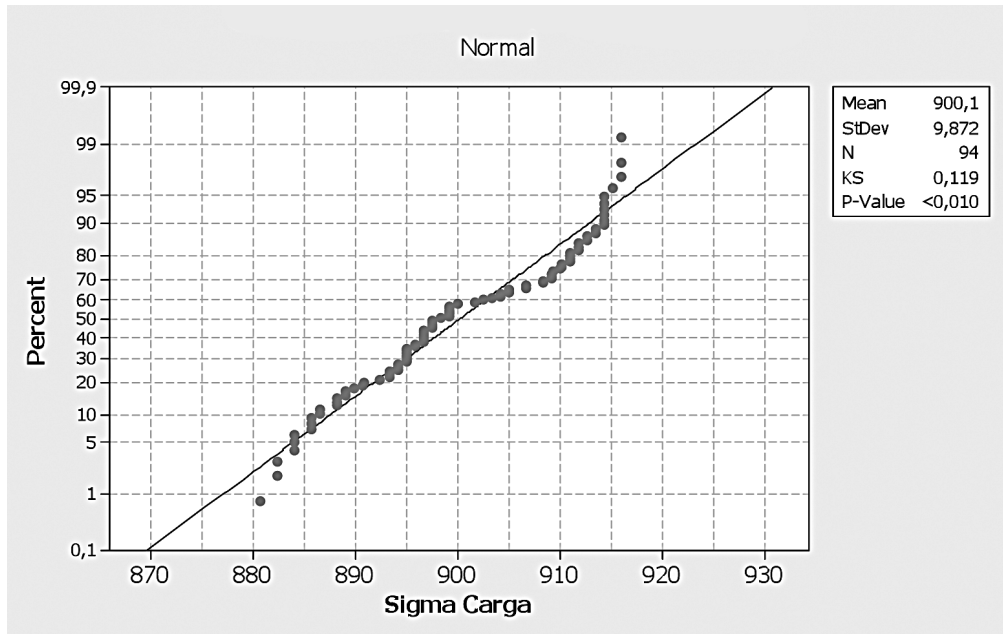


Figura 5. Gráfico de probabilidad Caso IIa.

- Los resultados del escenario de simulación I se muestran en el cuadro 2.

Cuadro 2. Resultados de escenario de simulación I

	Datos de pruebas	Índice de confiabilidad	Probabilidad de supervivencia	Probabilidad de falla
Tipo de prueba	n	β	R	P_f
Prueba estática I	31	1,667	0,952281186	0,047718814
Prueba estática II	94	5,239	0,9999999	8,05317E-08
Prueba estática IIa	94	6,105	9,99999995E-01	5,1149640E-10

- Para realizar el escenario de simulación II es necesario calcular el número de réplicas, con base en la fórmula propuesta por Estes[3]:

$$n = \frac{10}{P_f}$$

donde P_f es tomado del escenario de simulación I.

- Los resultados del escenario de simulación II se muestran en el cuadro 3.

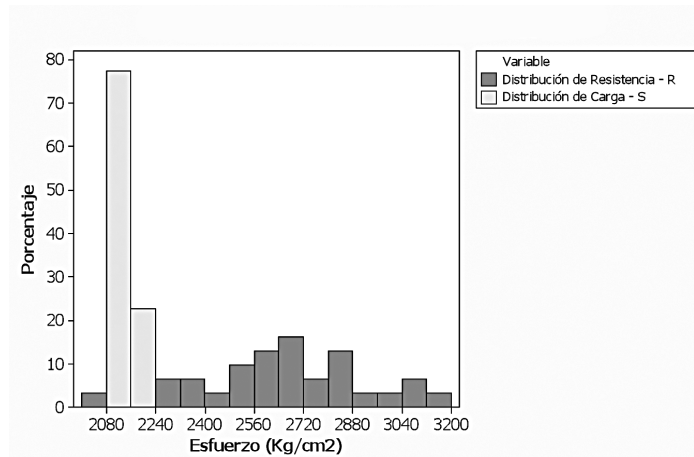


Figura 6. Distribución de esfuerzo versus resistencia. Caso I

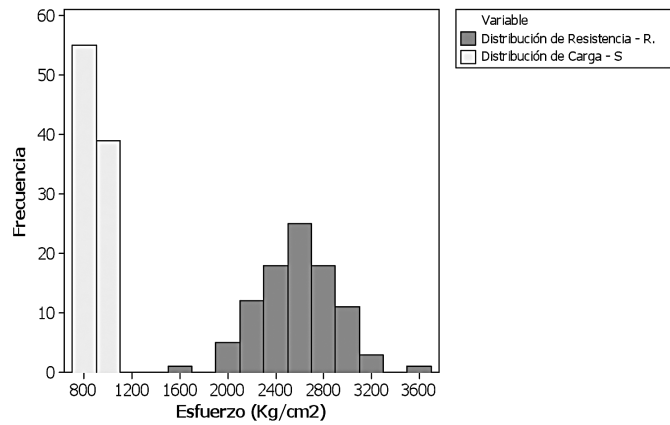


Figura 7. Distribución de carga versus resistencia. Caso II

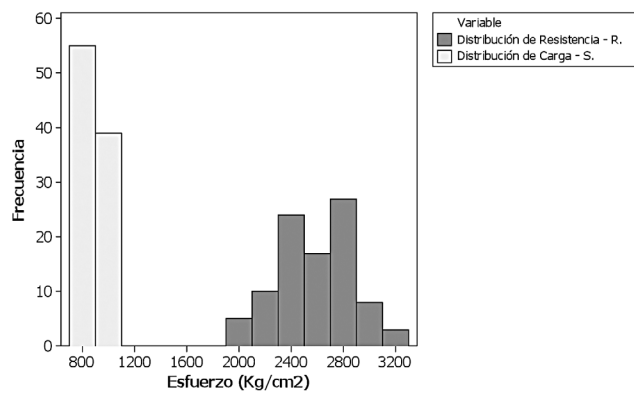


Figura 8. Distribución de carga versus resistencia. Caso IIa

Cuadro 3. Resultados de escenario de simulación

	Cantidad de datos simulación	Índice de confiabilidad	Probabilidad de supervivencia	Probabilidad de falla
Tipo de prueba	n	β	R	P_f
Prueba estática I	210	1,320	0,906615764	0,093384236
Prueba estática II	1000	5,619	0,99999999	0,00000001
Prueba estática Ila	1000	5,538	9,99999985E-01	1,5286251E-08

(*) Cuando n es muy grande, se utilizan 1000 réplicas.

- En relación con la prueba estática de carga I (cuadro 2) con un índice de confiabilidad $\beta = 1.6677$, no se cumple con los requerimientos de ningún código internacional para el análisis estructural de puentes. La figura 6 representa el comportamiento de los valores de carga y resistencia. Se recomienda revisar el protocolo de carga utilizado en esta prueba y el análisis estructural realizado para analizar con mayor detalle las causas y efectos de un índice de confiabilidad bajo.
- Los índices de confiabilidad para las pruebas estáticas de carga II y Ila (cuadro 2) cumplen satisfactoriamente los requerimientos de los códigos Español y AASHTO; sin embargo, no satisface los requerimientos del código Europeo. Las figuras 7 y 8 representan el comportamiento de los valores de carga y resistencia en ambos escenarios.
- Sobre los resultados del escenario de simulación II (cuadro 3), se mantienen las mismas conclusiones anteriores, donde la prueba estática I no satisface los requerimientos de los códigos internacionales, mientras las pruebas estáticas II y Ila sí cumplen satisfactoriamente los requerimientos internacionales.
- Es importante analizar con más detalle el comportamiento no normal de algunos datos de deformaciones (*strains*) en dos pruebas de carga estática, ya que el análisis posterior para el cálculo del índice de confiabilidad asume una distribución normal.
- Se sabe actualmente que el puente sobre el río Purires presentó una falla de magnitudes importantes en cuanto a deformaciones (Caso I). Esto indica que si se hubieran realizado las pruebas a tiempo, se hubiera podido intervenir el puente y atender a tiempo la falla, todo esto si se toma en consideración que el valor de probabilidad de falla es de $P_f = 0.047$, lo cual es muy alto ya que es de casi un 5%, si se compara este valor con un $\alpha = 0.05$, que equivale a un 95% de nivel de confianza.

Conclusiones y recomendaciones

- El análisis de confiabilidad estructural basado en índices de confiabilidad para el puente del río Purires cumple satisfactoriamente los requerimientos de dos códigos internacionales para dos pruebas estáticas. Solamente para una condición de carga no los satisface.
- Se debe analizar con más detalle el comportamiento no normal de algunos datos de deformaciones (*strains*).
- Los protocolos de pruebas de carga y análisis estructural son satisfactorios para el análisis posterior del cálculo de índices de confiabilidad, probabilidad de fallas y probabilidad de confiabilidad y para el diseño de un modelo de confiabilidad.
- El uso de la simulación Monte Carlo demostró ser una herramienta muy valiosa para el desarrollo de un modelo de confiabilidad.

- La metodología empleada cumplió satisfactoriamente las necesidades del análisis requerido.
- Se mejoró el modelo de confiabilidad propuesto en la primera fase de eBridge, al integrar otras variables aleatorias experimentales y otras variables obtenidas con la aplicación de la simulación Monte Carlo.

Se hacen las siguientes recomendaciones:

- Analizar el comportamiento no normal de algunas variables.
- Determinar una metodología para el manejo de variables continuas no normales.
- Aplicar la metodología empleada en otros puentes que tengan los datos de pruebas estáticas y análisis estructural ya obtenidos.
- Continuar depurando la metodología utilizada en el puente piloto.

Bibliografía

- [1] Nowak, A.S. (2004). System Reliability Models for Bridge Structures. Bulletin of the Polish Academy of Sciences Technical Sciences, 52(4).
- [2] O'Connor, P. & Kleyner, A. (2012). *Practical Reliability Engineering*. 5 ed. EE.UU.: Wiley.
- [3] Estes, A.C. (1997). *A System Reliability Approach to the Lifetime Optimization of Inspection and Repair of Highway Bridges*. PhD Thesis. University of Colorado.
- [4] Muñoz, E. et al. (agosto, 2006). Confiabilidad estructural apoyada en monitoreo e instrumentación: aplicación en un puente de acero. *Revista Ingeniería en Construcción*, 21(2).
- [5] Nowak, A.S. et al. (2000). *Reliability Analysis of Prestressed Concrete Bridge Girders: Comparison of Eurocode, Spanish Norma IAP and AASHTO LRFD*. 8th Annual ASCE Specialty Conference on Probabilistic Mechanics and Structural Reliability.
- [6] Ebeling, C.E. (2010). *An Introduction to Reliability and Maintainability Engineering*. 2 ed. EE.UU.: Waveland Press, Inc.
- [7] AASHTO. (2011). *Manual for Evaluation of Bridges*.
- [8] Ortiz Quesada, G. et al. (2013). *Documento I. Informe técnico de los resultados del Proyecto eBridge: Predicción remota de fallas en puentes*. VIE-TEC.
- [9] Carvajal, J. (2012). *Pruebas Carga. Proyecto de investigación eBridge. Protocolo. Puente sobre el Río Purires*. Cartago, C.R.: Tecnológico de Cartago.
- [10] Estes, A.C. et al. (july, 1999). Repair Optimization of Highway Bridges Using System Reliability Approach. *Journal of Structural Engineering*. Vol. 125, No.7, pp 766-775.
- [11] Frangopol, D.M. et al. (january, 2001). Reliability-Based Life-Cycle Management of Highway Bridges. *Journal of Computing in Civil Engineering*, Vol. 15, No.1, pp. 1-32.
- [12] Nowak, A.S. et al. (1990). System Reliability Models for Bridges. *Structural Safety*, 7, 247-254.

Estudio de la dinámica de polinizadores del cultivo de cacao (*Theobroma cacao*) en tres sistemas de producción

Study of the dynamics of cocoa (*Theobroma cacao*) pollinators in three production systems

Ricardo Salazar-Díaz¹, Virginia Torres-Coto²

Fecha de recepción: 18 de enero de 2016

Fecha de aprobación: 18 de julio de 2016

Salazar-Díaz, R.; Torres-Coto, V. Estudio de la dinámica de polinizadores del cultivo de cacao (*Theobroma cacao*) en tres sistemas de producción. *Tecnología en Marcha*. Vol. 30-1. Enero-Marzo 2017. Pág 90-100.

DOI: 10.18845/tm.v30i1.3088

- 1 Máster en Gestión de Recursos Naturales y Tecnologías de Producción, profesor investigador, Escuela de Agronegocios del Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. Correos electrónicos: risalazar@itcr.ac.cr, ricardosalazard@hotmail.com
- 2 Estudiante avanzada de la carrera de Ingeniería en Agronegocios, Escuela de Agronegocios del Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. Correo electrónico: torrrescotovirginia@gmail.com



Palabras clave

Insectos; polinizadores de cacao; sistemas de producción; manejo agronómico.

Resumen

El presente estudio evalúa sistemas agroecológicos de producción, la dinámica de insectos polinizadores de cacao, y su relación con el manejo del cultivo y la productividad.

El área de estudio estará comprendida en tres diferentes sistemas de producción, (convencional, orgánico y tradicional), ubicados en la provincia de Limón, Costa Rica. Los sistemas productivos se escogieron procurando buscar los contrastes más fuertes posibles en el manejo agronómico de los mismos.

El método de muestreo se realizó utilizando aspiradores manuales. Esta técnica nos permitió, asegurar la captura de insectos directamente dentro de las flores.

