
EDITORIAL

LA INVESTIGACIÓN EN EL PROCESO DE ACREDITACIÓN INSTITUCIONAL EN LA U.D.C.A

Germán Anzola Montero

Rector

No se puede concebir una Universidad de calidad sin el ejercicio de sus funciones primordiales que constituye la investigación: ser sustantiva, asociada y complementada con la docencia y la extensión.

En conformidad con lo anterior, desde hace 18 meses hemos tomado las anteriores premisas como fundamento para la consecución de nuestro objetivo final, que es la Acreditación Institucional, la cual, amerita hacer una retrospectiva de nuestra actividad, durante los 30 años de existencia.

El año 1983, fue el año de la entonces Corporación Universitaria de Ciencias Agropecuarias y empezó a funcionar con los programas de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, en las cuales, predominada la formación profesional (solamente docencia), aunque con las prácticas y las pasantías de los estudiantes, se hizo una proyección social y la parte investigativa, denominada “formativa”, también tuvo injerencia con los cursos y los seminarios, que se practicaron y, desde luego, con el “Trabajo de Grado”, que se estableció como requisito para que los estudiantes pudieran obtener el título de Médico Veterinario o de Zootecnista.

Sin embargo, solamente 1987 y con mayor fuerza en 1992, la Universidad, con el nombramiento de profesores de tiempo completo y con funciones académicas ampliamente reconocidas, emprendió seriamente la tarea de asumir la investigación con mayor ahínco. Para ello, se contó con la colaboración del Doctor Guillermo Mateus Valles (q.e.p.d.), quien recomendó una política que sentó las bases en materia de Ciencias Pecuarias y, como efecto de los primeros resultados, fue el primer Trabajo de Investigación, del estudiante Luis Ernesto Rodríguez Quenza, en el tema de Anemia Infecciosa Equina.

Para obtener este logro, se consiguió el respaldo del Consejo Directivo de la U.D.C.A, para que se garantizara la vinculación y la permanencia de docentes-investigadores y, desde entonces, con dicho concurso, se ha continuado con esta tradición, de apoyar las iniciativas de programas, de proyectos, de líneas y de grupos de investigación, creación de laboratorios y dotación de equipos.

De acuerdo con nuestra naturaleza, Misión y Proyecto Institucional, la U.D.C.A ha planteado políticas claras y un compromiso decidido con la investigación, a pesar de las múltiples dificultades que esta actividad demanda en recursos económicos, físicos y tecnológicos y a la misma difusión de resultados que comprende: publicaciones, patentes, registros, desarrollo tecnológico, premios y otros.

Como quiera es que la calidad de una Universidad está íntimamente asociada con la práctica de la investigación y no solamente se debe hacer investigación sino utilizarse pertinentemente en la docencia y en la extensión. La investigación se hace realidad si la misma está entrelazada con los procesos de formación, ya sea en el nivel universitario o en el de las maestrías (pronto con los doctorados). Todo esto lo arrojará el resultado del proceso de autoevaluación que venimos adelantando y que nos dejará ratificar en nuestro PEI, que la investigación es una función sustantiva, que nos permitirá alcanzar un nivel de desarrollo científico en bien de profesionales competentes, para que, a su vez, solucionen los grandes problemas que acogen a nuestra sociedad. Si por ahora no logramos alcanzar el reconocimiento de los estándares más altos de las universidades más desarrolladas del país, puedo afirmar que con nuestros planes de mejoramiento podremos lograr nuestra meta más codiciada, que no es otra que constituirnos como una universidad de excelencia.

No obstante, existen en Colombia grandes falencias en cuanto avanza la investigación científica: la drástica reducción de fondos, los recortes en convocatorias, la disminución de becas, la no renovación o compra de equipos, la falta de contratación de personal, algunas de ellas, por debilidad institucional, mayor inequidad, reducción en la competitividad o por fuga de cerebros. El columnista del Diario El Tiempo, Jorge Orlando Melo expresó que “Nos aprovechamos como buenos parásitos de la ciencia y la técnica universal, sin tener que gastar en desarrollarla pero al mismo tiempo sin adoptarla para lograr resultados óptimos” y más adelante “Ahora por principio, las universidades han puesto la investigación científica como parte de su ‘Misión y su visión’ y han definido medidas para calificar sus aportes. Estas mediciones, como la ciencia que practicamos, tiene que ver poco con los pro-

blemas del país, cuentan ante todo gestos y movimientos: es un registro notarial de artículos, patentes o grupos de investigadores, pero sin que se sepa si lo que se publica o investiga sirve para algo, si hemos aportado nuevos conocimientos a la ciencia, si algo patentado funcionó”.

Con todas estas críticas son las universidades las llamadas a formar profesionales idóneos y altamente calificados para dar respuesta a los desafíos, que en distintos campos, esta sociedad plantea. La investigación universitaria Colombiana, sin duda alguna, ha vivido cambios importantes en los últimos años y, por ello, las instituciones de educación superior están generando nuevo conocimiento, con el propósito de mejorar la calidad de vida de los ciudadanos. Por esto, la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, se debe comprometer con los siguientes principios frente a la función sustantiva de investigación e impulsar acciones investigativas hacia el futuro, con mayor decisión y coraje:

- a. Definir los campos de investigación y las prioridades investigativas
- b. Optimizar la calidad de la infraestructura investigativa, representada en laboratorios, en instrumentos, en recursos bibliográficos, en recursos informáticos
- c. Implementar la calificación académica de los investigadores
- d. Apoyar la creación y grado de desarrollo de grupos, de redes, de programas y de líneas de investigación
- e. Brindar estabilidad a los grupos de investigación y a sus investigadores

- f. Dedicar el tiempo necesario para la investigación del personal académico y reconocido por la institución para tareas investigativas
- g. Generar vínculos con pares nacionales e internacionales
- h. Incentivar los tipos de publicaciones especializadas, según su carácter nacional o internacional y si están o no indexadas; citas y referencias en trabajos de investigación de la institución; patentes, registros, desarrollos tecnológicos; premios y distinciones por trabajos de investigación
- i. Asignar presupuesto de investigación propio y consecución de financiación externa nacional o internacional
- j. Establecer un grado de interdisciplinariedad de la investigación
- k. Determinar la intensidad y continuidad de trabajos de campo
- l. Crear e implementar el régimen de propiedad intelectual

Esta autoevaluación de la calidad con miras a la Acreditación Institucional implica una valoración sistémica de la Universidad, como un todo. Para ello, es necesario hacer un llamado a todos los estamentos que conforman la Comunidad Universitaria, para que adelantemos este proceso con todo el rigor, dinamismo y seriedad.

Referencia bibliográfica:

http://www.eltiempo.com/opinion/columnistas/jorgeorlandomelo/ARTICULO-WEB-NEW_NOTA_INTERIOR-12684530.html

ANÁLISIS EVOLUTIVO DE LA ADHESIÓN: EVIDENCIA DE SELECCIÓN POSITIVA OPERANTE SOBRE EL LOCUS AlpAB Y EL GEN *horB* DE *Helicobacter pylori*

MOLECULAR EVOLUTIONARY ANALYSIS OF ADHERENCE: EVIDENCE OF POSITIVE SELECTION OPERATING ON AlpAB LOCUS AND *horB* ADHESINS OF *Helicobacter pylori*

Andrés Julián Gutiérrez-Escobar¹

¹Biólogo, Maestría en Ciencias Básicas Médicas. Docente Investigador Facultad de Medicina U.D.C.A, Coordinador Laboratorio de Biología Molecular, Grupo de Ciencias Básicas y Genética Humana Aplicada (GIBGA). Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Bogotá, Colombia. E-mail: andresgutierrez@colombia.com

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 3 - 15, 2013

RESUMEN

La adherencia es un proceso clave para la infección por *Helicobacter pylori*, regulada por la expresión coordinada de adhesinas. Dentro de este grupo encontramos las proteínas AlpA/B y HorB que, recientemente, han llamado la atención de la comunidad científica, por su papel en el fitness de la bacteria. El objetivo del presente estudio fue describir la historia evolutiva de AlpA/B y HorB, desde un enfoque filogeográfico. Para este fin, se descargaron secuencias específicas para AlpA, AlpB y HorB desde Uniprot y fueron analizadas en Muscle, Mega 5.1, PhyML 3.0.1, DNAsp 5.0 y PAML 4.5. En este estudio, se identificó que los genes *alpA*, *alpB* y *horB* siguen un modelo evolutivo de nacimiento y de muerte de genes, bajo selección purificadora. Además, se detectaron patrones de diferenciación genética significativos para *alpA*, entre las poblaciones de América-Europa (FsT 0,51395) y de Europa-Asia (FsT 0,46030) y para *alpB*, entre las poblaciones de América-Europa (FsT 0,43711), datos soportados por la prueba McDonald y Kreitman. Seguidamente, mediante la herramienta PAML 4.5, se detectó que un 9,51% de la proteína AlpA, un 8,5% de la proteína AlpB y un 5% de la proteína HorB están bajo selección positiva, determinando la presencia de linajes selectivos de *H. pylori* para zonas geográficas específicas, que favorecen la adherencia al hospedero. Finalmente, se concluye que los genes codificantes para las adhesinas AlpAB y HorB tienen procesos de adaptación locales correlacionados con los orígenes filogeográficos de las cepas analizadas.

Palabras clave: Adhesión, locus AlpAB, selección positiva, hipótesis de la reina roja, coevolución.

SUMMARY

The adherence to the epithelial gastric cell is a key step in the physiopathology of *Helicobacter pylori* infection. There are several outer membrane proteins involved in the adherence that are expressed in a sequential fashion, meanwhile the attachment to the host cell takes place. Currently, the adhesins AlpA, AlpB and HorB have attracted the attention because of i) its role in the adherence, ii) The differential activation of intracellular pathways in the gastric host epithelial cell between Asian and European strains and iii) in its role in the fitness according to gene deletion studies. It is largely known that *H. pylori* have a global distribution with regional divergent populations that have evolved following host conditions. Here, it was identified that the evolutionary history of *alpA*, *alpB* and *HorB* adhesins followed a birth and death evolution model under purifying selection in which the deleterious mutations have been actively purged from the population allowing the fixation of beneficial changes for the fitness. It was detected based on permutation tests that *H. pylori*'s populations from America-Europe (FsT0.51395.) and Asia-Europe (FsT 0.46030) for *alpA* and the populations from America-Europe (FsT 0.43711) for *alpB* present a significant genetic differentiation mediated by positive selection as suggest by the MKT test results. Finally, it was found using PAML that a 9.51% of *alpA*, a 8.5% of *alpB* and a 5% of *HorB* proteins

evolved under strong specific positive selection following lineage specific geographic patterns.

Key words: Adhesion, AlpAB locus, molecular evolution, positive selection, Red Queen hypothesis, coevolution.

INTRODUCCIÓN

Helicobacter pylori es una bacteria Gram-negativa que hace parte de la microbiota normal del estómago humano (Bik *et al.* 2006), ya que no siempre desarrolla un proceso infeccioso (Mbulaiteye *et al.* 2009); sin embargo, cuando se presenta una infección activa, se asocia con úlcera, con gastritis y con cáncer gástrico (Blaser *et al.* 1995).

La mucosa gástrica es un nicho hostil y cambiante para la mayoría de patógenos bacterianos; no obstante, las bacterias del género *Helicobacter* han logrado adaptarse por medio de la regulación de la respuesta inflamatoria del hospedero (Algood & Cover, 2006; Kusters *et al.* 2006) y por sus características evolutivas.

Las poblaciones de *H. pylori* se caracterizan por ser genéticamente diversas, evidenciar ritmos de evolución rápidos, ser recombinantes, estar geográficamente aisladas siguiendo el patrón de las migraciones humanas y presentar modos de transmisión intrafamiliares (Achtman *et al.* 1999; Falush *et al.* 2003; Kersulyte *et al.* 2000; Suerbaum *et al.* 1998). Estas características han ocasionado que las cepas evolucionen como linajes específicos en regiones geográficas particulares (Falush *et al.* 2003); es así, como se han identificado cepas típicas para África, Europa, Asia y América, con correlaciones clínicas diferenciales (Liu *et al.* 2005; Covacci *et al.* 1999).

La prevalencia de la infección y la especificidad regional de las cepas sugieren que *H. pylori* coevoluciona con su hospedero (Algood & Cover, 2006), por tanto, es factible plantear que los genes importantes para el éxito reproductivo de las poblaciones del patógeno evolucionan bajo selección positiva (Covacci *et al.* 1999). Ejemplos claros de este tipo de genes son los factores de virulencia *cagA* (Delgado *et al.* 2011), *vacA*, *BabA*, *OpiA*, *SabA* (Torres *et al.* 2010) y genes similares a *Sel1* (Masako *et al.* 2007).

Algunos de los procesos bacterianos que mayor relación tienen con el éxito reproductivo (fitness) son la adherencia y la colonización a la célula epitelial hospedera. La adherencia de *H. pylori* a la célula epitelial gástrica es importante en la colonización del tejido, además, de participar en la respuesta inmune, tanto celular como humoral (Evans *et al.* 2000; Odenbreit, 2005).

De hecho, la expresión de factores proinflamatorios, como

la IL-8, requiere de este contacto inicial, entre la bacteria y la célula blanco (Aihara *et al.* 1997). A la fecha, se han descrito un número de adhesinas, incluyendo *BabA* (Ilver *et al.* 1998), *SabA* (Mahdavi *et al.* 2002), *OipA* (Yamaoka *et al.* 2000), *HopZ* (Peck *et al.* 1999), *AlpA/AlpB* (Odenbreit *et al.* 1999; 2002) y *HorB* (Snelling *et al.* 2007).

Dentro del grupo de las adhesinas existen tres proteínas: *AlpA*, *AlpB* y *HorB*, cuya función ha sido caracterizada y estudiada en diferentes modelos experimentales. Las dos primeras conforman un operón y codifican para adhesinas, cuya actividad ha sido probada en cortes de tejido embebido en parafina, en cultivo celular, en modelo animal y en muestras de origen humano (Odenbreit *et al.* 1999). Recientemente, se ha identificado que la laminina, propia de la matriz extracelular del tejido gástrico, es el receptor para estas dos adhesinas (Senkovich *et al.* 2011).

Por otra parte, se ha demostrado el papel del locus *AlpAB* en la adhesión a la mucosa gástrica y en la expresión de interleucinas del hospedero (Odenbreit *et al.* 1999; Lu *et al.* 2007). En estos trabajos, se demostró que la delección de estos genes reduce la expresión de IL-6 en células epiteliales gástricas y, además, que la reducción de la expresión de IL-8 es dependiente del origen filogeográfico de las cepas, observándose una diferencia significativa entre cepas del este asiático y cepas del oeste, lo que se conoce, actualmente, como la hipótesis este-oeste (Lu *et al.* 2007).

Las adhesinas *AlpAB* activan vías de señalización intracelular, mediada por quinasas, c-Fos y la proteína de respuesta al AMP cíclico; sin embargo, la activación del N-terminal de la quinasa Jun, c-jun y el NFkappaB fue exclusiva para las cepas del este asiático. Estos resultados sugieren que la variación geográfica de estas adhesinas se puede relacionar con las prevalencias observadas de cáncer gástrico, debido a los efectos diferenciales observados sobre la célula epitelial en cepas del este y del oeste, además de procesos evolutivos, a nivel molecular, que aún no han sido descritos para *AlpAB* (Kwong & Tiing, 2010). Finalmente, se ha determinado que *HorB*, además de ser una adhesina, es un factor de colonización importante para la bacteria (Snelling *et al.* 2007).

Derivado de los estudios anteriores, se sabe que la delección de los genes *alpA*, *alpB* y *HorB* provoca una disminución significativa (entre el 60 al 70%) en la capacidad de adhesión del microorganismo a la célula hospedera, hecho que indica que estas enzimas son importantes para el éxito reproductivo del patógeno y quizás su ausencia podría limitar la supervivencia de la bacteria; no obstante, a la fecha, los procesos evolutivos que dan forma a los representantes modernos de estas tres proteínas para los diferentes linajes de *H. pylori*, se desconocen (Kwong & Tiing, 2010).

Es por esto que en el presente estudio, se investigó la dinámica evolutiva y poblacional de los genes *alpA*, *alpB* y *HorB* de *H. pylori*, a partir de cepas representantes de diferentes regiones geográficas. Se aplicaron modelos evolutivos de secuencias basados en codones en conjunción con modelos de máxima verosimilitud y se analizaron las relaciones entre polimorfismos específicos y sus implicaciones evolutivas. Se demostró que los tres genes presentan clara evidencia de una fuerte selección positiva operante, lo que indica que la capacidad de adhesión a la célula hospedera evoluciona de manera independiente y local para cada región geográfica.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente trabajo, se siguió la metodología propuesta por Delgado *et al.* (2011), pero con algunas modificaciones leves. Brevemente, se realizó Blast (Altschul *et al.* 1997), en la base de datos Uniprot, con las siguientes secuencias semilla: O25570, para *AlpA*; O25595, para *AlpB* y O24941, para *HorB* de la cepa 26695, contra genomas representantes de diferentes poblaciones humanas, así: África J99 NC_000921; SouthAfrica7 NC_017361.1; Gambia 94/24 NC_017371.1; América: Cuz20 NC_017358.1; Shi470 NC_010698, V225d CP001582; Europa: 26695 NC_000915, HPGA1 NC_008086, P12 CP001217, G27 NC_011333; Asia: F16 NC_017368.1, 35A NC_017360.1, 51 NC_017382.1 e India7 NC_017372.1.

Las secuencias de los genomas, se eligieron según la epidemiología molecular, revisada en Suzuki *et al.* (2012). Las secuencias homólogas identificadas fueron alineadas con Muscle (Edgar, 2004), usando condiciones por defecto. Los alineamientos fueron inspeccionados visualmente y los formatos finales para los análisis evolutivos, se obtuvieron con Seaview (Gouy *et al.* 2010) y Jalview (Clamp *et al.* 2004).

Seguidamente, se usó Jmodeltest (Posada, 2008), para identificar el modelo evolutivo que mejor explicaba el alineamiento de ADN. Se usó el programa DNAsp5.0 (Librado & Rozas, 2009), para realizar las pruebas: MKT McDonald-Kreitman, Permutación (FsT bajo 50000 réplicas) y de recombinación. Finalmente, se aplicó MEGA 5.1 (Tamura *et al.* 2011), para la prueba Tajima (Tajima, 1989) y la prueba Z (Zhang *et al.* 1998).

Para la reconstrucción filogenética, se utilizó PhyML 3.0.1 (Guindon *et al.* 2010), estimando las opciones Ts/Tv, la proporción de sitios no variables y la distribución Gamma; la robustez estadística, se obtuvo mediante 1000 repeticiones Bootstrap. Los árboles filogenéticos se visualizaron en la herramienta Njplot (Perrière & Gouy, 1996); las filogenias también se desarrollaron por medio del método Neighbor-Joining (Saitou & Nei, 1987), bajo el modelo de distancia GTR, con 1000 repeticiones Bootstrap, aplicando MEGA 5.1 (Tamura *et al.* 2011).

Para el análisis de selección positiva los alineamientos fueron analizados usando el módulo codeml del programa PAML 4.5 (Yang, 2007). Se empleó el árbol descrito en la reconstrucción filogenética, además del generado por el servidor selecton (Stern *et al.* 2007), bajo el modelo M8a. Para el análisis de selección positiva, se emplearon las metodologías propuestas por Yang *et al.* 2005; 2000; Yang & Swanson, 2002; Yang, 1998; Yang & Nielsen, 2002; Zhang *et al.* 2005, utilizadas para el análisis de genes de *H. pylori*. Se emplearon los modelos evolutivos M0 (Neutral), M1 (casi neutral), M2 (selección), M3 (distribución discreta), M7 (distribución beta) y M8 (distribución beta, p y q). Se asumió un valor ω similar para cada rama del árbol, pero se permitió variación entre codones individuales de los genes, para medir la heterogeneidad de la variación de las presiones selectivas.

Se realizó la prueba *Likelihood ratio test* usando la herramienta Jmodel test. Se compararon los modelos M0/M1/M7 que no detectan sitios bajo la condición $\omega > 1$ (selección positiva), con los modelos M2/M3/M8 que sí lo permiten; cada análisis fue repetido tres veces con diferentes valores iniciales ω , para evitar problemas de óptimos locales. Las comparaciones, se desarrollaron usando una distribución χ^2 , bajo las indicaciones de Delgado *et al.* (2011) y las instrucciones de los desarrolladores de PAML 4.5. Todos los sitios con valores $\omega > 1$ se consideraron bajo selección positiva. El mismo procedimiento, se llevó a cabo para cada subgrupo de genes correspondientes a regiones geográficas específicas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis filogenético y poblacional de los genes *alpA*, *alpB* y *HorB* de *H. pylori*: La reconstrucción filogenética de los genes *alpA*, *alpB* y *HorB* replica, de manera relativamente fiel, la filogenia aceptada para *H. pylori* (Suzuki *et al.* 2012), logrando agrupar las cepas según origen geográfico, con valores bootstrap significativos. En los árboles, se observan múltiples eventos de duplicación (flechas) de genes, que dieron origen a los representantes modernos, con una mayor acumulación de cambios sinónimos que de cambios no sinónimos ($alpApS = 0,081$ y $pN = 0,0031$, $alpBpS = 0,1007$ y $pN = 0,0283$, $HorBpS = 0,0890$ y $pN = 0,0082$), por lo que se puede sugerir que estas adhesinas siguen un modelo de evolución de nacimiento y muerte de genes, mediado por procesos de selección purificadora (Figura 1).

Los resultados de la prueba Tajima (D) son negativos para los tres genes, indicando una expansión poblacional con una baja frecuencia de polimorfismo, similar a lo que sucede después de eventos selectivos, como cuellos de botella y que es concordante con procesos de selección purificadora, lo cual, fue identificado con la prueba Z, que confirmó estos datos (Tabla 1).

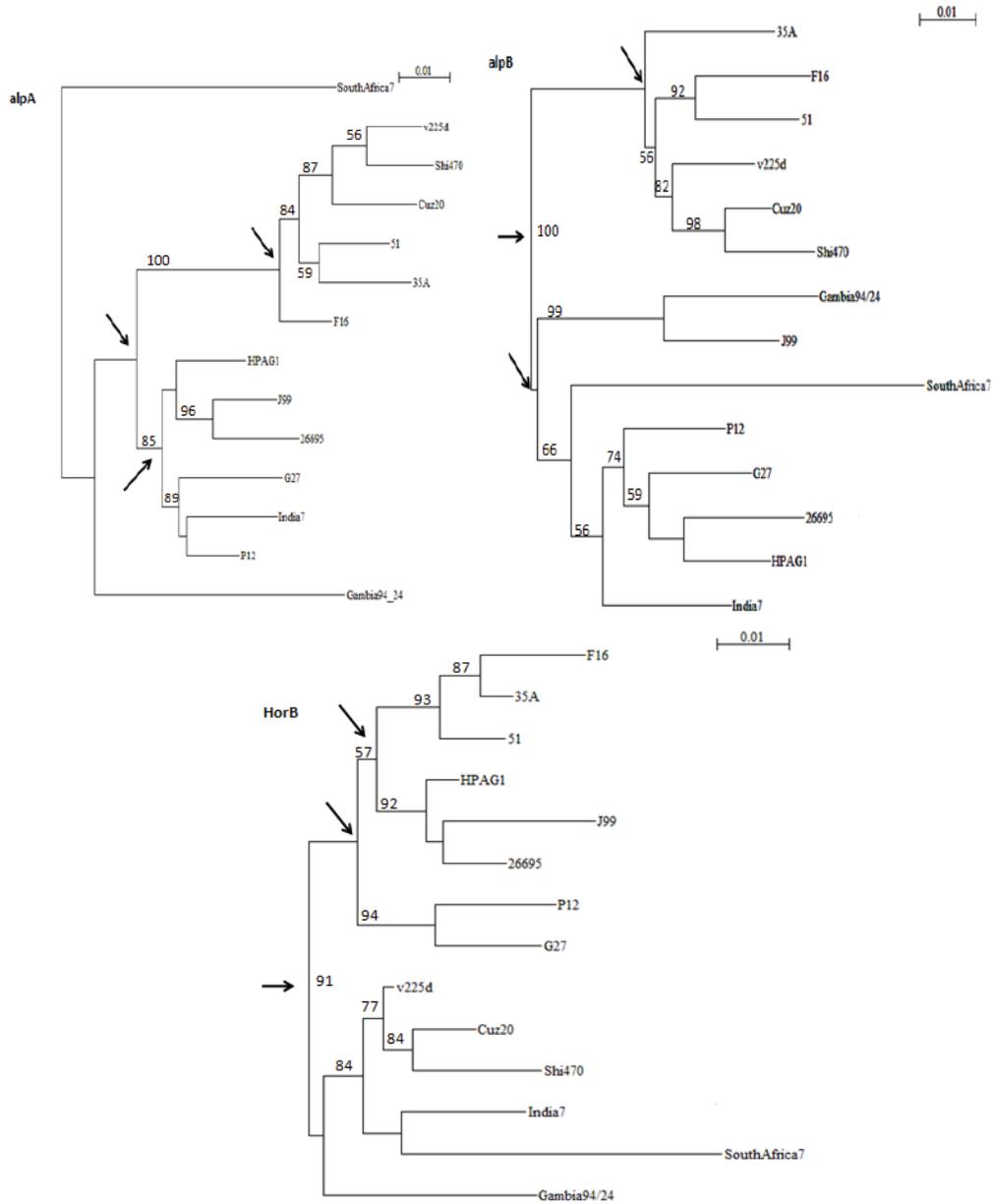


Figura 1. Árboles filogenéticos desarrollados para *alpA*, *alpB* y *HorB* con la herramienta PhyML 3.4.1, con 42 secuencias representantes de genomas secuenciados de cepas de diferentes orígenes geográficos, de la siguiente manera: América: Cuz20, v225d y Shi70; Asia: F16, 35A y 51; África: Gambia94/24; SouthAfrica7 y J99 y Europa: P12, G27 y 26695. Se aplicaron los modelos evolutivos GTR+G+I y HKY85, con 1000 repeticiones bootstrap. Se muestran valores bootstrap mayores a 50% y árboles consenso.

Bajo este modelo evolutivo, se eliminan alelos deletéreos con efectos negativos para el “fitness” de las poblaciones del patógeno, lo que genera un espacio selectivo para la fijación de mutaciones benéficas. De esta manera, se podría sugerir que la capacidad de adherencia a la célula hospedera por parte de *H. pylori*, mediada por los genes *alpA*, *alpB* y *HorB*, está bajo un constante proceso de adaptación y de mejoramiento, en relación con su hospedero.

Recientemente, se identificaron marcadas diferencias funcionales entre cepas del este y del oeste de *H. pylori* con respecto a la activación de señales proinflamatorias en la célula hospedera, mediadas por el locus *AlpAB* (Lu *et al.* 2007), lo que sugiere la existencia de eventos selectivos variables entre cepas de diferentes regiones del globo. Los resultados de los análisis de permutación permitieron detectar diferencias significativas para *alpA* entre las poblaciones de América-Europa (FsT 0, 51395) y de Europa-Asia (FsT 0,46030); además,

Tabla 1. Propiedades evolutivas poblacionales de los genes *alpA*, *alpB* y *HorB*. La prueba Tajima, se desarrolló a partir de 42 secuencias de ADN. Todas las posiciones con gaps y datos perdidos fueron eliminadas.

Prueba Parámetros						
Tajima	M	S	Ps	Θ	π	D
alpA	14	241	0,157208	0,049434	0,045705	-0,340035
alpB	14	277	0,181046	0,056930	0,052302	-0,366789
HorB	14	104	0,120790	0,037983	0,033222	-0,559505
Z-test	N/Stat	Pos/Stat	Pur/Stat			
alpA	0,000/-7,016	1,000/-7,026	0,000/6,999			
alpB	0,000/-8,787	1,000/-8,920	0,000/9,106			
HorB	0,000/-8,098	1,000/-7,956	0,000/8,103			

m=número de secuencias, S=número de sitios segregantes, ps=S/m, Θ =ps/a1, π =diversidad nucleotídica, y D es el estadístico de Tajima. La prueba Z se desarrollo en promedio.

también se reporta, por primera vez, una diferencia significativa para el gen *alpB*, entre las poblaciones de América-Europa (FsT 0,43711) (Tabla 2A).

Con el análisis de los genes con la prueba de McDonald y Kreitman, se logró identificar, por primera vez, que las di-

ferencias observadas por el test de permutación entre las poblaciones de América-Europa y de Europa-Asia para *alpA* y entre las poblaciones de América-Europa para *alpB* han ocurrido por eventos de selección direccional o selección positiva (Tabla 2B).

Tabla 2. Parámetros evolutivos y poblacionales de los genes *alpA*, *alpB* y *horB*. A) Prueba de diferenciación genética y permutación. B) Prueba de McDonald y Kreitman. RM: prueba de recombinación.

A.

Gene/Origen geográfico	FsT	RM	Valor (P>0,05)
alpA		54	0,0001
África-América	0,28669		
África-Europa	0,04535		
África-Asia	0,26891		
América-Europa	0,51395*		
América-Asia	0,23272		
Europa-Asia	0,46030*		
alpB		67	0,0001
África-América	0,32362		
África-Europa	0,17963		
África-Asia	0,19328		
América-Europa	0,43711*		
América-Asia	0,15020		
Europa-Asia	0,23524		
HorB		23	0,0001
África-América	0,10811		
África-Europa	0,04808		
África-Asia	0,08525		
América-Europa	0,32927		
América-Asia	0,23793		
Europa-Asia	0,11223		

B.

Gene	Fijos	Polimórficos	Índice de diversidad
AlpA			
América-Europa	12	73	0,395/alpha(0,605)
Europa-Asia	20	48	0,281/alpha(0,719)
	9	82	
	16	41	
AlpB			
América-Europa	8	83	0,263/alpha(0,737)
	15	41	

Eventos de selección positiva: Panorama mundial y por linajes regionales: Los modelos selectivos M2 y M3 lograron detectar sitios bajo selección positiva; sin embargo, su poder predictivo se afecta en casos de recombinación, proceso que es muy común en *H. pylori* y que ocurre en los tres genes estudiados en el presente estudio (Tabla 1). Por este motivo,

se empleó el modelo M8, cuyo valor predictivo no se afecta por recombinación (Yang, 2007). Es importante aclarar que solamente se muestran los residuos bajo selección positiva identificados por el modelo, que mejor explica la evolución de las secuencias, después de aplicar la prueba LRT (Likelihood Ratio Test) (Tabla 3).

Tabla 3. Prueba LRT (Likelihood test radio) realizada bajo los parámetros de Yang *et al.* (2002) y Yang *et al.* (2000), para los genes alpA, alpB y horB. GL: grados de libertad. LRT: estadístico de prueba. MS: modelo seleccionado.

Gene	Modelos	GL	LRT	(p>0.05)	MS
alpA					
Yang et al. (2000)	M0-M2	2	537,9	0,0001	M3 M8
	M1-M2	2	132,0	0,0001	
	M0-M3	4	545,7	0,0001	
	M1-M3	4	139,8	0,0001	
	M2-M3	2	7,74	0,02	
	M7-M8	2	132,3	0,0001	
Yang et al. (2002)	M0-M2	2	567,9	0,0001	M3 M8
	M1-M2	2	136,6	0,0001	
	M0-M3	4	577,9	0,0001	
	M1-M3	4	146,6	0,0001	
	M2-M3	2	10,0	0,0001	
	M7-M8	2	135,7	0,0001	
alpB					
Yang et al. (2000)	M0-M2	2	527,8	0,0001	M3 M8
	M1-M2	2	73,7	0,0001	
	M0-M3	4	535,3	0,0001	
	M1-M3	4	81,2	0,0001	
	M2-M3	2	7,5	0,02	
	M7-M8	2	74,2	0,0001	
Yang et al. (2002)	M0-M2	2	579,8	0,0001	M3 M8
	M1-M2	2	79,7	0,0001	
	M0-M3	4	594,0	0,0001	
	M1-M3	4	93,9	0,0001	
	M2-M3	2	14,2	8,1E-4	
	M7-M8	2	81,2	0,0001	
HorB					
Yang et al. (2000)	M0-M2	2	432,6	0,0001	M1 M8
	M1-M2	2	3,88	0,14	
	M0-M3	4	434,72	0,0001	
	M1-M3	4	5,96	0,20	
	M2-M3	2	2,08	0,35	
	M7-M8	2	8,36	0,01	
Yang et al. (2002)	M0-M2	2	113,5	0,0001	M3 M8
	M1-M2	2	16,9	2,1E-4	
	M0-M3	4	106,6	0,0001	
	M1-M3	4	10,0	0,04	
	M2-M3	2	6,88	0,03	
	M7-M8	2	25,4	3,0E-6	

A nivel poblacional, los análisis realizados con la herramienta PAML indican que el 9,51% del gen *alpA*, el 8,5% del gen *alpB* y el 5% del gen están bajo selección positiva, lo cual, es significativo si se comparan con los estudios realizados para la región 3' del gen *cag* con solamente un 6,95% o de la región central de *babA*, con un 9,4% (Masako *et al.* 2007); esto sugiere que un porcentaje significativo de las proteínas están siendo seleccionadas en las poblaciones estudiadas.

Hace poco tiempo, se determinó que la laminina es el ligando para las adhesinas AlpAB; sin embargo, esta proteína es de expresión constitutiva en el humano y, a diferencia de otras adhesinas, como BabA que tiene un receptor de expresión inducible, la interacción receptor ligando puede no ser

la causa directa del tipo de selección natural (selección positiva), operante sobre el locus. Recientemente, se ha identificado que las proteínas AlpA, AlpB y HorB son inmunodominantes y quizás es uno de los factores que está produciendo la carrera adaptativa entre *H. pylori* y su hospedero.

Estos resultados son inquietantes, debido a que sugieren que estas tres adhesinas tienden a ser mega diversas a nivel poblacional y, además, están bajo constante selección positiva, lo que, probablemente, genere fenotipos adhesivos más virulentos y especializados, connotando un nuevo papel de la adhesión en la diferenciación local o regional de cepas (Tabla 4).

Tabla 4. Detección de sitios bajo selección positiva a nivel poblacional para los genes *alpA*, *alpB* y *horB*. NEB (sitios con * = $P > 95\%$. Sitios con ** = $P > 99\%$).

Gen/ Proteína	$-\ln L$	Modelos	Parámetros	Sitios bajo selección positiva
<i>alpA</i> Yang <i>et al.</i> (2000)	4459,36	M3	$p_0=0,870 w_0= 0,017$ $p_1=0,108 w_1= 1,688$ $p_2=0,021 w_2= 11,741$	NEB: 6R**, 47T**, 49R**, 94E**, 98Q*, 108Q**, 113N**, 123G*, 124S**, 125S**, 126S**, 128T*, 144T**, 147V**, 160D*, 176G**, 190N**, 191G**, 192T**, 193S**, 198Q**, 199N**, 202T*, 205T**, 206Q**, 213D**, 216T*, 252A**, 266L**, 272T**, 273K**, 275T**, 280A**, 281V**, 283S**, 285I**, 287P**, 294N**, 295T**, 298S**, 301P**, 307A**, 315T*, 322R**, 337A**, 341L**, 348I**, 424F**, 462N**
	4465,52	M8	$p= 0,012 q= 0,083$ $w= 8,81039$	NEB: 94E*, 108Q**, 125S**, 198Q**, 205T**, 206Q*, 266L**, 287P**, 337A**, 341L** BEB: 94E**, 108Q**, 125S**, 198Q**, 205T**, 206Q**, 266L**, 287P**, 294N*, 337A**, 341L**, 348I*
<i>alpA</i> Yang <i>et al.</i> (2002)	4710,62	M3	$p_0=0,859 w_0= 0,020$ $p_1=0,116 w_1= 1,882$ $p_2=0,023 w_2= 11,26$	NEB: 11R**, 52T**, 54R**, 99E**, 103G*, 113Q**, 118N**, 128G*, 129S**, 130S**, 131S**, 135T*, 151T*, 154V**, 167D*, 83G**, 196S**, 206S**, 207N**, 208G**, 211T**, 212S**, 217Q**, 218N**, 221T*, 224T**, 225Q**, 232D**, 235T*, 271A**, 285L**, 291T**, 292K*, 294T*, 299A**, 300V**, 302S**, 304G**, 305I**, 307P**, 317N**, 318T**, 321S**, 324P**, 330A**, 338T*, 345R**, 360A**, 364L**, 371I**, 447F**, 485N**
	4717,12	M8	$p= 0,005 q= 0,020$ $w= 8,656$	NEB: 99E*, 113Q**, 130S**, 217Q**, 224T**, 225Q*, 285L**, 307P**, 360A**, 364L** BEB: 99E**, 113Q**, 130S**, 206S**, 217Q**, 224T**, 225Q**, 285L**, 304G*, 307P**, 317N*, 360A**, 364L**, 371I*
<i>alpA</i> Yang, (1998) Yang <i>et al.</i> (2002) Yang <i>et al.</i> (2005) Zhang <i>et al.</i> (2005)	4715,63	Selección positiva NS-sites = 2	$p_0=0,814 w_0= 0,003$ $p_1=0,150 w_1= 1,000$ $p_2=0,034 w_2= 8,102$	NEB: 99E**, 113Q**, 130S**, 217Q**, 224T**, 225Q*, 285L**, 307P**, 360A**, 364L** BEB: 99E**, 113Q**, 130S**, 217Q**, 224T**, 225Q*, 285L**, 307P**, 360A**, 364L**
	4843,95	M3	$p_0=0,882 w_0= 0,015$ $p_1=0,108 w_1= 1,464$ $p_2=0,008 w_2= 12,56$	NEB: 23P**, 64N**, 71I**, 105S**, 106S**, 107I*, 108H*, 111G**, 112S**, 113S**, 114G**, 115A**, 117T**, 120T*, 121S**, 122S**, 123P**, 130A**, 134N*, 137S**, 143G**, 145Q**, 146I**, 147K**, 148N**, 160A**, 168E**, 177T**, 196N**, 199Q**, 200A**, 204G*, 213I**, 219I*, 226D**, 227S**, 231T**, 267D**, 269Q**, 297A**, 298R**, 314T**, 428R**, 448L**

Continuación tabla 4

Gen/ Proteína	-lnL	Modelos	Parámetros	Sitios bajo selección positiva
alpB Yang et al. (2002)	4848,91	M8	p= 0,006 q= 0,038 w= 9,388	NEB: 113S**, 122S**, 130A*, 160A** BEB: 112S**, 113S**, 114G*, 115A*, 117T*, 122S**, 130A**, 160A**, 231T**, 269Q*
	5131,93	M3	p0=0,877 w0= 0,018 p1=0,117 w1= 1,814 p2=0,004w2= 32,31	NEB: 38P**, 79N**, 86I**, 120S**, 121S**, 124I*, 125H*, 128G*, 129A**, 135S**, 136G**, 137S**, 138S**, 139G**, 140A**, 142T**, 145A**, 151T*, 154S**, 155S**, 156P*, 163A**, 167N*, 170S**, 176G**, 178Q**, 179J**, 180K**, 181N**, 193A**, 201E**, 210T**, 229N**, 232Q**, 233A**, 237G*, 246I**, 259D**, 260S**, 264T**, 300D**, 302Q**, 330A**, 331R**, 347T**, 461R**, 481L**
alpB Yang (1998); Yang et al. (2002); Yang et al. (2005); Zhang et al.(2005)	5141,65	M8	p= 0,010 q= 0,068 w= 8,733	NEB: 138S**, 145A*, 155S**, 163A*, 193A** BEB: 129A*, 137S**, 138S**, 139G*, 140A*, 145A**, 155S**, 163A**, 193A**, 264T**, 302Q*
	5139,04	Selección positiva NS-sites = 2	p0=0,846 w0= 0,007 p1=0,142 w1= 1,000 p2=0,011 w2= 9,624	NEB: 138S**, 145A*, 155S**, 163A*, 193A** BEB: 138S**, 145A**, 155S**, 163A**, 193A**, 264T*
HorB Yang et al. (2000)	2224,79	M1	p0=0,968 w0= 0,010 p1=0,031 w1= 1,000	84S, 192V, 213E, 266V, 269K
HorB Yang et al. (2002)	2219,85	M8	p= 1,393 q= 99,000 w= 2,310	NEB:84S**, 126S*, 192V**, 213E**, 266V**, 269K** BEB: 192V**
	2223,87	M3	p0=0,439 w0= 0,013 p1=0,535 w1= 0,013 p2=0,024 w2= 2,289	NEB: 85S**, 127S*, 193V**, 214E**, 267V**, 270K**
HorB Yang (1998); Yang et al. (2002); Yang et al. (2005); Zhang et al. (2005)	2223,90	M8	p= 1,393 q= 99,000 w= 2,310	NEB:85S**, 127S*, 193V**, 214E**, 267V**, 270K** BEB:193V**
	2220,39	Selección positiva NS-sites = 2	p0=0,968 w0= 0,011 p1=0,027 w1= 1,000 p2=0,003 w2= 9,890	NEB: 193V** BEB: 193V**

Seguidamente, los análisis de selección positiva realizados sobre las diferentes regiones geográficas del gen *alpA*, indican que cada una presenta su propia línea evolutiva con múltiples sitios bajo selección positiva, lo cual, sugiere y afianza los resultados arriba descritos de que los procesos selectivos son altamente locales y especializados para con esta enzima, constituyéndose quizás no solamente como un nuevo indicador de la virulencia, sino también, como un marcador diferenciador de cepas, a nivel local para las regiones.