Según diferentes investigaciones [1] [2] [3], en el cacao, la polinización es llevada a cabo casi exclusivamente por micro dípteros de la familia Ceratopogonidae, entre los cuales, ciertas especies del genero Forcipomyia se encuentran altamente especializadas para polinizar las flores del cacao debido a las características específicas de la estructura morfológica del insecto, nuestros resultados no evidenciaron tanta presencia de esta familia, solamente se encontraron dos especímenes en el sistema de manejo orgánico. A diferencia de especies de la familia Thysanoptera que fueron los insectos que se encontraron en mayor cantidad en cada una de los tres sistemas de producción. Especies de la familia Cecidoniidae y Sciaridae también fueron encontradas en los tres sistemas de producción.

El sistema de producción tradicional fue el que registró mayor cantidad de insectos capturados, también registró mayor cantidad de flores y mayor cantidad de frutos contabilizados. El sistema de producción orgánica fue la que registró menor cantidad de insectos, flores y frutos.

Keywords

Insects; cocoa pollinators; production systems; crop management.

Abstract

This study aims to assess agro-ecological production systems, the dynamics of cocoa pollinating insects and their relationship with crop management and productivity.

Three different production systems (conventional, organic and traditional), located in the province of Limon, Costa Rica, were chosen trying to find contrasts in their agricultural management.

Sampling method was performed using manual aspirators. This technique allowed us to ensure catch insects directly from the flowers.

According to different investigations [1] [2] [3], in cocoa, pollination is carried out almost exclusively by Diptera Micro Ceratopogonidae family, including Certain species of the genus Forcipomyia that are highly specialized to pollinate the cacao flowers due to the specific characteristics of the morphological structure of the insect. But our results did not show much presence of this family, only two specimens were found in the organic management system. Unlike species of the family Thysanoptera insects were found in greater amounts in each of the three systems. Species from Cecidoniidae and Sciaridae families were also found in the three systems.

The traditional production system was the one that registered the highest number of insects, also recorded the highest numbers of flowers and fruits recorded. The organic production system was the one that registered fewer insects, flowers and fruits.

Introducción

La polinización por animales representa un servicio crítico para los ecosistemas, tanto desde el punto de vista biológico como económico. El rendimiento de las plantaciones de cacao en Centroamérica es bajo, alrededor de 250 kg. Ha/año, en algunas zonas de Costa Rica como e Talamanca se produce menos de 100 kg. Ha/año. Según el autor Allen Young [4] un factor que interviene en la producción de frutos, es la reducción de las poblaciones de insectos polinizadores y sus ecosistemas.

Actualmente se desconoce cuál es el estado de la abundancia y riqueza de las poblaciones de insectos polinizadores del cacao en relación al manejo que se le da a la plantación en Costa Rica. El desconocimiento del estado real de las poblaciones y los requerimientos ecológicos de estos insectos puede ser riesgoso en tanto que se pueden estar incurriendo en medidas y prácticas que desfavorezcan las poblaciones de estos importantes animales en los sistemas de cultivo del cacao.

Los resultados de esta investigación permitirán obtener información importante para técnicos y productores, sobre la relación entre el manejo del cultivo, la dinámica poblacional de los polinizadores del cultivo para el mejoramiento de la productividad.

Materiales y métodos

El proyecto se llevó a cabo en tres fincas ubicadas en la provincia de Limón (Costa Rica). Dos de ellas en el cantón de Talamanca (distritos Watsi y Bratsi) y la otra en 28 millas en el cantón de Matina. Los sistemas de cultivo del cacao se escogieron procurando buscar variedad entre un sitio de muestreo y el otro. No se buscó representatividad sino más bien los contrastes más fuertes posibles entre el manejo agronómico en los sistemas productivos. Los tres sistemas seleccionados de producción del cultivo de cacao fueron: Manejo intensivo convencional, manejo orgánico y manejo tradicional.

Para el proceso de muestreo de insectos dentro de cada cacaotal, con el uso de aspiradores manuales, se aspiraron 200 flores por finca en cada uno de los muestreos. Esta técnica nos permitió, asegurarnos de capturar insectos directamente desde las flores. En total se realizaron tres muestreos en cada finca durante la época de floración (entre los meses de abril y agosto). La hora en las cuales se realizaron los muestreos fue entre las 7:00 am y 9:00 am. Según Frimpong (2009) [5] el pico donde hay mayor actividad de los polinizadores de cacao es entre 7.00h y 12.00h. Los insectos capturados se conservaron en etanol al 70% para luego ser trasladados al laboratorio de la Escuela de Agronegocios del Tecnológico de Costa Rica, para su respectivo conteo e identificación.

Resultados y discusión

Descripción del manejo de los sistemas de producción

En el diagnóstico agroforestal presentado por Somarriba y otros (2003) [6] se menciona que, en la región de Talamanca, los sistemas agroforestales están principalmente conformados por cacao, banano, maderables como *Cordia alliodora* (Laurel) y *Cedrella odorata* (cedro amargo) y frutales como *Inga* spp. (Guaba) y cítricos (*Citrus* spp).

El cacao es una planta perenne de hasta 20 metros de altura, su raíz es pivotante y puede llegar a medir 2 metros de profundidad, sus hojas son simples y pueden ser de color verde, marrón, morado o rojizo. Su flor es hermafrodita con polinización entomófila [7] y nacen en troncos y ramas principales donde anteriormente se encontraban hojas [8].

La tasa de fecundación es bastante baja ya que solamente se fecundan de un 3% a un 5% [9]. Sus frutos desde el punto de vista botánico son bayas [10] con semillas que van de 30 a 40 unidades por fruto, los cuales tardan de 5 a 6 meses en alcanzar su madurez desde su polinización [7].

Manejo intensivo convencional

Es difícil encontrar una finca donde el manejo agronómico sea intensivo, dado a que generalmente en esta zona el cacao se cultiva en sistemas diversificados y desde el punto de vista agroecológico, estos sistemas de producción favorecen un manejo agronómico con poco uso de insumos externos.

Sin embargo, hemos seleccionado una hectárea de la Finca la Lola bajo esta modalidad, debido a que el manejo que se le da a la plantación, es lo más cercano a un manejo intensivo. Se realizan cuatro aplicaciones de 150 gramos de fertilizante químico (18-5-15 fórmula cafetalera), se aplica herbicidas a una dosis de 1500 cc por bomba de espalda una o dos veces por año y se aplica biofertilizantes una vez al mes en época de floración. Con respecto a las podas, después de la poda de formación que se realizó a los dos meses de edad del árbol, se realizan dos podas de mantenimiento al año.

La Finca la Lola es propiedad del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Se ubica en 28 millas de Bataán, Cantón de Matina, Provincia de Limón, en la costa atlántica de Costa Rica a 10°06' longitud oeste y una altitud de 40 msnm. Según las zonas de vida de Holdridge, la zona pertenece al bosque tropical húmedo.

La mayor parte del suelo de la finca (69%) está ocupada por suelo arcilloso-limoso, el 21% por arena gruesa y un 10% por arcillo-arenoso. Por otra parte, la topografía es catalogada como casi plana.

Manejo orgánico

Hemos considerado la Finca propiedad de la Asociación de Pequeños Productores de Talamanca (APPTA), como una finca con manejo agronómico orgánico, de igual manera bajo un sistema agroforestal de producción diversificada. A diferencia del manejo intensivo convencional, aquí no se utiliza ningún agroquímico, además que los insumos orgánicos que se apliquen debe de ser aprobados por la certificación orgánica ya que se cuenta con la misma.

La práctica más frecuente, es la aplicación de biofertilizantes con motobombas una vez al mes, no se aplica abonos directamente al suelo y el manejo de la poda, después de la poda de formación a los dos meses de edad de los árboles, se realizan dos podas de mantenimiento al año. Ocasionalmente se aplican insecticidas orgánicos para el control de la chinche del cacao (*Sahlbergella singularis*). El control de arvenses se realiza de forma mecánica (motoguadaña), dos o tres veces al año.

La Finca APPTA con una extensión de tres hectáreas, se encuentra ubicada en el distrito de Bratsi, cantón de Talamanca, Provincia de Limón, en la costa atlántica de Costa Rica 82 49' longitud Oeste y una altitud de 32 m.s.n.m. Según las zonas de vida de Holdridge, la zona pertenece al bosque tropical húmedo.

No tenemos información detallada del tipo de suelo de la finca de APPTA, podríamos decir que la topografía es catalogada como casi plana y el suelo aparenta ser de tipo arcilloso.

Manejo tradicional

Cuando decimos manejo tradicional nos referimos al manejo habitual que realizan los productores indígenas en Talamanca al cultivo de cacao, que lo podríamos considerar como

un mínimo manejo, en el sentido de prácticas culturales. A diferencia del manejo orgánico (que este tipo de manejo también está certificado orgánico) no se aplica ningún insumo a la plantación, ni abonos orgánicos, ni foliares, ni insecticidas orgánicos. Después de la poda de formación a los dos meses de edad, solamente se realiza una poda de mantenimiento al año. El control de arvenses se realiza una vez al año de forma manual (machete).

Hemos seleccionamos la Finca de Marina López Morales, con una extensión de una hectárea ubicada en Watsi, cantón de cantón de Talamanca, Provincia de Limón, en la costa atlántica de Costa Rica.

A la finca de Marina se le realizaron análisis químicos de suelos, y de los resultados podemos decir que el suelo no presenta problemas de acidez. A pesar que el pH se encuentra en el límite de 5,5; el bajo nivel de acidez intercambiable y el alto valor de la suma de bases hacen que el porcentaje de saturación de acidez sea despreciable. Nutricionalmente, este suelo presenta una deficiencia de P que posiblemente esté limitado por el alto contenido de Ca. Por otra parte, la relación C/N (inferior a 20) y el contenido de M.O (superior a 2) indican que es un suelo con muy buena disponibilidad de nitrógeno tal y como lo menciona Rojas (2004).

Igual que las fincas anteriores podríamos decir que la topografía es catalogada como casi plana.

Diversidad de insectos polinizadores de cacao

A continuación, se presentan gráficos que detallan un promedio de la cantidad de insectos presentes en las diferentes fincas, los cuales fueron recolectados por medio de la técnica de aspiración en flores. Especies de la familia Ceratopogonidae fueron los menos encontrados, solamente se encontró un 9% de especímenes de esta Familia en la finca de APPTA, en Watsi y La Lola no se reportó Forcipomyias. Especímenes de la familia Thysanoptera fueron los más encontraron en Watsi, APPTA y La Lola, con una cantidad promedio de 69%, 40% y 63% respectivamente.

El ítem de “Otros” representan a otras especies encontradas en las flores muestreadas, que hasta el momento no ha reportado funcionalidad en la polinización de cacao, como los son avispas, hormigas, ácaros, arañas y otros insectos.

En la figura 1 se muestra la dinámica poblacional en la finca con manejo tradicional (WATSI), en el cual se observa que los insectos con mayor presencia (69%), son los llamados Trips, de la familia Thysanoptera, estos suelen ser de color negro o color café como se muestra en la figura 4b, seguidos de los pertenecientes a la familia Cecidoniidae (15%) y un porcentaje menor (2%) la familia Sciaridae.

La finca con manejo orgánico (APPTA), por su parte muestra una dinámica poblacional donde se muestra al igual que en la figura 1, una mayor presencia de Trips, seguido por la familia Cecidomyiidae, la cual es una familia de dípteros que por lo general miden aproximadamente 3mm de longitud, y son reconocidos fácilmente por su venación de las alas, mostrando dos venas largas y pronunciadas como se observa en la figura 4a, y con un porcentaje muy significativo (9%) se encuentra la familia Sciaridae.

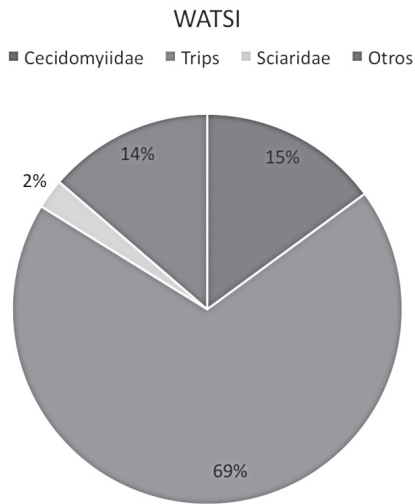


Figura 1. Promedio de insectos recolectados en la finca WATSI.

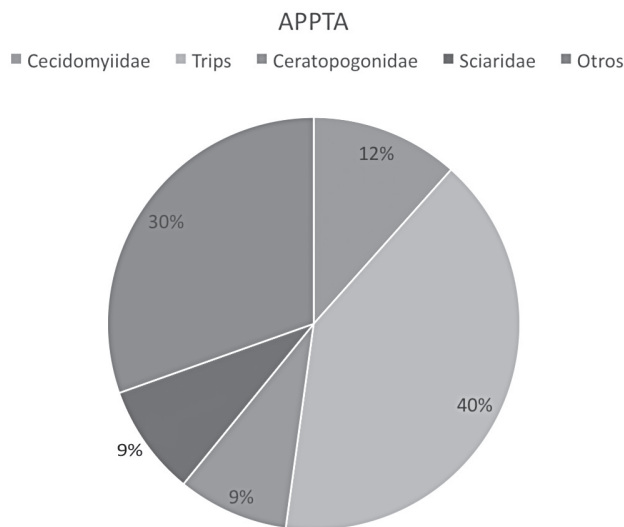


Figura 2. Promedio de insectos recolectados en la finca APPTA.