Para el gen *alpB*, no se detectaron eventos selectivos para los representantes del linaje africano, pero sí se identificaron residuos bajo selección positiva para los linajes americano, asiático y europeo, respectivamente. Los eventos selectivos son particularmente intensos para el linaje asiático, mostran-

do múltiples sitios bajo selección positiva, lo que quizás se pueda correlacionar con las prevalencias de cáncer gástrico, halladas en la región. Finalmente, cabe mencionar que aunque se identificaron únicamente tres residuos bajo selección en los linajes africanos y asiáticos para el gen *horB*, éste es importante para el fitness de la especie, porque se constituye en un blanco terapéutico ideal (Tabla 5).

Síntesis evolutiva de la adhesión mediada por el locus *AlpAB* y *HorB*: El modo de evolución bajo selección purificadora purga fenotipos deletéreos en términos de la adhesión a la célula hospedera y, por ende, deja un nicho disponible para aquellos fenotipos con mejor capacidad de reconocimiento del hospedero. En el presente estudio, se sugiere que se pueden estar generando variantes locales del pató-

Tabla 5. Detección de sitios bajo selección positiva a nivel regional para los genes *alpA*, *alpB* y *horB*. NEB (sitios con * = $P > 95\%$. Sitios con ** = $P > 99\%$).

Gen/Proteína	$-\ln L$	Modelos	Parámetros	Sitios bajo selección positiva
alpA				
África	2812,58	M2	$p_0=0,959$ $w_0= 0,108$ $p_1=0,000$ $w_1= 1,000$ $p_2=0,040$ $w_2= 10,912$	NEB: 94E*, 108Q**, 191I*, 193K**, 196G**, 205Q**, 212T*, 273L*, 302N*, 303T*, 470N** BEB: 108Q**, 193K*
	2812,59	M8	$p= 12,092$ $q= 99,000$ $w= 10,937$	NEB: 108Q**, 191I*, 193K**, 196G**, 205Q*, 212T*, 273L*, 302N*, 303T*, 470N** BEB: 108Q**, 193K*, 196G*, 205Q*, 212T*, 273L*, 303T*, 470N*
América	2373,98	M2	$p_0=0,990$ $w_0= 0,430$ $p_1=0,000$ $w_1= 1,000$ $p_2=0,009$ $w_2= 250,80$	NEB: 208Q**, 209Q**, 269S** BEB: 208Q*, 209Q*
	2373,98	M8	$p= 69,954$ $q= 92,629$ $w=250,873$	NEB: 208Q**, 209Q**, 269S** BEB: 208Q*, 209Q*
Asia	2675,44	M2	$p_0=0,751$ $w_0= 0,000$ $p_1=0,241$ $w_1= 1,000$ $p_2=0,006$ $w_2= 20,505$	NEB: 199S**, 288S* BEB: 199S**, 288S**
	2675,72	M8	$p= 0,005$ $q= 0,019$ $w= 8,868$	NEB: 199S**, 288S* BEB: 199S**, 288S**
Europa	2554,40	M2	$p_0=0,880$ $w_0= 0,000$ $p_1=0,104$ $w_1= 1,000$ $p_2=0,014$ $w_2= 29,337$	NEB: 113S**, 125T*, 126S*, 288D** BEB: 113S**, 125T*, 126S**, 208Q*, 269A*, 288D**
	2554,41	M8	$p= 0,011$ $q= 0,091$ $w= 27,665$	NEB: 113S**, 125T*, 126S*, 288D** BEB: 113S**, 125T*, 126S**, 192R*, 208Q*, 269A*, 288D**
alpB				
América	2358,51	M2	$p_0=0,871$ $w_0= 0,000$ $p_1=0,036$ $w_1= 1,000$ $p_2=0,092$ $w_2= 4,233$	NEB: 106S*, 111G*, 112A*, 164Q*, 172E* BEB: Estadísticamente no significativos.
	2358,51	M8	$p= 0,005$ $q= 1,995$ $w= 3,839$	NEB: 69T**, 72N**, 106S**, 111G**, 112A**, 113S**, 114C**, 115T**, 116T**, 124N**, 164Q**, 172E**, 181T**, 202N**, 204G**, 207N**, 231G**, 270N**, 301A**, 304S**, 328P**, 440R** BEB: Estadísticamente no significativos.
Asia	2811,84	M2	$p_0=0,869$ $w_0= 0,000$ $p_1=0,000$ $w_1= 1,000$ $p_2=0,130$ $w_2= 2,292$	NEB: 38P**, 79N**, 120S**, 121S**, 123T**, 130S**, 132Q**, 133S**, 134A**, 136T**, 139A**, 140S**, 141S**, 142S**, 143P**, 150T**, 157G**, 163S**, 165N**, 166I**, 167S**, 168K**, 191T**, 197A**, 216H**, 220A**, 224G**, 233V**, 235K**, 239I**, 246D**, 247S**, 271D**, 289Q**, 318R**, 334T**, 468L**, 495I**, 513F** BEB: 142S*

Continuación tabla 5

	2811,84	M8	p= 0,005 q= 2,933 w= 2,292	NEB: 38P**, 79N**, 120S**, 121S**, 123T**, 130S**, 132G**, 133S**, 134A**, 136T**, 139A**, 140S**, 141S**, 142S**, 143P**, 150T**, 157G**, 163S**, 165N**, 166I**, 167S**, 168K**, 191T**, 197A**, 216H**, 220A**, 224G**, 233V**, 235K**, 239J**, 246D**, 247S**, 271D**, 289Q**, 318R**, 334T**, 468L**, 495I**, 513F** BEB: 132G*, 142S**
Europa	2589,21	M8	p= 8,313 q= 99,000 w= 4,424	NEB: 120G**, 127A*, 129G**, 131G*, 135A* BEB: 120G*, 129G*
HorB				
África	1444,96	M8	p= 0,005 q= 0,092 w= 22,187	NEB: 84S* BEB: 84S*, 192V*
Asia	1375,96	M2	p0=0,965 w0= 0,016 p1=0,030 w1= 1,000 p2=0,003 w2= 29,746	NEB: 192V** BEB: no se detectaron sitios.
	1375,89	M8	p= 0,012 q= 0,241 w= 29,518	NEB: 192V** BEB: 192V*

geno con patrones de adaptación regional, en términos de la adherencia, que son mediados por eventos de selección positiva sobre locus AlpAB y HorB, que benefician el fitness de las poblaciones del patógeno; estos cambios son diferencialmente locales, significando que las cepas de cada región geográfica evolucionan de manera independiente y, posiblemente, presentan un patrón de adhesión propio, efecto que necesita ser evaluado con mayor profundidad.

El locus AlpAB y el gen *HorB* están siendo perfeccionados al interactuar con factores del hospedero que, posiblemente, también están evolucionando bajo presiones evolutivas locales, estableciendo, de esta manera, una competencia o carrera coevolutiva entre patógeno y hospedero, ya que ambas especies presentan una velocidad diferencial adaptativa, en la que el patógeno persigue a su hospedero, que se podría explicar bajo la hipótesis coevolutiva de la reina roja (Woolhouse *et al.* 2002).

Agradecimientos: Agradezco al Doctor Juan Carlos Morales, al Doctor Carlos Barragán y al Doctor Martin Bayona, por sus valiosos aportes, tanto teóricos como de estilo, para la consecución del presente trabajo. **Conflicto de intereses:** El manuscrito fue preparado y revisado por el autor, quien declara que no existe ningún conflicto de interés que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados. **Financiación:** Este estudio es parte de una investigación en curso aprobada y financiada por la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, en agosto de 2012.

BIBLIOGRAFÍA

1. ACHTMAN, M.; AZUMA, T.; BERG DE, ITO.; MORELLI, G.; PAN, Z.; SÜERBAUM, S.; THOMPSON, S.; VAN DER ENDE, A.; VAN DOORN, L. 1999. Recombination and clonal groupings within *Helicobacter pylori* from different geographical regions. *Mol. Microbiol.* (Alemania). 32(3):459-470.
2. AIHARA, M.; TSUCHIMOTO, D.; TAKIZAWA, H.; AZUMA, A.; WAKEBE, H.; OHMOTO, Y.; IMAGAWA, K.; KIKUCHI, M.; MUKAIDA, N.; MATSUSHIMA, K. 1997. Mechanisms involved in *Helicobacter pylori*-induced interleukin-8 production by a gastric cancer cell line, MKN45. *Infect.Immun.* (Japan) 65(8):3218-3224.
3. ALGOOD, H.; COVER, T. 2006. *Helicobacter pylori* persistence: An overview of interactions between *H. pylori* and host immune defenses. *Clin. Microbiol. Rev* (USA).19(4):597-613.
4. ALTSCHUL, S.; MADDEN, T.; SCHÄFFER, A.; ZHANG, J.; ZHANG, Z.; MILLER, W.; LIPMAN, D. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* (USA). 25(17):3389-3402.

5. BIK, E.M.; ECKBURG, P.B.; GILL, S.R.; NELSON, K.E.; PURDOM, E.A.; FRITZ, F.; PEREZ-PEREZ, G.; BLASER, M.J.; RELMAN, D.A. 2006. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103(3):732-737.
6. BLASER, M.; PEREZ, G.; KLEANTHOUS, H.; COVER, T.; PEEK, R.; CHYOU, P.; STEMMERMANN, Y.; NOMURA, A. 1995. Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing *cagA* is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Res. (USA)*. 55(10):2111-2115.
7. CLAMP, M.; CUFF, J.; SEARLE, S.; BARTON, G. 2004. The Jalview Java Alignment Editor. *Bioinformatics (Inglaterra)*. 20(3):426-437.
8. COVACCI, A.; TELFORD, J.L.; GIUDICE, G.D.; PARSONNET, J.; RAPPUOLI, R. 1999. *Helicobacter pylori* virulence and genetic geography. *Science (Italia)*. 284(5418):1328-1333.
9. DELGADO-ROSADO, G.; DOMINGUEZ-BELLO, M.G.; MASSEY, S.E. 2011. Positive selection on a bacterial oncoprotein associated with gastric cancer. *Gut Pathogen (Puerto Rico)*. 3:18-22.
10. EDGAR, R.C. 2004. Muscle: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res.* 32(5):1792-1797.
11. EVANS, D.J.; EVANS, D.G. 2000. *Helicobacter pylori* adhesins: review and perspectives. *Helicobacter (USA)*. 5(4):183-195.
12. FALUSH, D.; WIRTH, T.; LINZ, B.; PRITCHARD, J.K.; STEPHENS, M.; KIDD, M.; BLASER, M.J.; GRAHAM, D.Y.; VACHER, S.; PEREZ-PEREZ, G.I.; YAMAOKA, Y.; MÉGRAUD, F.; OTTO, K.; REICHARD, U.; KATZOWITSCH, E.; WANG, X.; ACHTMAN, M.; SUEBAUM, S. 2003. Traces of human migrations in *Helicobacter pylori* populations. *Science. (Alemania)*. 299(5612):1582-1585.
13. GOUY, M.; GUINDON, S.; GASCUEL, O. 2010. SeaView version 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. *Mol.Biol.Evol.* 27(2):221-224.
14. GUINDON, S.; DUFAYARD, J.F.; LEFORT, V.; ANISIMOVA, M.; HORDIJK, W.; GASCUEL, O. 2010. New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML3.0. *Syst. Biol. (Francia)*. 59(3):307-321.
15. ILVER, D.; ARNQVIST, A.; OGREN, J.; FRICK, I.M.; KERSÜLYTE, D.; INCECIK, E.T.; BERG, D.E.; COVACCI, A.; ENGSTRAND, L.; BORÉN, T. 1998. *Helicobacter pylori* adhesin binding fucosylated histo-blood group antigens revealed by retagging. *Science*. 279(5349):373-377.
16. KERSÜLYTE, D.; MUKHOPADHYAY, A.K.; VELAPATINÑO, B.; SU, W.; PAN, Z.; GARCIA, C.; HERNANDEZ, V.; VALDEZ, Y.; MISTRY, R.S.; GILMAN, R.H.; YUAN, Y.; GAO, H.; ALARCÓN, T.; LÓPEZ-BREA, M.; BALAKRISHNAN, G.; CHOWDHURY, A.; DATTA, S.; SHIRAI, M.; NAKAZAWA, T.; ALLY, R.; SEGAL, I.; WONG, B.C.; LAM, S.K.; OLFAT, F.O.; BORÉN, T.; ENGSTRAND, L.; TORRES, O.; SCHNEIDER, R.; THOMAS, J.E.; CZINN, S.; BERG, D.E. 2000. Differences in genotypes of *Helicobacter pylori* from different human populations. *J. Bacteriol. (USA)*. 182(11):3210-3218.
17. KUSTERS, J.G.; VAN VLIET, A.H.M.; KUIPERS, E.J. 2006. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin. Microbiol. Rev (Holanda)*. 19(3):449-490.
18. KWONG MING, F.; TIING LEONG, A. 2010. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer in Asia. *J. Gastroent. Hepatol. (China)*. 25(3):479-486.
19. LIBRADO, P.; ROZAS, J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics (España)*. 25(11):1451-1462.
20. LIU, Y.; PONSIOEN, C.I.J.; XIAO, S.; TYTGAT, G.N.J.; TEN KATE, F.J.W. 2005. Geographic pathology of *Helicobacter pylori* gastritis. *Helicobacter*. 10(2):107-113.
21. LU, H.; WU, J.Y.; BESWICK, E.J.; OHNO, T.; ODENBREIT, S.; HAAS, R.; REYES, V.E.; KITA, M.; GRAHAM, D.Y.; YAMAOKA, Y. 2007. Functional and intracellular signaling differences associated with the *Helicobacter pylori* AlpAB adhesin from Western and East Asian strains. *J. Biol. Chem. (USA)*. 282(9):6242-6254.
22. MAHDAVI, J.; SONDÉN, B.; HÜRTIG, M.; OLFAT, F.O.; FORSBERG, L.; ROCHE, N.; ANGSTRÖM, J.; LARSSON, T.; TENEBERG, S.; KARLSSON, K.A.; ALTRAJA, S.; WADSTRÖM, T.; KERSÜLYTE, D.; BERG, D.E.; DUBOIS, A.; PETERSSON, C.; MAGNUSSON, K.E.; NORBERG, T.; LINDH, F.; LINDSKOG, B.B.; ARNQVIST, A.; HAMMARSTRÖM, L.; BORÉN, T. 2002. *Helicobacter pylori* SabA adhesin

- in persistent infection and chronic inflammation. *Science*. (Suecia). 297(5581):573-578.
23. MASAKO OGURA, J.; PEREZ, C.; MITTL, P.R.E.; HAEKYUNG, L.E.E.; GEIDRIUS SHUMIN, T.; YOSHIYUKI, I.T.O.; OUSMAN, S.; DAIVA, D.; KALYANI, PUTTY; BERG, D.; AWDHESH, K. 2007. *Helicobacter pylori* Evolution: Lineage-Specific Adaptations in Homologs of Eukaryotic Sel1-Like Genes. *PLoSComput. Biol.* (USA). 3(8):e151.
 24. MBÜLAITEYE, S.M.; HISADA, M.; EL-OMAR, E.M. 2009. *Helicobacter pylori* associated global gastric cancer burden. *Front. Biosci.* (USA). 14:1490-1504.
 25. ODENBREIT, S. 2005. Adherence properties of *Helicobacter pylori*: impact on pathogenesis and adaptation to the host. *Int. J. Med. Microbiol.* (Alemania). 295(5):317-324.
 26. ODENBREIT, S.; FALLER, G.; HAAS, R. 2002. Role of the alpAB proteins and lipopolysaccharide in adhesion of *Helicobacter pylori* to human gastric tissue. *Int. J. Med. Microbiol.* 292(3-4):247-256.
 27. ODENBREIT, S.; TILL, M.; HOFREUTER, D.; FALLER, G.; HAAS, R. 1999. Genetic and functional characterization of the alpAB gene locus essential for the adhesion of *Helicobacter pylori* to human gastric tissue. *Mol. Microbiol.* 31(5):1537-1548.
 28. PECK, B.; ORTKAMP, M.; DIEHL, K.D.; HUNDT, E.; KNAPP, B. 1999. Conservation, localization and expression of HopZ, a protein involved in adhesion of *Helicobacter pylori*. *Nucleic Acids Res.* 27(16):3325-3333.
 29. PERRIÈRE, G.; GOUY, M. 1996. WWW-Query: An online retrieval system for biological sequence banks. *Biochimie.* (Francia) 78(5):364-369.
 30. POSADA, D. 2008. jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Mol. Biol. Evol.* 25(7):1253-1256.
 31. SAITOU, N.; NEI, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4(4):406-425.
 32. SENKOVICH, O.A.; YIN, J.; EKSHYAN, V.; CONANT, C.; TRAYLOR, J.; ADEGBOYEGA, P.; MCGEE, D.J.; RHOADS, R.E.; SLEPENKOV, S.; TESTERMAN, T.L. 2011. *Helicobacter pylori* AlpA and AlpB bind host laminin and influence gastric inflammation in gerbils. *Infect. Immun.* (USA). 79(8):3106-3116.
 33. SNELLING, W.J.; MORAN, A.P.; RYAN, K.A.; SCULLY, P.; MCGOURTY, K.; COONEY, J.C.; ANNIK, H.; O'TOOLE, P.W. 2007. *HorB* (HP0127) is a gastric epithelial cell adhesin. *Helicobacter.* 12(3):200-209.
 34. STERN, A.; DORON-FAIGENBOIM, A.; PEREZ, E.; MARTZ, E.; BACHARACH, E.; PUPKO, P. 2007. Selecton 2007: advanced models for detecting positive and purifying selection using a Bayesian inference approach. *Nucleic Acids Res.* (Israel). 35(Web Server issue): W506-W511.
 35. SUIERBAUM, S.; SMITH, J.M.; BAPUMIA, K.; MORELLI, G.; SMITH, N.H.; KUNSTMANN, E.; DYREK, I.; ACHTMAN, M. 1998. Free recombination within *Helicobacter pylori*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* (Alemania). 95(21):12619-12624.
 36. SUZUKI, R.; SHIOTA, S.; YAMAOKA, Y. 2012. Molecular epidemiology, population genetics, and pathogenic role of *Helicobacter pylori*. *Infect. Genet. Evol.* (Japan). 12(2):203-213.
 37. TAJIMA, F. 1989. Statistical methods to test for nucleotide mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* (Japan). 123(3):585-595.
 38. TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol. Biol. Evol.* (Japan). 28(10):2731-2739.
 39. TORRES, A.; GIONO, S.; CAMORLINGA, M.; CARLOS, F.; VARGAS, C.; TORRES, J. 2010. Evolution of bacterial genes: Evidences of positive Darwinian selection and fixation of base substitutions in virulence genes of *Helicobacter pylori*. *Infect. Gen. Evol.* 10(6):764-776.
 40. WOOLHOUSE, M.E.; WEBSTER, J.P.; DOMINGO, E.; CHARLES WORTH, B.; LEVIN, B.R. 2002. Biological and biomedical implications of the co-evolution of pathogens and their hosts. *Nat. Genet.* (Belgica). 32(4):569-577.
 41. YAMAOKA, Y.; KWON, D.H.; GRAHAM, D.Y. 2000. A M(r) 34,000 proinflammatory outer membrane protein (oipA) of *Helicobacter pylori*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* (USA). 97(13):7533-7538.
 42. YANG, Z. 1998. Likelihood ratio tests for detecting positive selection and application to primate lysozyme evolution. *Mol. Biol. Evol.* 15(5):568-573.

43. YANG, Z.; NIELSEN, R. 2002. Codon-substitution models for detecting molecular adaptation at individual sites along specific lineages. *Mol. Biol. Evol.* 19(6):908-917.
44. YANG, Z.; NIELSEN, R.; GOLDMAN, N.; PEDERSEN, A.M.K. 2000. Codon-substitution models for heterogeneous selection pressure at amino acid sites. *Genetics.* 155(1):431-449.
45. YANG, Z.; SWANSON, W.J. 2002. Codon-substitution models to detect adaptive evolution that account for heterogeneous selective pressures among site classes. *Mol. Biol. Evol.* 19(1):49-57.
46. YANG, Z.; WONG, W.; NIELSEN, R. 2005. Bayes empirical Bayes inference of amino acid sites under positive selection. *Mol. Biol. Evol.* 22(4):1107-1118.
47. YANG, Z. 2007. PAML 4: a program package for phylogenetic analysis by maximum likelihood. *Mol. Biol. Evol.* 13(5):555-566.
48. ZHANG, J.; NIELSEN, R.; YANG, Z. 2005. Evaluation of an improved branch-site likelihood method for detecting positive selection at the molecular level. *Mol. Biol. Evol. (USA).* 22(12):2472-2479.
49. ZHANG, J.; ROSENBERG, H.F.; NEI, M. 1998. Positive Darwinian selection after gene duplication in primate ribonuclease genes. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 95 (7): 3708-3713.

Recibido: Septiembre 19 de 2012

Aceptado: Marzo 26 de 2013

PERFIL DERMATOGLÍFICO Y SOMATOTÍPICO DE ATLETAS DE LA SELECCIÓN COLOMBIA DE ATLETISMO (VELOCIDAD) PARTICIPANTE EN LOS JUEGOS PANAMERICANOS DE GUADALAJARA, 2011

DERMATOGLYPHIC AND SOMATOTYPIC PROFILE A ATHLETES SELECTION OF ATHLETICS COLOMBIAN'S (SPEED) PARTICIPANT IN THE PANAMERICANS GAMES IN GUADALAJARA, 2011

Rafael Ernesto Avella ¹, Juan Pablo Medellín ²

¹ Magister en Entrenamiento Deportivo, Instituto Manuel Fajardo; Especialista en Docencia Universitaria, Universidad Militar Nueva Granada, Docente Investigador de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Director del Grupo de Investigación en Actividad Física y Estilos de Vida Saludable; ravella@udca.edu.co; ² Estudiante Investigador de la Facultad de Ciencias del Deporte, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Integrante del Grupo de Investigación en Actividad Física y Estilos de Vida Saludable; m_juanpablo9@hotmail.com

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 17 - 25, 2013

RESUMEN

Con el objetivo de generar un perfil preliminar dermatoglífico y somatotípico que sirva para la selección de talentos en el atletismo, en modalidades de velocidad, se evaluaron los atletas de la selección Colombia, participante en los Juegos Panamericanos de Guadalajara, en el 2011. El estudio fue descriptivo de corte transversal y la recolección de datos, se llevó a cabo previa firma del consentimiento informado. La metodología utilizada para la colecta de dermatoglifos fue CUMMINS & MIDLO (1963), la edad de la muestra en damas ($n = 5$) fue de $23 \pm 1,4$ y en varones ($n = 3$) de $22,3 \pm 2,5$; la estatura, respectivamente, estuvo entre $1,72 \pm 0,09$ y $1,76 \pm 0,05$; la masa corporal en mujeres fue de $63,3 \pm 3,34$ y en hombres de $74,8 \pm 7,35$. En cuanto a las variables dermatoglíficas y somatotípicas, los resultados en damas fueron: Arco: 0, Presilla: $7,8 \pm 2,17$, Verticilo: $2,2 \pm 2,17$, D10: $12,2 \pm 2,17$, SCTL: $130,4 \pm 36,1$, Ectomorfismo: $3,04 \pm 1,43$, Mesomorfismo: $3,1 \pm 1,6$ y Endomorfismo: $3,25 \pm 0,59$; los varones arrojaron los siguientes datos: Arco: $0,67 \pm 1$, Presilla: $6,7 \pm 1,15$, Verticilo: $3 \pm 1,15$, D10: 12 ± 2 , SCTL: $123 \pm 19,1$, Ectomorfismo: $2,05 \pm 0,25$, Mesomorfismo: $4,09 \pm 1,01$ y Endomorfismo: $2,66 \pm 1,28$. Se aprecia que los valores más destacados en dermatoglifia son la predominancia de dibujos Presilla, ausencia de Arcos y un D10 y SCTL medio; el somatotipo que prevalece en los atletas varones

es el mesomorfo y en damas se aprecia una similitud de los tres estadios.

Palabras clave: Huellas, genética, talento, corredores, antropometría.

SUMMARY

In order to generate a preliminary profile somatotypic and dermatoglyphic to serving for the selection of talent in athletics, speed modes, athletes were evaluated Colombia participant selection in the Pan American Games in Guadalajara in 2011, the study was descriptive cross-sectional data collection took place after signing informed consent. The methodology used for the collection of dermatoglyphics was, the age of the sample in women ($n = 5$) was $23 \pm 1,4$ and in males ($n = 3$) of $22,3 \pm 2,5$, respectively height was at $1,72 \pm 0,09$ and $1,76 \pm 0,05$, body mass in women was $63,3 \pm 3,34$ and $74,8 \pm 7,35$ men, in terms of dermatoglyphic variables and outcomes somatotypics ladies were: Arco: 0, Loop: $7,8 \pm 2,17$, whorl: $2,2 \pm 2,17$, D10: $12,2 \pm 2,17$, SCTL: $130,4 \pm 36,1$, ectomorphism: $3,04 \pm 1,43$, mesomorphism: $3,1 \pm 1,6$ and endomorphism: $3,25 \pm 0,59$; males showed the following data: Arco: $0,67 \pm 1$, Clip: $6,7 \pm 1,15$, whorl: $3 \pm 1,15$, D10: 12 ± 2 , SCTL: $123 \pm 19,1$, ectomorphism: $2,05 \pm 0,25$, mesomorphism: $4,09 \pm 1,01$ and endomorphism:

2,66 ± 1,28. It is seen that the values are more prominent in the predominance of dermatoglyphics Presilla drawings, no arches, and a D10 and SCTL medium; somatotype prevalent in male athletes is the mesomorph, and ladies can see a similarity of the three stages.

Key words: Footprints, genetics, talent, sprinters, antropometry.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se ha prestado mucha atención al tema de selección y de orientación de talentos. Diferentes países han realizado estudios e inversiones para el desarrollo de estos procesos, buscando niños superdotados y talentosos que, por sus habilidades extraordinarias, sean capaces de altas realizaciones, teniendo un potencial de habilidad en alguna área (Marland, 1972).

El talento deportivo está definido como aquel que posee un individuo en determinado momento de la evolución, capaz de combinar las capacidades motoras y psicológicas y que, además, posee unas estructuras anatómicas y fisiológicas que, en conjunto, le dan la posibilidad y el potencial para el logro de altos resultados deportivos, en una práctica concreta (Zatsiorski, 1989; Hahn, 1988; García Manso, 2003).

En el deporte existen variables a tener en cuenta a la hora de seleccionar un posible talento; la herencia cumple un papel vital en el desarrollo sicomotriz y la condición física (Ruiz & Sánchez, 1997); a su vez, el medio ambiente y la estimulación influyen sobre el desarrollo de las personas.

En el proceso de la detección de talentos es necesario la intervención de un grupo multidisciplinario, que se encargue de una valoración lo más completa posible; estos serán encargados de la aplicación de pruebas, las cuales, determinaran el potencial del individuo para la práctica deportiva (Martínez *et al.* 2012). Estas metodologías y áreas se pueden resumir en lo que se ha denominado Caracterización (Grosser *et al.* 1990; Agudelo, 2012; Dantas, 2012) y que contiene evaluaciones en las diferentes ciencias aplicadas al deporte.

En los últimos tiempos, se han generado alternativas para la selección de talentos en deporte, una de estas tiene que ver con la parte genética, siendo de vital importancia, dado que ofrece información sobre las posibilidades funcionales del sujeto (Rover & Nodari Junior, 2012), con el estudio detallado del fenotipo (conjunto de caracteres), genotipo (constitución genética) y la relación que estos establecen con el medio (Martínez *et al.* 2012).

La función principal de los genes es proporcionar la infor-

mación codificada para la síntesis de las clases de proteínas (contráctiles, de transporte, enzimáticas, inmunes, hormonales, citoesqueléticas, entre otras), base vital en el proceso adaptativo (Bouchard, 2007).

Componentes como la talla y el peso pueden ser pronosticados, a través de las mediciones de los padres, donde existen altas correlaciones estadísticas para dichos pronósticos; factores como la estatura y la resistencia son aportados en mayor porcentaje por la madre y la fuerza y velocidad por el padre, permitiendo, de alguna manera, establecer cierta predisposición para la práctica deportiva (Leiva, 2010).

Los parámetros investigados permiten tener una base científica para la selección de los posibles talentos que puedan realizar trabajos y entrenamientos muy específicos en el campo del deporte y, de esta manera, identificar poblaciones y sectores que tienen más capacidades frente a la realización de ciertas actividades, estableciendo sus aspectos débiles y fuertes, en función del componente físico, lo cual, ayudará en el proceso de planificación del entrenamiento deportivo, potencializando los aspectos genéticamente predispuestos y desarrollando los limitados por los genes (Martínez *et al.* 2012).

Además de las pruebas y los estudios realizados, se está desarrollando una nueva herramienta para la detección de talentos en el deporte. Se trata de la dermatogllfia, el estudio de las impresiones o reproducciones de los dibujos formados por las crestas en los pulpejos dactilares de las manos (complejo palmar), dedos (tercera falange) y plantas de los pies (Nishioka *et al.* 2007), comprendiéndose como un marcador genético, por su asociación con las cualidades físicas básicas y tipología de fibras musculares (Ferrão *et al.* 2004). La identificación papilar, se basa en que los dibujos formados por las crestas digitales, palmares y plantares, formadas entre el tercer (3) al sexto (6) mes de vida intrauterina (Chakraborty, 1991) son perennes, inmutables e infinitamente diversas constituyéndose en un marcador genético (Anton & de Luis, 2004; Dantas, 2012).

Las impresiones dactilares, se dividen según su dibujo en tres grandes grupos arcos, presillas y verticilos (Figura 1). Los dibujos dactilares pueden ser divididos en subgrupos, con base a diferencias menores que existen entre ellos.

Estudios adelantados por Abramova *et al.* (2003) permiten establecer que en deportes cíclicos de velocidad a la fuerza, se asocia con los dibujos dactilares arcos y presilla y menor número de crestas. De otro lado, los dibujos dactilares más complejos y con el mayor número de crestas son propios de aquellos deportes con altas exigencias coordinativas. Una posición intermedia en relación con la complejidad de los dibujos dactilares y el número de crestas es propia de los deportes orientados a la resistencia.



Arco

Se clasifica con la letra A, es el primer tipo del sistema, está formado por líneas papilares más o menos paralelas a la base del pliegue de flexión de la tercera falange, que atraviesan el dactilograma de un extremo a otro y carece de deltas, líneas directrices y núcleo.



Presilla

Se clasifican con la letra L, está formada por un delta que se encuentra ubicado a la derecha del observador y sus líneas directrices que envuelven a las nucleares se dirigen hacia la izquierda.



Verticilo

Se clasifica con la letra V, es el último tipo del sistema, esta formado por dos deltas, uno a la derecha y el otro a la izquierda y sus líneas directrices circunscriben al núcleo en diferentes formas.

Figura 1. Impresiones dactilares, según su dibujo arcos, presillas y verticilos (Tomado de Guzmán, 2003; Fonseca *et al.* 2008; Martínez *et al.* 2012; Abramova *et al.* 1996; Nishioka *et al.* 2007; João & Fernandes Filho, 2002).

El pronóstico del fenotipo, con base en las manifestaciones del genotipo, conforma la primera posibilidad de modificar la vida de las personas. Cuando se inicia el proceso de selección y de orientación a tempranas edades, la genética ofrece información valdeada, acertada y confiable, que permite a los individuos disponer adecuadamente las habilidades, las capacidades y la predisposición que tiene para la realización de una actividad determinada.

Actualmente, la selección deportiva se basa en parámetros morfofuncionales, volitivos y técnicos propios de la ontogénesis: complejión corporal, estado psicológico, cualidades físicas, cambios durante los procesos de crecimiento y maduración biológica (Leiva, 2010). Las investigaciones sobre los criterios genéticos relacionados con las cualidades físicas, generalmente, son de poca aplicación práctica, dado que son en su mayoría invasivos y de difícil consecución.

El somatotipo es una descripción semi – cuantitativa de la forma relativa actual de la composición corporal, la cual,

se expresa en tres (3) valores numéricos, representando el componente físico: Endomorfia, Mesomorfia y Ectomorfia (Carter & Heath, 1990), siendo este utilizado, entre otras, para describir y comparar los atletas en los diferentes niveles de preparación, puntualizar los cambios físicos durante el crecimiento y comparar la forma relativa de hombres y de mujeres (Carvalho *et al.* 2005), por ende, es uno de los métodos de caracterización deportiva.

Las condiciones físicas reflejan las posibilidades motoras del individuo, determinadas genéticamente y por la oscilación de las diferencias ontogénicas, las cuales, se manifiestan claramente en el entrenamiento de alto nivel (Leiva, 2010).

El atletismo es uno de los deportes en los que la predisposición genética cumple un papel fundamental a la hora de seleccionar los talentos y el entrenamiento cada vez es más exigente y las marcas más difíciles de superar; sin embargo, continua en ascenso y sigue siendo uno de los deportes que más medallas y espectáculo brinda al público. Se divide en

pruebas de pista y de campo (Silva, 2002); está clasificado dentro de los deportes de tiempo y marca; en la pista están contempladas las pruebas de velocidad o sprints, donde se recorren distancias entre los 100 y los 200 m, en masculino y femenino; en estas la salida es baja, con el apoyo de unos tacos, que rompen la inercia y permiten que el atleta tenga un inicio potente (Casanovas, 2000).

En los últimos años, Colombia ha tenido un gran avance en las pruebas de velocidad, logrando figuraciones en los diferentes eventos internacionales. Dado este progreso de los atletas colombianos, se hace necesario identificar las características dermatoglíficas y somatotípicas, que permitan definir características predominantes en la velocidad en ambos géneros, con el fin de detectar talentos para dicha modalidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio, se diseñó teniendo en cuenta las reglas de investigación en seres humanos o con muestras de origen humano (Resolución N° 008430 de 1993, Resolución No. 01 de 2008. Ministerio de Salud).

Muestra: La muestra estuvo constituida por los participantes en los Juegos Panamericanos Guadalajara 2011 en atletismo, tanto en la rama masculina ($n = 3$) como femenina ($n = 5$), en las pruebas de velocidad.

Protocolos: Para verificar las características dermatoglíficas fue utilizado el método de Cummins & Midlo (1963); la recolección de impresiones digitales, se realizó cubriendo de tinta las falanges distales, haciendo una rodada uniforme en las planillas diseñadas para este proceso.

Una vez realizado el dibujo dactilar, ser clasificado y haber realizado el conteo de crestas, se logró determinar la predisposición del sujeto para la realización de un deporte, en especial, aplicando la siguiente fórmula, establecida por Cummins & Midlo (1963), analizando variables cualitativas (diseños) y cuantitativas (SQTL, D10):

a) Los diseños de las falanges distales de las manos (Arcos, Presillas y Verticilos). Cantidad de diseños en los dedos de las manos derecha e izquierda Complejidad en los diseños de los diez dedos de las manos (D10), calculada por la ecuación:

$$D10 = \sum L + 2\sum W$$

Dónde: Arcos (A) 0 puntos, por ello no aparecen en la ecuación; Presillas (L) 1 punto; Verticilos (W) 2 puntos

b) Cantidad de líneas. Se cuenta cada cresta que cruza o toca la línea imaginaria (Línea de Galton), trazada desde

el delta hasta el núcleo, sin incluir la cuenta del delta o del núcleo; con base a la cantidad de líneas de todos los dedos de las manos, se calcula SCTL, que es la sumatoria de la cantidad de líneas (Dantas, 2012; Castanhede *et al.* 2003).

La valoración del somatotipo fue obtenida, a través de la técnica utilizada para medida de los pliegues cutáneos, de las circunferencias y de los diámetros óseos, según las recomendaciones del método de Carter & Heath (1990).

Para la determinación de las medidas que componen el somatotipo fueron tenidos en cuenta los pliegues cutáneos: subescapular, tricripital, suprailíaco, abdominal, muslo y pierna; utilizando el calibrador de pliegues Lange, calibrado a una presión de 0,2 mm, un rango de 90 mm y una graduación de 0,1. La medición de diámetros óseos: biestiloideo, biepicondilo humeral (codo) y biepicondilo femoral (rodilla), utilizando un antropómetro, con una longitud de escala de 0-2100 mm, para los perímetros del brazo y para la pantorrilla, una cinta métrica genérica. El peso corporal fue por medio de una báscula digital, marca TANITA Ironman Modelo: BC – 558 y la talla, con un estadiómetro de pared marca.

Para las mediciones de adipometría, se usó el protocolo de Carter (2002), siguiendo las indicaciones, identificando y evaluando los pliegues tricripital, subescapular, suprailíaco, abdominal, muslo, pierna. Todas las mediciones se tomaron en el lado derecho y se esperaron dos segundos para tomar el registro de la medición.

Se determinó el % de grasa corporal con las siguientes ecuaciones.

$$\text{Hombres \% de Grasa} = 6 \text{ PC} \times 1,051 + 2,59$$

$$\text{Mujeres \% de Grasa} = 6 \text{ PC} \times 0,1548 + 3,58$$

En donde los perímetros se tratan de medidas lineales realizadas circunferencialmente a distintos segmentos corporales, como Muslo, Pantorrilla, Antebrazo, Brazo, Cintura, Cadera y Abdomen y los diámetros son las medidas corporales tomadas en sentido horizontal, para las cuales, se utilizó un antropómetro Swiss Made, con una longitud de escala de 0-2100mm. Los diámetros antropométricos fueron biestiloideo, biepicondílar, del humero y biepicondílar, del fémur.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos recogidos durante el presente estudio, se muestran en la tabla 1:

Al comparar los resultados entre el estudio realizado por Dos Santos *et al.* (2007) con atletas de velocidad de Brasil y los deportistas del presente estudio (Tabla 2), existen gran

Tabla 1. Resultados estadísticos de las variables analizadas.

	Mujeres (n = 5)		Hombres (n = 3)	
	Media	Desviación	Media	Desviación
Edad	23	1,41	22,33	2,52
Estatura	1,72	0,09	1,76	0,05
Peso	63,36	3,34	74,8	7,35
% Grasa	13,4	0,89	8	2
Ectomorfia	3,04	1,43	2,053	0,25
Mesomorfia	3,1	1,60	4,09	1,01
Endomorfia	3,25	0,59	2,66	1,28
Arco	0	0,00	0,67	1
Presilha	7,8	2,17	6,7	1,15
Verticilo	2,2	2,17	3	1,15
D10	12,2	2,17	12	2
SQTL	130,4	36,15	123	19,16

similitud en los resultados obtenidos, en el proceso de evaluación de la dermatoglifia y del somatotipo, en cuanto a los varones. Los dibujos dactilares Arco presentan una marcada ausencia en la generalidad de deportistas; los dibujos Presila son un 3% superiores en atletas colombianos; los Verticilo son iguales en ambas muestras; en el D10, los brasileiros dominan un 7,7%; en el SQTL, se aprecia una diferencia de 5,4% a favor de los atletas brasileiros (menos líneas), donde corroborado con la literatura (Abramova *et al.* 1990), los predispone más a esfuerzos explosivos e intensos. En las variables de somatotipo, la diferencia más marcada se encuentra en el ectomorfismo, siendo de 25,5%, en la cual, los atletas brasileiros son más longilíneos, en cuanto al endomorfismo; la diferencia es de 12,1% y en el mesomorfismo de 0,2%, siendo estas dos últimas poco significativas, pero sin dejarlas de lado, dado que pueden ser determinantes en el deporte de altos logros.

En las damas, los Arcos no presentan ninguna diferencia (ausencia total), mientras en las Presilas, se aprecia una diferencia de 2,5%, siendo las seleccionadas brasileiras favorecidas

Tabla 2. Comparación de las variables dermatoglíficas y somatotípicas.

	Hombres Brasil	Hombres Colombia	Mujeres Brasil	Mujeres Colombia
N	14	3	5	5
Arco	0	0,67	0	0
Presila	6,5	6,7	8	7,8
Verticilo	3	3	2	2,2
D10	13	12	12	12,2
SQTL	130	123	105	130
Endo	2,33	2,65	2,61	3,25
Meso	4,1	4,09	4,25	3,1
Ecto	2,75	2,05	4,14	3,03

por esta heterogeneidad (mayor dibujos en estas); en los Verticilos, la desigualdad es de 9,1%, teniendo mayor cantidad las colombianas; en el D10 es de 1,6%, siendo más alto el de las colombianas y el SQTL, es superior 19,2%, en favor de las brasileiras (menos líneas). En cuanto a las variables de la composición corporal, se presentan notables diferencias; en el endomorfismo, la diferencia es de 19,7%, mesomorfismo 27,1% y en el ectomorfismo de 26,8%, siendo las brasileiras más magras, musculosas y más longilíneas.