La familia Sciaridae mostró un mayor porcentaje de presencia en esta finca, respecto a las demás fincas, esta familia es un grupo de moscas, su tamaño varía entre 1,0 - 11,0 mm, donde las hembras son más grandes que los machos, su característica principal al momento de reconocerlos es la venación de las alas la cual es bifurcada como se muestra en la figura 4c.

Esta finca comparada con las otras dos fincas, mostro una presencia de insectos pertenecientes a la familia Ceratopogonidae, la cual es una familia de pequeñas moscas, que han sido reconocidas en este caso por sus antenas con flagelos, mostrándose plumosas en los machos, como se observa en la figura 4d.

La figura 3 muestra el comportamiento de la población en la finca con manejo convencional (La Lola), donde se observa al igual que en las fincas anteriores una presencia significativa de la familia Thysanoptera y en un porcentaje menor insectos de la familia Cecidomyiidae, el porcentaje de otros en este caso es mayor en comparación a las otras dos fincas.

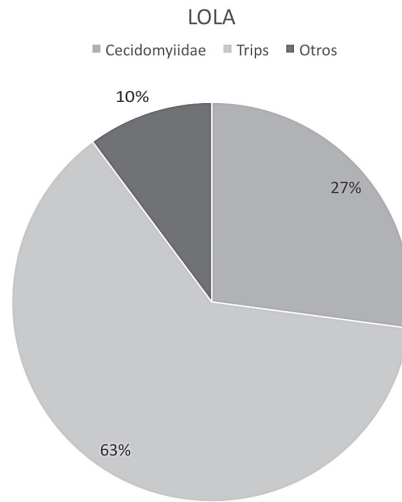


Figura 3. Promedio de insectos recolectados en la finca LOLA.

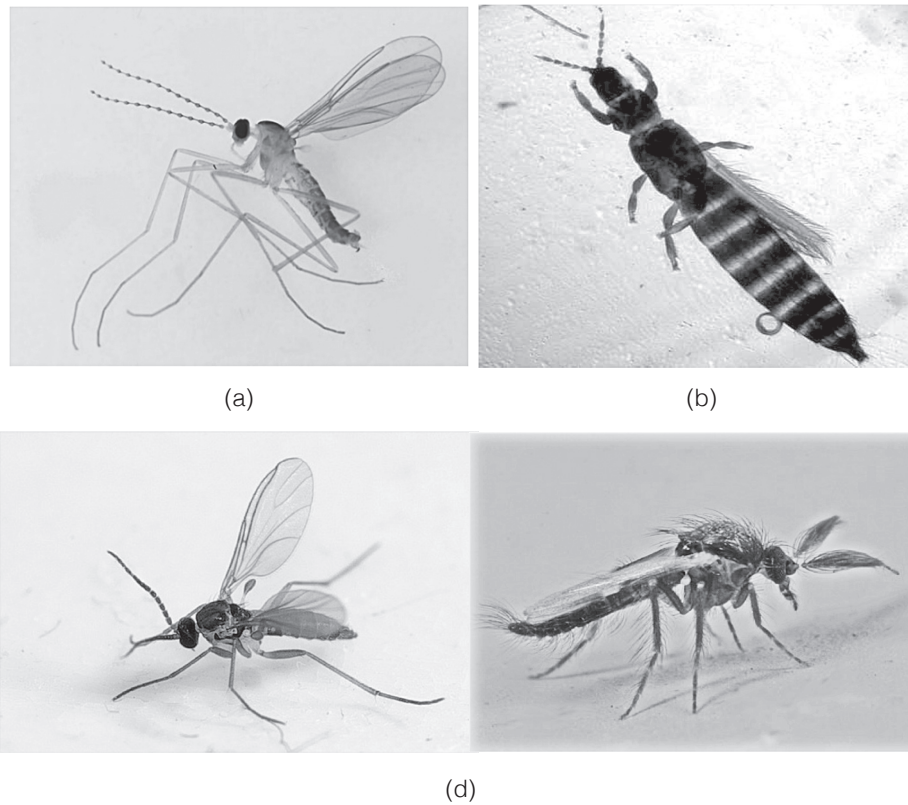


Figura 4. Especies familia (a) Cecidomyiidae, (b) Thysanoptera, (c) Sciariidae, (d) Ceratopogonidae.

Producción de frutos y flores

Según los datos obtenidos y como se muestra en la figura 5, la producción de flores fue mayor en finca con manejo tradicional siendo la mayor cantidad en el mes de mayo, con aproximadamente 239 flores seguido de una producción de 102 flores en el mes de febrero.

En el caso de la finca con manejo orgánico, la mayor producción se dio en el mes de mayo, con una cantidad de 113 flores aproximadamente, al igual que en la finca con manejo convencional, la cual presenta para el mes de marzo una producción de 50 flores aproximadamente, siendo esta la finca que produjo más unidades en el mes de marzo.

Para el mes de mayo en el segundo muestreo, se evidenció una disminución significativa en la producción de flores, comparado con el primer muestreo de este mismo mes donde se contabilizó la mayor cantidad de flores.

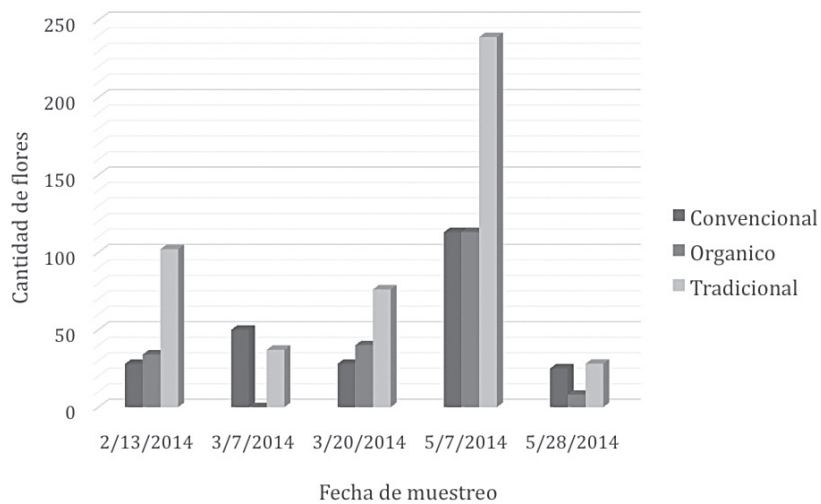


Figura 5. Cantidad de flores presentes en las diferentes fincas estudiadas.

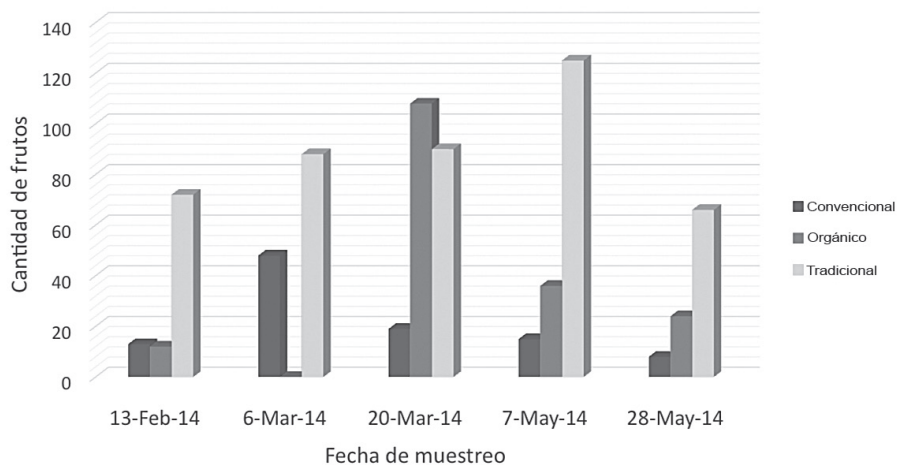


Figura 6. Cantidad de frutos presentes en las diferentes fincas estudiadas.

En la figura 6 se observa que la finca tradicional (Watsi) presenta la mayor producción en cuatro de los cinco muestreos, se observa como la producción en la finca convencional (La Lola) tiende a disminuir a partir de la segunda fecha de muestreo, y también se observa el pico de producción en la finca orgánica (APPTA) en la tercer fecha de muestreo.

Los frutos contabilizados durante estos muestreos, fueron mazorcas entre verdes y maduras que estuvieran sanas. Cabe mencionar que, si bien es cierto, las visitas a las fincas eran coordinadas con los encargados de las mismas, la posibilidad que se cosecharan mazorcas durante la fecha de muestreo no estaba bajo nuestro control.

Relación entre la dinámica poblacional de los polinizadores y la cantidad de flores en los sistemas de producción evaluados.

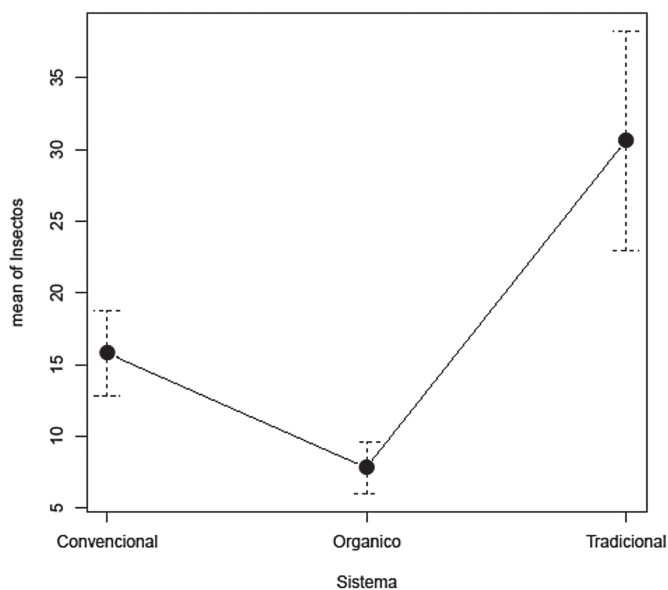


Figura 7. Media de insectos muestreados.

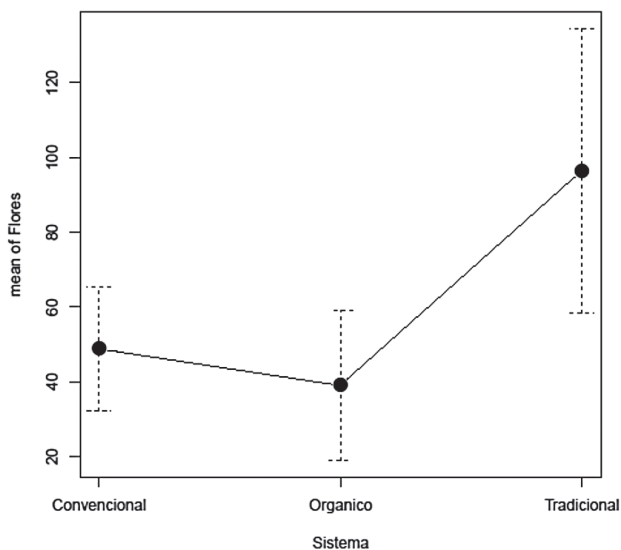


Figura 8. Media de flores contabilizadas.

La figura 7 muestra las medias de los insectos muestreados en cada una de las fincas evaluadas, podemos observar como la finca tradicional (Watsi) presenta significativamente mayor cantidad de insectos, el doble de cantidad que la finca convencional (La Lola) y el triple de cantidad que la finca orgánica (APPTA). De las tres fincas evaluadas, la finca orgánica (APPTA) es la que presentó menor cantidad de insectos polinizadores.

La figura 8, muestra las medias de la cantidad de flores contabilizadas en cada una de las fincas evaluadas, y se observa el mismo comportamiento. La finca tradicional (Watsi) es la que presentó la mayor cantidad de flores, luego le sigue la convencional (La Lola) y por último la orgánica (APPTA) que fue la que contabilizó menor cantidad de flores.

Conclusiones

A pesar de que algunas de las variables se trataron de controlar, como las horas del día en que se realizaba los muestreos, el método de muestreo, la misma cantidad de flores muestreadas y los mismos clones de árboles seleccionados; habían otras variables que no se podían controlar como los diferentes microclimas y los recursos disponibles (luz y nutrientes) en cada una de las fincas evaluadas.

Al no contar con un área de producción de cacao lo suficientemente grande como para establecer un diseño experimental más apropiado, justamente para minimizar estas variables no controlables, es decir en una misma finca, encontrar o establecer los tres manejos evaluados (convencional, orgánico, tradicional) hizo que tuviéramos que realizar el estudio en tres áreas diferentes, 28 millas, Bratsi y Watsi.

Si bien es cierto no podemos asegurar que los insectos muestreados, fueron los encargados del servicio de polinización, con el método de muestreo utilizado nos aseguramos que los insectos al menos estaban dentro de la flor.

A pesar de que la literatura menciona que especies de la Familia Ceratopogonidae son los insectos especializados en brindar el servicio de polinización de cacao, nuestros resultados no evidenciaron tanta presencia de estos, solamente se encontraron dos especímenes en la finca orgánica (APPTA). A diferencia de especies de la familia Thysanoptera que fueron los insectos que se encontraron en mayor cantidad en cada una de las tres fincas. Especies de la familia Cecidoniidae también fueron encontradas en las tres fincas.

La finca tradicional (Watsi) fue la que registró mayor cantidad de insectos, también registró mayor cantidad de flores y mayor cantidad de frutos, en cantidades considerable a comparación con las otras dos fincas (orgánica y convencional). La finca orgánica (APPTA) fue la que registró menor cantidad de insectos, flores y frutos.

Bibliografía

- [1] T. Kaufmann, «Ecology and Behavior of Cocoa Pollinating Ceratopogonidae in Ghana, W. Africa, » *Environmental Entomology*, pp. 4(2):347-351.
- [2] S. Soria, «Locais de coleta e distribuicao de Forcipomya (Diptera, Ceratopogonidae) relacionadas com a floracao e frutificao do cacauerio na bahía, Brasil, » *Revista Theobroma, Itabuna, Brasil*, vol. 3, nº 2, pp. 41-49, 1973.
- [3] S. d. J. Soria, W. Wirth y K. Chapman, «Insect pollination of cacao in Costa Rica. 1. Preliminary list of the ceratopogonid midges collected from flowers, » *Revista Theobroma*, vol. 10, nº 2, pp. 61-68, 1980.
- [4] A. Young, «Effects of shade cover and availability of midge breeding sites on pollinating midge population and fruit set in two cocoa farm, » *Journal of Applied Ecology*, vol. 19, pp. 47-63, 1982.



- [5] E. Frimpong, I. Gordon, K. Wapong y B. Gemmill-Herren, «Dinamyc of cocoa pollination tools and aplicaciones for surveying and monitoring cocoa pollinators, » International Journal of Tropical Insects Science, vol. 29, nº 2, pp. 62-69, 2009.
- [6] E. Somarriba, M. Trivelato, M. Villalobos , K. Morán , L. Orozco y A. & Lopez , «Diagnóstico agroforestal de pequeñas fincas cacaoteras orgánicas de indígenas Bribri y Cabécar de Talamanca, Costa Rica,» Agroforestería en las Américas , pp. 10 (37-38), 24-30, 2003.
- [7] G. Wood, Cocoa, 4 ed., London: Blackwell Science, 2001.
- [8] M. Navarro y A. Mendoza, Cultivo del cacao en sistemas agroforestales: Guía técnica para promotores, Nicaragua, 2006.
- [9] A. Dubón y J. Sánchez, Manual de producción de cacao, La Lima, Cortés, Honduras, 2011.
- [10] K. Romero, «Propuesta de un diseño agroforestal con cacao y especies maderables en la región de Lachuá, Guatemala., » Tecnológico de Costa Rica, Escuela de Ingeniería Forestal, Cartago, Costa Rica, 2014.

Inventario de la calidad de fuentes de abastecimiento operadas por el Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados para el año 2015

Stock of drinking-water sources managed by Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados during 2015

Jimena Orozco-Gutiérrez¹, Yuliana Solís-Castro²

*Fecha de recepción: 16 de mayo de 2016
Fecha de aprobación: 27 de junio de 2016*

Orozco-Gutiérrez, J; Solís-Castro, Y. Inventario de la calidad de fuentes de abastecimiento operadas por el Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados para el año 2015. *Tecnología en Marcha*. Vol. 30-1. Enero-Marzo 2017. Pág 101-112.

DOI: 10.18845/tm.v30i1.3089



- 1 Ingeniera en Biotecnología. Maestría en Manejo Sostenible del Agua. Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados (AyA). Laboratorio Nacional de Aguas (LNA). Área Microbiología de Agua Potable. Costa Rica. Correo electrónico: jorozco@aya.go.cr
- 2 Licenciada en Ingeniería Química. Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados (AyA). Laboratorio Nacional de Aguas (LNA). Área Química de Agua Potable. Costa Rica. Correo electrónico: ysolis@aya.go.cr

Palabras clave

Agua para consumo humano; calidad del agua; fuentes de abastecimiento superficiales; subterráneas; subsuperficiales; AyA.

Resumen

Las fuentes de abastecimiento de agua para consumo humano en Costa Rica se dividen en tres tipos: superficiales, subterráneas y subsuperficiales. El objetivo del presente estudio es inventariar, clasificar y calificar las fuentes de abastecimiento registradas en la base de datos del Laboratorio Nacional de Aguas (LNA) pertenecientes al Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados (AyA), que operaron durante el 2015 en las distintas regiones, desglosando la información en porcentajes por tipo de fuente y por calidad de agua de consumo. Se utilizó el Programa de Control de Calidad del Agua, implementado por el LNA, para recopilar los datos. La calificación de fuentes subterráneas y subsuperficiales se basó en los criterios físico-químicos y microbiológicos convenidos en el estudio denominado "Actualización de los criterios de calidad de aguas de pozos y nacientes para potabilización en Costa Rica 2012"; para la clasificación de las fuentes superficiales se utilizaron los criterios establecido en el Reglamento para la Evaluación y Clasificación de la Calidad de Cuerpos de Agua Superficiales Decreto N°33903-MINAE-S. Se reportó un total de 492 fuentes de abastecimiento; 47 fueron superficiales (10 %), 287 subterráneas (58 %) y 158 subsuperficiales (32 %). Las fuentes subterráneas y subsuperficiales predominaron para todas las regiones, siendo la Región Área Metropolitana (RAM) la que presentó el mayor porcentaje en fuentes superficiales (25 %). La calidad excelente y buena fue mayor del 50% para los tres tipos de fuentes. El presente estudio recomienda desarrollar un programa, establecido y ejecutado por el AyA, para proteger las fuentes de abastecimiento, garantizando la calidad de agua para consumo humano.

Keywords

Water quality; drinking-water sources; surface-water; spring water; groundwater; AyA.

Abstract

In Costa Rica, the drinking-water sources for human consumption are classified in three types: surface water, groundwater, and spring water. The aim of the present study is to inventory, classify and qualify the drinking-water sources managed by *Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados* (AyA), which are registered in the database of the National Water Laboratory for the year 2015. This information was broken down into drinking-water source types and quality percentages. Data were gathered using the Water Quality Control Programme of the National Water Laboratory. Groundwater and spring water sources qualification was based on the physical-chemical and microbiological criteria established on the study called *Actualización de los criterios de calidad de aguas de pozos y nacientes para potabilización en Costa Rica 2012*; the criteria for qualifying surface water sources was taken from the *Reglamento para la Evaluación y Clasificación de la Calidad de Cuerpos de Agua Superficiales Decreto N°33903-MINAE-S*. There were 492 drinking-water sources managed by AyA; 47 were surface water (10 %), 287 groundwater (58 %) and 158 spring water (32 %). Groundwater and spring water sources predominated at a national level; *Región Área Metropolitana* (RAM) showed the highest percentage of surface water sources (25 %). Excellent and good quality was greater than 50 % in the three types of sources. The former study recommends to develop a programme, ran by the AyA, in order to protect the drinking-water sources, and guarantee water quality.

Introducción

El Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillado (AyA) tuvo 200 sistemas de abastecimiento a lo largo del territorio nacional [1]. La operación de estos sistemas se divide en la Región Área Metropolitana (RAM) con 43 sistemas, la Región Central (RC) con 34 sistemas, Región Huertar Atlántica (RHA) con 20 sistemas, Región Brunca (RB) con 31 sistemas, Región Chorotega (RCH) con 46 sistemas y Región Pacífico Central (RPC) con 26 sistemas.

Según el Decreto Ejecutivo N° 38924-S [2]: un sistema de suministro de agua está constituido por:

“obras accesorias, tales como la fuente de abastecimiento, líneas de conducción, planta de tratamiento, tanques de almacenamiento, red de distribución (tuberías o conductos) cuyo objetivo es captar, conducir, tratar y distribuir el agua aprovechando la gravedad, o la utilización de energía para su correspondiente bombeo, con la finalidad de proporcionar agua a la población”.

El término fuentes de abastecimiento o aprovechamiento, hace referencia a las aguas de dominio público [3]. La utilización de dichas fuentes para suministro de agua requiere de un permiso otorgado por el Estado costarricense, a través de la Dirección de Aguas del Ministerio del Ambiente y Energía, la cual otorga un caudal a explotar luego de un estudio técnico que permita determinar, entre otros elementos, la capacidad de producción del aprovechamiento, los requerimientos ecológicos y el uso al que se destinará el agua [4].

En Costa Rica, las fuentes de abastecimiento se dividen en tres tipos: superficiales (ríos, quebradas y embalses), subterráneas (pozos y punteras) y subsuperficiales (nacientes y manantiales). Para el 2012, se reportaron en operación 4 580 fuentes a lo largo del territorio nacional; de este total el AyA dispuso al menos 468 [5]. Actualmente, las fuentes operadas por el AyA abastecen aproximadamente el 47,3 % de la población del país [6].

Es indispensable velar por la protección de fuentes potenciales de agua para consumo humano. Las Guías para la calidad del agua potable de la OMS [7], en su tercera edición, recomiendan establecer medidas preventivas de contaminación de fuentes, antes que mejorar los tratamientos para potabilizar el agua. En el 2007 el LNA realizó una propuesta cuyo objetivo fue implementar un programa de mejoramiento de la calidad integral de los servicios de agua para consumo humano, donde se incluía dentro de sus componentes la protección de fuentes. Dicha propuesta pretendió actualizar el inventario de fuentes, recopilar información acerca de los terrenos donde se ubican las fuentes, identificar las zonas de recarga, realizar evaluaciones de riesgo sanitario correspondientes, incentivar campañas de reforestación en las zonas de recarga y de apoderamiento de terrenos aledaños a las fuentes, por parte de los entes operadores de éstas.

El objetivo principal del presente estudio es inventariar, clasificar y calificar las fuentes de abastecimiento registradas en la base de datos del LNA pertenecientes al AyA, que operaron durante el 2015 en las distintas regiones, desglosando la información en porcentajes por tipo de fuente (superficial, subterránea y subsuperficial) y por calidad de agua de consumo, basada en parámetros microbiológicos y físico-químicos.

Metodología

El estudio es de índole descriptivo-retrospectivo. Para cumplir con los objetivos establecidos se aplicaron los siguientes pasos:

Inventario de fuentes de abastecimiento pertenecientes al AyA

Se utilizó el Programa de Control de Calidad del Agua, implementado por el LNA, para recopilar los datos, a partir de las bases de datos. Se creó una hoja de cálculo, donde se enumeraron todas las fuentes registradas para el 2015, junto con su respectivo sistema, separadas por región y por tipo (superficial, subterránea y subsuperficial).

Se inventariaron solo las fuentes que registraron valores para el periodo 2015. Cuando las fuentes de abastecimiento fueron muestreadas cada una por separado, no se incluyó el punto “mezcla de nacientes/pozos” dentro del inventario; cuando solo el punto de la mezcla presentó datos, éste se contempló como una fuente.

Calidad de fuentes de abastecimiento pertenecientes al AyA

La clasificación de las fuentes subterráneas y subsuperficiales se basó en los criterios físico-químicos y microbiológicos convenidos en el estudio denominado “Actualización de los criterios de calidad de aguas de pozos y nacientes para potabilización en Costa Rica 2012” [5]. Dichos criterios establecen cinco categorías de calidad: excelente, buena, regular, mala y muy mala. Para la clasificación de las fuentes superficiales de abastecimiento se utilizaron los criterios establecidos en el Reglamento para la Evaluación y Clasificación de la Calidad de Cuerpos de Agua Superficiales Decreto N°33903-MINAE-S [8], el cual numera la calidad en cinco clases del 1 al 5, siendo la Clase 1 la excelente y la Clase 5 la muy mala. Ambos criterios incluyen parámetros microbiológicos y físico-químicos del agua. Los parámetros microbiológicos utilizados fueron coliformes fecales y *Escherichia coli*. Para las fuentes subterráneas y subsuperficiales se utilizaron 13 parámetros físico-químicos: color aparente, temperatura, turbiedad, dureza total, fluoruros, hierro, manganeso, nitratos, plomo, cadmio, arsénico, cloruros y pH; mientras que para las fuentes superficiales se utilizaron 17 parámetros: turbiedad, temperatura, pH, nitratos, cloruros, fluoruros, color aparente, arsénico, cadmio, cobre, cromo, magnesio, mercurio, níquel, plomo, selenio y sulfatos.

El parámetro de conductividad se excluyó de los criterios físico-químicos de evaluación de la calidad del agua de fuentes subterráneas y subsuperficiales, porque en el Reglamento para la Calidad del Agua Potable se considera como un valor alerta [2]. Asimismo, se está elaborando un estudio para evaluar la relación que existe entre la conductividad y la dureza total. Dicho estudio pretende redefinir los ámbitos de conductividad para implementar el parámetro en informes posteriores. El parámetro de plaguicidas no fue evaluado, porque la metodología para su implementación se encuentra en fase de desarrollo, por lo que no se cuenta con un registro de mediciones durante el periodo 2015.

En la hoja de cálculo, se anotaron los valores registrados de los distintos parámetros microbiológicos y físico-químicos para cada una de las fuentes previamente inventariadas. Posteriormente se clasificó cada categoría con el nivel de calidad respectivo. La calidad de cada fuente de abastecimiento la determinó el parámetro que registró la menor calidad.

Resultados y discusión

Durante el año 2015, se reportaron en operación 492 fuentes de abastecimiento pertenecientes al AyA; de las cuales 47 fueron superficiales (10%), 287 subterráneas (58%) y 158 subsuperficiales (32 %) (ver Figura 1).

Tipos de fuentes de abastecimiento operadas por el AyA 2015.