Los gráficos 1A y B son la normalización de los resultados en ambos géneros, donde los límites se hallaron con las siguientes ecuaciones:

$$= (\text{Dato} - \text{Min.}) / (\text{Max.} - \text{Min.})$$

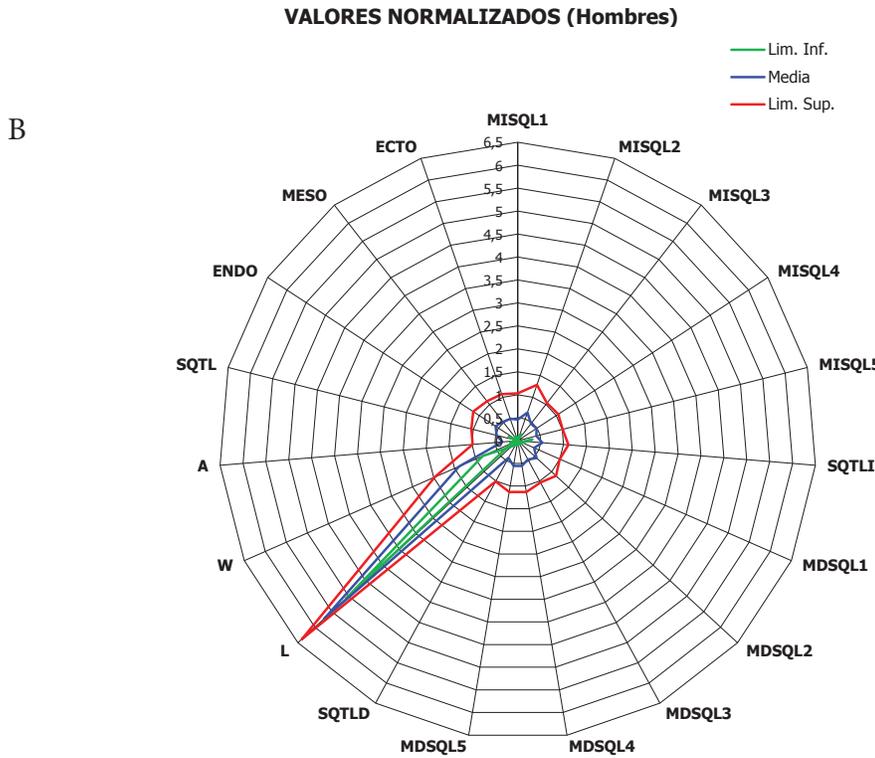
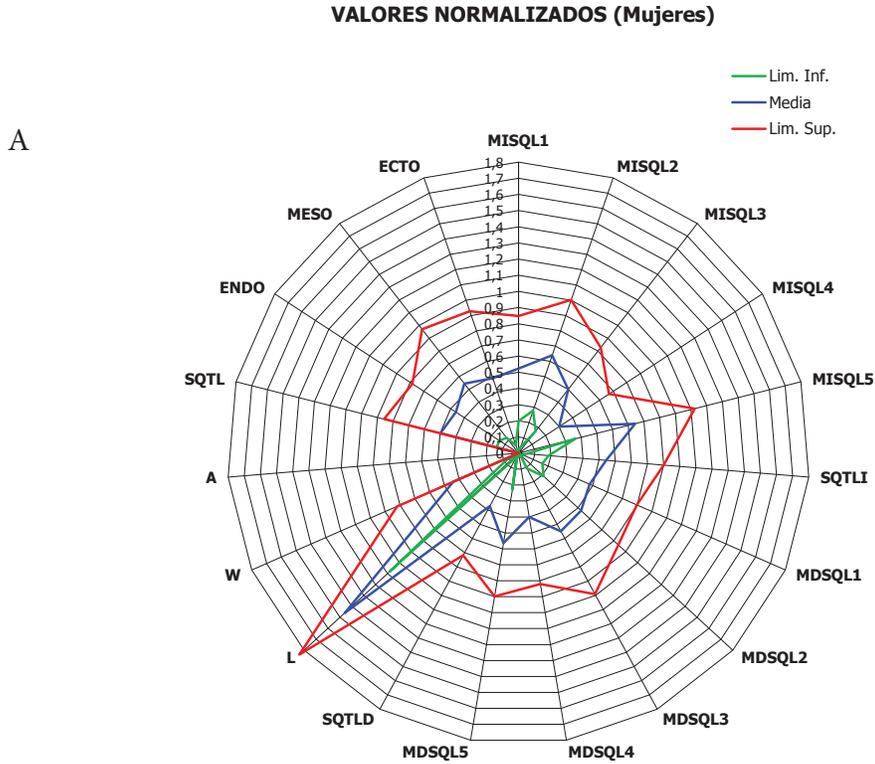
Y, finalmente, se normalizan los límites:

$$\text{Lim. Inf.} = X - ((1,96 * S) / (n^{(1/2)}))$$

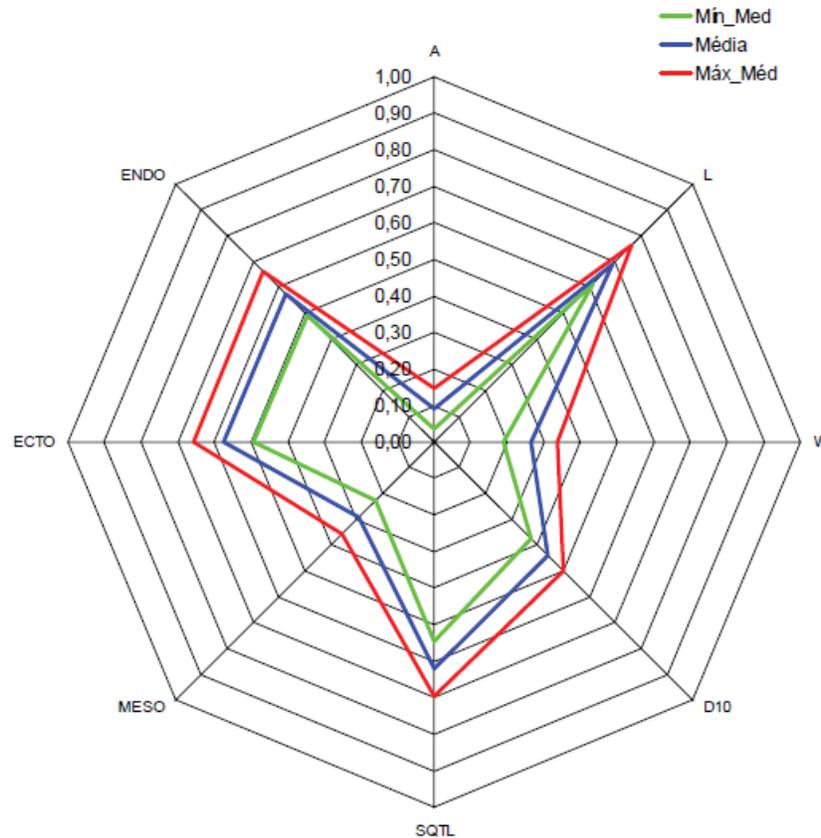
$$\text{Lim. Sup.} = X + ((1,96 * S) / (n^{(1/2)}))$$

De la normalización y análisis de los datos por individuo, se genera la gráfica 1A: Mujeres y gráfica 1B: Hombres, que permiten tener un panorama grupal sobre las condiciones de somatotipo y dermatoglifia y establecer un modelo gráfico preliminar, para orientar el proceso en la selección de talentos, para pruebas de velocidad.

Al comparar las gráficas obtenidas en el presente estudio con los realizados por Castanhede *et al.* (2003) (Gráfica 2) en fútbol, Fonseca *et al.* (2008), en voleibol y Carvalho *et al.* (2005), en atletismo de resistencia, se aprecia que en to-



Gráfica 1. Radar con los valores normalizados: A. Damas; B. Hombres. MISQL= Mano Izquierda Sumatoria Líneas; MD-SQL= Mano Derecha Sumatoria Líneas; SQTLI= Sumatoria Total Líneas Mano Izquierda; SQTLD= Sumatoria Total Líneas Mano Derecha; SQT= Sumatoria Cantidad Total de Líneas; L= Presilla; W= Verticilo; A= Arco; Ecto, Meso & Endo= Somatotipos.



Gráfica 2: Fútbol de Campo Masculino de Alto Rendimiento, Río de Janeiro (Castanhede *et al.* 2003).

das las muestras presentadas hay ausencia de Arcos, lo cual, corrobora su nivel deportivo (Alto Logros), los deportes de conjunto (Fútbol y Voleibol), se caracterizan por una mayor presencia de Presilas y, en el deporte cíclico (Atletismo de Fondo), existe una equivalencia entre los diseños Presila y Verticilo. En lo referente a las variables cuantitativas, en el SCTL existe una similitud en las disciplinas discutidas, encontrándose en el nivel medio bajo y en el D10, en los deportes de pelota, se aprecian valores bajos, mientras en el atletismo su calificación es media alta. En cuanto al somatotipo, en deportes de conjunto, predomina un estado mesoectomorfo, presentándose diferencias, dependiendo de la posición que desempeñe el jugador y, en deportes cíclicos de larga duración, la composición corporal predominante será el ectomesomorfo, con un mínimo componente endomórfico. En cuanto a deportes de velocidad, se caracterizaron los patinadores venezolanos velocistas participantes en JJ.NN. (Lozano *et al.* 2006), de 2005, donde se encontró la predominancia en varones del somatotipo mesoendomorfo y, en damas, endomesomorfo.

Agradecimientos: Al Prof. Dr. José Fernandes Filho, por su apoyo en la normalización de los datos y la construcción de

los radares; al Prof. Dr. Jaime Humberto Leiva Deantonio, por el apoyo bibliográfico; a la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, por el apoyo financiero para la realización de la siguiente investigación. **Conflicto de Intereses:** Los autores declaran que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

1. ABRAMOVA, T.; NIKITINA, T.; KOCHETKOVA, N. 2003. Orientación de la investigación científica en el laboratorio de antropología deportiva, morfología y genética del VNIIFK. *Teoría Práct. Cult. Fís.* 10:39-41.
2. ABRAMOVA, T.; NIKITINA, T.; OZOLIN, H. 1996. Posibilidades del empleo de la dermatoglífa dactilar en la selección deportiva. *Teoría Práct. Cult. Fís.* 3:8-14.
3. ABRAMOVA, T.; JDANOVA, A.; NIKITINA, T. 1990. Impresiones Dermatoglíficas y Somatotipo: Marcas de Constitución de Diferentes Niveles. *Actualidades Mé-*

- dicas y Antropológicas en el Deporte. Moscú. Cap. 2. p.94-95.
4. AGUDELO, C. 2012. Planificación del entrenamiento deportivo por modelación. Ed. Kinesis. Armenia. p.25-41.
 5. BOUCHARD, C. 2007. Determinantes genéticos del rendimiento en resistencia. En: Shepard, R.; Astrand, P. La resistencia en el deporte. Ed. Paidotribo. Badalona, España. p.159-172.
 6. CARTER, J. 2002. The Heath-Carter Anthropometric Somatotype - Instruction Manual. Department of Exercise and Nutritional Sciences. San Diego State University. p.2-3.
 7. CARTER, J.; HEATH, B. 1990. Somatotyping - Development and Applications. Cambridge. Cambridge University Press. p.20-50.
 8. CARVALHO, E.; FERNANDES FILHO, J.; NOVAES, J.S. 2005. Perfis dermatoglífico, somatotípico e fisiológico dos atletas de alto rendimento, participantes de corrida de resistência, no Rio de Janeiro. *Fitness & Perform. J.* 4(3):168-174.
 9. CASANOVAS, J. 2000. Enciclopedia visual de los deportes, Ed. Sport. Vol. 6, p.8-15.
 10. CASTANHEDE, A.L.K.; DANTAS, P.M.S.; FERNANDES FILHO, J. 2003. Perfil dermatoglífico y somatotípico, de atletas de fútbol de campo masculino, de alto rendimiento em Rio de Janeiro - Brasil. *Fitness & Perform. J.* 2(4):234-239.
 11. CHAKRABORTY, R. 1991. The role of heredity and environment on dermatoglyphic traits. *Dermatoglyphics: Science in transition. Birth Defects Original Article Series.* 27(2):151-191.
 12. CUMMINS, H.; MIDLO, C.H. 1963. Finger prints, palms and soles. An introduction to dermatoglyphics. *Dover Publ.* 319p.
 13. DANTAS, E. 2012. La práctica de la preparación física. Ed. Paidotribo. Barcelona. p.227-383.
 14. DE ANTON, F.; DE LUIS, J. 2004. Sistema Inglés. En *Policía científica.* 4ª ed. Valencia: tirant lo Blanch. p.423-459.
 15. DOS SANTOS, L.; SILVA DANTAS, P.; FERNANDES FILHO, J. 2007. Características genotípicas e fenotípicas em atletas velocistas. *Rev. Desporto e Saúde da Fundação Técn. Cient. Desp.* 4(1):49-56.
 16. FERRÃO, M.L.D.; FILHO, J.F.; FORTES, M.S.R.; VIANA, M.V.; DANTAS, E.H.M. 2004. Efecto de la predominancia del tipo de fibra muscular sobre la pérdida de peso y el acondicionamiento aeróbico. *Fitness & Perform. J.* 3(4):231-235.
 17. FONSECA, C.L.T.; DANTAS, P.M.S.; FERNANDES, P.R.; FERNANDES FILHO, J. 2008. Perfil dermatoglífico, somatotípico e da força explosiva de atletas da seleção brasileira de voleibol feminino. *Fitness & Perform. J.* 7(1):35-40.
 18. GARCÍA MANSO, J. 2003. El talento deportivo: Formación de élites deportivas. Ed. Gymnos. p.17-28.
 19. GROSSER, M.; BRÜGGEMANN, P.; ZINTL, F. 1990. Alto rendimiento deportivo: planificación y desarrollo. Ed. Martínez Roca. Barcelona. España. p.25-35.
 20. GUZMÁN, C. 2003. Manual de criminalística, Buenos Aires: Ed. La Rocca. 624p.
 21. HAHN, E. 1988. Entrenamiento con niños: teoría, práctica, problemas específicos. Ed. Martínez Roca. 165p.
 22. JOÃO, A.; FERNANDES FILHO, J. 2002. Identificação do perfil genético, somatotípico e psicológico das atletas brasileiras de ginástica olímpica feminina de alta qualificação esportiva. *Fitness & Perform. J.* 1(2):12-19.
 23. LEIVA, J. 2010. Selección y orientación de talentos deportivos Ed. Kinesis. Armenia. p.71-76.
 24. LOZANO, R.; CONTRERAS, D.; NAVARRO, L. 2006. Descripción antropométrica de los patinadores de velocidad sobre ruedas participantes en los Juegos Deportivos Nacionales de Venezuela, Diciembre de 2005. *EFDeportes.com, Rev. Digital.* Buenos Aires. 11(102). Disponible desde Internet en: <http://www.efdeportes.com/efd102/patin.htm> (con acceso 08/03/2013).
 25. MARLAND, S. 1972. La educación de los superdotados y talentosos: documentos Informe al Congreso de los Estados Unidos por el Comisionado de Educación de EE.UU. y de antecedentes presentados a la Oficina de Educación de EE.UU., 2 vols. Washington, DC: Imprenta del Gobierno de EE.UU. (Documentos de Gobierno Y4.L 02.11: G36).

26. MARTÍNEZ LAGUNA, L.E.; TAMARIT MEDRANO, R.; RANGEL MAYOR, L. 2012. El empleo de marcadores genéticos en el proceso de selección de talentos. EFDeportes.com, Revista Digital. Buenos Aires. 17(171). Disponible desde Internet en: <http://www.efdeportes.com/efd171/marcadores-geneticos-en-seleccion-de-talentos.htm> (con acceso 019/01/2013).
27. NISHIOKA, G.A.C.; DANTAS, P.M.S.; FERNANDES FILHO, J. 2007. Perfil dermatoglífico, somatotípico y de las cualidades físicas básicas de los bailarines becarios del Centro de Movimiento Deborah Colker. *Fitness & Perform. J.* 6(5):331-337.
28. ROVER, C.; NODARI JUNIOR, R.J. 2012. Perfil dermatoglífico dos atletas participantes de modalidades coletivas dos Jogos Universitários Brasileiros – JUBs 2011. *Unoesc & Ciência – ACBS.* 3(2):143-154.
29. RUIZ, L.; SÁNCHEZ, F. 1997. Rendimiento Deportivo. Claves para la Optimización de los Aprendizajes. Editorial Gymnos. Madrid. p.23-54.
30. SILVA. 2002. Diccionario básico del deporte y la educación física. Editorial Kinesis. Armenia, Colombia. p.41-42.
31. ZATSIORSKI, V. 1989. Metrología deportiva. Moscú, Editorial Planeta. p.278-287.

Recibido: Enero 14 de 2013

Aceptado: Abril 3 de 2013

ACCIDENTALIDAD POR RIESGO BIOLÓGICO EN LOS ESTUDIANTES DE ENFERMERÍA DE LA UNIVERSIDAD DE CIENCIAS APLICADAS Y AMBIENTALES U.D.C.A, BOGOTÁ, COLOMBIA

BIOHAZARD ACCIDENTALITY OF NURSING STUDENTS IN THE UNIVERSITY OF APPLIED AND ENVIRONMENTAL SCIENCES U.D.C.A, BOGOTA, COLOMBIA

Margarita María Orozco¹

¹ Enfermera. Especialista en Gerencia de la Salud Ocupacional, Docente U.D.C.A, dirección para correspondencia: Calle 222 No. 55-37 Bogotá. D.C. Colombia. e-mail: morozco@udca.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 27 - 33, 2013

RESUMEN

La Enfermería es una disciplina enfocada al cuidado del paciente, la familia y la comunidad. Al ofrecer el cuidado, los estudiantes se exponen permanentemente a microorganismos biológicos causantes de enfermedades, debido a que su actividad implica el contacto directo con pacientes, potencialmente infecciosos. La probabilidad de un accidente por riesgo biológico en las prácticas clínicas es alta, por la falta de habilidad y de destreza al encontrarse en un proceso de formación profesional. El accidente expone al estudiante a adquirir enfermedades infecciosas importantes, como el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), la Hepatitis B y C (VHB, VHC), entre muchas otras, además del impacto psicosocial que genera en el alumno. Se realizó un estudio descriptivo, mediante la aplicación de una encuesta a 77 estudiantes, cuyo objetivo fue caracterizar los accidentes por riesgo biológico en las prácticas clínicas e identificar los conocimientos sobre accidentalidad en los alumnos de Enfermería de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A. Los resultados muestran un 15% de accidentes en las prácticas asistenciales, el tipo de exposición más frecuente fueron las lesiones percutáneas o pinchazos con elementos cortopunzantes (40%) y las salpicaduras (30%), la actividad de enfermería más relacionada con la exposición fue la administración de medicamentos (70%) y la causa principal del accidente, el estrés y la alta carga de actividades al ofrecer el cuidado de Enfermería (70%). Se resalta la importancia del autocuidado y las medidas de bioseguridad, como herramienta fundamental frente a la prevención de la exposición biológica.

Palabras clave: Personal de enfermería, estudiantes de enfermería, riesgo biológico, accidente biológico.

SUMMARY

Nursing is a discipline focused on patient care, family and community. By providing the care, the students are permanently exposed to disease-causing biological microorganisms, since their activity involves direct contact with potentially infectious patients. The probability of an accident by biohazard in clinical practice is high due to their lack of skills and ability, being still in a training process. The accidents expose students to acquire important infectious diseases such as Human Immunodeficiency Virus (HIV), Hepatitis B and C (HBV, HCV), among many others, in addition to the psychosocial impact it has on the student. A descriptive study was performed by applying a survey to 77 students, with the goal to characterize the accidents with biological risk in clinical practice and identify the knowledge of possible accidents in nursing students at the University of Applied and Environmental Sciences U.D.C.A. The results showed a 15% of accidents in health care practices, being the most common type of exposure percutaneous injuries with sharps or needles (40%) and splash (30%). The nursing activity most related to exposure was medication administration (70%) and the main cause of accidents, stress and high load of activities to provide nursing care (70%). The importance of self-care and biosecurity measures as a fundamental approach to prevention of biological exposure.

Key-words: Nursing Staff, students, biohazard, biological accident and biosecurity measures.

INTRODUCCIÓN

“El Riesgo Biológico se define como la exposición o contacto con sangre o fluidos corporales como orina, líquido amniótico, líquido pleural, entre otros que pueden estar contaminados con gérmenes infecciosos como bacterias, virus, hongos o parásitos”, según Occupational Safety Health Administration OSHA (2003) y constituye uno de los riesgos más frecuentes y de mayor relevancia a nivel hospitalario. La exposición biológica puede generar infecciones causadas por diversos agentes, especialmente, virus y bacterias, que genera una amenaza permanente para el personal de la salud y, en especial, para los estudiantes de enfermería que, en su actividad diaria, deben manipular fluidos con riesgo biológico.

La exposición o accidente por riesgo biológico, se puede definir como una lesión percutánea producida por un pinchazo o un corte con un objeto afilado o corto punzante: de igual manera, el contacto con mucosas o piel no intacta (que presenta lesiones) con sangre, tejidos u otros líquidos corporales, que pueden ser potencialmente infecciosos y ponen en riesgo el personal de salud, para el contagio con enfermedades (CDC, 2001).

Se han detectado más de veinte enfermedades infectocontagiosas de origen biológico, que pueden ser adquiridas en el ambiente hospitalario; sin embargo, las principales enfermedades a las que se expone frecuentemente el personal de salud por el contacto con sangre o fluidos corporales de sus pacientes son: el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), Hepatitis B (VHB), Hepatitis C (VHC). Según el CDC (2001), el riesgo de infectarse con el virus de la Hepatitis B (VHB) en un accidente laboral, a través de una aguja que contenga sangre contaminada es del 6 al 30%; el riesgo de contagio con el virus de Hepatitis C (VHC) es del 3% y para el virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), del 0,3%. Asimismo, en los contactos cutáneos mucosos a los ojos, nariz, o boca con sangre contaminada con VIH, el riesgo es en promedio del 0,1%.

De acuerdo con datos estimados de OSHA (2003), más de 5,6 millones de trabajadores del cuidado de salud y de seguridad pública en el mundo pueden estar potencialmente expuestos a estos tipos de virus.

Aproximadamente, cada año, ocurren entre 500.000 a 600.000 accidentes con riesgo biológico en Estados Unidos, Canadá y Alemania, individualmente. La frecuencia en nuestro país no se ha calculado para el personal de salud, ni para los estudiantes; solamente existen datos aislados en las distintas Instituciones Prestadoras de Servicios de Salud (IPS) y en las Administradoras de Riesgos Laborales (ARL).

Con el fin de prevenir este tipo de accidentes, el CDC (2001) implementó en 1987, con posteriores actualizaciones, la estrategia de las precauciones universales de bioseguridad y múltiples campañas educativas creadas para aumentar el conocimiento sobre el riesgo biológico y prevenir la exposición del mismo.

El conocimiento de los mecanismos de exposición, los riesgos de transmisión y los métodos de prevención pueden ayudar a los trabajadores de la salud y al personal que labore en los ambientes hospitalarios, a crear un entorno laboral seguro (Tapias *et al.* 2010).

Las investigaciones demuestran que los estudiantes del área de la salud y, especialmente los de enfermería, no están libres del riesgo de sufrir un accidente biológico (Díaz & Cadena, 2003). Además, la práctica en enfermería implica un alto riesgo de accidentes y la probabilidad de adquirir enfermedades infectocontagiosas es de alto impacto, porque sus prácticas clínicas les exige la necesidad de utilizar elementos cortantes o punzantes, el contacto permanente con pacientes potencialmente infectantes y la manipulación de sangre y fluidos corporales, en las actividades de brindar el cuidado de enfermería (Rodríguez *et al.* 2008; Rubio *et al.* 2008)

Además de lo anterior son factores que se aducen como explicación a la ocurrencia de accidentes, la inexperiencia y el escaso desarrollo de habilidades manuales, propias del ejercicio, al encontrarse en un proceso de construcción del conocimiento (Ortiz, 2003); asimismo, la percepción del riesgo a nivel individual y colectivo, la actitud hacia la bioseguridad y la falta de adherencia a la utilización de los elementos de protección personal (Herrera & Gómez, 2003).

En Latinoamérica son escasas las investigaciones que refieren la accidentalidad biológica en los alumnos de enfermería; no obstante, estudios revisados a nivel nacional e internacional, en estudiantes de diferentes áreas de la salud, evidencian un alto porcentaje de accidentalidad biológica en los de enfermería, comparado con los demás del área de la salud (Fica *et al.* 2010; Franco *et al.* 2007). De igual manera, según se afirma, del 65 al 70% de los accidentes ocurren en el personal de enfermería (Soto & Olano, 2004).

Los estudios, además de evidenciar una importante accidentalidad en los estudiantes, demuestran que el accidente por punción o por percutáneo con elementos cortopunzantes, es la primera causa de exposición, seguido del contacto directo y salpicaduras con sangre o con fluidos corporales (Ortiz, 2003; Romero *et al.* 2007).

De esta manera, las principales actividades de enfermería involucradas en la exposición biológica son la administración de medicamentos y la realización de procedimientos propios

de enfermería. En relación a la evaluación del riesgo, evaluado como alto, en la mayoría de los estudios (Herrera & Gómez, 2003).

Los estudiantes de la Facultad de Enfermería de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, inician sus prácticas clínicas en el segundo semestre de la carrera y se ha identificado que podría existir un importante riesgo de accidentes de origen biológico por varios factores, como el contacto permanente con pacientes en turnos de 8 horas diarias, la falta de habilidad para realizar procedimientos propios de la profesión y la falta de adherencia a las medidas de bioseguridad.

La problemática es mucho más compleja, porque el Sistema de Riesgos Laborales de nuestro país al no considerarlos como fuerza laboral, los cubre mediante una póliza estudiantil, que solamente los cubre, de manera parcial, de las contingencias derivadas de un accidente de trabajo, pero no de una futura enfermedad laboral y sus consecuencias a nivel físico, psicológico y social. Problema abordado en otros estudios como el realizado por Herrera & Gómez (2003).

La situación anterior pone al descubierto la magnitud del problema que representa para los estudiantes y para la Universidad, la posibilidad latente que estos adquieran una enfermedad grave, como resultado de un accidente biológico, sucedido durante la práctica clínica.

Por la problemática expuesta anteriormente sobre la exposición al riesgo biológico en los estudiantes de enfermería durante sus prácticas clínicas y sus graves consecuencias, además, los escasos estudios investigativos sobre el tema dirigido a la población objeto de estudio, se desarrolló esta investigación, cuyos objetivos fueron caracterizar la accidentalidad biológica e identificar los conocimientos sobre riesgo y accidente biológico en los estudiantes de la facultad de enfermería, con el fin de proponer medidas de prevención y control para mejorar la seguridad y el bienestar de los estudiantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio descriptivo, de corte transversal, que caracterizó la accidentalidad por riesgo biológico en las diferentes prácticas de enfermería: cuidado básico, materno infantil, niño y adolescente, adulto y anciano, salud ocupacional, salud mental y psiquiatría y programas especiales, de los de estudiantes de segundo a noveno semestre de la Facultad Enfermería de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, en el periodo comprendido entre el primer semestre de 2007 y el primer semestre de 2011, en Bogotá, D.C.

La población estuvo constituida por 308 estudiantes; como

criterios de inclusión, se tuvo en cuenta que se encontraran matriculados de segundo a noveno semestre, inscritos en el primer periodo de 2011 y que hubieran realizado prácticas clínicas durante un período mínimo de un curso académico. Se excluyeron los estudiantes de enfermería de primer semestre, porque no habían realizado prácticas clínicas. La muestra seleccionada fue de 77 estudiantes, que se obtuvo a partir de un muestreo aleatorio simple y se calculó con una confiabilidad del 95% y un error del 10%, con la siguiente fórmula:

$$n = \frac{N z^2 pq}{(N - 1)e^2 + z^2 pq}$$

El instrumento aplicado fue una encuesta estructurada, voluntaria y anónima realizada por la autora y validada por pares académicos, la cual, contenía 16 preguntas, tipo selección múltiple: las variables utilizadas fueron edad, sexo, semestre académico, número de accidentes, notificación, esquema de vacunación, tipo de exposición, actividades realizadas en el momento de accidentarse, causas, conocimientos de bioseguridad, riesgo, accidente biológico, factores de riesgo biológico en las prácticas y protocolo postexposición, preguntas direccionadas a caracterizar la accidentalidad e identificar los conocimientos sobre riesgo y accidente biológico. Para la validación de la encuesta, se aplicó, previamente, una prueba piloto, a una submuestra de estudiantes de características similares a los encuestados; se hicieron modificaciones y ajustes a dos preguntas, hasta llegar al instrumento final.

La investigación tuvo como referencia la Resolución N° 8430 de 1993, por la que se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Fue considerada de riesgo bajo, porque no representó ningún riesgo para la población del estudio; de igual manera, se prevaleció el respeto a su dignidad, la protección de sus derechos y su bienestar. Con anticipación a la realización de la entrevista, se les aplicó a los estudiantes un consentimiento informado por escrito y se les explicó verbal y claramente sobre los objetivos y las características de la investigación; además, se les garantizó la confidencialidad de toda la información recolectada.

Para el análisis, la información fue procesada mediante el programa SPSS (Científica Packet Social Statistic), versión 11.0 para Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el estudio, el 100% de la población encuestada pertenecía al género femenino, situación esperada en una profesión predominantemente femenina; el 70% se encontraba en un rango de edad entre los 21 y los 26 años. En cuanto al se-

mestre que cursaban, el 50% de la muestra estaban matriculados entre el segundo al quinto semestre y el 50%, de sexto a noveno semestre.

Las Instituciones Prestadoras de Servicios de Salud IPS donde los estudiantes se hallaban realizando las prácticas fueron el Hospital San Blas, 50%; el Hospital San Rafael de Facatativá, 30% y el Hospital la Victoria, 20%. La totalidad de la población encuestada contaba con EPS vigente al momento de aplicarse la encuesta.

El 15% de los encuestados manifestó haber presentado un accidente de origen biológico en el transcurso de su formación profesional; de estos estudiantes, el 90% reportó un accidente y, el 10%, dos o más. En cuanto al semestre, el 80% refirió declarar el accidente entre el segundo y el quinto semestre de la carrera y un 20%, entre sexto y noveno semestre de la carrera. De igual manera, los semestres donde se reportaron más accidentes biológicos fueron el tercero y el quinto, donde se ven los cursos de cuidado de enfermería materno infantil y cuidado de enfermería al adulto y anciano.

El comportamiento anterior puede ser ocasionado por la falta de habilidad y de destreza de los estudiantes durante los primeros semestres de la carrera, en donde se realiza el aprendizaje de actividades propias del cuidado de enfermería, como la administración de medicamentos y la realización de procedimientos básicos.

Los encuestados refirieron la posibilidad de un importante subregistro por el desconocimiento del proceso de notificación, la baja percepción del riesgo o por temores de índole académico hacia los docentes, con quien realizan sus prácticas.

La información anterior es corroborada con resultados de otros estudios nacionales e internacionales, como Warley *et al.* (2009) y Saliba *et al.* (2009), quienes encontraron una importante incidencia de accidentes de origen biológico y un riesgo relativo mayor en los estudiantes de enfermería, respecto a otras carreras de la salud (Fica *et al.* 2010).

En cuanto al tipo de exposición y similar a otros estudios, como el de Fica *et al.* (2010) y Ortiz (2003), en el presente trabajo predominó la exposición percutánea, como los pinchazos, con un 40%, las salpicaduras a piel intacta, con un 30% y el contacto directo de sangre o fluidos corporales con piel no intacta, en un 30%.

Es importante destacar que la exposición percutánea es la más frecuente en enfermería, por la manipulación permanente de elementos cortopunzantes en las actividades y en los procedimientos propios de la profesión (Saliba *et al.* 2009). De igual manera, un porcentaje alto de accidentes

por salpicadura puede indicar dificultades, bien sea por falta de capacitación o hábitos para incorporar las medidas de precaución universal, en las actividades que realizan los estudiantes en sus prácticas (Fica *et al.* 2010).

Entre las actividades que realizaban en el momento del accidente, el 70% respondió las relacionadas con la administración de medicamentos (incluye la preparación y la administración), un 20% refirió procedimientos propios de enfermería, como la curación de heridas y un 10%, otra actividad diferente. La información obtenida demuestra que la administración de medicamentos, se constituye en la principal actividad relacionada con la accidentalidad en enfermería y coincide con el estudio de Romero *et al.* (2007).

Al respecto de las causas de ocurrencia de los accidentes, el 70% de los estudiantes refirieron, en primer lugar, el estrés y la alta carga de trabajo o actividades; en segunda instancia, con un 20%, la falta de uso de elementos de protección personal y, por último, con un 10%, por descuido propio, resultados que coinciden con estudios, como el de Warley *et al.* (2009), quienes encontraron en su investigación que la sobrecarga de trabajo y la carencia de elementos de protección personal son las principales causas para no cumplir con las medidas de precaución universal y la posibilidad de accidentarse.

De igual manera, Tapias (2010) en su estudio, además del estrés por la alta demanda de trabajo, refiere otras condiciones no menos importantes, como la falta de concentración, la fatiga por horarios extendidos, la falta de sueño y la carga emocional por la muerte de los pacientes.

En lo concerniente a la falta de adherencia de los estudiantes a la utilización de los elementos de protección personal, se evidencia la necesidad de sensibilización y capacitación frente a las medidas de precaución universal, como herramienta indispensable para la prevención de accidentes biológicos.

Al analizar el riesgo de adquirir infecciones transmitidas por líquidos corporales, según el protocolo del CDC (2001), se registró que un 40% de los accidentes, se clasifican en riesgo alto (accidentes percutáneos o pinchazo), un 30%, riesgo medio (contacto directo a piel no intacta) y un 30%, riesgo bajo (salpicaduras contacto directo a piel intacta). Esta situación evidencia la problemática de este grupo poblacional y la vulnerabilidad para adquirir enfermedades de alto impacto, como el HIV y Hepatitis B, por la posibilidad de seroconversión. Cabe resaltar que el 90% de los estudiantes refirieron tener el esquema de vacunación completo.

En relación a la actuación postexposición, el 90% de los estudiantes respondieron que notificaron el accidente inmediatamente y lo hicieron a la docente de práctica. Estos datos son

sensiblemente superiores a los evidenciados por Ortiz (2003), quien en su estudio encontró que solamente un 34,5% de los estudiantes realizaron el reporte oportunamente.

En cuanto a los conocimientos de los estudiantes sobre riesgo biológico y accidentalidad, se evidenció que el 68% de los estudiantes conocen la definición correcta de riesgo biológico y el 52%, la definición de accidente biológico; asimismo, el 93% conoce los factores de riesgo biológico, a los cuales, se encuentra expuesto en sus prácticas.

Al indagarse sobre la claridad y el conocimiento de los protocolos de actuación, en caso de un accidente en las prácticas clínicas, el 80% respondió afirmativamente, comportamiento inferior al relacionado en otros estudios, como el de Guzmán *et al.* (2011).

En relación a los conocimientos sobre bioseguridad, se registró que un 30% de los estudiantes que se han accidentado conoce la definición correcta de bioseguridad y un 60% tiene conocimiento adecuado sobre las precauciones universales. Los anteriores resultados son similares a los presentados por Casanova *et al.* (2007).

De igual manera, en cuanto a los conocimientos que tienen los estudiantes sobre la acción prioritaria en caso de un accidente percutáneo por pinchazo, según lo recomendado por el CDC (2001), un 50% respondió correctamente lavar el sitio de punción exhaustivamente con abundante agua y jabón; referente a la pregunta sobre la acción prioritaria ante un accidente por salpicadura, el 75% respondió acertadamente: lavado exhaustivo con agua y jabón, en salpicaduras cutáneas y lavado con solución salina, en salpicaduras a mucosas.

Se puede resaltar que la falta de conocimientos puede ser una de las causas de accidentalidad, ya que un mejor conocimiento de las variables que convergen en el accidente, podría fomentar la prevención de la exposición.

Se concluye que la accidentalidad biológica en los estudiantes de enfermería de la U.D.C.A es similar a la de otros estudios. El riesgo que corren es alto, si se tiene en cuenta la probabilidad de adquirir enfermedades graves y la falta de cobertura en materia de riesgos laborales en nuestro país. Se resalta, como aspecto positivo, una importante notificación de los mismos.

La exposición percutánea es la más frecuente en los estudiantes, por la utilización de elementos cortopunzantes en la actividad de preparar y de administrar medicamentos, por este motivo es necesario formar a los estudiantes en la realización de prácticas seguras, para prevenir incidentes y accidentes de esta naturaleza.

La mayor accidentalidad en los estudiantes de los primeros semestres refleja la falta de habilidad y de destreza al realizar los procedimientos propios de la profesión y la falta de conocimientos en torno al riesgo biológico y los protocolos postexposición.

Aun, cuando en cada semestre de la carrera se aborda el tema de bioseguridad, los resultados obtenidos evidencian falta de conocimientos sobre el riesgo biológico y los protocolos pre y post exposición, por este motivo, se recomienda incluir estas temáticas, que son desarrolladas ampliamente cuando cursan séptimo semestre, en la asignatura de cuidado de enfermería en salud ocupacional, desde los primeros semestres de la carrera.

El comportamiento de la accidentalidad biológica en los estudiantes de enfermería refleja que no son incidentes fortuitos, puesto que concurren factores controlables y evitables, que aumentan su riesgo de aparición. Por lo anterior, se recomienda a la Universidad y concretamente a la Facultad de Enfermería, tomar medidas inmediatas, que permitan formar a los estudiantes desde el primer semestre en la cultura de prevención del riesgo ocupacional.

De igual manera, como lo afirman Díaz & Cadena (2003), desde la perspectiva académica es responsabilidad de la Universidad velar porque las condiciones y los ambientes donde se desarrollan las prácticas clínicas sean espacios seguros para los estudiantes. Por esta razón, se debe involucrar diferentes actores, como las instituciones hospitalarias, para que participen activamente en el desarrollo e implementación de estrategias, que permitan minimizar la exposición biológica, tanto en los estudiantes como en sus funcionarios y, a la Universidad, para que se busque concientizar a los estudiantes frente a las consecuencias del riesgo biológico, mediante estrategias de prevención primaria o de prevención de la exposición.

Las estrategias pueden incluir, en primer lugar, el cumplimiento estricto de las medidas de precaución universal, la identificación de los riesgos o peligros, la capacitación en todos los aspectos que involucran la accidentalidad, la vacunación pre y post exposición y el análisis de investigación de los accidentes, para tomar medidas preventivas y correctivas, que mejoren la seguridad y el bienestar de los alumnos.

Por último, se recomienda realizar estudios de esta naturaleza, que aborden el personal de salud y, específicamente, el gremio de enfermería, con el fin de sensibilizar a la población y a las instituciones gubernamentales responsables de los riesgos laborales, en la implementación de estrategias y el desarrollo de políticas para la prevención del riesgo biológico y facilitar los entornos laborales saludables.

Financiación: El presente estudio fue financiado por la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A. **Conflicto de intereses:** Esta investigación y el manuscrito fue preparado y revisado por la autora, quien declara que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de la presente publicación.