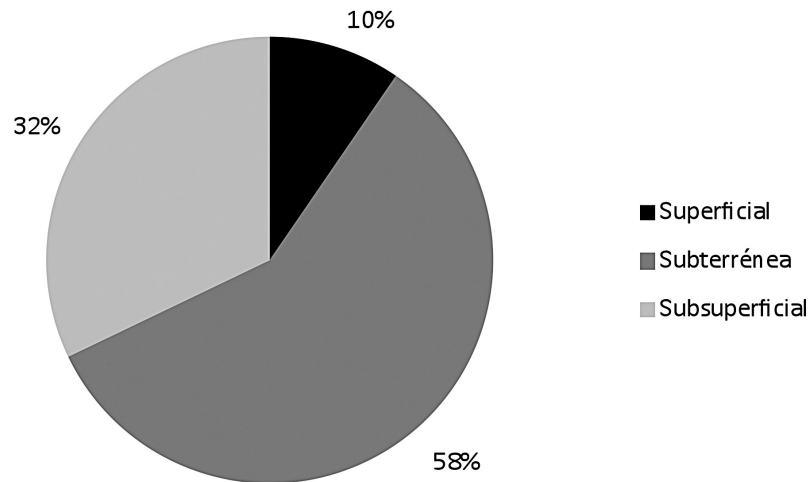


Figura 1. Porcentaje por tipos de fuentes de abastecimiento pertenecientes al AyA en el 2015.

En la Figura 2 se muestran los porcentajes de tipos de fuentes para cada una de las regiones. Como se puede observar, las fuentes subterráneas predominaron en las RAM, RCH y RPC; mientras que las fuentes subsuperficiales predominaron en las RB, RHA y RC. Las fuentes superficiales solo representaron un 10 % del total de fuentes, siendo la RAM la que presentó el mayor número de fuentes de abastecimiento superficiales, proporción considerablemente alta en comparación con el resto de las regiones.

En la Figura 3 se detalla la calidad del agua las de fuentes para cada región. Las fuentes de subterráneas obtuvieron el porcentaje de calidad excelente más elevado (24 %). Las fuentes subsuperficiales presentaron la mayor proporción de fuentes de calidad excelente y buena, con un 15 % de calidad excelente y 68 % de calidad buena; seguidas de las superficiales, con un 2 % de calidad excelente y 70 % de calidad buena; mientras que las subterráneas presentaron la menor proporción, con un 24 % de calidad excelente y 35 % de calidad buena (ver Figura 4). Sin embargo, la calidad excelente y buena fue mayor del 50 % para los tres tipos de fuentes. El 11 % de calidad muy mala en las fuentes superficiales se debe a los indicadores microbiológicos; mientras que, para las subterráneas, el 14 % de calidad mala y 5 % de calidad muy mala, se debe a los parámetros físico-químicos.

Las fuentes superficiales son propensas a contaminación de origen natural y antropogénica; por consiguiente, su carga microbiana y parámetros físico-químicos, como color y turbiedad tienden a ser elevados [9]. Por otro lado, las subterráneas y subsuperficiales, normalmente presentan bajos niveles de contaminación microbiana, y su calidad se ve directamente influenciada por parámetros físico-químicos intrínsecos del acuífero.

Es importante tomar en consideración que el punto de entrada del agua superficial cruda a las plantas potabilizadoras convencionales, se consideró como una sola fuente de abastecimiento. Esto debido a que normalmente se muestrea un solo punto para la mezcla de fuentes de abastecimiento justo antes de ingresar a la planta (punto Cruda), y no se muestrea cada fuente por separado. Por lo tanto, el número de fuentes de abastecimiento superficiales que registra el LNA, va a ser menor que el número total de fuentes de abastecimiento superficiales pertenecientes al AyA.

Una situación similar ocurre con las plantas de remoción de metales o plantas potabilizadoras no convencionales, donde solo se muestrea el punto Cruda, que normalmente es una mezcla del agua de las fuentes de abastecimiento subterráneas (pozos). En los casos donde el punto Cruda presentó cloro (precloración con el fin de oxidar metales como arsénico, hierro y manganeso), este punto no fue incluido en el inventario de calidad, ya que no representa las propiedades originales de las fuentes.

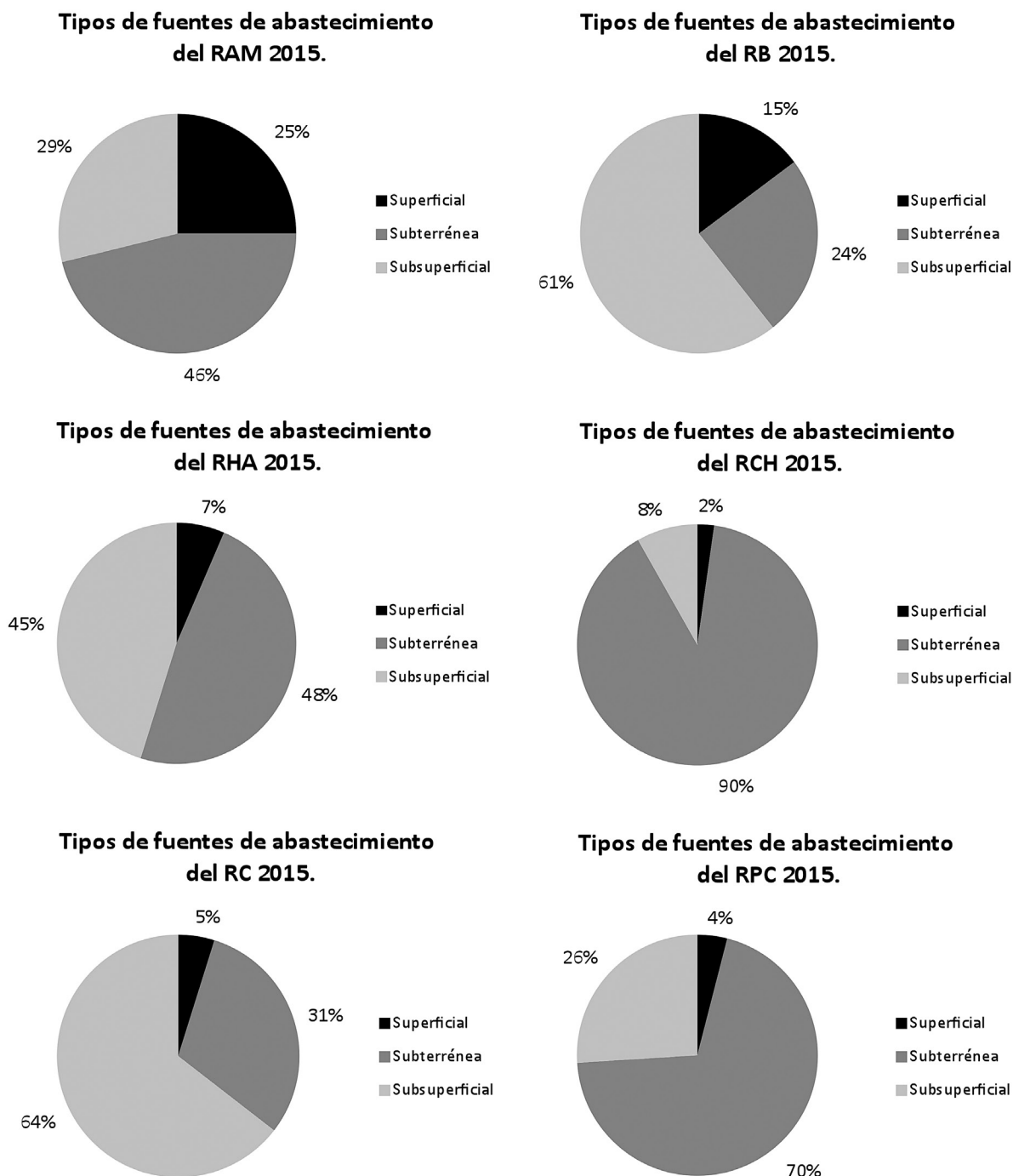
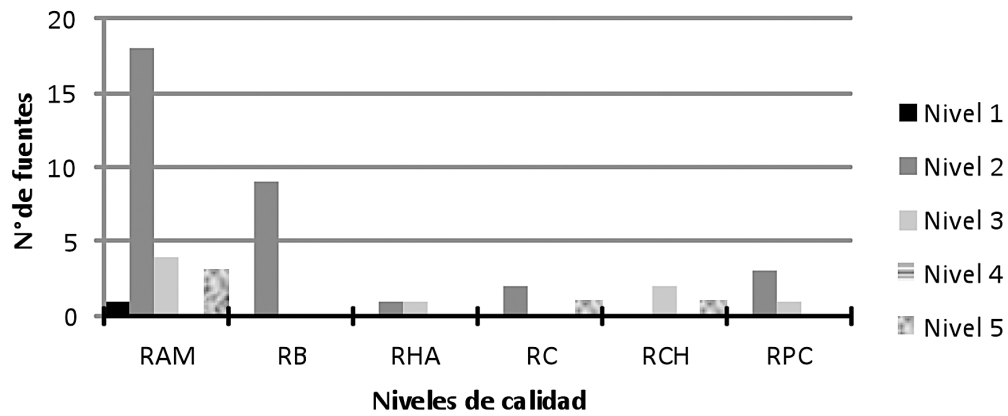
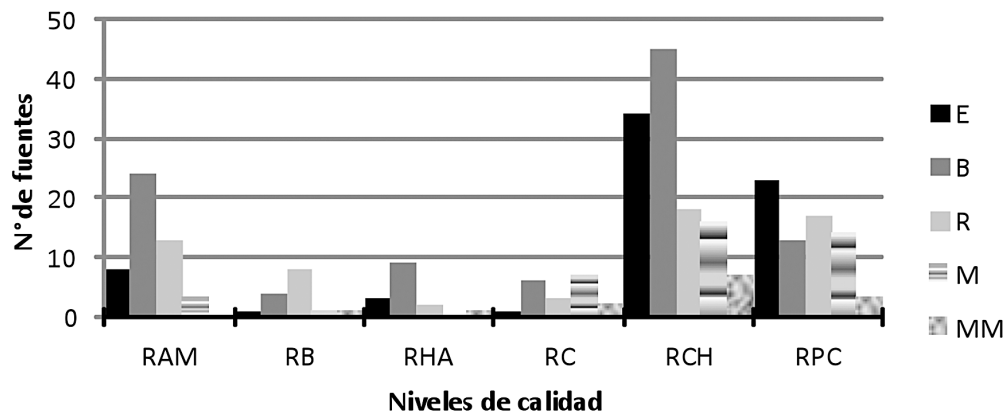


Figura 2. Porcentaje por tipos de fuente de abastecimiento pertenecientes al AyA para las distintas regiones durante el 2015.

Calidad de fuentes de abastecimiento superficiales operadas por AyA 2015.



Calidad de fuentes de abastecimiento subterráneas operadas por AyA 2015.



Calidad de fuentes de abastecimiento subsuperficiales operadas por AyA 2015.

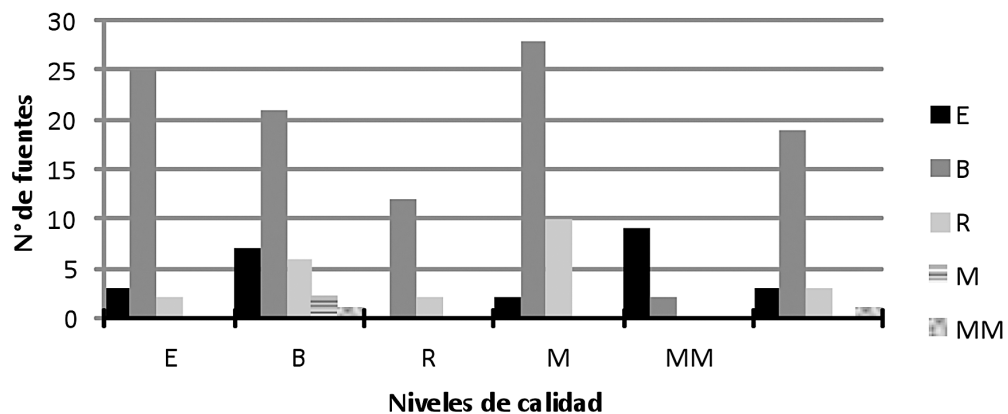
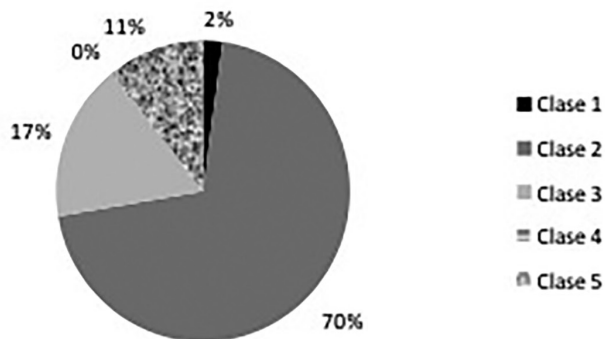
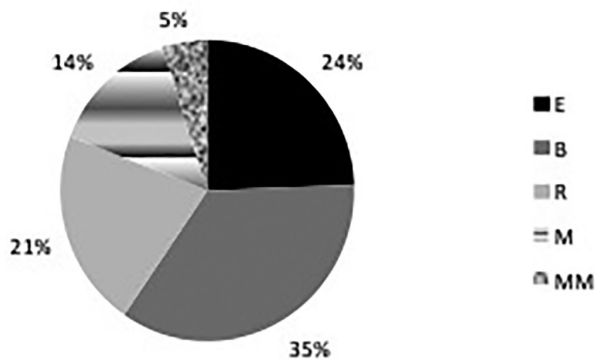


Figura 3. Número de fuentes de abastecimiento pertenecientes al AyA por clase o categoría de calidad para cada región durante el 2015.

Calidad de fuentes de abastecimiento superficiales operadas por el AyA 2015.



Calidad de fuentes de abastecimiento subterráneas operadas por el AyA 2015.



Calidad de fuentes de abastecimiento subsuperficiales operadas por el AyA 2015.

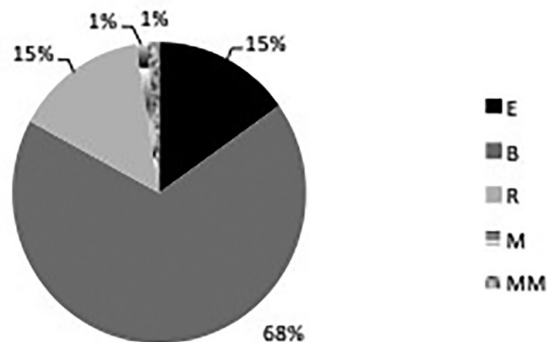


Figura 4. Porcentaje por calidad de fuentes de abastecimiento pertenecientes al AyA por clase o categoría de calidad durante el 2015.

Conclusiones

- El total de fuentes de abastecimiento pertenecientes al AyA que operaron durante el 2015 fue 492, de las cuales 47 fueron superficiales (10 %), 287 subterráneas (58 %) y 158 subsuperficiales (32 %).
- Las fuentes de abastecimiento subterráneas predominaron en las regiones Área Metropolitana, Chorotega y Pacífico Central; mientras que las subsuperficiales predominaron en las regiones Brunca y Central.
- Las fuentes de abastecimiento superficiales representaron solo un 10 % de la totalidad de fuentes operadas por el AyA.
- La Región Área Metropolitana presentó el mayor porcentaje de fuentes de abastecimiento superficiales, con un 25 % de la totalidad de fuentes de la región.
- La calidad excelente y buena fue mayor del 50 % para los tres tipos de fuentes de abastecimiento.
- Los parámetros microbiológicos presentaron mayor relevancia al determinar la calidad de las fuentes de abastecimiento superficiales.
- Los parámetros físico-químicos presentaron mayor relevancia al determinar la calidad de las fuentes de abastecimiento subterráneas y subsuperficiales.

Recomendación

Desarrollar un programa, establecido y ejecutado por el AyA, que proteja las fuentes de abastecimiento, con el fin de garantizar la calidad del agua de consumo.

Bibliografía

- [1] Laboratorio Nacional de Aguas, «Programa de Control de Calidad del Agua.» Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados. Laboratorio Nacional de Aguas., Tres Ríos, 2015.
- [2] «Decreto Ejecutivo N° 38924-S. Reglamento para la Calidad del Agua Potable.» *Diario Oficial La Gaceta N°170*, 1 Setiembre 2015.
- [3] «Ley N°276. Ley de Aguas.» *Diario Oficial La Gaceta*, 27 Agosto 1942.
- [4] S. Romero, Interviewee, (*S. Romero, UEN Gestión Ambiental, comunicación personal, abril, 7, 2016*). [Entrevista]. 7 Abril 2016.
- [5] D. Mora, A. Mata y M. Sequeira, Actualización de los criterios de calidad de aguas de pozos y nacientes para potabilización en Costa Rica 2012., Tres Ríos: Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados. Laboratorio Nacional de Aguas., 2012.
- [6] Instituto Nacional de Estadística y Censo (INEC), «Encuesta Nacional de Hogares (ENAH) Julio 2015.» 2015. [En línea]. Available: <http://www.inec.go.cr/enaho/result/vivienda.aspx>. [Último acceso: 1 Abril 2016].
- [7] OMS, Guías para la calidad del agua potable, Tercera edición ed., Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2013.
- [8] «Decreto Ejecutivo N°33903-MINAE-S. Reglamento para la Evaluación y Clasificación de la Calidad de Cuerpos de Agua Superficiales.» *Diario Oficial La Gaceta N° 178*, 17 Setiembre 2007.
- [9] D. Mora y A. Mata, Conceptos básicos de aguas para consumo humano y disposición de aguas residuales., Tres Ríos: Instituto Costarricense de Acueductos y Alcantarillados. Laboratorio Nacional de Aguas., 2007.

Anexos

Anexo 1. Criterios microbiológicos de calidad de fuentes de abastecimiento subterráneas [5].

Cuadro 1. Propuesta de criterios microbiológicos, según CF/100 mL, en aguas de pozos en Costa Rica.

Clasificación de la Calidad	Intervalos	Observaciones
Excelente	0 (Negativo)	En concordancia con los valores de la moda y la mediana.
Buena	>0 a 2,7	El valor máximo de acuerdo con el valor de la media.
Regular	> 2,7 a 30,0	El valor máximo se calcula sumando a la media el valor de la DS de los 967 datos.
Mala	> 30 a 750	El valor máximo de 750 se ubica en el percentil 100.
Muy Mala	> 750	Cualquier dato que supere el valor máximo de 750 CF/100 mL.

Cuadro 2. Propuesta de criterios microbiológicos, según *E.coli* /100 mL, en aguas de pozos en Costa Rica.

Clasificación de la Calidad	Intervalos	Observaciones
Excelente	0 (Negativo)	En concordancia con los valores de la moda y la mediana.
Buena	>0 a 2,3	El valor máximo es la media de los 967 datos.
Regular	> 2,2 a 29	El valor máximo se calcula sumando a la media la DS de 26,95.
Mala	> 29 a 750	El valor máximo de 750 <i>E.coli</i> /100 mL se encuentra en el percentil 100.
Muy Mala	> 750	Cualquier dato que supere el valor máximo obtenido en los 967 datos históricos.

Anexo 2. Criterios microbiológicos de calidad de fuentes de abastecimiento subsuperficiales [5].

Cuadro 3. Propuesta de criterios microbiológicos, según CF/100 mL, en aguas de nacientes en Costa Rica.

Clasificación de la Calidad	Intervalos	Observaciones
Excelente	0 (Negativo)	En concordancia con el valor de la moda.
Buena	>0 a 23	El valor máximo de 23 es el obtenido como mediana en 3.292 nacientes.
Regular	> 23 a 177	El valor máximo se calcula sumando al valor de la media la DS de los 3.292 datos.
Mala	> 177 a 2.400	El valor máximo de 2.400 se ubica en el percentil 100.
Muy Mala	> 2.400	Cualquier dato que supere el valor máximo de 2.400 CF/100 mL.

Cuadro 4. Propuesta de criterios microbiológicos, según *E.coli*/100 mL, en aguas de nacientes en Costa Rica

Clasificación de la Calidad	Intervalos	Observaciones
Excelente	0 (Negativo)	En concordancia con el valor de la moda de los 3.292 datos.
Buena	>0 a 20	El valor máximo de 20 es el obtenido como mediana.
Regular	> 20 a 170	El valor de 170 se obtiene de la suma de la media más la DS.
Mala	> 170 a 2.400	El valor máximo de 2400 se ubica en el percentil 100.
Muy Mala	> 2.400	Cualquier dato que supere el valor máximo de 2.400 <i>E.coli</i> /100 mL.

Anexo 3. Criterios físico-químicos de calidad de fuentes de abastecimiento subterráneas y subsuperficiales [5].

Cuadro 5. Propuesta de criterios físico-químicos en aguas de pozos y nacientes en Costa Rica.

Pozos	Nacientes	Parámetros	Calidad Microbiológica y Físico-química				
			Excelente	Buena	Regular	Mala	Muy Mala
x		CF/100 mL	O (Negativo)	>0 a 2,7	>2,7 a 30	>30 a 750	>750
x		<i>E.coli</i> /100 mL	O (Negativo)	>0 a 2,2	2,2 a 29	<29 a 750	>750
	x	CF/100 mL	O (Negativo)	>0 a 23	>23 a 177	>177 a 2400	>2400
	x	<i>E.coli</i> /100 mL	O (Negativo)	>0 a 20	>20 a 169	>169 a 2400	<2400
x	x	Color (Pt-Co)	<1,0	1 a <5	5a <10	10 a <15	≥15
x	x	Turbiedad (UNT)	<1,0	1 a < 3	3a < 5	5 a < 10	≥10
x	x	Temperatura (°C)	<18,0	18 a 25	25a<28	28 a <50	≥50
x	x	Conductividad (µs/cm)	<300	300 a <400	400 a <500	500 a <600	≥ 600
x	x	Dureza Total (mg/L)	<200	200 a <300	300 a <400	400 a <500	≥500
x	x	Fluoruros (mg/L)	<0,7	0,7 a <1,0	1,0 a <1,5	1,5 a <20	≥20
x	x	Hierro (mg/L)	<0,2	0,2 a < 0,3	3,0 a <0,4	0,4 a <0,5	≥0,5
x	x	Manganeso (mg/L)	<0,05	0,05 a <0,10	0,10 a <0,5	0,5 a <10	≥1,0
x	x	Nitratos (mg/L)	<10	10 a <25	25 a <40	40 a <50	≥50
x	x	Plomo µg/L	<5,0	5 a <10	10 a <15	15 a <20	≥20
x	x	Cadmio µg/L	<3,0	3,0 a <5,0	5,0 a <7,0	7 a <10	≥10
x	x	Arsénico Total (µg/L)	<5,0	5 a <10	10 a <20	20 a <30	≥30
x	x	Cloruros (mg/L)	<25	25 a<50	50 a <100	100 a <200	≥200
x	x	Plaguicidas Total (µg/L)	ND 0,0	0,0 a <0,5	0,5 a <1,0	1,0 a <1,5	≥1,5
x	x	Valor de pH	6,5-7,5	6,0-<6,5 o >7,5 a <8,0	5,5 a <6,0 >8,0<8,5	5,0 a <5,5 o 8,5 a 9,0	<5,0 o >9,0

Anexo 4. Criterios físico-químicos de calidad de fuentes de abastecimiento subterráneas y subsuperficiales [8].

Cuadro 1. Parámetros complementarios para la determinación de la calidad de las aguas de cuerpos superficiales para las clases establecidas en el presente Reglamento.

Parámetros Complementarios (Unidades)	Clase 1	Clase 2	Clase 3	Clase 4	Clase 5
Turbiedad (UNT)	<25	25 a <100	100 a 300	(1)	(1)
Temperatura (°C)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)
Potencial de hidrógeno (pH)	6,5 a 8,5	6,5 a 8,5	6,0 a 9,0	5,5 a 9,5	5,5 a 9,5
Nitratos, NO ₃ ⁻ (mg N /L)	<5	5 a <10	10 a <15	15 a <20	>20
Demanda Química de Oxígeno (mg/L)	<20	20 a <25	25 a <50	50 a <100	100 a 300
Cloruros (como Cl) (mg/L)	<100	100 a 200	NA	NA	NA
Fluoruros (como F) (mg/L)	<1,0	1 a 1,5	NA	NA	NA
Color (Pt-Co)	2,5 a 10	10 a 100	(1)	(1)	(1)
Sólidos Suspendidos Totales (mg/L)	<10	10 a 25	25 a 100	100 a 300	>300
Sólidos Disueltos (mg/L)	<250	250 a <500	500 a 1000	>1 000	> 1 000
Grasas y Aceites (mg/L)	ND	ND	ND	ND	15 a 25
Sustancias activas al azul de metileno (mg/L)	ND	ND	ND a 1	1 a 2	2 a 5
Arsénico (mg/L)	< 0,01	< 0,01	0,01 a 0,05	> 0,05	>0,05
Boro (mg/L)	0,1	0,2	0,5	1	1
Cadmio (mg/L)	<0,005	0,005	0,01	0,02	0,02
Cianuro (mg CN ⁻ /L)	<0,1	0,1 a <0,2	0,2	>0,2	>0,2
Cobre (mg/L)	<0,5	0,5 a <1	1,0 a 1,5	1,5 a 2,0	2,0 a 2,5
Cromo Total (mg/L)	<0,05	0,05	0,20	0,50	>0,5
Magnesio mg MgCO ₃ / L	<30	30 a 50	> 50	> 50	> 50
Mercurio (mg/L)	<0,001	0,001	0,002	0,004	0,005
Níquel (mg/L)	<0,05	0,05	0,1	0,2	0,3
Plomo (mg/L)	<0,03	0,03 a <0,05	0,05 a <0,10	0,10 a <0,20	0,20
Selenio (mg/L)	<0,005	0,005 a <0,010	0,010 a <0,020	0,020 a <0,050	0,050
Sulfatos (SO ₄) ⁻² (mg/L)	<150	150 a 250	>250	>250	>250
Parámetros orgánicos					
Sumatoria de los Compuestos Organoclorados (mg/L)	ND	ND	ND	0,01	0,01
Sumatoria de los Compuestos Organofosforados (mg/L)	ND	ND	ND	0,01	0,01
Biológicos					
Coliformes Fecales (NMP/100 ml)	< 20	20 a 1000	1000 a 2000	2000 a 5000	>5000

Extracción y evaluación de los metabolitos secundarios de extractos etéreos del fruto *Syzygium cumini* (Jambool)

Extraction and evaluation of the secondary metabolites of ether extracts of *Syzygium cumini* (Jambool) fruit

Oscar Ivan Camacho-Romero¹, Sandra Melgarejo-Gómez²,
Catalino De-la-Rosa-Torres³

Fecha de recepción: 27 de abril de 2016
Fecha de aprobación: 6 de agosto de 2016

Camacho-Romero, O; Melgarejo-Gómez, S; De la Rosa-Torres, C. Extracción y evaluación de los metabolitos secundarios de extractos etéreos del fruto *Syzygium cumini* (Jambool). *Tecnología en Marcha*. Vol. 30-1. Enero-Marzo 2017. Pág 113-120.