BIBLIOGRAFÍA

1. CASANOVA, S.; SANTOLARIA, E.; FORCADA, J.A.; BUEDO, V.E. 2007. Prevención del riesgo biológico en profesionales Sanitarios de la comunidad Valenciana. Edita: Generalitat. Conselleria de Sanitat, (España) 1ª ed. p. 34 y 35. Disponible desde Internet en: <http://publicaciones.san.gva.es/publicaciones/documentos/V.4176-2007.pdf> (con acceso 28/06/10).
2. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION –CDC-. 2001. Updated US Public Health Service guidelines for the management of occupational exposures to HBV, HCV, and HIV and recommendations for postexposure prophylaxis. *MMWR* 2001; 50(No. RR-11):1-42 Disponible desde Internet en: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5011a1.htm> (con acceso 30/06/10)
3. DÍAZ, L.A.; CADENA, L.P. 2003. Riesgo de hepatitis B entre estudiantes de medicina peruanos, luego de exposición a sangre y líquidos corporales. *Rev. Gastroenterol. (Perú)*. 23(2):107-110.
4. FICA, C.; JEMENAO, P; RUIZ, G.; LARRONDO, M.; HURTADO, C.; MUÑOZ, G.; SEPULVEDA, C. 2010. Accidentes por riesgo biológico entre estudiantes de carreras de la salud. Cinco años de experiencia. (Chile) *Rev. Chil. Infectol.* 27(1):34-39.
5. FRANCO, J.; MARÍN, A.; OCAMPO, L.M.; QUIROZ, T.; DÍAZ, P.A. 2007. Factores laborales y personales frente a la ocurrencia de accidentes de trabajo biológicos en el personal de enfermería de la clínica Villapilar ESE Rita Arango Álvarez del Pino Manizales (Caldas). *Rev. Hacia Prom. Salud. (Colombia)* (12):133-144. Disponible desde Internet en: http://promocionsalud.ucaldas.edu.co/downloads/Revista%2012_11.pdf (con acceso 28/06/10).
6. GUZMÁN, M.I.; EXPOSITO, R.; ARMENTEROS, E.; ALMAGRO, M.; GUZMÁN, L.; MARQUES, M.T. 2011. Accidentes biológicos por exposición percutánea en estudiantes de enfermería de la Universidad de Jaén, durante sus prácticas clínicas. *Rev. Paraninfo digital. (España)* 11:1-16. Disponible desde Internet en: <http://www.index-f.com/para/n11-12/050d.php> (con acceso 10/04/10).
7. HERRERA, A.; GÓMEZ, R. 2003. Accidentes por riesgos biológicos en estudiantes de la salud la Universidad Tecnológica de Pereira. *Rev. Med. Risaralda. (Colombia)*. 9(1). Disponible desde Internet en: <http://www.utp.edu.co/facies/revmedica/vol9n1/articulo3.htm> (con acceso 10/04/10)
8. ORTIZ, S. 2003. Riesgos biológicos de los estudiantes de enfermería. *Enfermería Clínica.* (13):285-289 Disponible desde Internet en: <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=747522> (con acceso 10/06/10)
9. OSHA (Occupational safety and Health Administration). 2003. OSHA 3134. Exposición a Patógenos Transmitidos por la Sangre en el Trabajo. Departamento del trabajo EE.UU. Seguridad y Salud Ocupacional. Disponible desde Internet en: <http://www.osha-slc.gov/Publications/OSHA3134/osha3134.html> (con acceso 10/04/10)
10. RODRÍGUEZ, M.; PEREZ, M.; PLA, J.; MIRANDA, L.; GAROTTE, M.; PEÑA, M.; VALDEZ, M. 2008. Riesgos biológicos laborales en el personal de enfermería de una institución hospitalaria, ciudad de La Habana, septiembre 2006-abril 2007. (Cuba). 8(2):e2722. Disponible desde Internet en: <http://www.mednet.cl/link.cgi/Medwave/Enfermeria/2006/marzo2008/2722> (con acceso 28/08/11).
11. ROMERO, A.; CABRERA, F; JIMENEZ, M.; MUÑOZ, J.C.; AVILA, I. 2007. Prevalencia de accidentes biológicos por punción accidental en el Hospital Universitario Virgen de la Victoria. *Rev. Nure Invest.* 31: 1-10. Disponible desde Internet en: http://www.nureinvestigacion.es/FICHEROS_ADMINISTRADOR/PONENCIA/pdf_comunicacion_12792007105419.pdf (con acceso 10/05/10)
12. RUBIO, M.; AVILA, G.; ARANA, B. 2008. Actitudes de Estudiantes de Enfermería mexicanos al manejar residuos peligrosos biológicos infecciosos. (México) *Esc. Anna Nery*, 2008, 12(3):479-484. Disponible desde Internet en www.scielo.br/pdf/ean/v12n3/v12n3a13.pdf (con acceso 10/05/11)
13. SALIBA, C.; MARTINS, R.; ISPER, A.; da COSTA, L. 2009. Conductas de los Estudiantes del area de la salud frente a la exposición ocupacional a sangre y fluidos biológicos. *Rev. Cienc. Trab.* 11(31):18-21. Disponible desde Internet en: <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=747522>

- es/servlet/articulo?codigo=3219089 (con acceso 10/08/10)
14. SOTO, V.; OLANO, E. 2004. Conocimiento y cumplimiento de medidas de bioseguridad en personal de enfermería. Hospital Nacional Almanzor Aguinaga. Chiclayo 2002. (Perú). Anales Fac. Med. 65:103-110.
 15. TAPIAS, L.F.; TORRES, S.; TAPIAS, L.; SANTAMARIA, C.L. 2010. Accidentes biológicos en médicos residentes de Bucaramanga, Colombia. Rev. Col. Cir. 25(4):290-299. Disponible en internet: <<http://www.scielo.org.co/scielo.php>. (con acceso 10/08/10)
 16. WARLEY, E.; PEREYRA, N.; DESSE, J.; CETANI, S.; de LÚICA, A.; TAMAYO, N.; SZYLD, E. 2009. Estudio sobre la exposición ocupacional a sangre y fluidos corporales en el personal de Enfermería de un hospital de referencia de Buenos Aires, Argentina. Rev. Panam. Salud Pública. 25(6):524-529.

Recibido: Diciembre 13 de 2012

Aceptado: Abril 17 de 2013

TÉCNICA NO CONVENCIONAL DE EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE TEJIDO EMBEBIDO EN PARAFINA PARA USO EN LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA

UNCONVENTIONAL TECHNIQUE OF DNA EXTRACTION FROM PARAFFIN EMBEDDED TISSUE FOR USE IN THE POLYMERASE CHAIN REACTION

Giovanna Meza¹, Juan Carlos Ulloa², Ana María Uribe³, María Fernanda Gutiérrez⁴

¹Bact. M.Sc. Profesor asistente, Facultad de Ciencia y Tecnología. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A. Calle 222 No.55-37, Bogotá, Colombia. Correo electrónico: gmeza@udca.edu.co; ²Microbiol. Ph.D. Profesor Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Básicas. Pontificia Universidad Javeriana. Carrera 7 # 40 – 62, Bogotá, Colombia. Correo electrónico: julloa@javeriana.edu.co; ³Médica, Patóloga, Hospital San Ignacio. Profesor Asistente. Universidad Javeriana. Cra 7 # 40-62 Edificio de Patología. ⁴Bact. Ph.D. Profesor titular Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias Básicas. Pontificia Universidad Javeriana. Carrera 7 # 40 – 62, Bogotá, Colombia. Correo electrónico: mfgutier@javeriana.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 35 - 41, 2013

RESUMEN

Los tejidos embebidos en parafina son muestras que reposan en los bancos de patología y almacenan importante información genética, útil para estudios retrospectivos de epidemiología y de patología molecular y para el diagnóstico de enfermedades en humanos y en animales. Dentro de las metodologías descritas para extraer ADN de tejidos en parafina, pocas resultan exitosas a la hora de obtener un material genético, con la cual se pueda amplificar fragmentos superiores a 200pb, por la técnica de PCR. Este trabajo expone la experiencia del laboratorio de biología molecular de la U.D.C.A, relacionada con la aplicación de una metodología poco utilizada para extraer ADN de tejido embebido en parafina y óptimo para amplificar por PCR un segmento de 600pb. Fueron utilizadas dos técnicas ampliamente referenciadas para este tipo de muestras, como son el protocolo de extracción fenólica y el del estuche comercial de QIAGEN[®] y una tercera metodología comúnmente empleada para extraer ADN de muestras de sangre, pero no para para tejidos en parafina, como lo es la técnica de extracción por sales o *salting out*. La capacidad amplificable del ADN extraído, se evidenció al obtener un fragmento de 600pb de un gen constitutivo humano. Los resultados mostraron que con la extracción fenólica y el estuche comercial de QIAGEN[®], se consiguió el 21% de amplificaciones y con el método de extracción por sales, el 91%. Este trabajo muestra que una técnica no convencional de extracción de ADN a partir de tejido embebido en parafina puede ofrecer mejores resultados que metodologías tradicionales.

Palabras clave: Extracción, ADN, protocolos, Reacción en cadena de la Polimerasa, patología molecular.

SUMMARY

The paraffin-embedded tissues are samples resting in the pathology banks, storing important genetic information, useful for retrospective studies of epidemiology and molecular pathology and diagnosis of diseases in humans and animals. Among the methods described for extracting DNA from tissues in paraffin, few are successful in obtaining the genetic material which can be amplified above 200bp fragments by the PCR technique. This paper describes the experience of U.D.C.A's molecular biology laboratory, related to the application of a methodology recently used to extract DNA from paraffin-embedded tissue and which permits to be optimal amplified by PCR of a fragment to 600pb. Two techniques were used, extensively referenced to these samples, such as the phenol extraction protocol and the commercial kit from QIAGEN[®], and also a third commonly used method for extracting DNA from blood samples, but not for tissue in paraffin, the technique of extraction or salting out salts. The extracted DNA amplifiable ability was evidenced to obtain a fragment of 600pb establishing a human gene. The results showed that extraction with phenol and commercial kit from QIAGEN[®] achieved amplifications of a 21%, while the salt extraction method a 91%. This work reveals that an unconventional technique of DNA extraction

from paraffin-embedded tissue can offer better performance than traditional methodologies.

Key words: Extraction, DNA, PCR, protocols, molecular pathology.

INTRODUCCIÓN

Los tejidos embebidos en parafina (TEP), se almacenan en los bancos de histopatología después de su estudio macro y microscópico. El análisis de los ácidos nucleicos, contenido en dichas muestras, se ha convertido en una herramienta importante para el diagnóstico e investigación en patología, en epidemiología y en endocrinología molecular (Armas *et al.* 2006; Thyagarajan *et al.* 2005; Kizys *et al.* 2012), en genética molecular post mortem, en detección de enfermedades infecciosas (Morales *et al.* 2005), en estudios de malformaciones congénitas en fetos humanos (Santos *et al.* 2008) y para todo tipo de estudios retrospectivos (Huijsmans *et al.* 2010), razón por la cual, la utilización de una técnica de desparafinación y de extracción de ADN, a partir de TEP, se hace cada vez más necesario.

Los procesos de extracción de ADN a partir de TEP incluye tres pasos fundamentales: el primero, la desparafinación, donde se utilizan sustancias químicas, como el xileno y el etanol o procesos físicos, como el calor (Zafra *et al.* 2004; Cannavo *et al.* 2012), que buscan eliminar la parafina del tejido en estudio; el segundo paso es la digestión del tejido desparafinado, mediante el uso de enzimas, como la proteínaasa K o de soluciones alcalinas a altas temperaturas (Tufan *et al.* 2004), que desnaturalizan las proteínas del tejido y degradan los fosfolípidos celulares, liberando el ADN (Gilbert *et al.* 2007). El tercer paso busca la purificación del material genético extraído mediante soluciones, como el fenol- cloroformo- isoamilalcohol (Morales *et al.* 2005; Coura *et al.* 2005), etanol y resinas quelantes, como Chelex- 100 (Armas *et al.* 2006; 2011) o las de la casa comercial de QIAGEN®. Todas ellas ofrecen extraer un ADN óptimo para estudios moleculares; sin embargo, a la hora de utilizar dicho material en la técnica de PCR, los resultados pueden no ser favorables.

Debido a la naturaleza del TEP, muchas son las variables que repercuten en el éxito de las técnicas de extracción de ADN, desde el momento de la preservación del tejido para los estudios de patología (Armas *et al.* 2006), hasta la utilización del ADN, en la técnica de PCR. La literatura reporta que sustancias fijadoras del tejido, como el formol, los alcoholes o los aldehídos ocasionan un entrecruzamiento de las hebras de ADN, modifican las bases y degradan parcialmente la molécula (Tufan *et al.* 2004; Jiménez *et al.* 2007). Otras variables, como el tiempo de fijación, el tamaño del tejido fijado, la edad del bloque, la temperatura, el pH de los reac-

tivos, los solventes orgánicos usados en la desparafinación, entre otros, también pueden afectar la calidad de los ácidos nucleicos extraídos y, por lo tanto, la eficacia en la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), en contraste, con el ADN de alta calidad obtenido a partir de tejidos frescos o de muestras de sangre (Gilbert *et al.* 2007). Por lo anterior, uno de los principales retos en el laboratorio es la utilización de una metodología de extracción de ADN a partir de TEP, que permita obtener una molécula óptima para su utilización en la técnica de PCR.

Con este trabajo, se pretende dar a conocer la experiencia del laboratorio de biología molecular de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, en la búsqueda de una metodología para extraer el ADN, a partir de tejido mamario fijado en formalina y embebido en parafina, que cuente con los parámetros de calidad establecidos para pruebas moleculares y que, adicionalmente, permitiera amplificar por PCR un fragmento de 600pb.

Según la literatura, fueron seleccionadas tres metodologías de extracción de ADN a partir de TEP, dos de ellas consideradas como las técnicas más frecuentemente reportadas, cada una con principio químico diferente. La primera, se basa en la extracción y en la purificación del ADN con solventes orgánicos, como el fenol- cloroformo y temperaturas de reacción entre 90 y 100°C (Shi *et al.* 2002; Coura *et al.* 2005) y, la otra, en la extracción mediante unión selectiva del ADN a columnas quelantes, del estuche comercial de QIAGEN® (Thyagarajan *et al.* 2005; Gilbert *et al.* 2007); sin embargo, también se ensayó una tercera metodología ampliamente utilizada para extraer ADN a partir de muestras de sangre, pero no para tejidos embebidos en parafina, como es la metodología de extracción por salado o "Salting out", seleccionada por su disponibilidad en los laboratorios de biología molecular, facilidad procedimental y bajo costo.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente estudio, se realizaron 136 ensayos de extracción de ADN a partir de bloques de tejidos mamarios embebidos en parafina, almacenados desde el 2007 hasta el 2009, en el laboratorio de patología, del Hospital San Ignacio de Bogotá, Colombia. Los bloques de parafina fueron sometidos a tres técnicas de extracción de ADN: la técnica de extracción fenólica (fenol- cloroformo), la de extracción por columnas quelantes del estuche comercial de QIAGEN® y la técnica de extracción por sales o *Salting out*.

Método de extracción fenólica (fenol- cloroformo), descrito por Shi *et al.* (2002): Se pesaron entre cinco a diez miligramos de TEP y se adicionó un mililitro de xileno, se incubó a 98°C durante 15 minutos, se centrifugó y se descartó el sobrenadante; al sedimento, se le adicionó un mililitro de

etanol absoluto, se agitó manualmente y se dejó en reposo por 30 minutos; posteriormente, se centrifugó a 10.000 rpm durante 11 minutos, se descartó el sobrenadante y se le adicionó 1mL de etanol al 70% y 1mL de buffer fosfato salino, nuevamente se centrifugó a 12.000 rpm durante diez minutos; se descartó nuevamente el sobrenadante y al sedimento se le agregaron 500 μ L de tampón de lisis que contenía: proteinasa K (20 mg/mL), tris-HCL (1M), 2 μ L de EDTA (0,5M) y 100 μ L de SDS (10%); la mezcla se incubó durante toda la noche a 52°C en agitación continua, posteriormente, se le agregaron 500 μ L de solución de fenol- cloroformo – isoamilalcohol (25:24:1) y se centrifugó a 12.000 rpm por cinco minutos. El sobrenadante fue removido cuidadosamente a otro tubo y se agregó 0,1 volúmen de acetato de sodio (3M), se homogeneizó manualmente, se adicionó un volumen de isopropanol y se dejó en almacenamiento a -20°C durante toda la noche; luego, se centrifugó y el sedimento que contenía el ADN extraído fue lavado con etanol (70%); luego de secar el ADN, se le adicionó 30 μ L de buffer TE1X.

Método de extracción por columnas quelantes del estuche comercial de QIAGEN® (Spin- Column Protocol): Se cortaron 25g de TEP y se depositaron en tubos de 2mL con 1200 μ L de xileno, se agitó en vortex y se centrifugó a 10.000 rpm durante cinco minutos, a temperatura ambiente. El sobrenadante se pasó a otro tubo y se adicionó 1200 μ L de etanol absoluto hasta eliminar el xileno y el etanol. El tejido desparafinado, se resuspendió en 180 μ L de buffer ATL (no se conoce su composición) y se agregó 20 μ L de proteinasa K, se mezcló nuevamente y se incubó a 56°C durante toda la noche; luego, se adicionó 200 μ L de buffer AL (no se conoce su composición), se mezcló y se agregó 200 μ L de etanol absoluto; esta mezcla se depositó en la columna *DNeasy Mini Spin* y se centrifugó a 8000 rpm durante un minuto. La columna se depositó en un nuevo tubo de recolección y se adicionó 500 μ L de buffer AW1; posterior a la centrifugación, la columna fue transferida a otro tubo de recolección y se agregaron 500 μ L de buffer AW2, se centrifugó a 14.000rpm durante tres minutos. La columna con el material genético extraído, se depositó en otro tubo de recolección y se agregó directamente sobre la membrana 200 μ L de buffer AE, se incubó a temperatura ambiente durante un minuto y se centrifugó a 8000 rpm por un minuto más, para eludir el ADN.

Técnica de Extracción por sales o *Salting out*, según Santos *et al.* (2008): Mediante micro disección manual con una hoja de bisturí estéril fueron recolectados, en microtubos de 1,5mL, entre 15 a 24mg de tejido mamario embebido en parafina (TEP), de las áreas identificadas microscópicamente, con mayor celularidad. Estos cortes, se sometieron al proceso de desparafinación, agregando 500mL de xileno (CN.158693 de la casa comercial. MPB), se incubó durante 10 minutos en baño serológico (Haake FSL) a 65°C y se centrifugó a 10.000 revoluciones por minuto (rpm) (Biofaga

BDC), durante siete minutos; posteriormente, con una pipeta pasteur de vidrio estéril, se extrajo cuidadosamente el sobrenadante; este paso se repitió cinco veces. Al tejido desparafinado, se le agregó 1000mL de etanol absoluto y se llevó a incubación en bloque de calor a 37°C durante diez minutos; posteriormente, se centrifugó a 10.000 rpm durante cinco minutos y con la pipeta pasteur de vidrio, se eliminó el sobrenadante y se agregó 1000mL de etanol al 70%, se incubó en bloque de calor (Canlab- BAXTER) a 37°C por diez minutos y nuevamente se centrifugó a 10000 rpm, durante cinco minutos. Finalizado el proceso de desparafinación, se dejó secar el tejido por unos minutos en bloque de calor a 37°C y se agregó 50mL de agua HPLC y 1000mL de solución amortiguadora o tampón TNE (17mM Tris HCl pH: 8,0; 50mM NaCl y 7mM EDTA), se homogeneizó y se centrifugó por diez minutos a 10.000 rpm. Posteriormente, se añadió 1000mL de buffer de lisis (10mM de Tris HCl pH: 8,0; 0,5% de SDS; 5mM de EDTA) y se adicionó 10mL de proteinasa K (N.C. 95H014715 C.C. SIGMA) (20mg/mL), se mezcló con vórtex (Thermolyne BDC) durante cinco segundos y se sometió a incubación en baño serológico con agitación continua, a 55°C durante toda la noche. 500mL de acetato de amonio 8M y EDTA 1mM fueron agregados, se agitó fuertemente durante 15 segundos y un segundo más en vórtex, se centrifugó a 10000rpm, durante 15 minutos; 900mL del sobrenadante fueron transferidos a un tubo nuevo y se adicionaron 600mL de isopropanol frío, se mezcló 20 veces por inversión suave y se centrifugó a 10000rpm, durante 15 minutos. El sobrenadante fue eliminado y al sedimento se le agregaron 300mL de etanol frío al 70%, nuevamente se centrifugó a 10000rpm por ocho minutos y, cuidadosamente, se eliminó el sobrenadante; el procedimiento se repitió una vez más. El pellet obtenido, se dejó secar a 50°C por 15 minutos y se reconstituyó en 30mL de TE 1X.

Las tres metodologías fueron ejecutadas bajo las mismas condiciones de laboratorio y con los mismos equipos previamente referenciados.

Cantidad y calidad del ADN: Todas las muestras de ADN fueron analizadas mediante un equipo nanodrop 1000, que permitió calcular la concentración de ADN obtenido y la relación A260/A280 y A260/A230, que informa el nivel de la pureza de la molécula. El tamaño del ADN fue analizado por electroforesis en geles de agarosa al 1% teñidos con bromuro de etidio, utilizando una cámara de electroforesis marca Tyler (Canadá) y una fuente de poder Power Pac Basic (BioRad), visualizado en un transiluminador (2UV, Higt Performance).

Capacidad amplificable del ADN: La capacidad amplificable del ADN extraído fue evaluada mediante la detección del segmento de un gen constitutivo, conocido en la literatura como *housekeeping* que, en este caso, fue el gen que codifica para la enzima Gliceraldehído 3-Fosfato Deshidrogena-

sa (GAPDH). Para su amplificación, se utilizó un estuche de PCR de la casa comercial de Invitrogen® (C.N. 10966-020) y un juego de cebadores (PF): 5' TTGCAACTGTTTTAGGACTTT 3' y (PR): 5' AGCATTGGGAAATGTTCAAGG 3', que flanquea una región con una talla molecular de 600pb. Para la reacción de PCR, se utilizaron 2,5mL de buffer PCR (1X); 1,0mL de MgCl₂ (2mM); 1,0mL de dntps (0,8mM); 1,0mL de PF (0,4mM); 1,0mL de PR (0,4mM); 0,3mL de Taq Platinum® (Invitrogen, Brasil) y 3mL de ADN molde y se completó con agua HPLC, hasta alcanzar un volumen final de 25mL por reacción. Como control positivo de la prueba, se utilizó un ADN humano, donado por el grupo de investigaciones biomédicas y de genética de la U.D.C.A, quienes previamente habían amplificado el fragmento génico en mención y, finalmente, se utilizó un blanco de agua (grado HPLC) en lugar del ADN molde, como control negativo del ensayo. La amplificación, se llevó a cabo en un termociclador PTC-100 (MJ RESEARCH, Canada), con un el siguiente programa: 94°C durante 30 segundos; 52°C durante 30 segundos y 72°C por 40 segundos, en 40 ciclos. El producto amplificado fue analizado en un gel de agarosa al 2%, utilizando una cámara de electroforesis marca Tyler (Canadá) y una fuente de poder Power Pac Basic (BioRad), visualizado en un transiluminador (2UV, Higt Performance).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Concentración y pureza del ADN: Las características ideales del ADN que se va a emplear para estudios moleculares es que posea una buena concentración, una alta pureza y el menor grado de degradación (Armas *et al.* 2011); sin embargo, estos tejidos antes de ser embebidos en parafina son fijados en formalina, sustancia que preserva el tejido, pero que degrada los ácidos nucleicos (Cannavo *et al.* 2012) y genera un entrecruzamiento con las proteínas del tejido, por lo cual, hace aún mas complicada la eliminación de proteínas, tipo histonas de los ácidos nucleicos (Kizys *et al.* 2012). Adicionalmente, el ADN se debe encontrar libre de otras sustancias, como lípidos y carbohidratos, propios del tejido y de residuos provenientes de las soluciones utilizadas en el proceso extracción y desparafinación.

Mediante los protocolos convencionales de fenol-cloroformo y del estuche comercial de QIAGEN®, se alcanzaron concentraciones de ADN, que oscilaron entre 21 y 3057 ng/mL y con el protocolo de extracción por salado, las concentraciones fueron de 5,0 a 4500 ng/mL. Thyagarajan *et al.* (2005) sugieren tener en cuenta la cantidad de células que contenga el tejido recolectado en los microtubos de reacción, para extraer una adecuada cantidad de ADN. En este caso, las muestras utilizadas fueron de tejidos de glándula mamaria en bloques de parafina, debido a que algunos de los proyectos de investigación que se desarrollan en el laboratorio de biología molecular de la U.D.C.A, están relacionados con

el estudio de cáncer de seno. Y conociendo que la glándula mamaria contiene mucho tejido graso fue necesario realizar el análisis microscópico del tejido, mediante las láminas de histopatología, para establecer la porción del TEP con la mayor celularidad posible. Las muestras de TEP utilizadas en este estudio correspondían a diferentes patologías de la glándula mamaria, por cuanto el contenido celular de cada bloque fue diferente, explicando esto, el amplio rango en la concentración de ADN reportada, a pesar de haber utilizado la misma cantidad de tejido en los tres protocolos. Un aspecto metodológico relacionado con la concentración del ADN es la utilización de la proteinasa K en el paso de la lisis celular, momento, en el cual, los ácidos nucleicos se liberan de las células, quedando vulnerables al efecto de los solventes orgánicos. Estudios realizados por Huijsmans *et al.* (2010) refieren que la proteinasa K es indispensable para la óptima digestión y extracción de ADN; en este trabajo se utilizó la proteinasa K en los tres protocolos, pero en concentraciones diferentes, es así como en las técnicas de extracción fenólica y QIAGEN se utilizaron 50µL/mL y 100uL/mL de proteinasa K, respectivamente, mientras que en la técnica de extracción por sales fue de 2µL/mL, observando que en los protocolos tradicionales se requiere mayor concentración de proteinasa K, que en la técnica de extracción por sales, lo que supone una mayor digestión del tejido, mayor concentración de ADN, pero mayor grado de fragmentación de la molécula.

En cuanto a los índices de pureza, la relación A260/A280 que da cuenta de la contaminación con proteínas fue similar en las tres metodologías, 1,8 en los protocolos convencionales y 1,9 en la técnica de extracción por sales, siendo ideales valores entre 1,8 y 2,2 (Santos *et al.* 2008), indicando que los procesos de precipitación y de separación de proteínas fueron óptimos con los tres protocolos y superaron los valores reportados por otros autores (Armas *et al.* 2011). La relación A260/A230 mostró cifras de 1,1, para los protocolos de extracción fenólica y QIAGEN y de 1,9, para la técnica de extracción por sales, con valores de referencia alrededor de 2,0. Este índice muestra contaminación con sales caotrópicas (Santos *et al.* 2008), carbohidratos, fenoles o compuestos aromáticos. El xileno y el fenol- cloroformo fueron sustancias utilizadas en los procesos de desparafinación y extracción de ADN, por la metodología de extracción fenólica, por lo que se cree pudieron afectar negativamente los resultados del índice 260/230 (no se conoce la naturaleza de los buffer ATL, AW1, AW2, del estuche comercial de QIAGEN), en contraste con el protocolo de extracción por sales, donde se utilizó menores cantidades de xileno y no requiere de fenol – cloroformo, por lo tanto, el valor del índice fue cercano al valor ideal.

Capacidad amplificable del ADN: Se diseñó *housekeeping* para controlar internamente la optimización de la molécula extraída para su uso en la técnica de PCR, se seleccionó el

gen constitutivo humano que codifica para la enzima Gliceraldehído 3- fosfodeshidrogenasa (GADPH), procedimiento previamente estandarizado en el laboratorio de biología molecular. El ADN fue considerado óptimo para su uso en la técnica de PCR, al amplificar un único fragmento de 600pb del gen *GAPDH*. Los ensayos de PCR-GAPDH realizados con el ADN extraído a partir de los protocolos convencionales (extracción fenólica y QIAGEN) fueron positivos en el 21% de los ensayos, mientras que con el ADN extraído por la técnica de extracción por salado, alcanzaron el 91%. Indicando que la técnica de extracción por salado fue la metodología más eficiente a la hora de conseguir un material genético óptimo para su uso en la técnica de PCR. Estos resultados muestran que la eficacia del ADN extraído de TEP para la PCR, puede estar más relacionada con la calidad del ADN que con la cantidad obtenida.

El porcentaje de amplificaciones conseguidas en este estudio y el tamaño diana amplificado supera los resultados de trabajos anteriores, siendo uno de los más exitosos el de Cannavo *et al.* (2012), quienes reportan 100% de amplificaciones, con un fragmento de 650pb del gen de la actina,

en 46 ensayos realizados mediante la técnica de extracción de sílica magnética (*NucliSENS easy MAG*); Tabanifar *et al.* (2008) muestran el 82% de resultados positivos al amplificar un fragmento de 200pb del gen constitutivo de la β - globina con ADN extraído con el protocolo Chelex- 20; Armas *et al.* (2011), el 100% de amplificaciones del mismo gen, pero en sólo en 10 muestras trabajadas con el método de chelex-100 y Santos *et al.* (2008), logra amplificar un fragmento de 500pb, utilizando la extracción por sales. Lo anterior es de relevancia, pues la literatura menciona que la mayoría de los fragmentos que se pueden amplificar con ADN proveniente de TEP, oscilan entre 50 a 300pb (Zafra *et al.* 2004; Huijsmans *et al.* 2010) y pocas veces se logra con fragmentos superiores a éstos (Armas *et al.* 2006; Jiménez *et al.* 2007); no obstante, con el protocolo de extracción por sales, se consiguió amplificar el fragmento de 600pb del gen *GAPDH* (Figura 1).

Un elemento importante al considerar la eficiencia del ADN extraído para el PCR es la integridad del material genético obtenido que puede interferir con la hibridación de los oligonucleótidos a la cadena molde (Huijsmans *et al.* 2010),

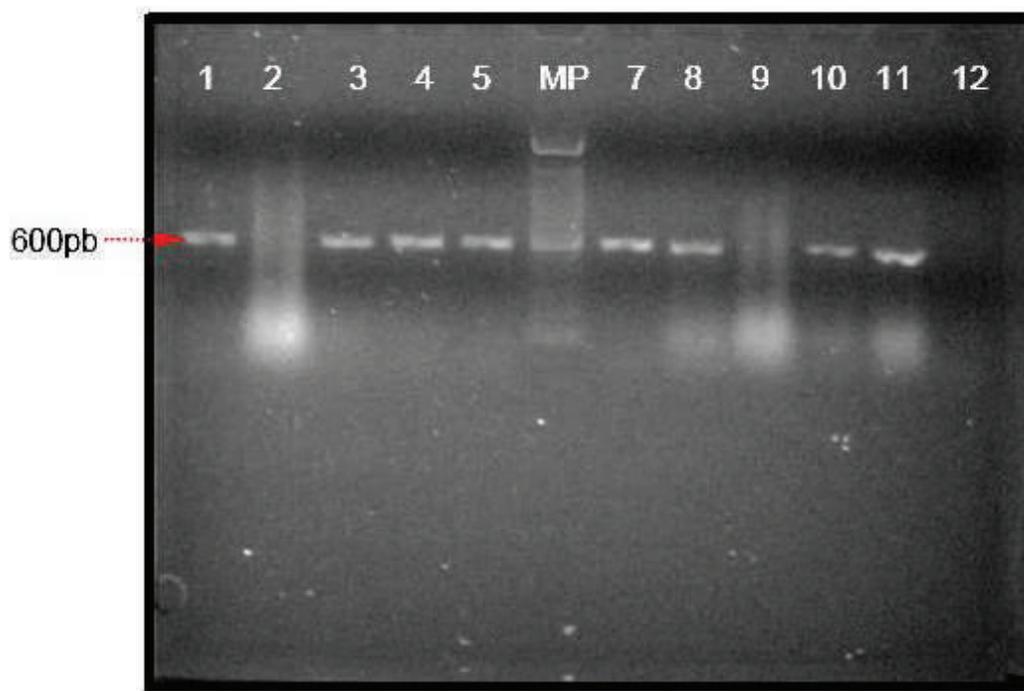


Figura 1. Electroforesis de PCR- GAPDH con ADN obtenido a partir de TEP mediante la técnica de Extracción por sales.

Carriles 1, 3, 4, 5, 7, 8 y 10 muestran una señal de amplificación de un fragmento de 600 pb del gen constitutivo humano GAPDH. Los carriles 2 y 9 muestran degradación de ADN con resultados negativos para el PCR. El carril 11 corresponde al control positivo, el carril 12 al control negativo de la prueba y el carril 6 al Marcador de peso molecular (MP), con señales cada 100 hasta 1000pb de Invitrogen® (C.N. 15628-019).

dando resultados negativos (Figura 1, carriles 2 y 9) que, en este trabajo, fueron el 79% de los ensayos de PCR- GAPDH, con el protocolo de extracción fenólica y QIAGEN, mientras el 9%, con la técnica de extracción por sales. Es posible que estas diferencias obedezcan a factores, como la utilización de xileno para desparafinar, la temperatura de reacción, las concentraciones de proteinasa K y los remanentes de solventes orgánicos que inhiben la PCR. Cannavo *et al.* (2012) mencionan que el 100% de amplificaciones del PCR fue posible solamente en aquellos TEP que se desparafinaron sin agregar el xileno, en este caso, en los tres protocolos, se utilizó el xileno, aún cuando en menor proporción en la técnica de extracción por sales. Las temperaturas oscilaron entre 100 y 120°C en los protocolos tradicionales, pero en la técnica de extracción por salado las temperaturas fueron entre 37 y 65°C; adicionalmente, en este protocolo se utilizaron alcoholes en concentraciones descendientes y procedimientos paulatinos de rehidratación del tejido desparafinado, lo cual, disminuyó el daño causado al ADN extraído (Coura *et al.* 2005). La proteinasa K en altas concentraciones y los remanentes de solventes orgánicos, como fenoles y alcoholes que pueden contaminar el ADN, no solamente pueden afectar la estructura del ADN, sino que son potenciales inhibidores de la reacción de PCR (Jiménez *et al.* 2007) incrementando, de este modo, el porcentaje de resultados falsamente negativos.

Con base en los resultados obtenidos en este estudio, se recomienda que a la hora de evaluar una metodología eficiente de extracción de ADN a partir de TEP, para su uso en técnicas moleculares, es necesario diseñar un control interno del PCR, que permita amplificar un fragmento de un gen constitutivo del genoma extraído y cuya longitud sea superior al fragmento génico que se desea estudiar. En este trabajo, se seleccionó un fragmento de 600pb del gen constitutivo humano de la enzima GAPDH por tratarse de un ADN humano. Las muestras positivas a este PCR fueron consideradas aptas para otros ensayos de PCR de interés en otras investigaciones con tejido mamario, pues indican que el ADN obtenido carece de inhibidores de la reacción y que es posible amplificar con él otros fragmentos de menor longitud.

Hoy por hoy, los investigadores están optando por la utilización de estuches comerciales que ofrecen facilidad en los procedimientos de laboratorio, pese a que muchos de ellos no permiten obtener una adecuada cantidad de ADN y, menos aún, si se trata de muestras almacenadas por más de tres meses (Kizys *et al.* 2012) y, en cambio, sí generan altos costos monetarios para las investigaciones y alto impacto ambiental; sin embargo, los resultados obtenidos en este trabajo nos permite sugerir a la comunidad científica revisar cuidadosamente el abanico de posibilidades en técnicas de laboratorio, según sus intereses, pues no siempre lo más fácil puede ser lo mejor para las investigaciones y presupuestos. Y dado el avance en la biología molecular y el recurso

genético que poseen las muestras embebidas en parafina es necesario estudiar el principio químico de cada metodología, pues aun cuando no sea la más convencional, puede ser la más conveniente para el propósito de la investigación. En este caso, la técnica de extracción por sales es un procedimiento que se encuentra disponible en los laboratorios de biología molecular, requiere de reactivos de bajo grado de toxicidad para la salud humana y para el medio ambiente, los reactivos son de bajo costo, con respecto a otros y su fácil ejecución, son el valor agregado a la hora de evaluar el éxito de esta técnica sobre otras, ampliamente utilizadas para extraer ADN de TEP.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede concluir que la técnica más eficiente para obtener ADN, a partir de tejido mamario embebido en parafina y amplificar un fragmento de 600pb por PCR, fue la técnica de extracción por salado, a pesar de ser una metodología poco convencional para extracción de ADN a partir de TEP.

Agradecimientos. Los autores expresan sus agradecimientos a la microbióloga Prunella Fernández, de la Universidad Javeriana, por el apoyo prestado en el manejo de equipos y lectura de resultados. **Conflicto de intereses:** Los autores consideran que no existe ningún conflicto de intereses que pueda afectar los resultados del trabajo. **Financiación:** Este proyecto fue financiado por la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Bogotá- Colombia.

BIBLIOGRAFÍA

1. ARMAS, Y.; CAPÓ, V.; GONZÁLEZ, E.; MEDEROS, L.; DÍAZ, R. 2006. Extracción de ADN de tejidos embebidos en parafina por Chelex- 100. ADN de tejidos en parafina por resina quelante. *Rev. Esp. Patología.* 39(3):171-174.
2. ARMAS, Y.; CAPO, V.; LÓPEZ, L.; MEDEROS, L.; DÍAZ, R. 2011. Comparación de tres métodos de extracción de tejidos embebidos en parafina. *Biotechn. Apl.* 28:40-43.
3. CANNAVO, I.; LOUBATIER, C.; CHEVALLIER, A.; GIOR-DANEGRO, V. 2012. Improvement of DNA extraction for human papillomavirus genotyping from formalin-fixed paraffin-embedded tissues. *BioRes.* 1(6):333-337.
4. COURA, R.; PROLLA, C.; MEURER, L.; ASHTON, P. 2005. An alternative protocol for DNA extraction from formalin fixed and paraffin wax embedded tissue. *J. Clin. Path.* 58:894-895.
5. GILBERT, M.; HASELKORN, T.; BUNCE, M.; SÁNCHEZ, J.; LUCAS, S.; JEWELL, L. 2007. The isolation of

- nucleic acids from fixed, paraffin- embedded tissues- which methods are useful when? PLoS One. 2(6):1-112.
6. HUIJSMANS, C.; DAMEN, J.; VAN DER LINDA, J.; SAVEL KOUL, P.; HERMANS, M. 2010. Comparative analysis of four methods to extract DNA from paraffin- embedded tissues: Effect on downstream molecular applications. *BioMed Central*. 3:239-248.
 7. JIMÉNEZ, G.; VILLALOBOS, M.; JIMÉNEZ, E.; PALMA, W. 2007. Determinación de la efectividad de cinco protocolos de extracción de ADN a partir de material parafinado para estudios moleculares. *Rev. Méd. U. Costa Rica*. 1(1):10-19.
 8. KIZYS, M.M.L; CARDOSO, M.G.; LINDSEY, S.C; HARADA, M.Y; SORAES, F.A.; MELO, M.C.C.; MONTOYA, M.Z.; KASAMATSU, T.S.; KUNII, I.S.; GIANNOCOCCO, G.; MARTINS, J.R.M.; CERUTTI, J.M.; MACIEL, R.M.B.; DIAS-da-SILVA, M.R. 2012. Optimizing nucleic acid extraction from thyroid fine-needle aspiration cells in stained slides, formalin-fixed/ paraffin-embedded tissues, and long-term stored blood samples. *Arq. Bras. Endocrinol Metab*. 56(9):618-626.
 9. MORALES, A.; MARTÍNEZ, I.; CARLOS, A.; ÁLVAREZ, G.; ÁLVAREZ, M.; MALDONADO, J. 2005. Comparación de histopatología, cultivo y PCR en el diagnóstico de tuberculosis bovina. *Rev. Cient. FCV-LUZ*. 15(2):103-108.
 10. SANTOS, M.; SAITO, C.; LINE, S. 2008. Extraction of genomic DNA from paraffin-embedded tissue sections of human fetuses fixed and stored in formalin for long periods. *Path. Res. Practice*. 204(9):633-636.
 11. SANTOS, S.; SÁ, D.; BASTOS, E.; GUEDES, H.; GUT, I.; GÄRTNER, F. 2008. An efficient protocol for genomic DNA extraction from formalin- fixed paraffin-embedded tissues. *Res. Vet. Sci*. 86(3):1-6.
 12. SHI, S.; COTE, R.; WU, L.; LIU, C.; DATAR, R. 2002. DNA Extraction from archival formalin- fixed, paraffin- embedded tissue sections base don antigen retrieval principle: heating under the influence of pH. *J. Histochem. Cytochem*. 50(8):1005-1011.
 13. TABANIFAR, B.; SALCHI, R.; ASGARANI, E.; FAGHIHI, M.; HCIDARPUR, M. 2008. An efficient method for DNA extraction from paraffin wax embedded tissues for PCR amplification of humman and viral DNA. *Irani J. Path*. 3(4):173-178.
 14. THYAGARAJAN, B.; ANDERSON, E.; KONG, F.; SELK, F.; LYNCH, C.; GROSS, M. 2005. New approaches for genotyping paraffin wax embedded breast tissue from patients with cáncer: the Iowa women ´s health study. *J.Clin. Pathol*. 58: 955-961.
 15. TUFAN, L.; BLI, F.; DUZCAN, E. 2004. Rapid and effective DNA amplification by polimerase chain reaction directly from paraffin-embedded tissue. *Aegean Path*. 1:33-38.
 16. ZAFRA, G.; FLÓREZ, O.; GONZÁLEZ, C. 2004. Influencia del método de desparafinación y el tiempo de almacenamiento en la extracción de DNA a partir de tejido de archivo. *Salud UIS*. 36:73-79.

Recibido: Enero 30 de 2013

Aceptado: Abril 22 de 2013

CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AMBIENTE DE LA BIBLIOTECA ALFONSO PATIÑO ROSSELLI, TUNJA-BOYACÁ (COLOMBIA)

MICROBIAL QUALITY OF ENVIRONMENT AT ALFONSO PATIÑO ROSSELLI LIBRARY, TUNJA-BOYACÁ (COLOMBIA)

Deisy Lisseth Toloza¹, Luz Marina Lizarazo²

¹ Bióloga, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Grupo de Investigación Biología Ambiental, Escuela de Ciencias Biológicas, Avenida Central del Norte, Tunja, Boyacá (Colombia), lisseth77@gmail.com; ² Bacterióloga, M.Sc. Ph.D. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, luz.lizarazo@uptc.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 43 - 52, 2013

RESUMEN

La calidad del aire en ambientes internos puede estar influenciada por la presencia de agentes abióticos y bióticos, entre los que se encuentran microorganismos, esporas, ácaros y polen, los cuales, son componentes naturales de estos ambientes y pueden ser transportados, desde el exterior, por partículas de polvo. Con este trabajo, se buscó evaluar la presencia de microorganismos en el ambiente de la Biblioteca Alfonso Patiño Rosselli, Tunja (Boyacá) y establecer cuáles de los géneros fúngicos aislados podría representar riesgo de biodeterioro sobre los documentos. Se empleó el método de sedimentación en placa, para el muestreo ambiental, utilizando agar Sabouraud, para el aislamiento de hongos y agar nutritivo, para bacterias, mientras que para el muestreo de libros, se empleó agar papa dextrosa, como medio de cultivo. En el ambiente, la mayor diversidad estuvo representada por los hongos, con 23 géneros aislados, con predominio de *Cladosporium* spp., mientras que las levaduras fueron menos representativas, siendo *Geotrichum*, el género predominante. En cuanto a las bacterias, las Gram positivas fueron las más abundantes, siendo *Staphylococcus* el género más frecuente de los 13 identificados, frente a tres géneros de bacterias Gram negativas. *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. predominaron en las muestras de libros. La concentración microbiana del ambiente fue alta, aunque se encontró dentro del límite de sanidad de lugares públicos, para considerarlos como no contaminados; sin embargo, es importante establecer medidas de control de estas poblaciones microbianas y de las condiciones ambientales que podrían favorecer su desarrollo.

Palabras clave: Aerobiología, calidad microbiológica, enfermedades respiratorias, microorganismos de bibliotecas.

SUMMARY

Air quality of indoor environments can be influenced by the presence of biotic and abiotic agents such as microorganism, spores, acari, and pollen, natural components in these environments, which can be transported from the outdoor air by dust particles.. The microorganisms present in the environment of the Library Alfonso Patiño Rosselli, Tunja (Boyacá) were evaluated and it was determined which of the isolated fungal genera could represent risk of biodeterioration on the documents. The open Petri dish sedimentation method was employed for the microbiological sampling, using Sabouraud Agar for fungi isolation and Nutrient Agar for bacteria, whereas for sampling of documents, the Potato Dextrose Agar as culture media was utilized. In the environment, the highest diversity was represented by fungi with 23 isolated genera, predominating *Cladosporium* spp., whereas yeasts were less representative, with *Geotrichum* the predominant genus. Regarding bacterial forms, Gram positives were the most abundant, being *Staphylococcus* the most prevalent genus of the 13 identified ones, with respect to three genera of Gram negative. On books, *Aspergillus* spp., and *Penicillium* spp. were the predominant fungi. Microbial concentration of environment was high, but within the limit of sanity of public places to be considered as not contaminated; however, it is important to establish control measures of these microbial populations and the environmental conditions that could favor its development.

Key words: Aerobiology, microbial quality, respiratory diseases, library microorganisms.

INTRODUCCIÓN

La presencia de agentes abióticos y bióticos, entre los que se encuentran microorganismos, esporas, ácaros y polen, puede influenciar la calidad del aire en ambientes internos, que logran ser transportados desde el exterior, por partículas de polvo (Labarrere *et al.* 2003). La concentración de microorganismos en lugares cerrados depende de diversos factores, entre los cuales, la temperatura y la humedad relativa son los principales. Otros, incluyen la microbiota presente en el aire exterior, tipo de edificación y su localización geográfica, número de personas presentes y las actividades que realizan, puntos locales de vegetación, sistemas de ventilación y de limpieza del sitio (Shelton *et al.* 2002; Jones & Harrison, 2004; Pyri & Kapsanaki-Gotsi, 2007; O'Gorman & Fuller, 2008; Nevalainen & Morawska, 2009) y más específicamente, en el caso de bibliotecas y de archivos, puede también influir el estado de preservación de libros y de documentos (Maggi *et al.* 2000).

Hoy en día, el conocimiento de la contaminación microbiana en ambientes internos es considerado como el mecanismo más elemental de prevención de enfermedades, debido a la influencia de los microorganismos sobre la salud de las personas (Labarrere *et al.* 2003). Se ha reportado que géneros bacterianos, como *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Staphylococcus* (Borrego *et al.* 2008) y fúngicos, como *Alternaria*, *Aspergillus* y *Cladosporium* pueden provocar diversas enfermedades en el hombre asociadas, principalmente, con problemas respiratorios (Angelosante *et al.* 2007), en los que la inhalación es la principal vía de infección (Chandra *et al.* 2005), además de originar irritaciones dérmicas y oculares (Novaresi, 2009).

Las bacterias, se encuentran con mayor frecuencia en espacios internos con respecto a los hongos; sin embargo, representan un menor riesgo en el biodeterioro de documentos, al requerir mayores condiciones de humedad (Valentín *et al.* 1990). Son varios los estudios que han evaluado la contaminación fúngica en ambientes internos (Hyvärinen *et al.* 2001; Borrego *et al.* 2008, 2010a, 2011; Rojas *et al.* 2008; Toloza-Moreno & Lizarazo-Forero, 2011), encontrando, como los más frecuentes, los géneros *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Mucor* y *Penicillium*.

Por otro lado, autores como Gallo (1993), Borrego *et al.* (2008, 2010a) han demostrado que la mayoría de hongos de ambientes internos presentan actividad celulolítica, proteolítica y amilolítica, producen ácidos, excretan pigmentos y forman biopelículas sobre el papel, lo que acelera su deterioro en condiciones de temperatura y de humedad adecuadas de almacenamiento.

En esta investigación, se evaluó la presencia de microorga-

nismos en el ambiente de la Biblioteca Alfonso Patiño RosSELLI, Tunja-Boyacá y se determinaron cuáles géneros fúngicos podrían estar representando riesgo de biodeterioro sobre los documentos que allí se encuentran.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio. La calidad microbiológica del ambiente, se evaluó en la Biblioteca Alfonso Patiño RosSELLI, ubicada en el Claustro de San Agustín, Tunja-Boyacá (Colombia). La biblioteca fue fundada en 1984 por el Banco de la República y cuenta, hoy en día, con una colección de aproximadamente 52.000 títulos (Centro Virtual de Noticias, 2006).

Aislamiento de microorganismos. La concentración microbiológica del ambiente de la biblioteca, se evaluó realizando seis muestreos en períodos distintos de 2011, en los cuales, se empleó el método gravimétrico de sedimentación en placa propuesto por Omeliansky (Bogomolova & Kirtsideli, 2009). Se establecieron en total cinco puntos de muestreo, siguiendo un modelo diagonal.

Cada punto fue muestreado por triplicado, por cada medio de cultivo, con exposición al ambiente por 30 minutos de cajas de Petri (90 mm), con agar glucosa de Sabouraud, suplementado con cloranfenicol, para el aislamiento de hongos y agar nutritivo, para bacterias. Las cajas fueron ubicadas a una altura aproximada de 2,0 m del suelo y los muestreos se realizaron hacia las 10:00 horas. Adicionalmente, se tomaron datos de temperatura y de humedad relativa del ambiente, empleando un Medidor Atmosférico-Davis®.

Las cajas con agar glucosa de Sabouraud fueron incubadas a $28 \pm 2^\circ\text{C}$, entre cinco y siete días y las de agar nutritivo, a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, por 24 a 72 horas. Posteriormente, se cuantificaron las unidades formadoras de colonia por metro cúbico de aire (UFC m^{-3}), tanto para mohos, levaduras y bacterias, con previa realización de tinción de Gram, para distinguir entre bacterias y levaduras que crecieron en las cajas de agar nutritivo, de acuerdo a la fórmula propuesta por Omeliansky (Bogomolova & Kirtsideli, 2009):

$$N = 5a \times 10^4 (\text{bt})^{-1}$$

donde: N: UFC m^{-3} de aire en el ambiente, a: número de colonias por caja de Petri, b: superficie de la caja de Petri (cm^2), t: tiempo de exposición (minutos).

Se halló la densidad relativa (DR) de los géneros microbianos aislados, de acuerdo con la fórmula de Smith (Borrego *et al.* 2010a):

DR = (Número de colonias del género o especie / Número total de colonias de todos los géneros o especies) * 100

Aislamiento de hongos a partir de libros. En un muestreo adicional (muestreo siete), se tomó aleatoriamente una muestra representativa del total de libros de la biblioteca, con un intervalo de confianza del 90%. Las muestras se tomaron con hisopos estériles humedecidos en solución de Cloruro de Sodio (NaCl 0,85%). Cada documento fue muestreado por duplicado y se empleó agar papa dextrosa (PDA), como medio de cultivo. Las cajas se incubaron a $28 \pm 2^\circ\text{C}$ por siete días.

Identificación de microorganismos aislados. Cada morfotipo aislado fue descrito macroscópicamente. Los aislados fúngicos se describieron al microscopio y se realizaron montajes con azul de lactofenol, mediante la técnica de impronta (Schaechter *et al.* 2006) y microcultivos, y para su identificación hasta género, se utilizaron las claves taxonómicas de Barnett (1960) y Domsh *et al.* (1980a, b). Las levaduras fueron descritas con tinción de Gram y montajes en fresco entre lámina y laminilla con azul de lactofenol e identificadas de acuerdo con Carrillo (2003) y Kirk *et al.* (2008).

Las características microscópicas de las bacterias y su identificación hasta género, se determinaron por tinción de Gram y siembra en medios selectivos y pruebas bioquímicas convencionales. Los resultados, se corroboraron con las características bioquímicas, señaladas por Finegold & Martin (1983) y Madigan *et al.* (2006).

Análisis estadístico. Para establecer diferencias estadísticas significativas entre la concentración microbiológica del aire en el interior de la biblioteca a lo largo del estudio en los diferentes muestreos, se empleó un ANOVA multifactorial, con un nivel de significancia del 0,05 y se hizo la transformación de los datos, para cumplir con el supuesto de homocasticidad. Se empleó el programa estadístico R Versión 2.14.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Humedad relativa y temperatura del ambiente. En el interior de la biblioteca, se registró en promedio una humedad relativa de 59,0% ($\pm 5,10$) y una temperatura de $19,7^\circ\text{C}$ ($\pm 4,84$). Estas variables fueron constantes a lo largo del muestreo, en los distintos períodos del año, los cuales, presentaron, en general, estación seca. En julio, se evidenció la mayor humedad, mientras que la mayor temperatura se registró en mayo y noviembre (Tabla 1).

La humedad relativa se encontró en el límite del rango óptimo, señalado por Gallo (1993), quien considera que entre un 60-90% se puede dar el desarrollo de hongos y causar alteraciones en documentos y es menor al 85%, requerida para el crecimiento bacteriano. Entre tanto, la temperatura del ambiente fue adecuada, al considerar que la apropiada para almacenar documentos impresos y en formato electrónico está entre 16 y 21°C y entre 18 y 20°C , respectivamente,

Tabla 1. Humedad relativa (HR) y temperatura ($^\circ\text{T}$) registradas en el ambiente interno de la biblioteca Alfonso Patiño Rosselli. Se muestra el promedio aritmético y la desviación estándar (\pm) de cada variable.

Muestreo	Mes *	HR (%)	$^\circ\text{T}$ ($^\circ\text{C}$)
1	Enero	50,82 ($\pm 3,17$)	19,41 ($\pm 0,72$)
2	Mayo	58,47 ($\pm 3,25$)	20,00 ($\pm 1,50$)
3	Junio	61,10 ($\pm 3,06$)	18,58 ($\pm 1,39$)
4	Julio	63,07 ($\pm 2,81$)	18,52 ($\pm 0,50$)
5	Agosto	60,67 ($\pm 1,84$)	19,41 ($\pm 0,57$)
6	Noviembre	62,25 ($\pm 0,96$)	20,00 ($\pm 0,64$)
7	Diciembre	59,00 ($\pm 5,10$)	19,69 ($\pm 4,84$)

*Para realizar los muestreos, se establecieron tres períodos distintos del año: uno al principio, otro a mitad de año y otro al final, buscando establecer posibles variaciones de concentraciones microbianas en el ambiente.

con el fin de que no se presente deterioro por microorganismos (Borrell *et al.* 2005). La contaminación microbiana de ambientes internos puede ser favorecida por factores, como humedad elevada, ventilación reducida y temperatura, un sustrato como papel que proporcione, principalmente a los hongos, nutrientes necesarios, como celulosa (Aira *et al.* 2006) y por la presencia de polvo (Shelton *et al.* 2002).

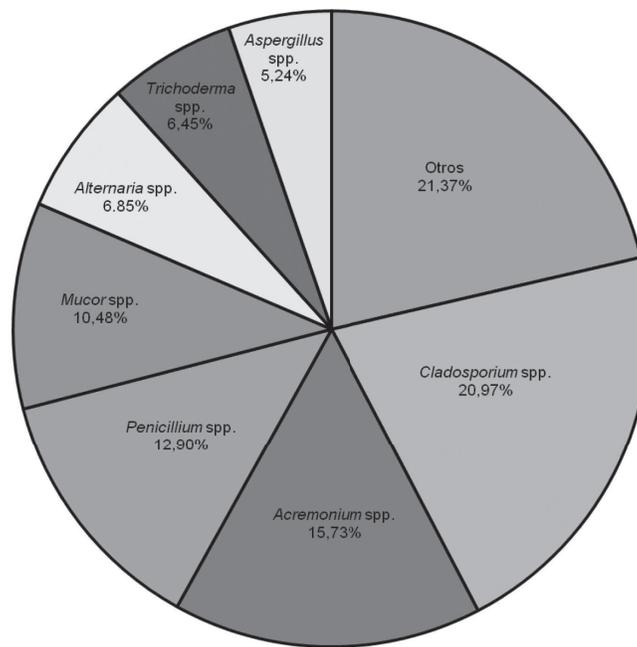
Contaminación microbiana. El mayor porcentaje de microorganismos correspondió a las formas fúngicas, con un 44,9%, mientras que las bacterias y levaduras, en un 41,5% y 13,6%, respectivamente. Asimismo, los mohos representaron la mayor diversidad, aislándose 23 géneros, en una concentración entre 31,4 y 139,7 UFC m⁻³.

La concentración microbiana de la biblioteca fue similar a la reportada por autores, como Borrego *et al.* (2008, 2010a, b); Bogomolova & Kirtsideli (2009) y Toloza-Moreno & Lizarazo-Forero (2011), quienes han evaluado la calidad microbiana en ambientes cerrados, mediante la técnica de se-

dimentación en placa; sin embargo, esta concentración fue inferior a la señalada por la Organización Mundial de la Salud (Nevalainen & Morawska, 2009), que considera un ambiente interno contaminado aquel que presente una concentración microbiana superior a 1000 UFC m⁻³.

Caracterización fúngica en el ambiente. No se presentaron diferencias estadísticamente significativas de las UFC fúngicas aisladas entre los diferentes muestreos ($F_{5,84} = 13,289$, $p = 1,537e-09$). El género predominante fue *Cladosporium* (21,0%), seguido de *Acremonium* (15,7%) y *Penicillium* (12,9%), mientras que los demás géneros aislados presentaron una porcentaje de alrededor del 10% o menos (Figura 1).

La abundancia de esporas de *Cladosporium* spp. fue mayor en el primer muestreo, a partir del cual, se presentó una disminución hasta el final del estudio, con una concentración de UFC, que osciló entre 62,9 y 1,7 UFC m⁻³. Para los géneros *Acremonium* y *Penicillium*, la variación mensual en la concentración de esporas no fue constante, siendo mayor en



Otros:

- | | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|
| <i>Haplosporangium</i> spp. (4,44%) | <i>Bactrodesmiella</i> spp. (0,81%) |
| <i>Paecilomyces</i> spp. (3,23%) | <i>Monilia</i> spp. (0,81%) |
| <i>Chalaropsis</i> spp. (2,42%) | <i>Bispora</i> spp. (0,40%) |
| <i>Syncephalastrum</i> spp. (2,02%) | <i>Chaetomium</i> spp. (0,40%) |
| <i>Verticillium</i> spp. (2,02%) | <i>Curvularia</i> spp. (0,40%) |
| <i>Rhizopus</i> spp. (1,21%) | <i>Fusarium</i> spp. (0,40%) |
| <i>Pentasporium</i> spp. (1,21%) | <i>Gliocladium</i> spp. (0,40%) |
| <i>Aegerita</i> spp. (0,81%) | <i>Nigrospora</i> spp. (0,40%) |

Figura 1. Densidad relativa de los géneros fúngicos aislados en el ambiente de la Biblioteca Alfonso Patiño Rosselli.

noviembre, con $24,5 \text{ UFC m}^{-3}$, para los dos géneros, cuando se registró una alta humedad relativa y alta temperatura del ambiente (62,3%, 20 °C, respectivamente) y fue menor, para *Acremonium*, en junio y para *Penicillium*, en agosto, con $1,7 \text{ UFC m}^{-3}$, cuando se presentó la menor humedad registrada (Figura 2).

Cladosporium y *Penicillium* fueron los géneros fúngicos más representativos en el ambiente y han sido también reportados por otros autores en ambientes internos (Pitzurra *et al.* 1999; Shelton *et al.* 2002; Aira *et al.* 2006; Borrego *et al.* 2008, 2010a, b; Rojas *et al.* 2008; Bogomolova & Kirtsideli, 2009; Tolosa-Moreno & Lizarazo-Forero, 2011). Estos géneros incluyen especies patógenas oportunistas de importancia en salud pública, al estar asociados con enfermedades respiratorias alérgicas, especialmente, asma y rinitis (Kurup *et al.* 2000; Haleem Khan *et al.* 2009; Nevalainen & Morawska, 2009). *Acremonium* también fue predominante; sin embargo, a pesar que de igual forma se ha aislado en otros

estudios (Nugari & Roccardi, 2001), no se ha registrado en alta frecuencia en el ambiente.

La concentración de levaduras aisladas, se registró entre $7,0$ y $43,7 \text{ UFC m}^{-3}$, con *Geotrichum*, como género predominante y, en menor proporción, *Rhodotorula* y *Candida*. El número no fue estadísticamente significativo durante los distintos muestreos ($F_{5,84} = 3,3642$, $p = 0,008083$); no obstante, su abundancia varió entre los muestreos, en donde *Geotrichum* spp. fue más frecuente en agosto, con $38,4 \text{ UFC m}^{-3}$, cuando se presentó una humedad de 60,7%, mientras que *Rhodotorula* spp., se evidenció con mayor frecuencia en enero y julio, con $7,0 \text{ UFC m}^{-3}$. Los aislamientos de *Candida* spp. fueron escasos, registrados únicamente en enero y en mayo.

Caracterización bacteriana en el ambiente. Se registraron once géneros bacterianos, en una concentración entre $33,2$ y $118,8 \text{ UFC m}^{-3}$. Las UFC bacterianas no variaron estadística-

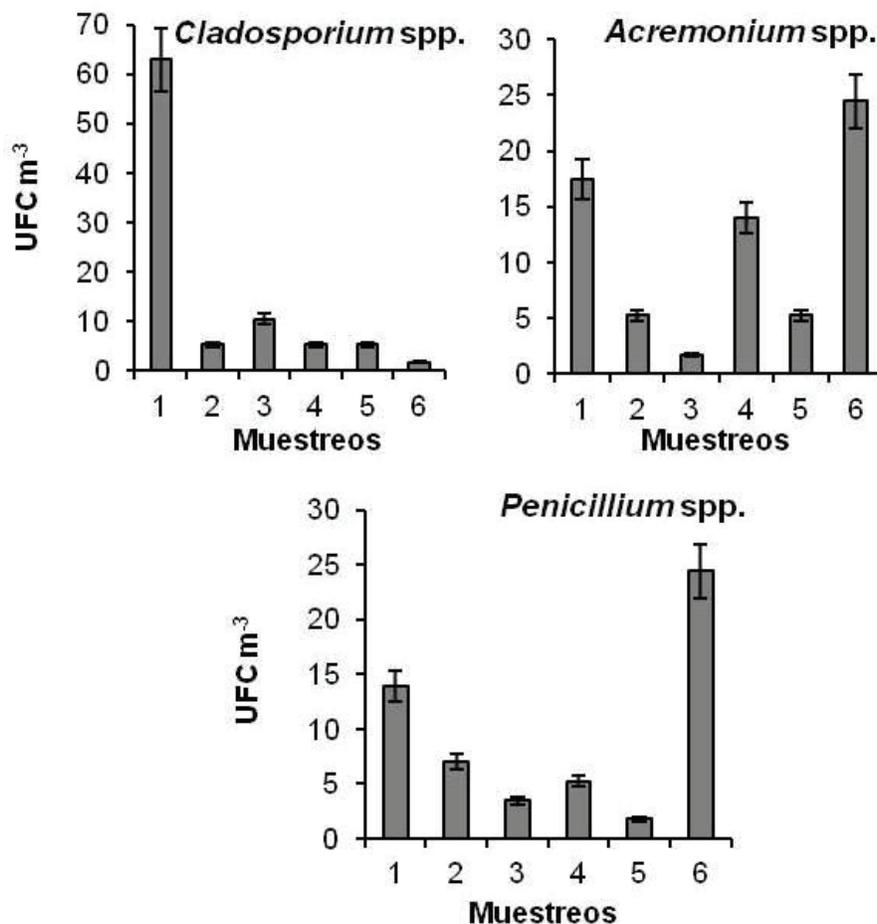


Figura 2. Variación en la concentración de los géneros fúngicos predominantes en el interior de la Biblioteca Alfonso Patiño Rosselli. Las barras representan el error estándar de la media.

mente durante el muestreo ($F_{5,84} = 5,7227$, $p = 0,0001363$); sin embargo, las bacterias Gram positivas predominaron con un 92,1%, con respecto a las bacterias Gram negativas aisladas.

Una mayor prevalencia de bacterias Gram positivas ha sido registrada también por Borrego *et al.* (2008, 2010a, b) y se ha reportado que producen varias de las enfermedades bacterianas transmitidas por el aire, principalmente, a su mayor supervivencia en este ambiente (Zhu *et al.* 2003). También pueden ingresar al interior de los locales a causa de la actividad del hombre, ya que muchas de ellas se encuentran en la piel y en las mucosas (Borrego *et al.* 2008) y pueden ser transportadas por el polvo presente en el piso (Goh *et al.* 2000).

El género bacteriano con mayor abundancia fue *Staphylococcus* (44,5%), seguido de *Micrococcus* y *Kurthia*, con un 17,5 y 17,0%, respectivamente. *Aerococcus* spp., se registró en un 6,1%, mientras que los siete géneros restantes, se presentaron en menos del 5,0% (Figura 3). *Staphylococcus* spp., se registró durante el muestreo, aislándose principalmente en julio, con 45,4 UFC m⁻³ (Figura 4). Entre las bacterias Gram negativas, se aislaron los géneros *Acinetobacter*, *Pseudomonas* y *Neisseria*, que se presentaron en baja densidad. Los géneros *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus* han sido también aislados en otros ambientes cerrados (Labarrere *et al.* 2003; Borrego *et al.* 2008, 2010a, b) y algunas de sus especies están asociadas con problemas, básicamente, respiratorios (Borrego *et al.* 2010a).

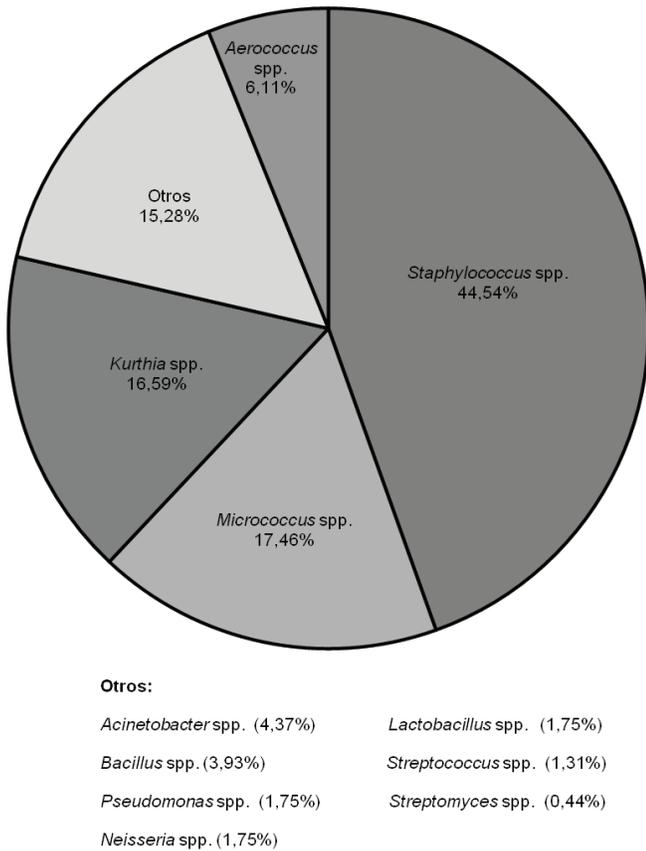


Figura 3. Densidad relativa de los géneros bacterianos aislados en el ambiente de la Biblioteca Alfonso Patiño Rosselli.

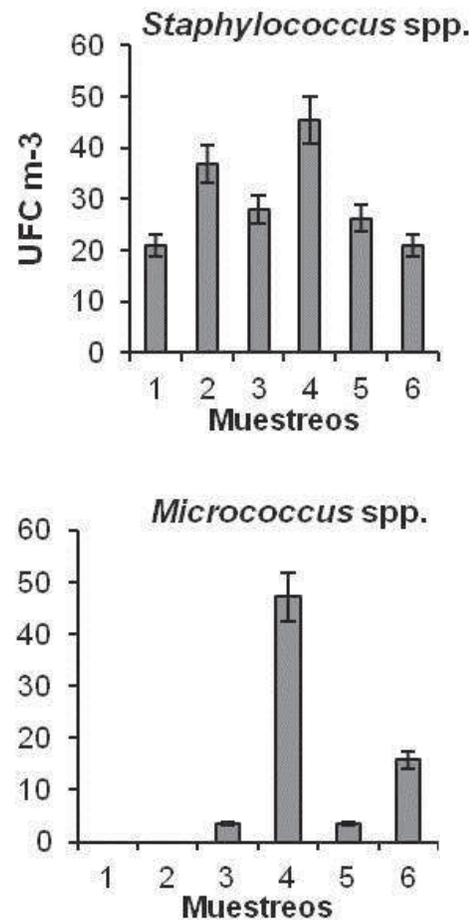


Figura 4. Variación en la concentración de los géneros bacterianos predominantes en el interior de la Biblioteca Alfonso Patiño Rosselli. Las barras representan el error estándar de la media.

Carga fúngica aislada de la colección bibliográfica. Se aislaron en total nueve géneros de hongos filamentosos, a partir de 166 colonias aisladas. La figura 5 muestra que el género *Aspergillus* fue el más aislado, representando un 36,1% del total de las colonias fúngicas, seguido de *Penicillium* spp. (18,7%) y *Trichoderma* spp. (16,9%). También, se aislaron hongos con una importante actividad celulolítica, como *Cladosporium*, *Alternaria*, *Chaetomium*, que junto a los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* representan un riesgo para las colecciones de libros y de documentos (Zyska, 1997; Florian & Manning, 2000; Szczepanowska & Cavaliere, 2000, Gorbushina *et al.* 2004).

La degradación del papel involucra la descomposición de tintas orgánicas y de aditivos (encolantes, abrillantadores ópticos), apresto (almidón o proteína) y revestimientos, además de las fibras de celulosa. Entre los agentes microbianos más importantes implicados en el biodeterioro de documentos almacenados, se encuentran los hongos (Rojas *et al.* 2009) y su desarrollo en el papel está regulado por las condiciones de temperatura y de humedad del sitio de almacenamiento (Giraldo *et al.* 2009).

La presencia de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* en los libros, se podría relacionar con su prevalencia en el ambiente de la biblioteca, a pesar de no haber sido los más abundantes. Se conoce que estos géneros son ubicuos y presentan elevada adaptabilidad metabólica (Zyska, 1997; Lugauskas *et al.* 2003) y han sido reportados, junto a otros, como responsables de biodeterioro de materiales orgánicos (Nugari & Roccardi, 2001; Borrego *et al.* 2011). Asimismo, Valentín *et al.* (1990) mencionan que los hongos germinan en papel en temperaturas de 14°C a 35°C y humedad superior al 65%.

Algunos autores han detectado y caracterizado compuestos metabólicos volátiles producidos por la actividad de los hongos sobre el papel (Canhoto *et al.* 2004). Los géneros *Alternaria*, *Chaetomium* y *Cladosporium* identificados en este estudio, se caracterizan por la producción de diferentes enzimas implicadas en patogénesis de plantas, que podrían ser extrapolados en el proceso de biodeterioro del papel, así como se ha detectado actividad enzimática en la producción de proteasas y de amilasas, por parte de estos géneros (Das *et al.* 1997; Baraznenok *et al.* 1999; Rojas *et al.* 2009). Para futuras investigaciones, se pretende realizar la determinación

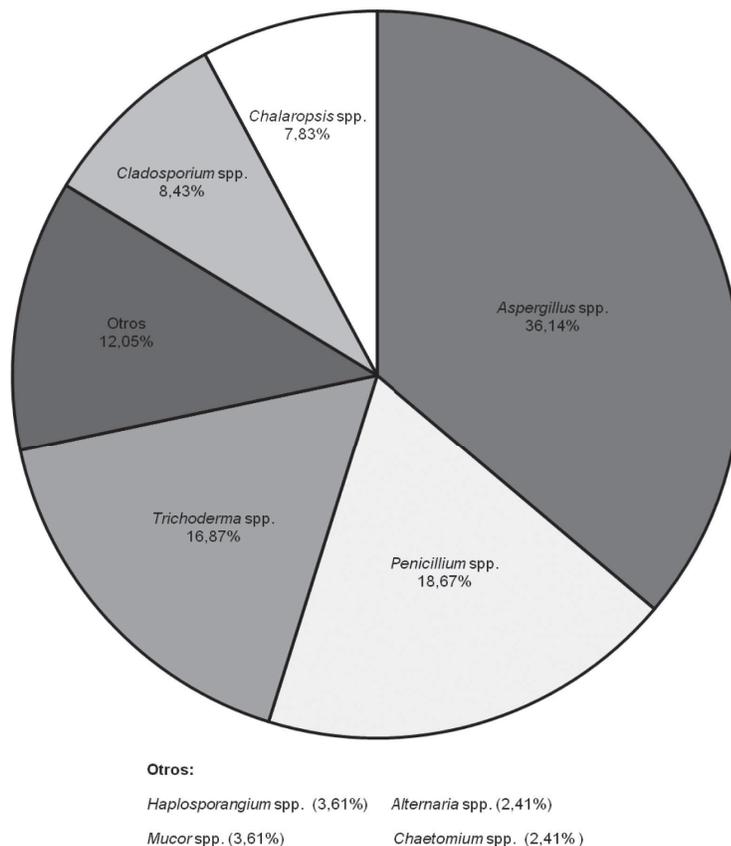


Figura 5. Densidad relativa de los géneros fúngicos aislados de la colección bibliográfica.

de los agentes causales hasta el nivel de especie, así como el mecanismo que podrían estar causando el biodeterioro de los documentos.

A pesar que la concentración microbiana de la biblioteca no es superior a 1000 UFC m⁻³, para considerarla como un ambiente contaminado, es importante controlar las poblaciones de microorganismos presentes en el ambiente (Giraldo *et al.* 2009) y, de igual manera, controlar las condiciones de temperatura y de humedad relativa, mediante el empleo de humidificadores o ventiladores, que podrían favorecer su desarrollo. Aspectos como el tiempo de exposición de las personas al ambiente y sus características inmunológicas podrían incidir en la sintomatología de enfermedades respiratorias (Nevalainen & Morawska, 2009), por lo que el aislamiento de los microorganismos presentes en ambientes cerrados es fundamental para desarrollar programas de control y de prevención de la salud del personal y para evitar el biodeterioro del material bibliográfico.

Agradecimientos: Los autores agradecen al Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación “Colciencias” y a la Dirección de Investigaciones de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia por la Beca Pasantía, otorgada dentro del Programa Jóvenes Investigadores e Innovadores “Virginia Gutiérrez de Pineda”, para desarrollar este proyecto. Al Banco de la República y a la doctora Amparo Bello, por el permiso para realizar el muestreo; al fitopatólogo Jorge Blanco, por sus orientaciones y corroboración en la identificación de algunos géneros fúngicos y a la Estadística Martha Parada, por su colaboración en el manejo estadístico de los datos. **Conflictos de interés:** El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de interés que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

1. AIRA, M.; RODRÍGUEZ, F.; JATO, V.; PIONTELLI, E. 2006. Análisis cuantitativo y cualitativo de la aeromicrocota aislada de la catedral de Santiago de Compostela (Galicia, España). *Bol. Micol. (España)*. 21:27-34.
2. ANGELOSANTE, A.; PACE, L.; TOMASSETTI, B.; COPPOLA, E.; VERDECCHIA, M.; PACIONI, G.; VISCONTI, G. 2007. Estimation of fungal spore concentrations associated to meteorological variables. *Aerobiol. (Italia)*. 23:221-228.
3. BARAZNENOK, V.; BECKER, E.; ANKUDIMOVA, N.; OKUNEV, N. 1999. Characterization of neutral xylanases from *Chaetomium cellulolyticum* and their biobleaching effect on eucalyptus pulp. *EMT (Estados Unidos)*. 25(8-9):651-659.
4. BARNETT, H. 1960. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 2nd ed. Ed. Burgess Publ. Co. (Estados Unidos). 225p.
5. BOGOMOLOVA, E.; KIRTSIDELI, I. 2009. Airborne fungi in four stations of the St. Petersburg Underground railway system. *Int. Biodet. Biodegrad. (Estados Unidos)*. 63:156-160.
6. BORREGO, S.; PONS, V.; PERDOMO, I. 2008. La contaminación microbiana del aire en dos depósitos del Archivo Nacional de la República de Cuba. *Rev. CENIC Cienc. Biol. (Cuba)*. 39(1):63-69.
7. BORREGO, S.; GUIAMET, P.; GÓMEZ DE SARAVIA, S.; BATISTINI, P.; GARCÍA, M.; LAVIN, P.; PERDOMO, I. 2010a. The quality of air at archives and the biodegradation of photographs. *Int. Biodet. Biodegrad.* 64:139-145.
8. BORREGO, S.; PERDOMO, I.; GUIAMET, P.; GÓMEZ DE SARAVIA, S. 2010b. Estudio de la concentración microbiana en el aire de depósitos del Archivo Nacional de Cuba. *Augmdomus (Uruguay)*. 1:118-137.
9. BORREGO, S.; PERDOMO, I.; DE LA PAZ, J.; GÓMEZ DE SARAVIA, S.; GUIAMET, P. 2011. Relevamiento microbiológico del aire y de materiales almacenados en el Archivo Histórico del Museo de La Plata, Argentina y en el Archivo Nacional de la República de Cuba. *Rev. Museo de La Plata, Sección Botánica (Argentina)*. 18(119):1-18.
10. BORRELL, A.; CUETO, A.; CASTILLO, D.; MAZORRA, Y. 2005. Lineamientos para la conservación de documentos en la Biblioteca Médica Nacional de Cuba. Disponible desde Internet en: <http://scielo.sld.cu/pdf/aci/v12n5/aci12504.pdf> (con acceso el 01/04/2012).
11. Centro Virtual de Noticias CVN. 2006. Bibliotecas de Tunja son insuficientes para la demanda de la comunidad. Artículo del Centro Virtual de Noticias. Disponible desde Internet en: <http://www.mineduacion.gov.co/cvn/1665/fo-article-98558.pdf> (con acceso el 12/10/2011).
12. CANHOTO, O.; PINZARI, F.; FANELLI, C.; MAGAN, N. 2004. Application of electronic nose technology for the detection of fungal contamination in library paper. *Int. Biodet. Biodegrad.* 54(4):303-309.

13. CARRILLO, L. 2003. Los hongos de los alimentos y forrajes. Ed. Universidad Nacional de Salta (Argentina). 118p.
14. CHANDRA, P.; VENKATA-MOHAN, S.; JAYARAMA-REDDY, S. 2005. Assessment of microbial (bacteria) concentrations of ambient air at semi-arid urban region: influence of meteorological factors. *Appl. Ecol. Environm. Res. (Hungria)*. 3(2):139-149.
15. DAS, M.K.L.; PRASAD, J.S.; AHMAD, S.K. 1997. Endoglucanase production by paper degrading mycoflora. *Letters in Applied Microbiology*. 25:313-315.
16. DOMSH, K.; GAMS, W.; ANDERSON, T. 1980a. Compendium of soil fungi. Vol. 1, Parte I. Ed. Academic Press (Estados Unidos). 860p.
17. DOMSH, K.; GAMS, W.; ANDERSON, T. 1980b. Compendium of soil fungi. Vol. 1, Parte II. Ed. Academic Press (Estados Unidos). 406p.
18. FINEGOLD, S.; MARTIN, W. 1983. Diagnóstico Microbiológico. 6th ed. Ed. Médica Panamericana S.A. (Estados Unidos). 670p.
19. FLORIAN, M.L.E.; MANNING, L. 2000. SEM analysis of irregular fungal fox spots in an 1854 book: population dynamics and species identification. *Int. Biodet. Biodegrad.* 46(3):205-220.
20. GALLO, F. 1993. Aerobiological research and problems in libraries. *Aerobiol.* 9:117-130.
21. GIRALDO, M.; TORRES, C.; DÍAZ, J. 2009. Aislamiento de hongos celulolíticos causantes del biodeterioro de la Biblioteca Central de la Universidad del Valle (Cali-Colombia). *Rev. Mex. Micol.* 29:9-14.
22. GOH, I.; OBBARD, J.; VISWANATHAN, S.; HUANG, Y. 2000. Airborne bacterial and fungal spores in the indoor environment. A case study in Singapore. *Acta Biotechn.* 20:67-73.
23. GORBUSHINA, A.; HEYRMAN, J.; DORNIEDEN, T.; GONZALEZ-DELVALLE, M.; KRUMBEIN, W.E.; LAIZ, L.; PETERSEN, K.; SAIZ-JIMENEZ, C.; SWINGS, J. 2004. Bacterial and fungal diversity and biodeterioration problems in mural painting environments of St. Martins church (Greene-Kreiensen, Germany). *Int. Biodet. Biodegrad.* 53(1):13-24.
24. HALEEM KHAN, A.; KARUPPAYIL, S.; MANOHARACHARY, C.; KUNWAR, L.; WAGHRAY, S. 2009. Isolation, identification and testing for allergenicity of fungi from air-conditioned indoor environments. *Aerobiol.* 25:119-123.
25. HYVÄRINEN, A.; VAHTERISTO, M.; MEKLIN, T.; JANTUNEN, M.; NEVALAINEN, A.; MOSCHANDREAS, D. 2001. Temporal and spatial variation of fungal concentrations in indoor air. *Aerosol Sci. Techn. (Estados Unidos)*. 35:688-695.
26. JONES, A.; HARRISON, R. 2004. The effects of meteorological factors on atmospheric bioaerosol concentrations-a review. *Sci. Total Environm. (Estados Unidos)*. 326(1-3):151-180.
27. KIRK, P.; CANNON, P.; MINTER, D.; STALPERS, J. 2008. Dictionary of the Fungi. 10th ed. Ed. CABI (Wallingford). 609p.
28. KURUP, V.; SHEN, H.; BANERJEE, B. 2000. Respiratory fungal allergy. *Microb. Infect. (Francia)*. 2:1101-1110.
29. LABARRERE, N.; GÓMEZ, A.; AVILA, I.; GÜEVARA, M.; FERNÁNDEZ, B. 2003. Riesgos biológicos en ambientes confinados. *Rev. Cubana Salud y Trabajo*. 4(1-2):4-7.
30. LUGAUSKAS, A.; LEVINSKAITE, L.; PECIULYTE, D. 2003. Micromycetes as deterioration agents of polymeric materials. *Int. Biodet. Biodegr.* 52:233-242.
31. MADIGAN, M.; MARTINKO, J.; PARKER, J. 2006. Brock Biology of Microorganisms. 11^a ed. Ed. Prentice Hall Iberia (España). 1088p.
32. MAGGI, O.; PERSIANI, A.; GALLO, F.; VALENTI, P.; PASQUARIELLO, G.; SCLOCCHI, M.; SCORRANO, M. 2000. Airborne fungal spores in dust present in archives: proposal for a detection method, new for archival materials. *Aerobiol.* 16:429-434.
33. NEVALAINEN, A.; MORAWSKA, L (ed). 2009. Biological agents in indoor environments. Assessment of health risks. Organización Mundial de la Salud. 206p. Disponible desde Internet en: http://www.ilagh.qut.edu.au/Misc/BIOLOGICAL_AGENTS_2009.pdf (con acceso el 16/04/2011).
34. NOVARESI, M. 2009. Moho: Pautas para el manejo de materiales documentarios contaminados. *Bol. Conserv. Restaur. (Argentina)*. 2(4):9-14. Disponible desde Internet en: <http://www.ilam.org/ILAMDOC/BoletínINTI/restN.IV.pdf> (con acceso el 16/04/2011).