DOI: 10.18845/tm.v30i1.3090



- 1 Grupo de Investigación Fitoquímica, Facultad de Química y Farmacia; Universidad del Atlántico -Colombia. Correo electrónico: oscarcamacho@mail.uniatlantico.edu.co
- 2 Grupo de Investigación Fitoquímica (GIF), Facultad de Química y Farmacia, Universidad del Atlántico; Colombia.
- 3 Grupo de Investigación Fitoquímica (GIF), Facultad de Química y Farmacia, Universidad del Atlántico; Colombia.

Palabras clave

Syzygium cumini; Myrtaceae; β -guaiano; Jambol.

Resumen

Syzygium cumini es una planta perteneciente a las Myrtaceae, nativa de India, utilizada en la medicina tradicional como antidiabética, hipolipidémica, gastoprotectora, entre otros. Para determinar la composición química de los extractos etéreos del fruto de *S. cumini* (jambol), se emplearon dos muestras del fruto de *S. cumini* en diferentes estados fueron maceradas en éter de petróleo. Los extractos fueron analizados por Cromatografía de gases -Espectrometría de Masas e identificados por comparación de sus espectros con la base de espectros NIST, Wiley y Adams. Donde en el extracto del fruto maduro se identificaron compuestos como β -guaiano (32,8 %), triterpeno -derivado de la amirina- (9,8%), *trans*-cariofileno (5,4%); mientras en el fruto seco están β -guaiano (26,2 %), benzoato de bencilo (14,7%), *trans*-cariofileno (4,5%); además se evidenciaron otros constituyentes minoritarios como β -pineno y p-cimeno; logrando identificar 47 compuestos entre terpenos y aromáticos, como componente mayoritario se identificó el β -guaiano.

Keywords

Syzygium cumini; Myrtaceae; β -guaiano; Jambol.

Abstract

Syzygium cumini is a plant belonging to the family Myrtaceae, native to India, used in traditional medicine as antidiabetic, hypolipidemic, gastoprotector, among others. To determine the chemical composition of the ether extracts of the fruit of *S. cumini* (Jambol), they were used two samples of the fruit of *S. cumini* in different states were macerated in petroleum ether. The extracts were analyzed by gas chromatography–mass spectrometry and identified by comparison of their spectra with the spectra base NIST, Wiley and Adams. Where in the extract of the ripe fruit they were identified as compounds β -guaiano (32,8%), triterpene- amyryn Derivative- (9,8%), *trans*-caryophyllene (5,4%), while in the nut are β -guaiano (26,2%), benzyl benzoate (14,7%), *trans*-caryophyllene (4,5%), also other minor constituents were evident as β -pinene and p-cymene; succeeded in identifying 47 compounds between terpenes and aromatic compounds, as the major component was identified β -guaiano.

Introducción

Las Myrtaceae están constituidas por 2900 especies de regiones cálidas de ambos hemisferios (tropicales y subtropicales). Son plantas raramente herbáceas, generalmente árboles o arbustos perennifolios, se caracterizan por sus cavidades esquizógenas ricas en aceites esenciales, como el género *Syzygium* [1]-[2].

La investigación de las semillas y frutos de *Syzygium cumini* reporta la presencia de alcaloides, aminoácidos, flavonoides, glicósidos, saponinas, taninos, triterpenoides, sesquiterpenos, antocianinas y componentes como α -pineno [3]-[7]. Se le han atribuidos propiedades farmacológicas como: antidiabética [8]-[10], hipolipidémica [11], antioxidante [12], antiinflamatoria [13]-[14], anticonvulsionante [15], gastoprotector [16]-[17], entre otros.

En este trabajo se determinó la composición química de los extractos etéreos del fruto de *Syzygium cumini* utilizando Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas –CG EM– (MSD, *Agilent technologies 5973*), usando las bases de datos Nist, Wiley y adams.

Metodología

Material vegetal

La especie *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Myrtaceae) Jambool, fue recolectada en el municipio de Barranquilla (Atlántico), Km. 7 antigua vía a Puerto Colombia, identificada por el botánico Jhon Infante Betancour del Herbario Nacional Colombiano, bajo el número COL 521217.

Preparación de los extractos

Se partieron de 300 g del fruto maduro de *Syzygium cumini*, de los cuales 150 g se pusieron en secado a temperatura ambiente aprox. 27°C evitando el deterioro del mismo por 6 días a la sombra, obteniendo dos tipo de material vegetal (maduro y seco). Se colocaron ambos en maceración con éter de petróleo durante tres meses, se filtraron y concentraron en un Rotaevaporador Büchi R-205 a 38 °C, los extractos se conservaron al vacío en un desecador durante 15 días y rotulados como SC1 y SC2 [18].

Cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM)

Los extractos etéreos del fruto maduro (SC1) y fruto seco (SC2) fueron aplicados a un CG-EM por inyección directa al equipo cromatográfico. El análisis se realizó usando un cromatógrafo de gases *Agilent Technologies 6890 Plus* acoplado a un detector selectivo de masas (MSD, *Agilent Technologies 5973*) operado en el modo de barrido completo de radiofrecuencias (*full scan*), con una columna DB-5MS (J & W Scientific, Folsom, CA, EE.UU) [5 % – fenil – poli (dimetilsiloxano), 60 m x 0.25 mm x 0.25 µm], inyección en modo *split* (50:1), $V_{iny} = 1 \mu\text{L}$.

Identificación de los compuestos por GC-MS

La identificación se realizó con sus espectros de masas, usando las bases de datos de NIST, Wiley y Adams.

Resultados y discusión

El análisis del cromatograma del extracto etéreo fruto maduro de *S. cumini* por espectrometría de masas mostró su primera señal a partir de los tiempos de retención de 17 min a 21 min donde se identificaron 5 compuestos, a los 33 min hasta 42 min, registraron un total de 16 compuestos, siendo complementados con 10 compuestos restantes hasta 73 min. El cromatograma (Figura 1) corresponde al corrido de la muestra hasta 85 min.

El cromatograma del extracto etéreo fruto seco de *S. cumini*, mostró su primera señal a partir de los 16 min, identificando 14 compuestos hasta los 16 min. De 33 min a 44 min se presenció un grupo de señales donde se identificaron 11 compuestos. El cromatograma (Figura 2) corresponde al corrido de la muestra hasta los 85 min.

En el cuadro 1 se muestran los constituyentes químicos identificados, los tiempos de retención (TR min) y la cantidad relativa expresada en porcentaje para la muestra etérea del fruto maduro y seco.

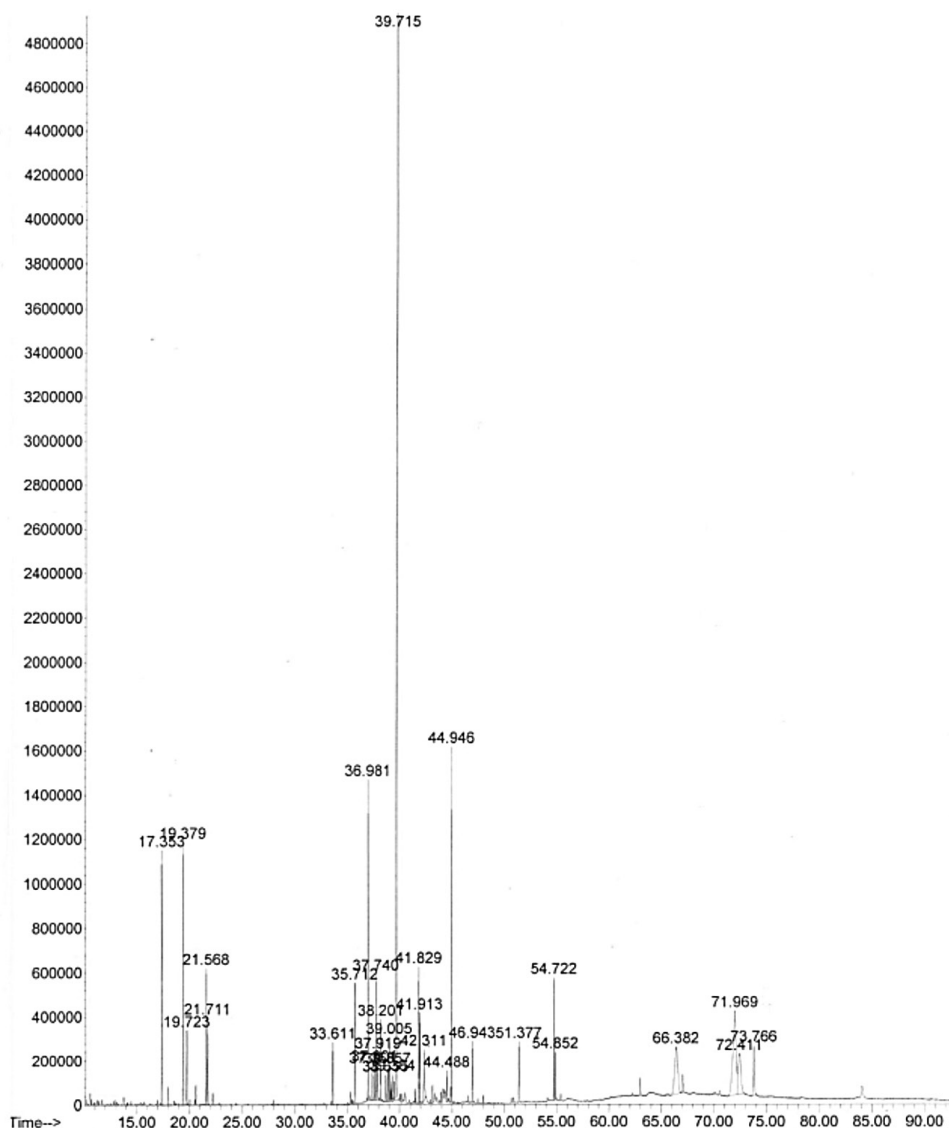


Figura 1. Cromatogramas del análisis por CG-EM de los extractos etéreos de fruto maduro de *S. cumini* hasta 85 min.

Se lograron identificar 27 componentes, que constituyen el 92% de la composición química del SC1 (fruto maduro). En la tabla 1 se muestran los compuestos que se encontraron en mayor cantidad: β -guaieno (32,8 %), triterpeno (Derivado de la amirina) (9,8%), triterpeno (Derivado de la amirina) (5,6%), *trans*-cariofileno (5,4%), triterpeno (4,7%), β -pineno (4,1%) y α -Pineno (3,9%).

Se lograron identificar 29 componentes, que constituyen el 90,1% de la composición química del SC2 (fruto seco). Se muestran en la tabla 1, los compuestos que se encontraron en mayor cantidad: β -guaieno (26,2 %), benzoato de bencilo (14,7%), *trans*-cariofileno (4,5%), salicilato de bencilo (3,9%), 4-etil-o-xileno (3,4%) y p-cimeno (3,0%).

Al comparar los extractos SC1 y SC2, se identificaron similitudes entre los compuestos reportados, para las dos muestras se presentaron como constituyente mayoritario β -guaieno, la siguiente similitud entre las muestras fue *trans*-cariofileno. Posteriormente, presentaron diferencias entre los diversos compuestos mayoritarios identificados entre las muestras de *S. cumini*.

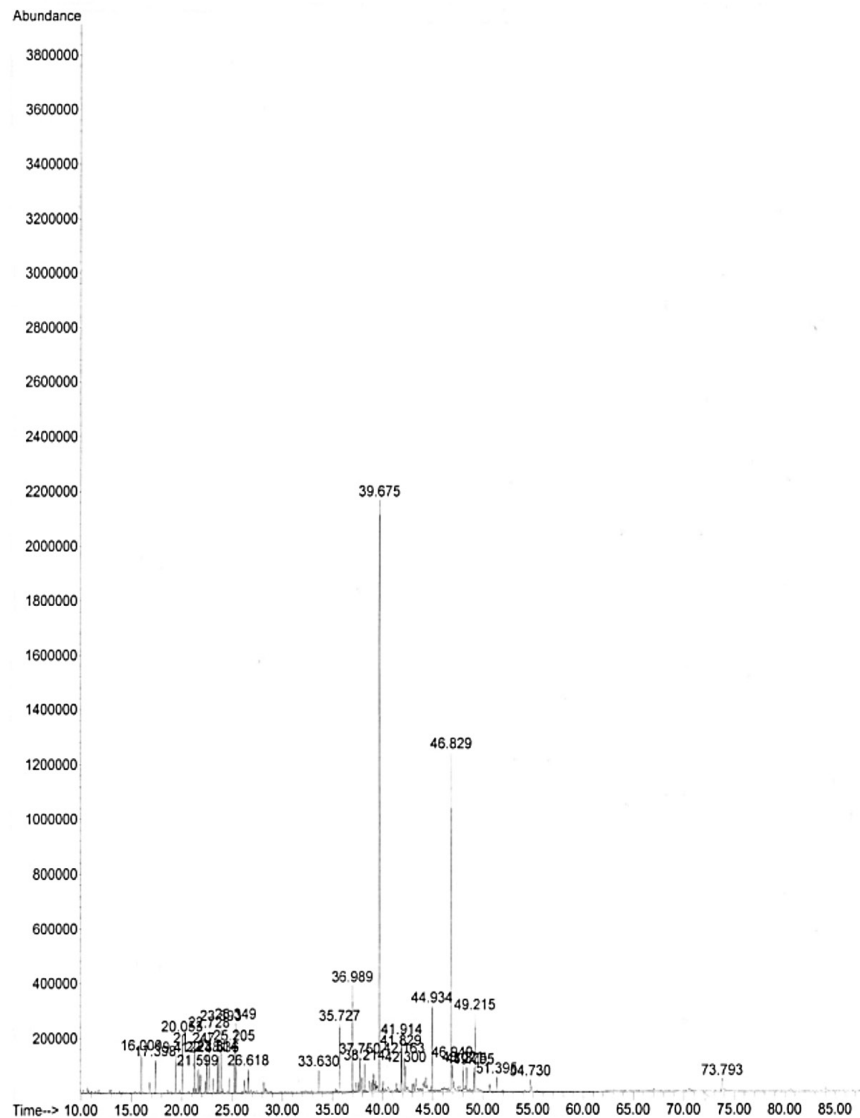


Figura 2. Cromatogramas del análisis por CG-EM de los extractos etéreos de fruto seco de *S. cumini* hasta 85 min

Análisis de sus patrones de fragmentación

En el análisis por CG-EM de la muestra SC2 (fruto seco) se identificaron la gran mayoría de los compuestos revelados en el análisis de la muestra SC1 (fruto maduro), pero se evidenciaron en el extracto etéreo del fruto seco otros compuestos como ésteres aromáticos y sesquiterpenos.