35. NUGARI, M.; ROCCARDI, A. 2001. Aerobiological investigations applied to the conservation of cultural heritage. *Aerobiol.* 17:215-223.
36. O'GORMAN, C.; FULLER, H. 2008. Prevalence of culturable airborne spores of selected allergenic and pathogenic fungi in outdoor air. *Atmosph. Environm. (Estados Unidos)*. 42:4355-4368.
37. PITZURRA, L.; BELLEZZA, T.; GIAMMARIOLI, M.; GIRALDI, M.; SBARAGLIA, G.; SPERA G.; BISTONI, F. 1999. Microbial environmental monitoring of the refectory in the monastery of St. Anna in Foligno, Italy. *Aerobiol.* 15:203-209.
38. PYRRI, I.; KAPSANAKI-GOTSI, E. 2007. A comparative study on the airborne fungi in Athens, Greece, by viable and non-viable sampling methods. *Aerobiol.* 23:3-15.
39. ROJAS, T.; MARTÍNEZ, E.; AIRA, M.; ALMAGUER, M. 2008. Aeromicota de ambientes internos: comparación de métodos de muestreo. *Bol. Micol.* 23:67-73.
40. ROJAS, J.; CRUZ, C.; MIKAN, J.; VILLALBA, L.; CEPERO DE GARCIA, M.; RESTREPO, S. 2009. Isoenzyme characterization of proteases and amylases and partial purification of proteases from filamentous fungi causing biodeterioration of industrial paper. *Int. Biodet. Biodegrad.* 63(2):169-175.
41. SCHAECHTER, M.; NEIDHARDT, F.; INGRAHAM, J. 2006. *Microbe*. Ed. Am. Soc. Microbiol. (Estados Unidos). 610p.
42. SHELTON, B.; KIRKLAND, K.; FLANDERS, W.; MORRIS, G. 2002. Profiles of airborne fungi in buildings and outdoor environments in the United States. *Appl. Environm. Microbiol.* 68:1743-1753.
43. SZCZEPANOWSKA, H.; CAVALIERE, A.R. 2000. Fungal deterioration of 18th and 19th century documents: a case study of the Tilghman Family Collection, Wye House, Easton, Maryland. *Int. Biodet. Biodegrad.* 46 (3):245-249.
44. TOLOZA-MORENO, D.; LIZARAZO-FORERO, L. 2011. Aeromicrobiología del Archivo Central de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (Tunja-Boyacá). *Acta Biol. Col.* 16(1):185-194.
45. VALENTÍN, N.; LISTROM, M.; PREUSSER, F. 1990. Microbial control by low oxygen and low relative humidity environment. *Studies in Conservation.* 35:222-230.
46. ZHU, H.; PHELAN, P.; DUAN, T.; RAUPP, G.; FERNANDO, H.; CHE, F. 2003. Experimental study of indoor and outdoor airborne bacterial concentrations in Tempe, Arizona, USA. *Aerobiol.* 19:201-211.
47. ZYSKA, B. 1997. Fungi isolated from library materials: a review of the literature. *Int. Biodet. Biodegrad.* 40:43-51.

Recibido: Marzo 29 de 2012

Aceptado: Marzo 15 de 2013

EFFECTO DEL CITRATO DE SILDENAFIL EN LA PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD HEPÁTICA CRÓNICA EN UN MODELO DE EXPERIMENTACIÓN MURINO

EFFECT OF SILDENAFIL CITRATE IN CHRONIC LIVER DISEASE PROGRESSION IN A MURINE EXPERIMENTAL MODEL

Jorge Cruz A.¹, Juan Pérez Z.², Martha Urrea Q.³, Henry Mesa E.⁴

¹ MV, Ph.D. Docente Departamento de Salud Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas calle 65 N° 26-10. Manizales, Colombia; ² MVZ, Candidato MSc, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas; ³ MV, Candidato Esp. Docente Departamento de Salud Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas; ⁴ MVZ, Ph.D. Docente Departamento de Producción. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas. Dirección Correspondencia: E-mail: mario.cruz@ucaldas.edu.co; juanperezpata@gmail.com; henry.mesa@ucaldas.edu.co; marthaisabeluq@hotmail.com

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 53 - 60, 2013

RESUMEN

El tratamiento médico de la cirrosis es de carácter paliativo, siendo el trasplante de hígado la única opción de curación a largo plazo, aunque poco disponible. No se ha establecido un régimen terapéutico eficaz que permita evitar la progresión a cirrosis. Se evaluó el efecto del citrato de sildenafil (CS) en la fibrogénesis de ratas Wistar con daño hepático, inducido con tetracloruro de carbono (CCL4). El proyecto fue avalado por el comité de ética para la experimentación con animales de la Universidad de Caldas. Se distribuyeron siete tratamientos: Control (sin medicamentos); control CCL4; CS 10mg/kg; CS 25mg/kg; CS 50mg/kg; CCL4 + CS 10mg/kg; CCL4 + CS 25mg/kg; CCL4 + CS 50mg/kg. El CCL4, se administró dos veces por semana vía subcutánea (SC), mientras que el CS, tres veces por semana, vía intraperitoneal (IP). Se cuantificó la enzima aspartato aminotransferasa (AST) y se realizó histopatología cada dos semanas. El análisis de resultados, se efectuó mediante un análisis de varianza unifactorial. El nivel de significancia estadística fue tomado como $P < 0.05$. Se encontró que los tratamientos CCL4 + CS tenían incrementos importantes de la AST, siendo la dosis 10mg/kg la que presentó un aumento estadísticamente significativo ($P < 0.05$). No se observaron diferencias significativas en la evaluación histopatológica de las variables infiltración celular, vacuolización y fibrosis, al comparar los tratamientos CCL4 + CS y su respectivo grupo control. El tratamiento con CS no alteró la progresión de la fibrogénesis hepática y aumentó

de manera significativa los niveles de AST, sugiriendo un posible efecto tóxico.

Palabras clave: CCL4, fibrogénesis hepática, histopatología, AST.

SUMMARY

Medical treatment of cirrhosis is palliative, being the hepatic transplant the only long-term cure but although not an accessible alternative. No effective therapeutic regimen that could prevent the progression of cirrhosis has been established. The effect of the sildenafil citrate (SC) was evaluated in Wistar rats with hepatic damage induced with carbon tetrachloride (CCL4). The project had the support of the ethic committee of the University of Caldas to experiment with animals. The animals were distributed in seven treatments. Normal control (No medicine); control CCL4; CS 10mg/kg; SC 25mg/kg; SC 50mg/kg; CCL4 + CS 10mg/kg; CCL4 + SC 25mg/kg; CCL4 + SC 50mg/kg. The CCL4 was given twice a week through subcutaneous route, meanwhile the SC was administered within the peritoneum (IP) route three times a week. Samples for the plasmatic measurement were taken of the aspartato aminotransferase (AST), as well as the histopathology tests every two weeks. The analysis of the results was done through an analysis of unifactorial variance. The level of statistical significance was taken as $P < 0.05$. It was found that treatments of CCL4 +

SC showed important increases of the enzyme AST, being the dose 10mg/kg the one with a statistically significant increase ($P < 0.05$). Significant differences were not observed in the histopathology evaluation of the variables of cellular infiltration, vacuolization and fibrosis when comparing the treatments CCL4 + SC with its respective control group. The treatment with SC did not affect the progression of the hepatic fibrogenesis and noticeably increased the levels of AST, suggesting a possible toxic effect.

Key words: CCL4, hepatic fibrogénesis, histopatología, AST.

INTRODUCCIÓN

Un porcentaje importante (2-3%) de la población mundial sufre algún tipo de enfermedad hepática crónica, caracterizada por fibrosis progresiva y cirrosis, como resultado final (Ji *et al.* 2005).

La cirrosis hepática tiene un gran impacto clínico, debido a que: 1) 170 millones de pacientes alrededor del mundo se encuentran afectados por alguna forma de enfermedad hepática crónica (EHC) y, dentro de este grupo, el 25 – 30% es de esperar que desarrollen fibrosis y eventualmente cirrosis; 2) la cirrosis hepática es, entre las enfermedades del tracto gastrointestinal, la causa no neoplásica más común de muerte en Europa y en USA y representa la séptima causa de muerte en los países occidentales; 3) la mortalidad es aún mayor, debido a que la cirrosis predispone al desarrollo de carcinoma hepatocelular (CHC), siendo el quinto cáncer más frecuente y la tercera causa de muerte cancerígena alrededor del mundo y, 4) análisis epidemiológicos predicen un pico para las EHCs (incluyendo CHC) en la próxima década, con un incremento en los pacientes que llegarán al estado final de la enfermedad (Forbes & Parola, 2011).

Cuando la cirrosis está bien establecida, la supervivencia del paciente no supera el año. Los tratamientos médicos disponibles para la enfermedad hepática crónica son de carácter paliativo y casi siempre son inefectivos, con el trasplante de hígado, como única opción de brindar una expectativa de vida a largo plazo, aunque esta alternativa es muy costosa y limitada a unos pocos pacientes (Albanis *et al.* 2003).

La activación de las células hepáticas estrelladas constituye la piedra angular de la patogenia en la fibrosis hepática. Estas células perisinusoidales son estructuras quiescentes que almacenan vitamina A en condiciones normales, pero se diferencian a células contráctiles, proliferativas y fibrogénicas, productoras de matriz extracelular en exceso, en el paciente cirrótico. Los mediadores claves en la activación de células hepáticas estrelladas incluyen una serie de citoquinas, intermediarios reactivos de oxígeno y otras señales paracrinas y autocrinas (Bonis *et al.* 2001).

Durante la injuria hepática las concentraciones de endotelina aumentan promoviendo la proliferación de las células estrelladas. Paralelo, se presenta una reducción del óxido nítrico (ON), derivado de las células endoteliales; el ON antagoniza el efecto de la endotelina sobre las células hepáticas estrelladas. El resultado de este imbalance es una proliferación descontrolada de este tipo de células con gran liberación de matriz extracelular y un invariable incremento de la resistencia sinusoidal, que contribuye a la hipertensión portal (Iredale, 2003).

Existen opiniones controversiales respecto a la utilidad que tendría el ON en revertir la fibrogenesis hepática. Experimentos *in vivo* muestran que el ON tiene efectos hepatoprotectores, aunque producido en grandes cantidades o crónicamente puede actuar como un mediador citotóxico e inducir daño hepático (Mayoral *et al.* 1999). El ON protege al hígado inhibiendo la activación de la caspasa, a través de modificaciones de residuos de cistina en los sitios de acción de esta enzima, proceso conocido como S-nitrosilación, que es particularmente eficiente en hepatocitos y células endoteliales. También puede activar la guanil ciclasa (sGC), que lidera la síntesis de guanilmonofosfato cíclico (cGMP) y tiene una actividad anti-apoptótica en los hepatocitos y es la responsable de desencadenar vasodilatación (Rockey & Shah, 2004).

El efecto vasodilatador del ON está limitado por la enzima fosfodiesterasa 5 (PDE-5) (Bender & Beavo, 2006). Loureiro-Silva *et al.* (2006) afirman que la PDE-5 modula el tono intrahepático vascular en hígados normales y que su sobreexpresión está involucrada en la reducción de la respuesta vasodilatadora mediada por el ON en hígados cirróticos de ratas; estos investigadores postulan que los inhibidores de la PDE-5 pueden ser útiles para reducir la resistencia intrahepática vascular incrementada en la cirrosis, debido a que potencian los efectos vasodilatadores endógenos y exógenos del ON, aumentando el flujo vascular.

El Citrato de Sildenafil (CS) un agente vasodilatador que inhibe la enzima PDE-5, lo que incrementa los niveles de ON; ha sido ampliamente utilizado para tratar la disfunción eréctil y se emplea, experimentalmente, como estrategia en el mejoramiento de la función endotelial (Tomasoni *et al.* 2010), en pacientes con falla cardíaca e hipertensión pulmonar reactiva (Dumitrescu *et al.* 2012), en la fibrosis pulmonar inducida con bleomicina en modelos murinos (Yildirim *et al.* 2010) y en el manejo de enfermedades autoinmunes (Shenoy & Agarwal, 2010), problemas cardiovasculares de arterias coronarias (Reyna-Villasmil *et al.* 2008; Halcox *et al.* 2002), entre otros.

Se ha encontrado que en caninos con hipertensión pulmonar (HTP), el CS reduce la presión arterial pulmonar (PAP),

incrementa la actividad física y mejora la calidad de vida y la supervivencia (Brown *et al.* 2010; Bach *et al.* 2006; Kellum & Stepien, 2007), convirtiéndose en una opción razonable de tratamiento para perros que tienen HTP; sin embargo, no se conocen reportes de su uso en la enfermedad hepática en pequeños animales.

El protocolo para inducir daño hepático con tetracloruro de carbono (CCL4) ha sido ampliamente utilizado y garantiza la producción de cirrosis hepática (Proctor & Chatamra, 1984). Este protocolo constituye uno de los métodos más confiables para evaluar el efecto terapéutico antifibrótico.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del CS sobre los niveles de AST y la fibrogénesis en un modelo de experimentación murino de daño hepático inducido con CCL4.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este experimento, se llevó a cabo en las instalaciones del Bioterio de la Universidad de Caldas, ubicada en la ciudad de Manizales, a 2.150 m.s.n.m., con temperatura

promedio de 20°C y humedad relativa de 78%. Los análisis histopatológicos y sanguíneos fueron realizados en los laboratorios de Patología Veterinaria y Patología Clínica de la misma institución. El proyecto fue aprobado por el comité de ética de la Universidad de Caldas.

Se utilizaron 94 ratas Wistar, con un peso inicial aproximado de 200g y ocho meses de edad, procedentes del bioterio de la Universidad de Caldas. Se distribuyeron en 28 cajas plásticas transparentes (37,5cm x 57,5cm x 37,0cm), bajo una temperatura constante de 26°C y humedad relativa de 75%. El piso de cada caja, se cubrió con cascarilla de arroz como cama y se hizo recambio tres veces por semana. Los animales tuvieron acceso al agua y alimento (Agrinal® Rodentina) *ad libitum*, durante todo el experimento.

Los animales, se distribuyeron en siete tratamientos (Tabla 1), organizados en un Diseño Irrestrictamente al Azar, conformados por cuatro repeticiones y cuatro animales por unidad experimental.

La inducción del daño hepático, se realizó con la aplicación de Tetracloruro de Carbono (CCL4), según el protocolo de

Tabla 1. Tratamientos experimentales.

Tratamiento	CCL4	Citrato de Sildenafil (CS)	Dosis
T0 Control	-	-	-
T1 CCL4	+	-	-
T2 Sanos + C.S.	-	+	10mg/kg v.p.
T3 Sanos + C.S.	-	+	25mg/kg v.p.
T4 Sanos + C.S.	-	+	50mg/kg v.p.
T5 CCL4 + C.S.	+	+	10mg/kg v.p.
T6 CCL4 + C.S.	+	+	25mg/kg v.p.
T7 CCL4 + C.S.	+	+	50mg/kg v.p.

- No aplica

+ Si aplica

Proctor & Chatamra (1984); se aplicó el CCL4 mezclado con aceite de oliva, en una proporción de 1:1; esta mezcla, se inyectó tres veces por semana a la dosis de 1ml/kg de peso corporal por vía SC, durante ocho semanas, tiempo, en el cual, se evaluó la progresión de la enfermedad hepática.

La solución de CS, se preparó según el protocolo de Behn & Potter (2001); se utilizó una técnica aséptica, se pulverizaron tabletas de CS 50mg (Sildenafil Lab. Mk®), con mortero y pistilo hasta obtener un fino polvo. El polvo fue mezclado con solución salina 0,9%, para conseguir una solución homogénea, que se filtró con papel filtro de 40µm

y se almacenó en recipientes plásticos estériles. Una vez obtenida la solución, se procedió a inyectar a los animales vía IP, tres veces por semana, a una dosis de 10, 25 y 50mg/kg, de acuerdo al tratamiento correspondiente, durante un periodo de seis semanas y a partir de la segunda semana de recibir el tóxico. Los animales fueron pesados previamente a la aplicación del medicamento para asegurar una dosis apropiada del mismo.

En las semanas cuatro, seis y ocho, se sacrificó un animal por unidad experimental. La eutanasia, se realizó con una sobredosis de Isoflorano (Isorane Lab. Abbot®), según lo

establecido por la American Veterinary Association (2007). Una vez logrado el paro cardiorrespiratorio, se tomó la muestra de sangre por punción intracardiaca y se depositó en un tubo sin anticoagulante (Kenxin® x 6ml). Posteriormente, se hizo necropsia y se tomó una muestra de hígado, para el estudio histopatológico. Se registraron los hallazgos macroscópicos. Para la preservación de las muestras, se utilizó formol buferado al 10%.

Las muestras de sangre, se centrifugaron a 2000 rpm, durante 15 minutos, para la obtención de suero. Se realizó la

medición de la enzima aspartato aminotransferasa (AST) en un espectrofotómetro Biosystem®.

Las muestras de hígado fueron teñidas con hematoxilina-eosina. Para realizar la lectura de las placas de histopatología, se tuvo en cuenta el grado de actividad o severidad de la inflamación, la vacuolización y la fibrosis, en una escala de valores de cero a tres, en donde cero representa ninguna actividad y tres, actividad necroinflamatoria masiva (Tabla 2), según lo reportado por Cruz-Amaya *et al.* (2011) y se adaptó el sistema marcador METAVIR (Theise, 2007).

Tabla 2. Calificación de los estadios del daño hepático.

Ítem	0	1	2	3
Actividad inflamatoria	Ninguna	Leve	Moderada	Severa
Vacuolización	Ninguna	Leve	Moderada	Severa
Fibrosis	Ninguna	Leve	Moderada	Severa

Las diferencias estadísticas entre grupos de tratamiento fueron determinadas, utilizando un análisis de varianza unifactorial. El nivel de significancia estadística fue tomado como $P < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo ningún tratamiento alteró la progresión de la fibrogénesis hepática inducida por el CCL4 y no se observaron diferencias significativas en la evaluación histopatológica de las variables infiltración celular, vacuolización y fibrosis al comparar los tratamientos CCL4 + CS en las dosis de 10, 25 y 50mg/kg con su respectivo grupo control (Figura 1).

La evaluación histopatológica realizada, según lo reportado por Cruz-Amaya *et al.* (2011), mostró marcada a severa vacuolización acompañada de degeneración grasa o hidrópica centrolobulillar, así como fibrosis centrolobulillar y puentes fibróticos de comunicación porto-central en todos los tratamientos, en los cuales, el CCL4 estaba presente. Estos hallazgos fueron más notorios en el tratamiento CCL4 + 10mg/kg de CS (Figura 1).

Por otra parte, al evaluar el efecto de tratamiento sobre la enzima plasmática AST, se encontró que los tratamientos de CCL4 y CS en las dosis de 10, 25 y 50mg/kg tenían incrementos importantes de la enzima, siendo la dosis 10 mg/kg de CS la que presentó un aumento estadísticamente significativo (Figura 2), indicando, posiblemente, que el suministro del fármaco junto con CCL4 produjo un sinergismo de potenciación tóxica.

En este experimento, no se observaron signos clínicos característicos de cirrosis, como ascitis o ictericia; en general, la población evaluada no presentó signos de enfermedad. De igual forma, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en las variables peso y consumo de alimento.

Existe una experiencia clínica considerable con el uso del CS, como vasodilatador en situaciones diversas, que incluyen la disfunción eréctil y la hipertensión pulmonar (Corbin *et al.* 2002; Oliver *et al.* 2006; Spring *et al.* 2008), lo que ha generado gran interés en establecer si este fármaco puede contrarrestar la hipertensión portal y la fibrogénesis en el paciente cirrótico.

Una gran controversia gira en torno al hecho de manipular terapéuticamente los niveles de ON en el paciente cirrótico, debido a que estos niveles estarían disminuidos a nivel hepático en dichos pacientes, pero no a nivel sistémico y un aumento de esta molécula en toda la economía esta asociada, al parecer, a mayor deterioro hepático (Atucha *et al.* 2005).

En este trabajo, la administración IP de CS no alteró la progresión de la fibrogénesis hepática. Por el contrario, algunos investigadores consideran que la administración oral de fármacos que incrementan los niveles de ON puede modificar no solamente el aumento de la resistencia hepática sino también ejercer una acción antifibrogénica por inhibición de la proliferación, la motilidad y la contractilidad de las células hepáticas estrelladas, reduciendo la acumulación de matriz extracelular fibrilar y retrasando la progresión de la

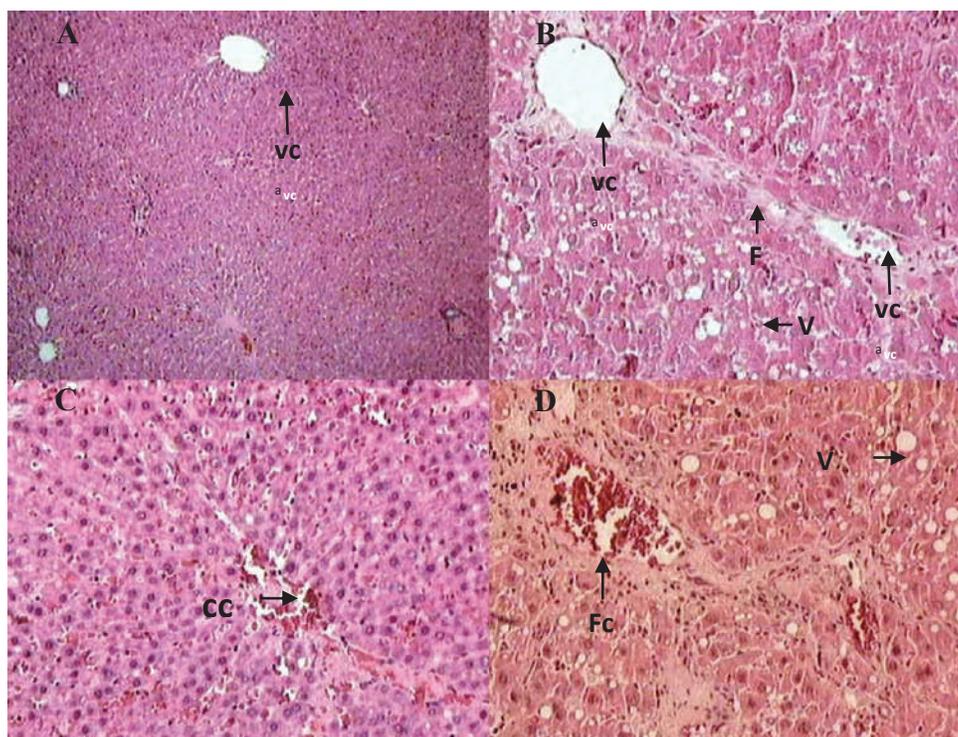


Figura 1. Hallazgos histopatológicos - semana 8 de tratamiento. **(A)** Control T0, SE puede observar el hígado normal (magnificación 100x). **(B)** Control CCl4, se observa fibrosis (F) uniendo venas centrales (vc) con moderada a severa vacuolización (V) centrolobulillar (magnificación 400x). **(C)** Tratamiento T2, leves cambios microcircuitarios asociados a congestión centrolobulillar (cc) (magnificación 400x). **(D)** Tratamiento T5, moderados cambios microcircuitarios y grasos o hidrópicos, hepatopatía crónica con severa degeneración grasa y fibrosis centrolobulillar (Fc) (magnificación 400x).

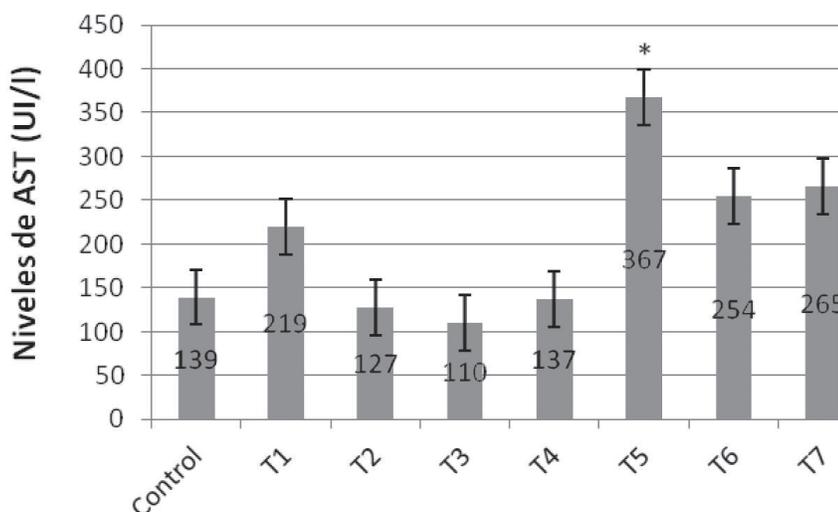


Figura 2. Niveles plasmáticos de AST en cada tratamiento (valores normales 96 -153 U/l). *Diferencia estadísticamente significativa (P=0.000002).

cirrosis (Bosch *et al.* 2003; Failli *et al.* 2000); no obstante, en este trabajo, los cambios histopatológicos en los animales tratados con CS ip no evidenciaron disminución en la fibrogénesis, al compararlos con su respectivo grupo control (Figura 1).

Loureiro-Silva *et al.* (2006) describen que en el hígado cirrótico existe una sobreexpresión de la PDE-5, enzima que limita el efecto vasodilatador del ON al degradar selectivamente la guanosina monofosfato cíclica (GMPc), la cual, en condiciones normales es activada por el ON, lo que resulta en una secuencia de eventos que culminan con la relajación y la vasodilatación endotelial.

Por estas razones, se cree que la terapia con el CS al incrementar los niveles de ON, podría representar una estrategia en el tratamiento de la cirrosis, lo que favorece a la reducción de la resistencia intrahepática vascular incrementada y el gradiente de presión vascular hepático (GPVH), al potenciar los efectos vasodilatadores endógenos del ON, aumentando el flujo vascular (Tandon *et al.* 2010; Ghali-Ghoul *et al.* 2007; Loureiro-Silva *et al.* 2006); no obstante, los efectos fisiológicos de los fármacos inhibidores de la FDE-5, como el CS, no se pueden considerar de forma simplista, debido a que al parecer los niveles de esta molécula difieren notablemente entre el lecho vascular hepático y el sistémico.

Rodríguez-Vilarrupla *et al.* (2007) y Atucha *et al.* (2005) reportan que, a nivel esplácnico y sistémico, el paciente cirrótico experimenta un exceso de ON, que incrementa el flujo sanguíneo hacia la vena porta y agrava el síndrome hipertensivo portal. De otra parte, Colle *et al.* (2004) demostraron que el CS administrado intramesentérico e intravenoso además de incrementar el flujo de sangre mesentérico y la presión venosa portal, disminuye la presión arterial en ratas control y en ratas con cirrosis, lo que tendría posibles implicaciones clínicas, como una ruptura de varices esofágicas, debido a un súbito aumento de la presión venosa portal.

Además, la hipotensión causada por el CS puede ser deletérea en pacientes con cirrosis, los cuales, ya presentan una presión sanguínea disminuida y, por último, un aclaramiento retrasado del CS en plasma puede incrementar los efectos secundarios, ya mencionados (Colle *et al.* 2004).

Tandon *et al.* (2010) reportan que en pacientes con cirrosis hepática compensada, el suministro de CS no tuvo un efecto benéfico sobre la reducción de la presión portal y que la acción vasodilatadora del CS al no ser hepática específica, dio como resultado una reducción significativa en la presión arterial media (PAM).

A la luz de las conclusiones de Tandon *et al.* (2010) y

Rodríguez-Vilarrupla *et al.* (2007), se podría pensar que el suministro de CS a un paciente cirrótico conseguiría generar un aumento en la circulación portal lo suficientemente severo, para agravar el síndrome hipertensivo.

El aumento en la AST se considera un indicador de injuria hepática activa. En este trabajo, los niveles de la enzima AST se incrementaron en los tratamientos que incluían CCL4 y CS. La asociación en estos hallazgos sugiere que el CS favorece al deterioro microscópico en los hígados de las ratas con enfermedad hepática inducida con CCL4; estos hallazgos coinciden con lo reportado por Li *et al.* (2005), investigadores que encontraron un sinergismo de potenciación cuando se suministra CS y etanol concomitantemente.

Ji *et al.* (2005) cuantificaron los niveles séricos de bilirrubina total y AST para establecer si se producía mejoría en la función y en la regeneración hepática de ratas alimentadas con y sin alcohol, sometidas a hepatectomía parcial, medicadas con CS, a dosis de 5, 25 y 50mg/kg vía oral. Los investigadores no observaron cambios significativos en la funcionalidad hepática en ambos grupos de ratas; por el contrario, encontraron que la dosis de 5mg/kg inhibía la regeneración hepática. De otra parte, Yardimci *et al.* (2012) consideran que las dosis utilizadas por Ji *et al.* (2005), fueron muy altas, ya que ellos encontraron regeneración hepática con el mismo modelo experimental, pero a dosis mucho menores (10µg/kg y 100µg/kg).

Es también muy significativo el hallazgo de Yardimci *et al.* (2012), respecto al hecho de que el CS no solamente produjo regeneración hepática sino que también esta regeneración fue mucho más temprana, con respecto al grupo control.

Edwards *et al.* (2008) sugieren que el ideal para una intervención segura y efectiva en el tratamiento de la hipertensión portal debe ser un fármaco donador de ON hepático específico que pueda reducir la presión venosa portal sin afectar la hemodinamia sistémica. Sumado a lo anterior, Tandon *et al.* (2010) afirman que la demostración de un incremento en la expresión de la FDE-5 en hígados cirróticos de ratas, apunta al desarrollo de inhibidores de la enzima específicos para el órgano, lo que conseguiría una reducción del GPVH sin inducir efectos sistémicos.

El suministro de CS a ratas con daño hepático inducido con CCL4 no tuvo efecto en la reversión de la fibrogénesis hepática. Además, el aumento significativo de los niveles plasmáticos de AST sugiere un efecto tóxico del CS.

Posiblemente, los experimentos futuros que evalúen la terapia del CS u otros inhibidores de la enzima FDE - 5 en pacientes cirróticos deban considerar una vía de administración que no exponga la economía a niveles incrementados de esta

molécula sino exclusivamente la circulación hepática, así como también la utilización de otras dosis de este medicamento.

Se requieren estudios adicionales sobre vasodilatadores intrahepáticos específicos, que no tengan efectos sobre la circulación sistémica.

Agradecimientos: A la Vicerrectoría de Investigaciones y Posgrados de la Universidad de Caldas, por patrocinar esta investigación. **Conflictos de intereses:** El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

1. ALBANIS, E.; SAFADI, R.; FRIEDMAN, S. 2003. Treatment of Hepatic Fibrosis: Almost There. *Curr. Gastroen. Report* (Estados Unidos). 5:48-56.
2. AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASOCIATION (AVMA). 2007. Guidelines on euthanasia. Disponible en: http://www.avma.org/issues/animal_welfare/euthanasia.pdf (con acceso 20/03/2010).
3. ATÚCHA, N.; NADAL, F.; IYÚ, D.; ALCARAZ, A.; RODRÍGUEZ-BARBERO, A.; ORTIZ, C.; LÓPEZ-NOVOA, M.; GARCÍA-ESTAÑO, J. 2005. Role of vascular nitric oxide in experimental liver cirrhosis. *Curr. Vasc. Pharmacol.* (Emiratos Árabes Unidos). 3(1):81-5.
4. BACH, J.F.; ROZANSKI, EA.; MACGREGOR, J.; BETKOWSKI, J.M.Y.; RUSH, J.E. 2006. Retrospective evaluation of sildenafil citrate as a therapy for pulmonary hypertension in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* (Estados Unidos). 20(5):1132-1135.
5. BEHN, D.; POTTER, M. 2001. Sildenafil-mediated reduction in retinal function in heterozygous mice lacking the gamma-subunit of phosphodiesterase. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* (Estados Unidos). 42(2):523-527.
6. BENDER, A.T.; BEAVO, J.A. 2006. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: molecular regulation to clinical use. *Pharmacol. Rev.* (Estados Unidos). 58(3):488-520.
7. BOSCH, J.; ABRALDES, J.; GROSZMANN, R. 2003. Current management of portal hypertension. *J. Hepatol.* (Países Bajos). 38 S54-S68.
8. BONIS, P.A.; FRIEDMAN, S.L.; KAPLAN, MM. 2001. Is liver fibrosis reversible? *New Engl. J. Med.* 344:452-454.
9. BROWN, A.J.; DAVISON, E.; SLEEPER, M.M. 2010. Clinical efficacy of sildenafil in treatment of pulmonary arterial hypertension in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 24:850-854.
10. COLLE, I.; DE VRIESE, A.S.; VAN VLIERBERGHE, H.; LAMEIRE, N.H.; DEVOS, M. 2004. Systemic and splanchnic haemodynamic effects of sildenafil in an *in vivo* animal model of cirrhosis support for a risk in cirrhotic patients. *Liver Int.* (Reino Unido). 24:63-68.
11. CORBIN, J.; FRANCIS, S.; WEBB, D. 2002. Phosphodiesterase type 5 as a pharmacologic target in erectile dysfunction. *Urology* (Estados Unidos). 60(Supplement 2B):4-11.
12. CRUZ-AMAYA, J.; NARVÁEZ, N.; URREA, M.; FLOREZ, M.; MEZA, H. 2011. Efecto de la aplicación de dexametasona en la evolución de la enfermedad hepática crónica, en un modelo de experimentación Murino. *Rev. Lasallista Investig.* (Colombia). 8(2):33-39.
13. DUMITRESCU, D.; SECK, C.; MÖHLE, L.; ERDMANN, E.; ROSENKRANZL, S. 2012. Therapeutic potential of sildenafil in patients with heart failure and reactive pulmonary hypertension. *Int. J. Cardiol.* (Holanda). 154(2):205-206.
14. EDWARDS, C.; FENG, H-Q.; REYNOLDS, C.; MAO, L.; ROCKEY, D. 2008. Effect of the nitric oxide donor V-PYRRO/NO on portal pressure and sinusoidal dynamics in normal and cirrhotic mice. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 294:G1311-G1317.
15. FAILLI, P.; DEFRANCO, R.; CALIGIURI, A.; GENTILINI, A.; ROMANELLI, R.; MARRA, F.; BATIGNANI, G.; GUERRA, C.; LAFFI, G.; GENTILINI, P.; PINZANI, M. 2000. Nitrovasodilators inhibit platelet-derived growth factor induced proliferation and migration of activated human hepatic stellate cells. *Gastroenterol.* (Estados Unidos). 119:479-492.
16. FORBES, S.; PAROLA, M. 2011. Liver fibrogenic cells. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* (Reino Unido). 25(2):207-217.
17. GHALI-GHOUL, R.; TAHSELDAR-ROUMIEH, R.; SABRA, R. 2007. Effect of chronic administration of sildenafil on sodium retention and on the hemodynamic complications Associated with Liver Cirrhosis in the Rat. *Eur. J. Pharmacol.* (Países Bajos). 572:49-56.

18. HALCOX, J.; NOUR, A.; ZALOS, G.; MINCEMOYER, R.; WACLAWIW, A.; RIVERA, E.; WILLIE, G.; ELLAHHAM, S.; QUYYUMI A. 2002. The Effect of Sildenafil on human vascular function, platelet activation, and myocardial ischemia. *J. Am. Coll. Cardiol.* 40:1232-1240.
19. IREDALE, J. 2003. Cirrhosis: New research provides a basis for rational and targeted treatments. *Brit. Med. J.* 327:143-147.
20. JI, H.; SHEN, H.; UHANOVA, J.; ZHANG, M.; MINUK, G.; GONG, Y. 2005. Effects of sildenafil citrate on hepatic function and regeneration in normal and alcohol-fed rats. *Liver Int.* 25:913-919.
21. KELLUM, H.B.; STEPIEN, R.L. 2007. Sildenafil citrate therapy in 22 dogs with pulmonary hypertension. *J. Vet. Intern. Med.* 21(6):1258-1264.
22. LI, J.; FU, P.; DELEON, M.; FRENCH, B.A.; FRENCH, S.W. 2005. The effect of viagra (sildenafil citrate) on liver injury caused by chronic ethanol intragastric feeding in Rats. *Exp. Mol. Pathol.* (Estados Unidos) 78:101-108.
23. LOUREIRO-SILVA, M.; IWAKIRI, Y.; ABRALDES, J.; HAQ, O.; GROSZMANN, R. 2006. Increased phosphodiesterase-5 expression is involved in the decreased vasodilatador response to nitric oxide in cirrhotic rat livers. *J. Hepatol.* 44:886-893.
24. MAYORAL, P.; CRIADO, M.; HIDALGO, F.; FLORES, O.; ARÉVALO, A.; ELENO, N.; SÁNCHEZ- RODRÍGUEZ, A.; LÓPEZ-NOVOA, M.; ESTELLER, A. 1999. Effects of chronic nitric oxide activation or inhibition on early hepatic fibrosis in rats with bile duct ligation. *Clin. Sci. (Reino Unido).* 96(3):297-305.
25. OLIVER, J.; MELVILLE, V.; WEBB, D. 2006. Effect of regular phosphodiesterase type 5 inhibition in hypertension. *Hypertension Ann. H* (Estados Unidos). 48:622-627.
26. PROCTOR, E.; CHATAMRA, K. 1984. Standardized micronodular cirrhosis in the rat. *Eur. Surg. Res.* 16:182-186.
27. REYNA-VILLASMIL, E.; TORRE, D.; PEÑA, E.; MEJÍA, J.; REYNA-VILLASMIL, N.; GONZÁLEZ, P. 2008. Efecto del citrato de sildenafil sobre el flujo sanguíneo de las arterias uterina, umbilical y cerebral media fetal en pre eclámpticas. *Rev. Obstetr. Ginecol. Ven.* 68:187-194.
28. ROCKEY, D.; SHAH, V. 2004. Nitric oxide biology and the liver: Report of an AASLD research workshop. *Hepatology* (Estados Unidos). 39:121-128.
29. RODRÍGUEZ-VILARRUPLA, A.; FERNÁNDEZ, M.; BOSCH, J.; GARCÍA-PAGÁN, C. 2007. Current concepts on the pathophysiology of portal hypertension. *Ann. Hepatol.* (Estados Unidos). 6(1):28-36.
30. SHENOY, P.; AGARWAL, V. 2010. Phosphodiesterase inhibitors in the management of autoimmune disease. *Autoimmun. Rev.* (Holanda). 9(7):511-515.
31. SPRING, R.M.; ULRICH, S.; HUBER, L.C.; SPEICH, R.; MAGGIORINI M.; TREDER, U.; FISCHLER, M. 2008. Sildenafil for pulmonary hypertension: dose-dependent improvement in exercise performance. *Pulm. Pharmacol. & Ther.* (Estados Unidos). 21:516-521.
32. TANDON, P.; INAYAT, I.; TAL, M.; SPECTOR, M.; GROSZMANN, R.; GARCIA-TSAO, G. 2010. Sildenafil has no effect on portal pressure but lowers arterial pressure in patients with compensated cirrhosis. *Clin. Gastroenterol.* 8:546-549.
33. THEISE, N. 2007. Liver biopsy assessment in chronic viral hepatitis. *Modern Pathol.* (Estados Unidos). 20:3-14.
34. TOMASONI, L.; SITIA, S.; BORGHI, C.; CICERO, A.; CECONI, C.; CECARO, F.; MORGANTI, A.; DE GENNARO COLONNA, V.; GUZZI, M.; MORRIGONE, L.; MALAVAZOS, A.E.; MARINO, P.; CAVALLINO, C.; SHOENFELD, Y.; TURIE, M. 2010. Effects of treatment strategy on endothelial function. *Autoimmun. Rev.* 9(12):840-844.
35. YARDIMCI, S.; BOSTANCI, E.B.; OZER, I.; DALGIC, T.; SURMELIOGLU, A.; AYDOG, G.; AKOGLU, M. 2012. Sildenafil accelerates liver regeneration after partial hepatectomy in rats. *Transplant Proc.* (Estados Unidos). 44:1747-1750.
36. YILDIRIM, A.; ERSOY, Y.; ERCAN, F.; ATUKEREN, P.; GUMUSTAS, K.; USLU, U.; ALICAN, I. 2010. Phosphodiesterase-5 inhibition by sildenafil citrate in a rat model of bleomycin-induced lung fibrosis. *Pulm. Pharmacol. Ther.* (Estados Unidos). 23:215-221.

Recibido: Abril 5 de 2012

Aceptado: Enero 21 de 2013

INFLUENCIA DE LA SOMBRA Y DE LAS MICORRIZAS SOBRE EL CRECIMIENTO DE PLANTAS DE LULO (*Solanum quitoense* Lam.)