Por consiguiente, se muestran los dos (2) compuestos de mayor abundancia relativa de los extractos etéreos del fruto maduro y seco de *S. cumini*.

β-Guaieno. Este metabolito es un sesquiterpeno, presentó un tiempo de retención de 39,71 min y una cantidad relativa de 32,8% (cuadro 1) en la muestra SC1 (fruto maduro), mientras en la muestra SC2 (fruto seco) presentó un tiempo de retención de 39,68 min y una cantidad relativa de 26,2% (cuadro 1), se caracteriza por ser el componente mayoritario en ambos extractos, su espectro de masa mostró un ion molecular de m/z 204, siendo su mismo pico base y posee otros picos con menor intensidad de m/z 189, m/z 175, m/z 161, m/z 147, m/z 133, m/z 119, m/z 105, m/z 91, m/z 77, m/z 67, m/z 55 y m/z 41.

Cuadro 1. Identificación por CG-EM de los compuestos presentes en los extractos etéreos del fruto de *Syzygium cumini*

Pico No.	Compuestos del fruto maduro	TR (min)	Cantidad relativa (%)	Compuestos del fruto seco	TR (min)	Cantidad relativa (%)
1	α -Pinoeno	17,35	3,9	N.I.	16,00	1,8
2	β -Pinoeno	19,38	4,1	α -Pinoeno	17,40	1,4
3	Mirceno	19,72	1,1	β -pinoeno	19,41	1,6
4	Limoneno	21,57	2,1	Trimetilbenceno	20,05	2,4
5	β -Felandreno + cis- β -Ocimeno	21,71	1,8	Trimetilbenceno (Isómero)	21,25	1,9
6	δ -Elemeno	33,61	1,1	Limoneno	21,60	1,0
7	β -Elemeno	35,71	2,0	3-Propiltolueno	22,48	1,5
8	trans-Cariofileno	36,98	5,4	4-Etil-o-xileno	22,73	3,4
9	α -Guaieno	37,37	0,5	2-Etil-p-xileno	23,52	1,6
10	6,9-Guaiadieno	37,60	0,6	2-Etil-m-xileno	23,64	1,5
11	Isoledeno	37,74	2,2	4-Etil-m-xileno	23,89	2,9
12	Amorfa-4,7 (11)-dieno	37,92	1,1	o-Cimeno	25,20	2,0
13	α -Humuleno	38,20	1,3	p-Cimeno	25,35	3,0
14	γ -Muuroleno	38,65	0,8	m-Cimeno	26,62	1,1
15	α -Amorfenoleno	38,86	0,6	δ -Elemeno	33,63	1,1
16	Dauca-5,8-dieno	38,01	1,0	β -Elemeno	35,73	2,9
17	β -Selineno	39,30	0,4	trans-Cariofileno	36,99	4,5
18	β -Guaieno	39,71	32,8	Isoledeno	37,75	1,6
19	β -Vetiveneno	41,83	2,2	α -Humuleno	38,22	1,2
20	M ⁺ 202	41,92	1,4	β -Guaieno	39,68	26,2
21	Ledol	42,31	1,4	β -Vetiveneno	41,83	1,7
22	M ⁺ 250	44,49	0,5	M ⁺ 202	41,92	2,4
23	M ⁺ 248	44,95	5,2	Óxido de cariofileno	42,16	1,4
24	N.I.	46,94	0,9	Ledol	42,30	1,2
25	Palmitato de etilo	51,38	0,8	M ⁺ 248	44,93	3,3
26	Linoleato de etilo	54,72	1,9	Benzoato de bencilo	46,83	14,7
27	Oleato de etilo	54,85	0,8	M ⁺ 212	46,95	1,4
28	Triterpeno (Derivado de la amirina)	66,38	5,6	Acetato de farnesilo	48,02	1,0
29	Triterpeno (Derivado de la amirina)	71,91	9,8	epi-Ciclocolorenona	48,38	1,0
30	Triterpeno	72,41	4,7	M ⁺ 234	49,09	1,0
31	Nonanocosano C ₂₉	73,77	2,0	Salicilato de bencilo	49,22	3,9
32				Palmitato de etilo	51,40	0,7
33				Linoleato de etilo	54,73	0,5
34				Nonanocosano C ₂₉	73,79	1,1

N.I.: No identificado.

Trans-cariofileno. Es un hidrocarburo sesquiterpénico, presentó un tiempo de retención de 36,98 min y una cantidad relativa de 5,4% (cuadro 1) en la muestra SC1 (fruto maduro), mientras en la muestra SC2 (fruto seco) presentó un tiempo de retención de 39,99 min y una cantidad relativa de 4,5% (cuadro 1), se caracterizó por su espectro de masas mostró un ión molecular de m/z 204, un pico base de m/z 93 y otros picos con menor intensidad de m/z 189, m/z 175, m/z 161, m/z 147, m/z 133, m/z 105, m/z 93, m/z 79, m/z 69 y m/z 41.

Algunos compuestos que fueron identificados en el cromatograma del fruto maduro no fueron revelados en el cromatograma de fruto seco, esto podría ser debido a la volatilidad de algunos compuestos presentes en el fruto maduro. La presencia de nuevos compuestos identificados en el espectro de fruto seco podría deberse a diferentes reacciones entre ellas termolábiles o fotoquímicas al exponer el fruto al secado y a la luz, que pudo originar ruptura de los enlaces de los compuestos presentes en el fruto y así generar nuevos constituyentes [19]-[20].

Así mismo, [3]; mostró la presencia de aceite esencial en el fruto de *S. cumini*, identificando diversos sesquiterpenos, pero en distintas cantidades relativas; como es el caso del α -pineno (30,89%) que en las muestras analizadas que se encontraron porcentajes que varían entre 17 y 18%. mostrándose la abundancia de compuestos mono- o sesqui- hidrocarburos terpénicos, siendo comunes en aceites esenciales [21]-[22].

Conclusiones

Por Cromatografía de gases-espectrometría de masas en el extracto etéreo de fruto maduro fueron identificados: cinco (5) monoterpenos, cuatro (4) hidrocarburos, once (11) sesquiterpenos, tres (3) ésteres y tres (3) triterpenos. En el extracto etéreo de fruto seco fueron identificados: tres (3) monoterpenos, un (1) hidrocarburo, ocho (8) sesquiterpenos, cinco (5) ésteres, diez (10) compuestos aromáticos, lo que muestra una gran diversidad de componentes encontrados demuestra que el género *Syzygium*, que podrían tener propiedades terapéuticas como antiséptica debido al contenido de compuestos terpénicos; así mismo se evidencia la variación en la composición química de la especie vegetal, por manejar dos metodologías diferentes en la elaboración de los extractos.

Referencias

- [1] C. Cappelletti, G. Giuseppe and G. Negri. Tratado de Botánica. Segunda. Barcelona, *Ed. Labor*, 1965, pp. 318-320.
- [2] H. García. Flora Medicinal de Colombia. Botánica médica. Bogotá. *Imprenta Nacional*, 1974.
- [3] A. Craveiro, H. Andrade, J. Matos, J Alencar and I. Machado. Essential oil of *Eugenia jambolana*, *Journal of natural products*, vol. 46, no. 4, pp. 591-592, 1983.
- [4] A. Jabbar, F. Khan and E. Uddin, Comparative studies on the composition of two indigenously produced varieties of jaman (*Eugenia jambolana*) fruits, *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 7, no. 4, pp. 55-93, 1994.
- [5] P. Vijayanand, R. Jagan and P. Narasimham, Volatile flavour components of jamun fruit (*Syzygium cumini* L.), *Flavour and Fragrance Journal*, vol. 16, no. 1, pp. 47-49, 2001.
- [6] K. Reynertson, H. Yang, B. Jiang, M. Basile and E. Kennelly, Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits, *Food Chemistry*, vol. 109, no. 4, pp. 883-890, 2008.
- [7] A. Kumar, R. Llavaran, T. Jayachandran, M. Decaraman, P. Aravindhan, N. Padmanabhan and R. Krishnan, Phytochemicals investigation on a tropical plant, *Syzygium cumini* from Kattuppalayam, Erode District, Tamil Nadu, South India, *Pakistan Journal of Nutrition*, vol. 8, no. 7, pp. 83-85, 2009.
- [8] K. Ravi, S. Rajasekaran & S. Subramanian, Antihyperlipidemic effect of *Eugenia jambolana* seed kernel on streptozotocin-induced diabetes in rats, *Food and Chemical Toxicology*, vol. 43, no. 9, pp. 1433-1439, 2005.

- [9] K. Ravi, K. Sivagnanam & S. Subramanian, Effect of *Eugenia Jambolana* seed kernel on antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetes in rats, *Life Sciences*, vol. 75, no. 22, pp. 2717-2731, 2004.
- [10] K. Ravi, B. Ramachandran & S. Subramanian, Anti-Diabetic Activity of *Eugenia jambolana* Seed Kernels on Streptozotocin-Induced Diabetic Rats, *Journal of Medicinal Food*, vol. 7, no. 2, pp. 187-191, 2004.
- [11] B. Sharma, G. Viswanath, R. Salunke and P. Roy, Effects of flavonoid-rich extract from seeds of *Eugenia jambolana* (L.) on carbohydrate and lipid metabolism in diabetic mice. *Food Chemistry*, vol. 110, no. 3, pp. 697-705, 2008.
- [12] O. Camacho, S. Melgarejo, C. De la Rosa, M. Puertas and B. Rojano, Correlación del contenido de fenoles y antocianinas con la capacidad antioxidante *Syzygium cumini* (L.) Skeels, (jambolan), *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, vol. 21, no. 1, p. 1, 2016.
- [13] N. Chaudhuri, S. Pal, A. Gomes and S. Bhattacharya, Anti-inflammatory and related actions of *Syzygium cumini* seed extract, *Phytotherapy research*, vol. 4, no. 1, pp. 5-10, 1990.
- [14] A. Kumar, R. Ilavarasan, T. Jayachandran, M. Deecaraman, K. Mohan, P. Aravindan, N. Padmanabhan and M. Krishan, Anti-inflammatory activity of *Syzygium cumini* seed, *African Journal of Biotechnology*, vol. 7, no. 8, pp. 941-943, 2008.
- [15] T. De Lima, P. Klüeger, P. Pereira, W. Macedo, G. Morato and M. Farias, Behavioural effects of crude and semi-purified extracts of *Syzygium cumini* Linn. Skeels, *Phytotherapy research*, vol. 12, no. 7, pp. 488-493, 1998.
- [16] A. Chaturvedi, M. Kumar, G. Bhawani, H. Chaturvedi, M. Kumar and R. Goel, Effect of ethanolic extract of *Eugenia jambolana* seeds on gastric ulceration and secretion in rats, *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, vol. 51, no. 2, pp. 131-140, 2007.
- [17] P. Udupurkar, M. Kale and N. Duragkar, Antioxidant activity of *Syzygium cumini* seeds in aspirin induced peptic ulcer in rats, *Journal of Cell and Tissue Research*, vol. 8, no. 3, pp. 1577-1580, 2008.
- [18] J. Abreu, M. Miranda, Migdalia and J. Lora, Extracto etéreo de frutos de *Bromelia pinguin* L. (Piña de ratón) por el sistema acoplado CG-EM, *Revista Cubana de Farmacia*, vol. 35, no. 1, pp. 51-55, 2001.
- [19] N. Sharapin, Materias primas vegetales para la industria de productos fitofarmacéuticos, *Revista de Fitoterapia*, vol. 1, no. 3, pp. 197-203, 2000.
- [20] L. Carrasco, Efecto de la radiación ultravioleta-b en plantas, *Idesia*, vol. 27, no. 3, pp. 59-76, 2009.
- [21] G. Tafurt and A. Muñoz, Metabolitos volátiles presentes en *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. Colectado en Tame (Arauca –Colombia), *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, vol. 11, no. 3, pp. 223-232, 2012.
- [22] D. Acevedo M. Navarro and L. Monroy, Composición química del aceite esencial de hojas de orégano (*Origanum vulgare*), *Información Tecnológica*, vol. 24, no. 4, pp. 43-48, 2013.