INFLUENCE OF SHADING AND MYCORRHIZAE ON GROWTH OF LULO PLANTS (*Solanum quitoense* Lam.)

Fánor Casierra-Posada¹; Jaime Peña-Olmos²; Juan Peñaloza³; Gabriel Roveda⁴

¹ I.A. Ph.D., profesor asociado Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Tunja / Colombia. Grupo de Investigación Ecofisiología Vegetal. E-mail: fanor.casierra@uptc.edu.co [Autor para correspondencia]; ² I.A., Estudiante de Maestría en Ciencias Biológicas (IPTC). E-mail: jaimpe.pena@uptc.edu.co; ³ I.A. (IPTC). E-mail: jdiegops83@hotmail.com; ⁴ I.A., M.Sc. Grupo de Recursos Biofísicos. Corpoica, C.I. Tibaitatá. E-mail: groveda@gmail.com

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 61 - 70, 2013

RESUMEN

El lulo es originario de los bosques andinos, donde crece bajo sombra parcial, asociado a micorrizas nativas. Se han establecido cultivos comerciales en ambientes de alta iluminación, lo que genera estrés. Para evaluar el crecimiento de plantas de lulo inoculadas con micorrizas y bajo condiciones de sombreado, se estableció un estudio en invernadero en Tunja, Colombia. Las plantas, se inocularon con Mycobiol® (combinación de *Glomus* sp., *Entrophospora colombiana* y *Acaulospora mellea*) y con *Scutellospora heterogama*, *Acaulospora mellea* y *Glomus* spp., individualmente. Sobre la mitad de las plantas micorrizadas, se extendió una malla polisombra. A las plantas control no se les aplicaron micorrizas ni sombra. Tanto *Glomus* sp. como *S. heterogama* indujeron plantas 55% más altas que aquellas que no habían sido micorrizadas. Las plantas, en pleno sol tratadas con *S. heterogama*, Mycobiol, *Glomus* sp. y *A. mellea*, presentaron, respectivamente, 290%, 186%, 142% y 124,2% más área foliar que las plantas control. Se produjo una reducción de 37% en el peso específico de las hojas en plantas expuestas a la sombra, en relación con las plantas micorrizadas a plena exposición. Bajo sombra, las plantas disminuyeron 27% la acumulación de materia seca en relación con las plantas micorrizadas a libre exposición. Las plantas a pleno sol inoculadas con *S. heterogama* y con *Glomus* sp. produjeron 153% y 132% más materia seca que las plantas control. La inoculación con micorrizas compensó el efecto negativo de la sombra sobre el crecimiento de las plantas.

Palabras clave: Sombreado, área foliar, peso específico de las hojas, materia seca.

SUMMARY

The lulo plant (*Solanum quitoense*) native to Andean forests grows under partial shade in association with native mycorrhizae. In commercial cultivation lulo is often planted in full sun, which leads to plant stress. In order to evaluate the growth of lulo plants inoculated with mycorrhizae, under partial shade conditions, a greenhouse study was CARRIED OUT in Tunja, Colombia. The plants were inoculated with Mycobiol® (a combination of *Glomus* spp., *Entrophospora colombiana*, and *Acaulospora mellea*), *Scutellospora heterogama* alone, *Acaulospora mellea* alone, and *Glomus* spp. alone. Half of these inoculated plants were grown under a shade cloth, while the control plants were grown in full sun without mycorrhizae. *Glomus* spp. and *S. heterogama* induced full-sun plants 55% taller than in treatments without mycorrhizae. Full-sun plants treated with *S. heterogama*, Mycobiol, *Glomus* spp., and *A. mellea* respectively presented 290%, 186%, 142%, and 124% more leaf area than plants without mycorrhizae. There was a 37% reduction in specific leaf weight in shaded plants with respect to mycorrhizal plants in full sun. Shaded mycorrhizal plants also had 27% lower dry matter accumulation compared to plants in full sun. Full-sun plants inoculated with *S. heterogama* and with *Glomus* spp. produced 153% and 132% more dry matter than control plants. Inoculation with mycorrhizae compensated the negative effect of shade on plant growth.

Key words: Shading, leaf area, specific leaf weight, dry matter.

INTRODUCCIÓN

El lulo (*Solanum quitoense* Lam.) crece en forma espontánea en el área andina, en especial, bajo condiciones de sotobosque, en sitios frescos, sombreados, cercanos a corrientes de agua, con temperaturas entre 17 y 20°C (Medina *et al.* 2008); además, es una especie que, frecuentemente, interactúa con hongos formadores de micorrizas arbusculares. Aunque se puede cultivar bajo sombrío, su cultivo a plena exposición reduce, de manera considerable, el período productivo (Lobo, 2000), como consecuencia de la actividad fotosintética y de un metabolismo acelerado, lo que conlleva al debilitamiento ante ataques subsiguientes de plagas y de enfermedades (Lobo, 1991). Por tanto, las condiciones de sotobosque conllevan a una reducción sustancial de la cantidad de radiación incidente sobre las plantas de lulo, las cuales, deben aprovechar la radiación difusa, en gran medida.

La micorriza es una asociación mutualista entre un hongo y una planta superior (Menge, 1983). Pueden existir diferentes tipos de micorrizas, cuyas diferencias radican en su morfología y su fisiología (Turk *et al.* 2006). En la asociación micorriza/hospedero, el hongo ofrece aminoácidos, nutrientes y agua al hospedero, a cambio de fotosintatos (Smith & Read, 1997). Debido a que la micorriza se comporta como un vertedero de carbohidratos, se altera tanto la fotosíntesis como la distribución de carbohidratos en la planta hospedera (Nehls & Hampp, 2000; Wright *et al.* 2000), por tanto, los cambios en la radiación incidente (McGee & Furby, 1992) y la calidad del espectro (Rosa *et al.* 1999) pueden afectar la asociación hospedero micorriza.

Existen reportes en que el sombreado reduce la infección en endomicorrizas (Boullard, 1960); sin embargo, Baylis (1967) encontró que el sólo sombreado no reduce la infección de *Coprosma robusta* en un suelo de bosque. Las plántulas micorrizadas de especies tolerantes a la sombra presentaron menor infección cuando crecían en ambientes fuertemente sombreados, en comparación que cuando se encontraban a plena exposición solar; mientras que las especies de plantas con alta demanda de luz presentaban altos niveles de infección por parte del hongo y acumularon fósforo, incluso, bajo condiciones de fuerte sombreado (Johnson, 1976).

Rosa *et al.* (1998) estudiaron el crecimiento de plántulas fertilizadas de *Pinus sylvestris* bajo diferentes fuentes de luz de amplio espectro y encontraron que la radiación, con baja relación rojo/rojo lejano, reducía el número de raíces cortas y el desarrollo de las micorrizas, lo cual, atribuyen al resultado de la reducción en el envío de fotosintatos a las raíces; no obstante, los autores no detectaron efecto complementario de la radiación rojo lejano sobre la formación de las micorrizas, ni frecuencias morfológicas en plántulas sin fertilización. También, se ha estudiado el efecto de la radiación de amplio

espectro sobre la interacción entre ectomicorrizas y *P. sylvestris* y se encontró que el hongo creció sobre las raíces laterales, pero no desarrolló la red de Hartig en los tratamientos con luz; además, el efecto de la radiación de amplio espectro sobre la interacción hongo/raíz fue altamente dependiente del estado de desarrollo de la raíz (Niemi *et al.* 2005).

En diversos estudios se ha constatado el beneficio ofrecido por el sombrío sobre algunas plantas cultivadas comercialmente, como *Coffea arabica* (Cardona & Sadeghian, 2005). Bajo estas condiciones, los cafetos incrementan su tasa fotosintética (Jaramillo & Gómez, 1989); sin embargo, es poco lo que se conoce con respecto al efecto del sombrío sobre las poblaciones de hongos micorrízicos sobre los vegetales. Se ha encontrado que el sistema de producción a libre y a mediana exposición indujo un incremento del micelio, determinado en épocas de máximo verano, dado que se incrementa el brillo solar, la temperatura y disminuyen las precipitaciones; en consecuencia, la humedad del suelo se reduce, así como la disponibilidad de nutrientes (Swisher, 1999; Paz & Sánchez, 2007).

Las especies frutícolas perennes o semiperennes requieren una etapa de vivero antes del establecimiento del huerto comercial (Alarcón & Ferrera-Cerrato, 1999). Es, precisamente, en la etapa de vivero o en las etapas tempranas de la planta, en donde la aplicación e inoculación de micorrizas representa un gran potencial para mejorar el crecimiento y el desarrollo (Roveda *et al.* 2007), ya que la micorriza actúa como acelerador del crecimiento, por lo que se pueden obtener plantas con mayor vigor y sanidad. Otro beneficio correspondería a la reducción de costos de producción en función de la reducción de la aplicación de fuentes fertilizantes (Alarcón & Ferrera-Cerrato, 1999), como consecuencia de la alta capacidad de la planta micorrizada para tomar nutrientes, en especial, el fósforo. Se reporta que una de las principales estrategias de las plantas para adaptarse a condiciones adversas de suelo es mediante el incremento de la superficie radical, a través de las micorrizas (Marschner, 1991).

El objetivo de presente estudio consistió en la evaluación del crecimiento en plantas de lulo (*S. quitoense*), que habían sido inoculadas con diferentes cepas de micorrizas y expuestas a condiciones de sombrío y a plena exposición, bajo condiciones de invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo, se realizó en el invernadero de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (IPTC). Como material vegetal, se utilizaron plántulas obtenidas a partir de semilla de lulo (*S. quitoense* var. bot. *septentrionale*), provenientes del laboratorio de cultivo de tejidos Bioplasma de la IPTC, las cuales,

se transplantaron a bolsas, con capacidad para cuatro kg, que contenían tierra negra, proveniente de un Andosol de la región.

El inóculo utilizado en el experimento fue suministrado por el Programa Nacional de Recursos Biofísicos de CORPOICA, C.I. Tibaitatá. El producto consistía en una mezcla de suelo, de hifas, de esporas de la micorriza y de raíces colonizadas. Los tipos de micorriza utilizados correspondieron a *Acaulospora mellea*, *Scutellospora heterogama*, *Glomus* sp., el producto comercial Mycobiol® (Corpoica), el cual, contiene tres tipos diferentes de micorrizas de los géneros *Glomus* sp., *Entrophospora colombiana*, *Acaulospora mellea*. Las plantas control no se inocularon con ningún tipo de micorriza. La inoculación de las plantas con la micorriza, se realizó al momento del trasplante del semillero a las bolsas de cuatro kg, colocando una cantidad del producto que contenía las micorrizas, de manera que cerca de las raíces quedara una cantidad aproximada a 200 esporas del hongo.

Para efectos del sombreado, se cubrieron un grupo de plantas con malla polisombra negra, que indujo una reducción de 24,9% con respecto a las plantas a libre exposición, dentro del invernadero. La iluminación medida correspondió a $782,2 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ y, bajo la malla polisombra, se registró una iluminación de $587,0 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. La radiación registró en lx con un luxómetro Testoterm 0500® (Alemania) y fue convertida a $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

Como variables respuesta, se determinaron el peso seco, por secado en estufa a 105°C hasta peso constante; la distribución de la materia seca en los diferentes órganos, como la cantidad de peso seco a cada órgano con respecto al peso seco total de la planta; el peso específico de las hojas, como el cociente entre el área foliar y el peso seco de las hojas; la tasa de crecimiento absoluto, relativo y de asimilación neta, de acuerdo con las fórmulas de Hunt (1990); la altura de la planta medida con un flexómetro; el área foliar determinada con un medidor integrado Li-cor 3000A® (USA); la relación raíz/vástago, como el cociente entre el peso seco de la raíz y el peso de la parte aérea. Al final del ensayo, en el suelo donde crecieron las plantas, se determinó el número de esporas por gramo de suelo, mediante el procedimiento descrito por Gerdemann & Nicolson (1963).

El ensayo consistió en un experimento bifactorial, donde el primer factor era el sombreado y, el segundo, estaba constituido por el tipo de micorriza (sin micorriza, Mycobiol, *Scutellospora heterogama*, *Acaulospora mellea*, *Glomus* sp.), organizados en un diseño, el bloque al azar, con diez repeticiones. La unidad experimental estuvo constituida por siete plantas. Para el análisis estadístico, se hizo una prueba de variancia, mediante una tabla ANAVA ($P < 0,05$) y la prueba de separación de promedios de Tukey. Estas pruebas, se rea-

lizaron con la ayuda de la aplicación SPSS® versión 11.5.1 (Statistical Product and Service Solutions, Chicago, Illinois, USA - Nov. 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se encontró diferencia altamente significativa ($P < 0,01$) para los factores sombra y micorrizas, así como para todas sus interacciones (sombra x micorrizas), en todas las variables evaluadas, con excepción del número de esporas por gramo de suelo seco y de la tasa de crecimiento relativo, en la cual, hubo diferencia para el factor sombra y para la interacción sombra x micorrizas, pero no para el factor micorrizas. En lo relacionado con la altura de la planta, la sombra motivó la elongación de las plantas en un 11,6% en relación con las plantas plena exposición. Independientemente del sombreado, las micorrizas que en mayor grado motivaron la elongación de las plantas fueron *Glomus* sp. y *S. heterogama*, que indujeron plantas 54,7% más altas que aquellas que no habían sido micorrizadas (control) (Tabla 1). De igual manera, Siqueira *et al.* (1998) encontraron un incremento en la altura y en el diámetro del tallo en plantas de *Coffea* sp., como consecuencia de la inoculación de las plantas con esporas de *Glomus clarum*, *Gigaspora margarita* y *Glomus etunicatum*. Asimismo, Pereira *et al.* (2001) reportan que las plantas de *Eucalyptus camaldulensis* presentan mayor altura de plántulas cuando se inoculan con *Glomus intraradices*, pero no así con *G. mosseae*, como consecuencia de un mayor grado de micorrización alcanzada por las plantas inoculadas con *G. intraradices* (86,7%), con su consiguiente aumento en la absorción de agua y de nutrientes para la planta.

Las plantas expuestas al sombreado presentaron 56,8% más área foliar que las que se encontraban a libre exposición, con diferencias estadísticamente significativas, lo cual, está relacionado con un mecanismo de adaptación de las plantas a las condiciones del sombreado. Las plantas sufren variaciones en el tamaño del follaje, en la densidad y en la posición de los estomas, debido a la necesidad que tienen de adaptarse a las condiciones de luz (Sprugel *et al.* 1996). Mientras a libre exposición, las ramas y las hojas sirven de protección de los tallos contra la radiación directa, bajo sombra, el factor limitante es la falta de luz, a lo cual, las plantas responden produciendo hojas de mayor área, con un mesófilo poco desarrollado. Una mayor superficie foliar ayuda a las plantas a capturar un mayor número de fotones (Schulze *et al.* 2002); sin embargo, esta efectividad en la captación de luz no implica que las plantas bajo sombra sean más eficientes que las plantas a plena exposición, en cuanto a la utilización de los fotoasimilados. En relación con las micorrizas, sin tener en cuenta la sombra, todas las plantas tratadas con los hongos micorrizógenos presentaron mayor área foliar que las plantas control. Respectivamente, las plantas tratadas con *S. heterogama*, Mycobiol, *Glomus* sp., y *A. mellea*, presen-

Tabla 1. Área foliar, peso específico de las hojas y altura de la planta en plantas de lulo (*Solanum quitoense* Lam.), inoculadas con diferentes especies de micorrizas y expuestas a dos niveles de iluminación.

Iluminación	Micorriza	Variable								
		Área foliar (cm ²)			Peso específico de las hojas (mg·cm ⁻²)			Altura de la planta (cm)		
		Media	Desv.	Tukey	Media	Desv.	Tukey	Media	Desv.	Tukey
Plena exposición	Control	226,05	28,62	a	5,17	0,66	def	15,77	1,33	a
	Mycobiol	573,03	162,58	bc	5,30	1,33	ef	18,18	1,68	b
	<i>S. heterogama</i>	507,34	100,02	b	5,94	0,82	f	28,11	1,82	de
	<i>A. mellea</i>	614,39	120,95	bc	4,91	1,09	de	26,10	1,86	d
	<i>Glomus</i> sp.	596,46	42,72	bc	4,37	0,74	cd	28,21	1,36	de
Sombrio	Control	294,60	54,29	a	3,48	0,67	bc	22	2,35	c
	Mycobiol	916,15	88,40	d	2,67	0,52	ab	21,04	1,82	c
	<i>S. heterogama</i>	1521,67	98,61	e	2,06	0,16	a	30,28	2,70	e
	<i>A. mellea</i>	552,95	172,84	bc	4,401	1,34	cde	26,41	2,33	d
	<i>Glomus</i> sp.	663,80	100,50	c	3,49	0,55	b	30,16	2,99	e
	C.V. (%)		55,57			34,62		21,32		

Promedios con letras iguales no presentan diferencias significativas según la prueba de Tukey ($P < 0,01$)

taron 289,8%; 186%; 142% y 124,2% más área foliar que las plantas sin tratamiento adicional con micorrizas (control) (Tabla 1). De igual manera, se encontró un incremento en el área foliar en plantas de *Citrus volkameriana* inoculadas con *Glomus intraradices* (Peng *et al.* 1993). Este incremento significativo del área foliar en plantas micorrizadas es el resultado de una mayor demanda de carbohidratos por parte del hongo micorrizógono, carbohidratos que la planta sintetizará partiendo de una mayor capacidad en la interceptación de fotones. Por tal razón, la planta, en presencia de micorrizas arbusculares, tiende a desarrollar más su área foliar, con el fin de ser más eficiente en la captación de luz y abastecer las demandas de fotoasimilados por parte de la misma y del micosimbionte. Harris *et al.* (1985) evaluaron la inoculación individual y doble de *Rhizobium* y hongos formadores de micorrizas del género *Glomus*, en plantas de soya. A las seis semanas de crecimiento, se encontró que los nódulos en plantas micorrizadas consumían un 12% de los fotosintatos, mientras que la micorrizas consumían un 17%. El contenido de almidón de las hojas en las plantas noduladas y micorrizadas había descendido en 50%, debido al requerimiento de los dos simbioses. Este alto consumo de la doble simbiosis se vio compensado por un incremento del 47%, en las tasas de fijación del CO₂, con respecto a los controles no inoculados y un aumento del 24%, en el área foliar específica. El área foliar y el ritmo de fijación de carbono por unidad de

superficie en las plantas de soya micorrizadas y noduladas fue superior con respecto a los controles nodulados y adicionados con fósforo, razón por la cual, la asimilación de carbono en dichas plantas aumentó (Gianinazzi-Pearson & Azcón-Aguilar, 1991).

Se produjo una reducción del orden de 37,3% en el peso específico de las hojas en plantas expuestas a la sombra, versus plantas a plena exposición. En cuanto a las micorrizas, el valor presentado el control solamente fue superado por *A. mellea*, con 6,9%, mientras que *S. heterogama* presentó 6,9% menos y, a su vez, *Glomus* sp. y *Mycobiol*, mostraron 9,3% menos que las plantas control (Tabla 1). Hepper (1977) reportó un incremento del 16% en el peso seco de la raíz en plantas micorrizadas. Esto implica una mayor demanda de fotosintatos por parte del hongo, los cuales, son transportados desde la parte aérea, principalmente desde las hojas, hacia la raíz de la planta. Las raíces micorrizadas consumen entre 4 y 20% más del carbono fijado en la fotosíntesis, en comparación con las raíces no micorrizadas, siendo la planta compensada por incrementos en la tasa fotosintética, debido a elevadas concentraciones de fósforo foliar (Jakobsen, 1995).

Para la variable peso seco total acumulado por planta, aquellas expuestas a la sombra, disminuyeron la acumulación de materia seca, en un 27,3%, en relación con las plantas a libre

exposición. Generalmente, las plantas expuestas a pleno sol presentan hojas que, por lo regular, son más gruesas y tienen una mayor masa por área que las que se desarrollan bajo condiciones de sombra (Sprugel *et al.* 1996). En general, las plantas inoculadas con *S. heterogama* produjeron 152,7% más materia seca que las plantas control, de igual manera, *Glomus sp.* produjo 131,8% más, *A. mellea* 114,6% y *Mycobiol* 106,9% (Figura 1). Este incremento en la acumulación

de biomasa es una consecuencia de un mayor flujo de nutrientes minerales (principalmente fósforo) hacia el hospedero, debido, fundamentalmente, a la presencia de micorrizas arbusculares (Sánchez de Prager, 1999).

En cuanto al peso seco en hojas, en tallos y en raíces, se observó una desproporción en la distribución de las plantas no micorrizadas. El testigo con sombra mostró una dismi-

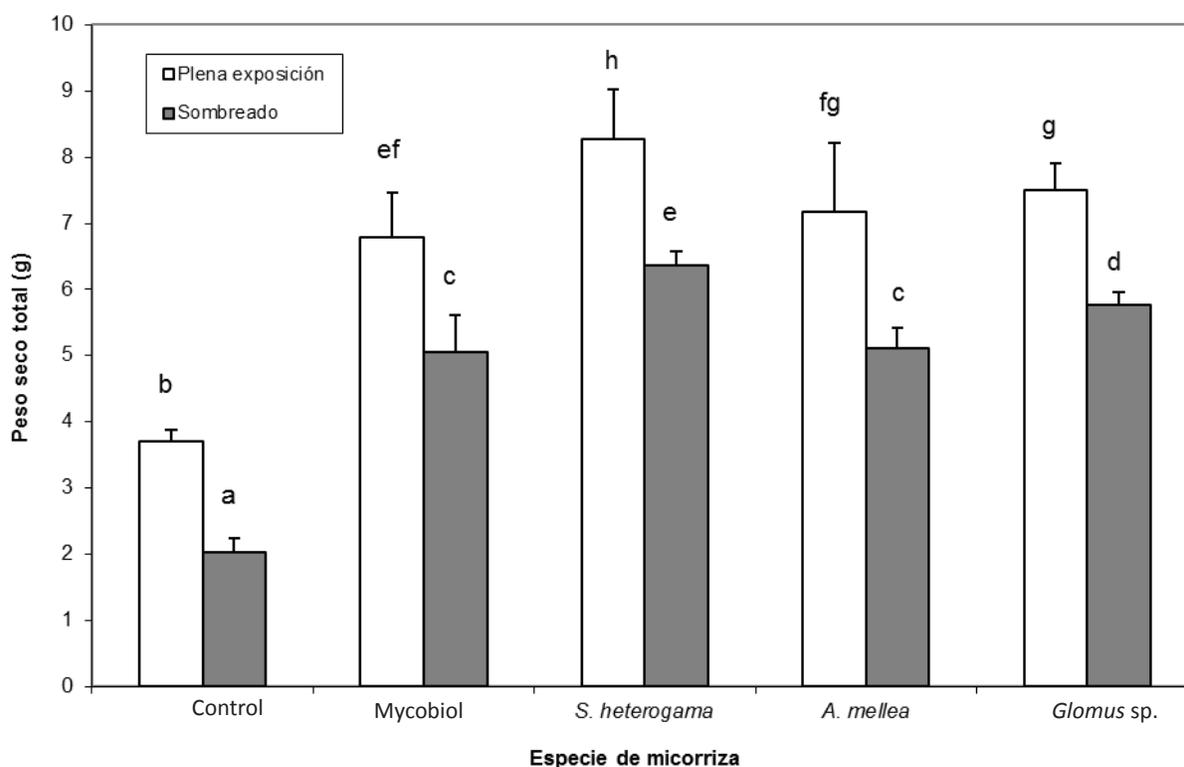


Figura 1. Producción total de peso seco en plantas de lulo (*Solanum quitoense* Lam.), inoculadas con diferentes especies de micorrizas y expuestas a dos niveles de iluminación.

nación del 19,44% en el peso seco de la raíz con respecto a *S. heterogama*, 33,37% menos que *Mycobiol*, 35,1% menos que *Glomus sp.* y 36,9% menos que *A. mellea*, todos bajo sombra. En la parte aérea el testigo con sombra presentó el mayor porcentaje de peso seco, tanto para hojas (49,64%) como para tallos (25,83%), lo cual, muestra una planta poco homogénea, condición que no se dio en los tratamientos micorrizados bajo sombra (Figura 2). Por otra parte, el testigo sin sombra evidenció una mayor acumulación de su peso seco en la raíz, con un 29,5% más que *S. heterogama*, 30,15% sobre *Glomus sp.*, 31,2% sobre *Mycobiol* y 45,56% más que *A. mellea*. Contrario a lo que sucedió con su parte aérea, en donde el testigo sin sombra mostró el menor desarrollo, con 31,18%, para hojas y 9,4%, para tallos, otra muestra de un cambio en el patrón de distribución de ma-

teria seca, en este caso, a favor del peso seco de la raíz, la que nuevamente se vio más homogénea en los tratamientos inoculados con micorrizas y a libre exposición (Figura 2).

La relación raíz/vástago mostró diferencias a favor de las plantas a libre exposición, con un 36,58% más que las plantas influenciadas por la sombra, evidenciándose un mayor desarrollo radicular en las primeras. El factor micorrizas presentó diferencias significativas a favor de las plantas no micorrizadas, que presentaron un incremento del 26,78%, con respecto a las plantas inoculadas con *Glomus sp.*, 28,33% por encima de *Mycobiol*, 35,49% más que *S. heterogama* y 37,72% más con respecto a *A. mellea* (Figura 3). Lo anterior concuerda con lo señalado por Sánchez de Prager (1999), quien afirma que el establecimiento y el buen desarrollo de

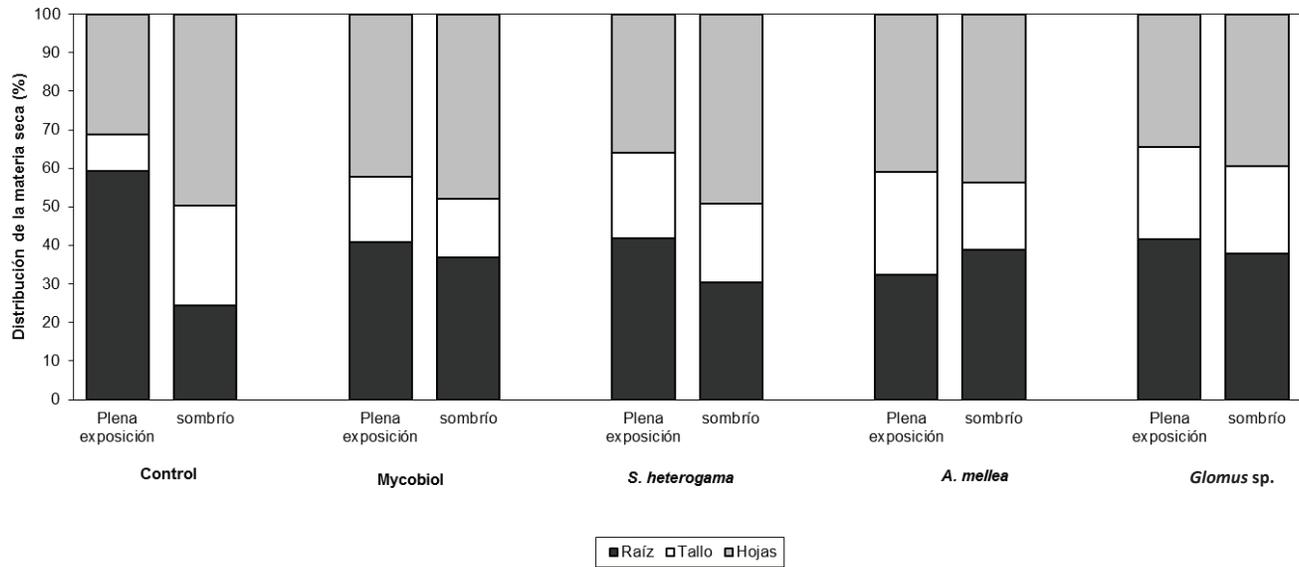


Figura 2. Distribución porcentual de materia seca en raíces, en tallo y en hojas en plantas de lulo (*Solanum quitoense* Lam.), inoculadas con diferentes especies de micorrizas y expuestas a dos niveles de iluminación.

la simbiosis, además de incrementar la biomasa vegetal tiene una marcada influencia en la distribución de la misma, debido a una mayor translocación de nutrientes desde la raíz hacia la parte aérea de la planta, la cual, propicia, relativamente, una menor transferencia de fotosintatos a la raíz y una mayor retención de éstos en la parte aérea, donde la planta los utiliza para producir material vegetal. Es por esta

razón, que la relación raíz/vástago, generalmente, es más baja en plantas micorrizadas.

La tasa de crecimiento relativo (TCR) se vio influenciada por el factor sombra, pero no por las micorrizas, es así, como la sombra redujo el valor de esta variable, en 29,4% (Figura 4). De igual manera, Guarnaschelli *et al.* 2006, investigaron las posibles diferencias en el comportamiento de dos clones de

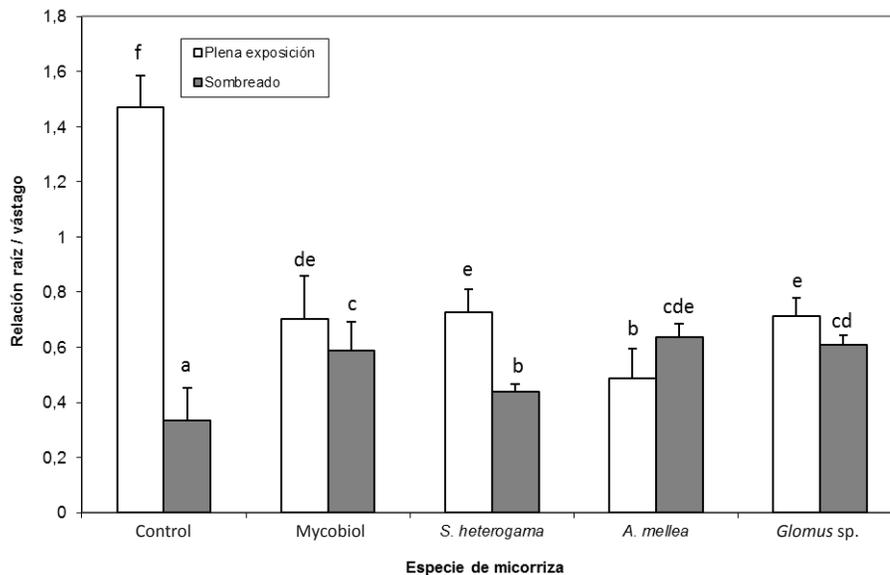


Figura 3. Relación Raíz/Vástago en plantas de lulo (*Solanum quitoense* Lam.), inoculadas con diferentes especies de micorrizas y expuestas a dos niveles de iluminación.

sauce en respuesta a condiciones controladas de restricción hídrica y lumínica en tres niveles: plena exposición, sombra moderada (24,9% de reducción de luz) y sombra severa (90% de reducción de luz), al inicio del establecimiento. La TCR en altura y en diámetro mostró diferencias significativas a favor de los tratamientos de sombra moderada y plena exposición, con respecto a los tratamientos bajo sombra severa. El mantenimiento del crecimiento en altura bajo sombra moderada y el aumento del área foliar y del área foliar específica, en ambos niveles de sombra, indican que estos clones de sauce tienen capacidad de aclimatación frente a la baja disponibilidad lumínica (Lambers *et al.* 1998), independientemente del

nivel de disponibilidad hídrica que recibieron (Guarnaschelli *et al.* 2006); sin embargo, es evidente que para las plantas de lulo, esta capacidad de aclimatación es moderada y, en condiciones de restricción severa de luz, los parámetros de crecimiento se ven afectados.

La tasa de crecimiento absoluto (TCA), se redujo con la sombra, en 37,5% y, a su vez, las micorrizas también afectaron esta variable, con un incremento de 188,8%, en relación con las plantas control, con el uso de *S. heterogama*, 155,5% con *Glomus sp.*, 133,3% con *Mycobiol* y, por último, 116,6% con *A. mellea* (Figura 4). Bajo las condiciones propias del

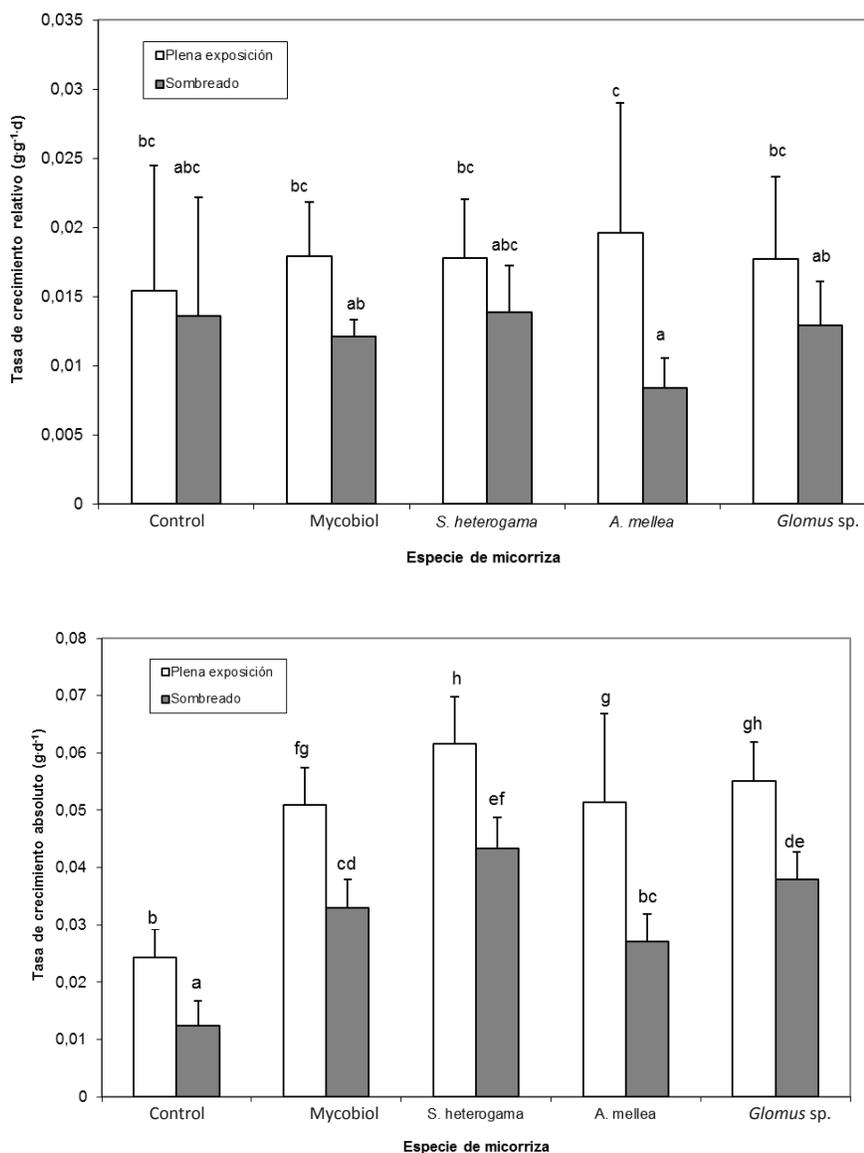


Figura 4. Tasa de crecimiento absoluto y relativo en plantas de lulo (*Solanum quitoense* Lam.), inoculadas con diferentes especies de micorrizas y expuestas a dos niveles de iluminación.

presente ensayo, las plantas crecieron en contenedores individuales, sin experimentar la interferencia o competencia con otros individuos, lo cual, facilitó la expresión de los tratamientos a evaluar. Esta abstracción facilitó la expresión del crecimiento de las plantas expuestas a los diferentes tratamientos y es así, como en todos los casos, las plantas tratadas con micorrizas evidenciaron tasas de crecimiento absoluto mayores que los testigos, independientemente de la exposición a la luz. Moreira-Souza & Cardoso (2002) realizaron trabajos en diferentes bosques de Brasil, con el objetivo de identificar la diversidad de los hongos micorrizógenos en dichos bosques y hallaron una mayor tasa de crecimiento inicial en los distintos árboles nativos con presencia de micorrizas arbusculares en la raíz, con lo cual, afirmaron que el éxito de los programas de reforestación, en gran medida, puede depender de la colonización micorrizica de la raíz de las plántulas, lo que incrementa su competitividad, debido al aumento en la tasa de crecimiento inicial. Esto hace suponer que en condiciones de sotobosque las micorrizas puedan fortalecer la competitividad de las plantas de lulo, como consecuencia de un incremento en la intensidad de su crecimiento.

En lo que respecta a la tasa de asimilación neta (TAN), se redujo en un 27,5%, con la sombra; sin embargo, con respecto

a las plantas control, las micorrizas indujeron un incremento en el valor de esta variable, en términos de 400% con *S. heterogama*, 328,5% con *Glomus* sp., 285,7% con *A. mellea* y 271,4% con *Mycobiol* (Figura 5). Esta alta tasa fotosintética, se puede justificar con base en elevadas concentraciones de fósforo foliar y en modificaciones en la hidratación de las hojas, los cuales, son producto del flujo de nutrimentos por parte del hongo hacia la planta, flujo que es compensado por la movilización del carbono en sentido basípeto. Sin lugar a dudas, la eficiencia fotosintética de las plantas micorrizadas, concuerda con la superioridad de las mismas sobre las plantas testigo en la totalidad de las variables evaluadas, mostrando un buen equilibrio de acuerdo con lo descrito por Jakobsen (1995), quien señala que el crecimiento de las plantas micorrizadas va a depender del balance entre el aporte de nutrientes, por parte del hongo y el aporte de carbono, por parte de la planta.

No se encontró diferencia significativa de los factores evaluados ni de su interacción sobre el número de esporas por gramo de suelo seco. Estos resultados concuerdan con otras investigaciones realizadas en frutales andinos, como mora y uchuva (Roveda *et al.* 2009), debido a que el incremento en las poblaciones de esporas en el suelo esta determinada por los ciclos de esporulación del micelio extraradical de las

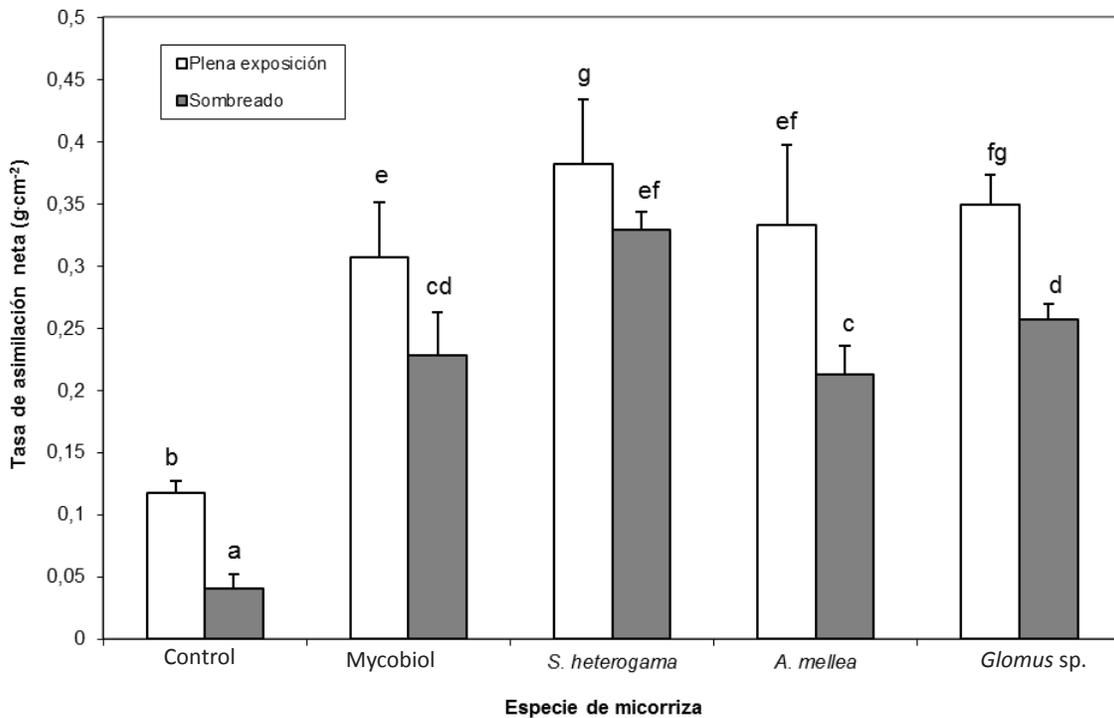


Figura 5. Tasa de asimilación neta en plantas de lulo (*Solanum quitoense* Lam.), inoculadas con diferentes especies de micorrizas y expuestas a dos niveles de iluminación.

micorrizas arbusculares, que puede ser inducida en condiciones de estrés hídrico. De igual forma, no existe una relación entre las poblaciones de micorrizas en el suelo y los beneficios que genera en la planta.

De acuerdo con los resultados, en la totalidad de los parámetros evaluados, la sombra ejerció una influencia negativa sobre el crecimiento y el desarrollo de las plantas de lulo y debido a que esta planta predomina en el sotobosque es aconsejable la inoculación con hongos formadores de micorrizas, para corregir tal efecto. Todos los HFMA mostraron beneficios en la planta, expresados en las variables evaluadas y dentro de ellos, se destacaron las inoculaciones con *S. heterogama*.

Agradecimientos: Este estudio se desarrolló con el apoyo de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), C.I. Tibaitatá y de la Dirección de Investigaciones (DIN) de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC), en el marco del plan de trabajo del grupo de investigación Ecofisiología Vegetal, del programa de Ingeniería Agronómica de la Facultad de Ciencias Agropecuarias. **Conflictos de intereses:** El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

- ALARCÓN, A.; FERRERA-CERRATO, R. 1999. Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas. *Terra* 17(3):179-191.
- BAYLIS, G.T.S. 1967. Experiments on the ecological significance of *Phycomycetous* mycorrhizas. *New Phytol.* 66:231-243.
- BOUILLARD, B. 1960. La lumière et les mycorrhizes. *Ann. Biofog.* 36:231-48.
- CARDONA, D.; SADEGHIAN, S. 2005. Beneficios del sombrero de guamo en suelos cafeteros. *CENICAFÉ, Av. Técn. Cenicafé.* 335:1-5.
- GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 46:235-244.
- GUARNASCHELLI, A.B.; GARAU, A.M.; CACCIA, F. 2006. Respuestas al déficit hídrico y lumínico durante el establecimiento de *Salix matsudana* x *Salix alba* 'A 13/44'. En: Actas Jornadas de Salicáceas. Buenos Aires. p.274-281.
- GIANINAZZI-PEARSON, V.; AZCÓN-AGUILAR, C. 1991. Fisiología de las micorrizas vesículo-arbusculares. En: Olivares, J.; Barea J.M. (eds): Fijación y movilización biológica de nutrientes. Vol. II. (Fijación de N y micorrizas). Consejo Superior de Invest. Cient. Madrid. p.175-202.
- HARRIS, D.; PACOVSKY, R.S.; PAUL, E.A. 1985. Carbon economy of soybean-Rhizobium-Glomus associations. *New Phytol.* 73:71-80.
- HEPPER, C. 1977. A colorimetric method for estimating vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *J. Soil Biol. Biochem.* 9(1):15-18.
- HUNT, R. 1990. Basic growth analysis. Plant growth analysis for beginners. Unwin Hyman. Boston. 110p.
- JAKOBSEN, I. 1995. Transport of phosphorus and carbon in VA mycorrhizas. En: Varma, A.; Hock, B. (eds). *Mycorrhiza: structure, function, molecular biology and biotechnology.* Springer-Verlag, Berlin. p.297-324.
- JARAMILLO, R.A.; GÓMEZ, G.L. 1989. Microclima en cafetales a libre exposición solar y bajo sombrero. *Rev. CENICAFÉ.* 40(3):65-79.
- JOHNSON, P.N. 1976. Effects of soil phosphate level and shade on plant growth and mycorrhizas. *N. Z. J. Bot.* 14:333-40.
- LAMBERS, H.; CHAPIN, III F.S.; PONS, T.J. 1998. *Plant Physiological Ecology.* Springer-Verlag, New York. 540p.
- LOBO, M. 1991. Perspectivas de siembra del lulo o naranjilla (*Solanum quitoense* Lam). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Palmira. *Boletín Técnico.* 2(2):125-130.
- LOBO, M. 2000. Papel de la variabilidad genética en el desarrollo de los frutales andinos como alternativa productiva. *Memorias 3er Seminario de Frutales de Clima Frío Moderado.* Centro de Desarrollo Tecnológico de Frutales, Manizales. p.27-36.
- MARSCHNER, H. 1991. Mechanisms of adaptation of mycorrhizal (*Glomus fasciculatum*) influence on plants to acid soils. *Dev. Plant Soil Sci.* 45:683-702.
- MCGEE, P.A.; FURBY, J.H. 1992. Formation and structure of mycorrhizas of seedlings of coachwood (*Ceratopetalum apetalum*). *Austral. J. Bot.* 40:291-304.

19. MEDINA, C.I.; SÁNCHEZ, D.; CAMAYO, G.; LOBO, M.; MARTÍNEZ, E. 2008. Anatomía foliar comparativa de materiales de lulo (*Solanum quitoense* Lam.) con y sin espinas. *Rev. Corpoica*. 9(1):5-13.
20. MENGE, J.A. 1983. Utilization of vesicular-arbuscular extension of the phosphorus depletion zone in mycorrhizal fungi in agriculture. *Can. J. Bot.* 61:1015-1024.
21. MOREIRA-SOUZA, M.; CARDOSO, E.J.B.N. 2002. Dependencia micorrizica de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. sob doses de fósforo. *Rev. Bras. Ciência do Solo*. 26:905-912.
22. NEHLS, U.; HAMPP, R. 2000. Carbon allocation in ectomycorrhizas. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 57:95-100.
23. NIEMI, K.; JULKUNEN-TIITTO, R.; TEGELBERG, R.; HÄGGMAN, H. 2005. Light sources with different spectra affect root and mycorrhiza formation in scots pine *in vitro*. *Tree Physiol.* 25:123-128.
24. PAZ, I.E.; SÁNCHEZ DE PRAGER, M. 2007. Relación entre la longitud de micelio externo de hongos micorrizicos y algunas propiedades del suelo bajo dos sistemas de sombrero en café, meseta de Popayán, Colombia. *Rev. Biotecn. Sector Agrop. Agroind.* 5(1):64-69.
25. PENG, S.; EISSENSTAT, D.M.; GRAHAM, J.H.; WILLIAMS, K.; HODGE, N.C. 1993. Growth depression in mycorrhizal citrus at high-phosphorus supply. *Plant Physiol.* 101:1063-1071.
26. PEREIRA, G.; SÁNCHEZ, M.; RÍOS, D.; HERRERA, M.A. 2001. Micorrizas vesículo arbusculares y su incidencia en el crecimiento de plántulas de *Eucalyptus camaldulensis* Den. *Bosque*. 22(2):39-44.
27. ROSA, T.M.D.L.; APHALO, P.J.; LEHTO, T. 1998. Effects of far-red light on the growth, mycorrhizas and mineral nutrition of scots pine seedlings. *Plant Soil*. 201:17-25.
28. ROSA, T.M.D.L.; LEHTO, T.; APHALO, P.J. 1999. Does far-red light affect growth and mycorrhizae of Scots pine seedlings growing in forest soil? *Plant Soil*. 211:259-268.
29. ROVEDA, G.; CABRA, L.; RAMÍREZ, M.M.; PEÑARANDA, A. 2007. Efecto de las micorrizas arbusculares sobre la aclimatación y endurecimiento de microplántulas de mora (*Rubus glaucus*). *Rev. Corpoica*. 8(1):28-36.
30. ROVEDA, G.; RAMÍREZ, M.M.; CABRA, L.; PEÑARANDA, A. 2009. Biofertilización en el cultivo de la mora. En: Barrero, L. (ed) Caracterización, evaluación y producción de material limpio de mora con alto valor agregado. *Corpoica. Produmedios*. p.43-56.
31. SCHULZE, E.D.; BECK, E.; MÜLLER-HOHENSTEIN, K. 2002. *Plant Ecology*. Springer Verlag. Heidelberg. p.23-44.
32. SÁNCHEZ DE PRAGER, M. 1999. Endomicorrizas en agroecosistemas colombianos. Universidad Nacional, Palmira. 226p.
33. SIQUEIRA, J.O.; SAGGIN-JÚNIOR, O.J.; FLORES-AYLAS, W.W.; GUIMARÃES, P.T.G. 1998. Arbuscular mycorrhizal inoculation and superphosphate application influence plant development and yield of coffee in Brazil. *Mycorrhiza*. 7(6):293-300.
34. SMITH, S.; READ, D. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. 2nd ed. Academic Press, San Diego, 605p.
35. SPRÜGEL, D.G.; BROOKS, J.R.; HINCKLEY, T.M. 1996. Effects of light on shoot geometry and needle morphology in *Abies amabilis*. *Tree Physiol.* 16:91-98.
36. SWISHER, M. 1999. Manual para los estudios de campo, Módulo 1 La Ecología de la Parcela. Universidad de la Florida. 84p.
37. TURK, M.A.; ASSAF, T.A.; HAMEED, K.M.; AL-TAWAHA, A.M. 2006. Significance of mycorrhizae. *World J. Agr. Sci.* 2(1):16-20.
38. WRIGHT, D.P.; SCHOLES, J.D.; READ, D.J.; ROLFE, S.A. 2000. Changes in carbon allocation and expression of carbon transporter genes in *Betula pendula* Roth. colonized by an ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* (Batsch). *Fr. Plant Cell Environ.* 23:39-49.

Recibido: Febrero 19 de 2011

Aceptado: Noviembre 16 de 2012

PHYSICAL AND CHEMICAL SOIL VARIABLES AND THE RELATION WITH THE COLONIZATION OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAE IN ANGLETON (*Dichanthium aristatum* Benth) ROOTS

VARIABLES FÍSICA Y QUÍMICAS DEL SUELO Y SU RELACIÓN CON LA COLONIZACIÓN DE MICORRIZAS ARBUSCULARES EN RAICES DEL PASTO ANGLETON (*Dichanthium aristatum* Benth)

Alexander Pérez-C.¹, Jaime De La Ossa V.²

¹Dr. Sci. Universidad de Sucre, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Grupo Bioprospección Agropecuaria, e-mail: alexpcor@yahoo.com ²Dr. Sci, Universidad de Sucre, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Grupo de Investigación en Biodiversidad Tropical. Campus Universitario Puerta Roja, A.A. 406, Sincelejo, Sucre, Colombia, e-mail: jaimesdeolaossa@yahoo.com

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 71 - 78, 2013

SUMMARY

The objective of this study was to determine the colonization of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), associated with the roots of the angleton grass, related to physicochemical soil factors in livestock farms of four agroecological zones of the sub-region Sabana of Sucre, Colombia. The percentage of AMF colonization of roots was estimated by the staining technique, which allowed to observe under the microscope the presence of colonizing fungal structures and the subsequent determination of the percentage of colonization for sample, farms and area. With the results of the colonization percentage and the physicochemical soil analysis a correlation between these variables, using statistical methods and multivariate analysis, was performed. The analysis of simple correspondence showed a relationship between the presence of colonizing structures and the soil texture. The results of analysis between multiple types of colonizing structures and physicochemical soil variables showed the presence of vesicles and arbuscules in soils with high contents of calcium, magnesium and potassium and low values of nitrogen and phosphorus. There is a need for further studies in other geographical areas and other grasses to establish correlation between physicochemical soil variables and the magnitude of AMF colonization in tropical pastures in Colombia.

Key words: Micorrhizae, colonization, roots, angleton, soil.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar la colonización de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA), asociadas a raíces del pasto angleton en función de factores físico-químicos del suelo, en fincas ganaderas de cuatro zonas agroecológicas, de la subregión fisiográfica de Sabanas, departamento de Sucre, Colombia. El porcentaje de colonización de HMA en raíces fue determinado mediante técnica de tinción, la cual permitió observar en microscopio la presencia de estructuras colonizantes de estos hongos y la posterior determinación del porcentaje de colonización por muestras, fincas y zona. Se realizó análisis físico-químico de las muestras de suelo. Con los resultados obtenidos del porcentaje de colonización y los análisis físico-químicos, se realizó correlación entre estas variables mediante el uso de métodos estadístico y análisis multivariados. El análisis de correspondencia simple encontró relación entre la presencia de estructuras colonizantes y la textura de los suelos. Los resultados del análisis múltiple entre tipos de estructuras colonizantes y variables físico-químicas del suelo muestran la presencia de arbusculos y vesículas en suelos con alto contenido de calcio, magnesio y potasio y bajos valores de nitrógeno y fósforo. Existe la necesidad de seguir realizando estudios en otras zonas geográficas y con otros pastos para establecer correlación entre las variables físico-químicas de los suelos y la magnitud de la colonización de HMA en pasturas tropicales en Colombia.

Palabras clave: Micorrizas, colonización, raíces, angetón, suelo.

INTRODUCTION

The Colombian livestock department Sucre, corresponding to the sub-region Sabana, occupies 768,600ha of grass land and lodges a cattle population of 890,000 heads, having 56,200 established hectares with angeton grass (*Dichanthium aristatum* Benth), representing 7.31% of the grazing area of the Department (Viloria, 2003).

It is important to mention that the physiographic sub-region Sabanas presents a four to six months dry season, besides, human factors like degenerative environmental actions and the use of inappropriate technologies in the livestock area, have led to the physical, chemical and biological soil degradation, limiting the supply and quality of pasture and forage mainly during the dry season, generating in this sub-region the transhumance to lowland of the Mojana and San Jorge sub-regions (Aguilera, 2005).

The rhizosphere is a heterogeneous, continuous and natural habitat in which different types of interactions occur between soil microbes and plants. The beneficial plant-microbe interactions in the rhizosphere are the primary determinants of plant health and soil fertility (Jeffries *et al.* 2003). The widespread mycorrhization together with the fossil record indicate that plants and fungi have evolved in mycorrhizal relationship since the colonization of land by early plants (Strullu & Strullu, 2007). It is estimated that approximately 95% of the known vascular plants species on earth, including pastured are colonized by arbuscular mycorrhizal fungi which belong to the Phylum Glomeromycota in different ecosystems (Schübler *et al.* 2001, Strullu & Strullu, 2007, Miransari *et al.* 2009, Pérez & Vertel, 2010).

Arbuscular mycorrhizal fungi under phosphate-limited conditions can favor plant community development, nutrient uptake, water relations and aboveground productivity and act as bio-protectants against pathogens and toxic stresses (Jeffries *et al.* 2003; Toljander *et al.* 2006).

Although the importance of the mycorrhizal symbiosis is worldwide recognized, there are many aspects on the structure and operation of communities in tropical agroecosystems that have not been studied. In Colombia, most of the research has been related to the benefits of the symbiosis in different hosts, especially on aspects of productivity, plant nutrition and fertilizer substitution (Rey *et al.* 2005), but there is little work to assess the mycorrhizal colonization influenced by physical and chemical soil parameters of livestock farms. Studies on variables that influence the arbuscular mycorrhizal fungi root colonization level associated to angetón pastures and other species of economic interest in the Colombian Caribe coast

under specific soil conditions and grazing and management of these agroecosystems are still scarce. Further studies to link the biological and physical aspects of the soil with the chemical parameters and their relationship with the quality and productivity of ecosystems are required.

MATERIALS AND METHODS

The study was carried out in the Municipality of Corozal-Sucre-Colombia, located in the physiographic sub-region of the Sabana, in the slope of the Mountains of Maria to the depression of the low Cauca and San Jorge rivers, at 8° 55' and 9° 19' North and between 75° 25' and 74° 42' East, with an average annual temperature of 28°C, precipitation of 1,105mm, annual relative humidity of 80%, and altitude between 174 to 200m besides presenting a dry season of 4 to 6 months.

Forty eight livestock farms cultivated with angetón pasture in the municipality of Corozal (Sucre) were sampled, localized in agroecological zones classified according land use and management capacity, according to IGAC (1998; POT, 2002): zone 1 (III sc – IV hs), zone 2 (VII sc – IV esc), Zone 3 (VI sc- VI esc) and Zone 4 (VII sc- VII esc). The characteristics of the main agro ecological analyzed zones are the following:

Zone 1. (subclass III sc – Iv hs). Soils with a slightly sloping flat relief, slope ranging from 1-3 and 3-4%; moderately deep, imperfectly drained, moderately fine texture and permeability, moisture retention slow average, moderately acidic to neutral reaction, high availability of Ca, Mg and K, low in available phosphorus in organic matter content and low to medium low moderate fertility. The limitations of subclass III sc are: the effective depth to moderate clay horizons limited by compacted, low permeability, low air capacity, low organic matter content and available phosphorus and low humidity. Currently, there are natural grasses, corn, cassava and cassava association / ñame set forth in this subclass.

The soils of subclass Ivhs are composed of poorly drained soils, shallow to very shallow, clay, low permeability, high moisture retention, sticky, plastic, moderately to strongly acidic reaction, medium high contents of exchangeable cations, percentages of phosphorus available and low organic matter, moderate current fertility. In the current conditions suitable for rice and natural grasses; excess moisture resistant.

Zone 2. (Subclass VII sc – Iv esc). The subclass VII sc soils are strongly undulating, with slopes of 12 to 25%, show slight erosion, well drained, moderately deep, with a moderate to fine texture, medium moisture retention, moderate permeability. Chemically, soils have a acidic to neutral reaction and a moderate fertility. The main limitations are strongly undulating slopes, the low content of nitrogen,

phosphorus and organic matter. Part of this area is occupied by cattle ranching on natural pastures and stubble.

The soils of subclass *IV esc* are located in areas heavily undulated to undulated, with slopes of 12 to 25% and some sections with 1 to 12%. They are moderately deep, mostly clay with inclusions of moderately fine textured, well-drained, medium to high moisture retention, suffer cracking during the dry season. The chemical characteristics indicate that I they have an acidic to slightly alkaline reaction, are high in calcium, magnesium and potassium and organic matter content and low in available phosphorus. Current use is extensive grazing on natural pasture; in some sectors cotton, corn, sorghum and cassava is grown.

Zone 3. (subclass VI sc – VI esc). The VI subclass sc has soils with slopes between 12-25% and 25-50%, the soils are shallow to moderately deep, coarse loamy to loamy, well drained to excess. Susceptible to erosion, good permeability, medium to low moisture retention, neutral to slightly acidic reaction and moderate fertility. The limitations for the management and use of these soils are the low availability of water with scarce effective depth, available phosphorus content, low nitrogen and organic matter. The current use of the land is livestock with natural pasture as well as crops such as maize, cassava, yams and some fruits.

In the subclass cluster *VI esc* soils with slopes of 12 - 25% and 25-50%, soils with very varied morphological, physical and chemical characteristics; effective depth varies from shallow to moderate. Thick loam to loamy, or clayey fine, low to moderate fertility and acid reaction to neutral. The limitations of the subclass are of chemical nature with phosphorus and macronutrients deficiency and high aluminum content, limiting their ability to preserve vegetation cover. Maintenance of natural grass requires stringent precautions, avoiding overgrazing to prevent the progress of erosion.

Zone 4. (subclass VII sc – VII esc). Part of the subclass *VII sc* are soils with slopes up to 12 to 25%, slightly eroded; limited by very superficial layers of gravel; they have strongly acidic reaction, base saturation, low phosphorus and organic matter content. The use for crop cultivation is low due to the shallow depth and low effective fertility. Pastures are the best current use of these soils. Besides, they are used for extensive livestock management and small subsistence crops.

In the subclass *VII esc* has slopes of 1-12, 12-25, 25-50 and 50-75%, with moderate to severe erosion. The soils are shallow to deep, well drained, with a low structural stability, moderate permeability, low to medium moisture retention, slightly acidic to neutral reaction and low to moderate fertility. Severe limitations presented by steeply dipping slopes susceptible to erosion and in some cases, low fertility. These lands are suitable for agriculture and they have little pastures.

Best approach is forest, but as much of the area is in pasture and stubble, it is necessary to take measures to prevent the increase of erosion.

Sampling: A plastic cylinder of 3.8cm in diameter and 25cm in length was used to take samples at of 0-20 cm depth, inserting, rotating and removing the cylinder with the sample (soil and roots). From 15-20 samples per farm were taken, they were homogenized to form a 2,000g example. Two subsamples (1,000g each) were used to determine the percentage of AMF colonization in roots and a subsample of 1,000g to analyze the physical-chemical properties of the soil: Na, P, N, pH, cation exchange capacity (CEC), Ca, Mg, Al, K and organic matter (OM).

Percentage of colonization: Collected samples were packed in plastic bags and transported to the laboratory and stored at 4°C until analysis. The colonization percentage was determined by coloring the roots and further microscopic observation were made to estimate root colonization percentage. In each field the colonizing structure (field's positive) of arbuscles, vesicles, hyphae and spores present within each root were observed. The results are expressed in percentage (Pérez *et al.* 2011).

Statistical analysis: After determining the percentage of root colonization it was correlated with the agroecological zone and livestock farms (treatment) through an analysis of variance (ANOVA) and a test of comparison, Tukey at 5% significance. Physical and chemical parameters of soil evaluated in the samples were pH, organic matter, phosphorus, potassium, nitrogen, calcium, magnesium and texture.

Statistical relationships between physical-chemicals parameters and colonization were determined by multivariate statistical methods. The correlation between colonizing structures (hyphae, spores, vesicles and arbuscles) and treatment was made through a simple correlation analysis (ACS). The classification of farms sampled in different areas was performed with agglomerative cluster analysis of Euclidean distances that is linked to the method of Ward (Cabarcas & Pardo, 2001), taking into account information from the ACS. To relate the physical-chemical soil variables to the livestock a Multiple Factor Analysis for frequency table for continuous variable (Zar, 1996) was used. All numerical data were analyzed with the statistical program R (Rural Development Core Team, 2009).

RESULTS AND DISCUSSION

Given the confidence intervals of 95% for physical-chemical parameters in livestock farms, pH values showed the soils to be strongly acidic to strongly alkaline, with a medium and low phosphorus, organic matter, nitrogen and sodium content; and high to medium calcium, magnesium and potassium values (Table 1).

Table 1. Confidence intervals averaged 95% for chemical parameters of soils with angleton pasture in analyzed livestock farms.

Indicator	pH	M.O	N	P	CIC	Na	Al	K	Ca	Mg
		%								
IC 95%	4.6-8.6	0.0-3.0	0.0-0.013	0.0-17.5	5.2-44.6	0.0-2.66	-	0.0-0.94	0.0-25.1	0.0-11.52

pH: (method P/V relation 1:1); M.O: organic matter, method Walkey-Black-indirect organic carbon; P: Phosphorus, modified method Bray II; CIC: cation exchange capacity, method ammonium acetate 1N and neutral; N and K: atomic absorption; Ca and Mg: method compleximetric.

The results obtained of ANOVA indicate no significant differences (p-value = 0.213) between colonization and agroecological zones in agroecological zones and reconfirmed this result with the Tukey test (Figure 1a and 1b).

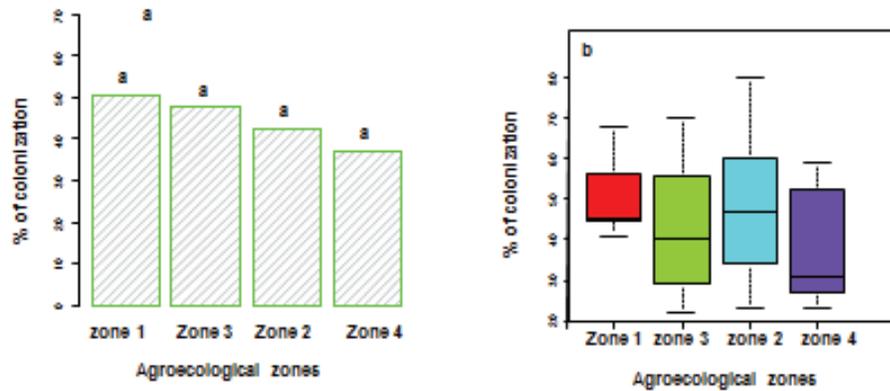


Figure 1. Tukey test (a) and Bloxpot's graph results (b), for colonization AMF in angleton roots.

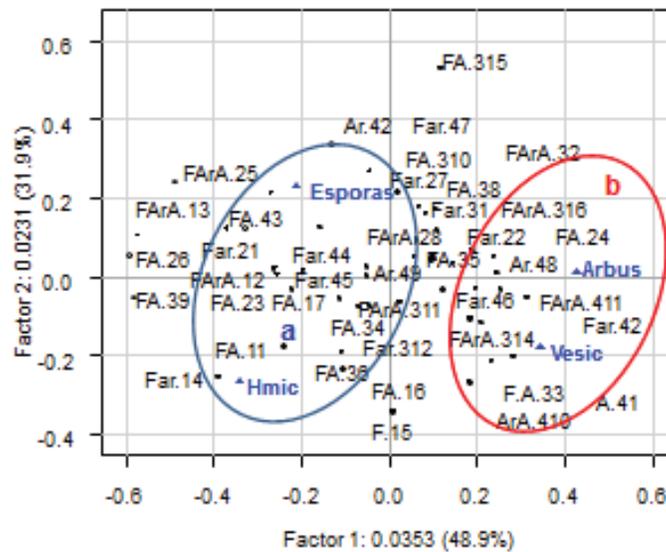


Figure 2. Simple correlation analysis for colonization (hyphae, spores, vesicles and arbuscules) of AMF in angleton grass' roots in relation to soil texture of livestock farms. HMIC: mycorrhizal hyphae, Arbus: Arbuscules, Vesic: Vesicles. F: franco, FA: Franco clay, Far: Franco sandy, A: clay, Ar: sandy.

The simple correlation analysis revealed a relationship between patterns of colonization (hyphae, spores, vesicles and arbuscules) of AMF and soil texture (Figure 2). Livestock farms that are close to the first factor (circle A) have higher rates of colonization predominantly arbuscules and vesicles in angleton roots. Farms next to the second factor (circle B) had higher rates of colonization with hyphae and spores presence in the pasture roots. The graphed results show a correlation between colonization patterns in relation to livestock farms type having a particular soil texture.

Figure 3 displays the agglomerative classification analysis of soil texture types found in the different analyzed livestock farms. Hyphae were observed in farms with soil textures of sandy loam; the greater abundance of spores were found on farms with sandy loam to clay loam, while on farms where arbuscules and vesicles were found, dominated the soils of sandy clay texture. In farms where both spores and arbuscules were observed a clay texture was predominant.

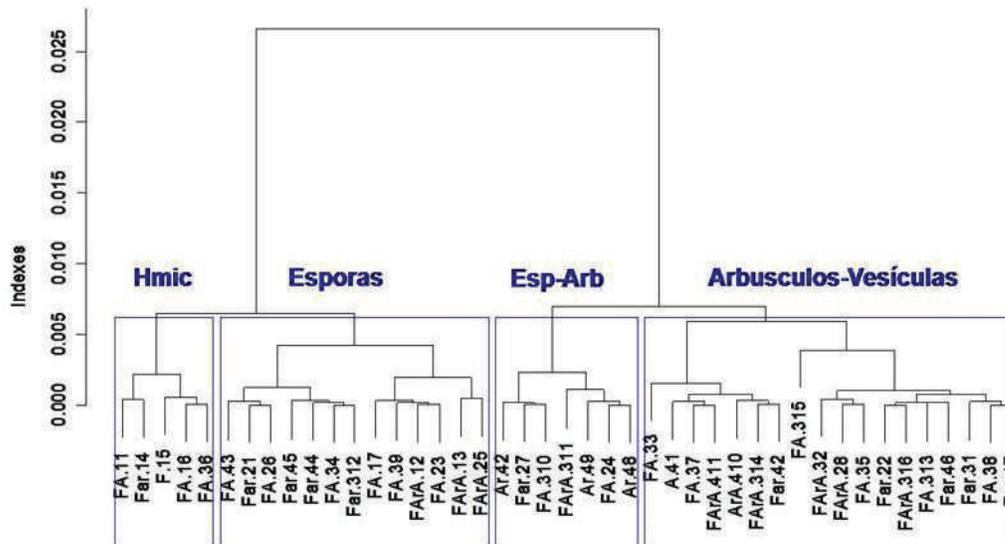


Figure 3. Agglomerative classification analysis of mycorrhizal colonization patterns in roots by cattle livestock' soil texture. HMIC: mycorrhizal hyphae, Esp-Arb: spores and arbuscules.

Multiple factor analysis among soil physical-chemical parameters and mycorrhizal colonization patterns in Angleton's roots on sampled farms, show that the first component is related to high levels of magnesium and potassium and low levels of Ca and N, phosphorous, sodium, indicating that farms that have soils with these characteristics, present patterns of colonization with vesicles and arbuscules abundance in roots ($\lambda = 1.3$, account for 27% of the total variability of the data). The second component of the system is related to a low cation exchange capacity, to low level of organic matter, of calcium and low pH, having a greater abundance of arbuscules in angleton roots, while in farms with moderate levels of these parameters, hyphae and spores associated to the roots were detected.

The colonization patterns observed in pasture angleton follow the order from hyphae, spores, blisters and arbuscules. In Colombia, there are no parallel works about this grass species. However, Pérez & Vertel (2010) observed the presence of

arbuscules, hyphae, spores and vesicles in Colosana root pasture in the municipality of Corozal, Sucre.

There are scarce worldwide research results on the effect of environmental variables about colonization of AMF in roots of tropical pastures. As an attempt to establish correlations between some physicochemical parameters in the soil of cattle ranches in the Colombian Caribbean coast, Pérez *et al.* (2010) using statistical models through the analysis of a multiple logistic regression in order to determine the colonizing percentages of AMF in angleton grass roots, found that nitrogen, calcium and potassium were chemical variables that better explain the variation of the colonizing event of these fungi, present in the roots of the grass.

Other studies have shown that the arbuscular mycorrhizae have a great colonizing capacity within pH ranges from 2.7 to 9.2. For the colonizing of these mycorrhizae to occur, a soil pH ranging from 4.5 to 5.5 is required (Alloush *et al.* 2000).

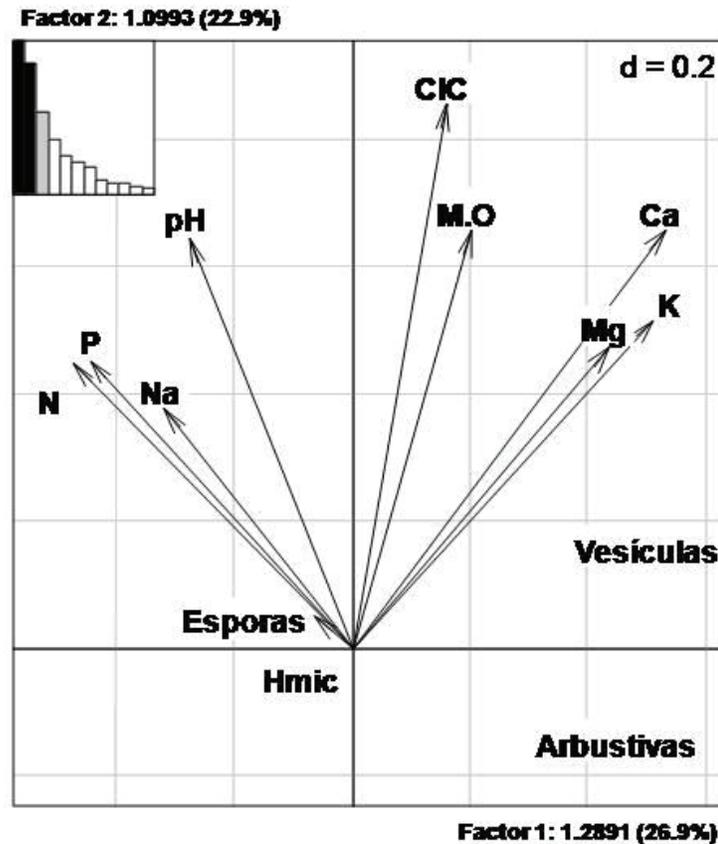


Figure 4. Multiple factor analysis among environmental variables and arbuscular mycorrhizal colonization patterns on angletón grass' roots. HMIC: mycorrhizal hyphae, Vesic: vesicles and Arbus: arbuscles.

This chemical parameter has influence on the solubility and availability of elements towards the plants roots, including iron, magnesium, copper, zinc and toxic amounts of aluminum. High levels of phosphorus can inhibit the colonizing percentage of mycorrhizae as well as the growing of plants.

So far, several works have proposed that the application of nitrogen (in the form of nitrate and ammonium) to the soil can have a certain inhibitory or stimulating effect for the colonizing of arbuscular mycorrhizae (Cardoso & Kuyper, 2006). It has been proven that nitrogen present in the form of ammonium has a suppressive effect on the colonizing of these mycorrhizae, due to the change in the pH of the rhizosphere (Cardoso & Kuyper, 2006). The diversity in the forms of inorganic nitrogen existing in the soil affects the percentage of colonizing, the root length and the presence of colonizing structure types such as arbuscles and blisters (Valentine *et al.* 2002).

Applications of high levels of $MgSO_4$ resulted in reduced

root colonization and sporulation by *Glomus* sp. of sweet potato and onion in aeroponic and sand culture, respectively. Magnesium application depressed tissue-Ca levels. With lower Ca in the tissue, colonization was reduced from > 30% of root length to 10%, and sporulation from 1200 to ca. 200 spores per plant, 10 weeks after transplantation and the start of nutrient application. These effects on colonization and sporulation were independent of changes in tissue-P concentration. High Mg/low Ca tissue concentrations induced premature root senescence, which may have disrupted the mycorrhizal association (Jarstfer *et al.* 1998).

Information about AMF and mycorrhizal host plant responses at low pH (< 5) is limited. Root colonization is generally less in low than in high pH soils. Maximum enhancement of plant growth in acid soil varies with AM fungal isolate and soil pH, indicating adaptation of AM isolates to edaphic conditions. The absorption of many mineral nutrients such as P and Zn by plant roots colonized by mycorrhizae in acid soil is increased and the minerals which concentration is enhanced are those commonly deficient in acid soils (Ca, Mg, and K). Some AM

fungal isolates are effective in overcoming soil acidity factors, especially Al toxicity, that restricts plant growth at low pH (Clark, 1997; Clark & Zeto, 2000).

Although there is a considerable amount of information about the *in vitro* factors that have an influence on the colonizing of AMF in different soil types and agricultural crops, existing information *in situ* about the effect of physical and chemical parameters on the presence and colonizing structures of these fungi in specific agroecosystems in Colombia is scarce. The relevance of AMF in different crops as a biological resource which management and conservation, as well as its effects on the vegetable productivity and sustainability, represent environmental benefits since it improves the physicochemical and biological soil conditions when it interacts with a variety of macro and microorganisms in the rhizosphere (Barrer, 2009). The survival of plants in unfavorable or stressing environments can be the consequence of multiple factors and strategies, one of them being the symbiosis based on arbuscular mycorrhizae (Tao & Zhiwei, 2005).

Although there are preliminary results on the evaluation of the percentage of AMF colonization on the pasture Colosoana according to physical and chemical parameters, is still required much more researches to allow to conclusive correlate these physical and chemical parameters with efficiency in colonization by these fungi in edaphic conditions of livestock farms in the department of Sucre. Subsequent studies which evaluate the effect of AMF colonization on other grass species, important for cattle feeding, and other research which relates the effect of AMF colonization to the physical and chemical soil parameters and determines the mycorrhizal needs for efficient colonization are required.

Acknowledgements: The researchers thank the Universidad de Sucre, Colombia and to Cattle breeder association of the Department of Sucre. **Conflict of interests:** The manuscript was prepared and revised with the participation of all the authors who declare that no conflict of interests exist that put in risk the validity of the presented results. **Financing:** This study was financed with contributions of the University of Sucre, Colombia.

BIBLIOGRAPHY

- AGUILERA, M.M. 2005. Documento de trabajo sobre economía regional. Economía Regional: La Economía del Departamento de Sucre: Ganadería y Sector Público. Sincelejo: Banco Ganadero. Bogotá, Colombia. 129p.
- ALLOUSH, G.A.; ZETO, S.K.; CLARK, R.B. 2000. Phosphorus source organic matter and arbuscular mycorrhizal effects on growth and mineral acquisition of chickpea grown in acidic soil. J. Plant. Nutr. 23(9):1351-1369.
- BARRER, S.E. 2009. El uso de hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. Rev. Biotechn. Sector Agropec. Agroindustr. 7(1):123-133.
- CABARCAS, G.; PARDO, C. 2001. Métodos estadísticos multivariados en investigación social: Cursillo, Simposio de estadística, Universidad Nacional, departamento de Estadística. Santa Marta, Colombia. Disponible desde Internet en: <http://www.docentes.unal.edu.co/cepardot/docs/simposiosestadística/> (con acceso 06/09/2010).
- CARDOSO, I.M.; KUYPER, T.W. 2006. Mycorrhizas and tropical soil fertility. Agric. Ecosyst. Environ. 116(1-2):72-84.
- CLARK, R.B. 1997. Arbuscular mycorrhizal adaptation, spore germination, root colonization and host plant growth and mineral acquisition at low pH. Plant Soil. 192(1):15-22.
- CLARK, R.; ZETO, S. 2000. Mineral acquisition by mycorrhizal plants. J. Plant. Nutr. 23(7):867-902.
- JEFFRIES, P.; GIANINAZZI, S.; PEROTTO, S.; TURNAU, K.; BAREA, J.M. 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. Biol. Fertil. Soils. 37(1):1-16.
- INSTITUTO GEOGRÁFICO AGUSTÍN CODAZZI (IGAC). 1998. Estudio general de suelos y zonificación de tierras. Departamento de Sucre. Sincelejo: Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Bogotá, Colombia. 89p.
- JARSTFER, A.G.; FARMER-KOPPENOL, P.; SYLVIA, D.M. 1998. Tissue magnesium and calcium affect arbuscular mycorrhiza development and fungal reproduction. Mycorrhiza. 7(5):237-242.
- PÉREZ, C.A.; VERTEL, M. 2010. Evaluación de la colonización de micorrizas arbusculares en *Bothriochloa pertusa* (L) A. Camus. Rev. MVZ Córdoba. 15(3):2165-2174.
- PÉREZ, C.A.; ROJAS, S.J.; MONTES, V.D. 2011. Hongos formadores de micorrizas arbusculares: una alternativa biológica para la sostenibilidad de los agroecosistemas de praderas en el Caribe Colombiano. Rev. Col. Cienc. Anim. 3(2):366-385.
- PÉREZ, A.; ROJAS, J.; FUENTES, J. 2010. Determinación de un modelo logístico para evaluación *in situ* de la colonización de micorrizas en pasto *Dichanthium aristatum* (L). Rev. Col. Cienc. Anim. 2(1):73-84.

14. PLAN DE ORDENAMIENTO TERRITORIAL (POT). 2002. Diagnóstico del Municipio de Sincelejo. Sincelejo: Plan de Ordenamiento Territorial. Sincelejo, Sucre, Colombia. 112p.
15. RURAL DEVELOPMENT CORE TEAM. 2009. Language and Environment for Statistical computing, R Foundation for Statistical Computing. Disponible desde Internet en: <http://www.R-project.org> (con acceso 10/07/2010).
16. REY, A.M.; CHAMORRO, D.; RAMÍREZ, M. 2005. Efecto de la doble inoculación de rizobios y micorrizas sobre la producción y calidad del forraje de *Leucaena leucocephala*. Rev. Corpoica. 6(2): 52-59.
17. SCHÜBLER, A.; SCHWARZITT, D., WALKER. 2001. A new phylum, the Glomeromycota: Phylogeny and evolution. Mycol. Res. 105:1413-1421.
18. TAO, L.; ZHIWEI, Z. 2005. Arbuscular mycorrhizas in a hot and arid ecosystem in southwest China. Appl. Soil Ecol. 29(1):135-141.
19. TOLJANDER, J.F.; ARTURSSON, V.; PAUL, L.R.; JANSSON, J.K.; FINLAY, R.D. 2006. Attachment of different soil bacteria to arbuscular mycorrhizal fungal extraradical hyphae is determined by hyphal vitality and fungal species. FEMS Microbiol. Lett. 254(1):34-40.
20. VILORIA, H.J. 2003. Documento de trabajo sobre economía regional: La ganadería bovina en las llanuras del Caribe Colombiano. Banco de la República. Cartagena de Indias, Colombia. 86p.
21. VALENTINE, A.J., OSBORNE, B.A., MITCHELL, D.T. 2002. Form of inorganic nitrogen influences mycorrhizal colonization and photosynthesis of cucumber. Scien. Hort. 92(3-4):229-239.
22. ZAR, J.H. 1996. Bioestadistical Analysis. 3rd edition. Prentice-Hall, Inc. (Englewood Cliff, N.J). 663p.

Received: 25 October 2011

Accepted: 28 February 2013

EVALUACIÓN DE LÍNEAS DE FRÍJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) DE RETROCRUCE AVANZADO ENTRE UNA ACCESIÓN SILVESTRE Y RADICAL CERINZA

EVALUATION OF BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.) LINES RESULT OF AN ADVANCED BACKCROSS BETWEEN A WILD ACCESSION AND RADICAL CERINZA

Hernando Delgado¹, Elberth Hernando Pinzón², Mathew Blair³, Paulo César Izquierdo⁴

¹I. Agr. M.Sc. Fitotecnia: Genética y Fitomejoramiento. Profesor Asistente. Grupo Manejo Biológico de Cultivos. GMBC. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. UPTC. Av. Central del Norte. Tunja, Colombia. e-mail: hdelgadoster@gmail.com (Entidad actual: Universidad de los Llanos. Km 12 Vía Puerto López. Vereda Barcelona. Villavicencio, Colombia); ²I. Agr. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. UPTC. Av. Central del Norte. Tunja, Colombia. e-mail: Elberth02@gmail.com; ³Fitomejorador. Ph.D. Frijol Andico. Centro Internacional de Agricultura Tropical. CIAT. Km 17 recta Cali-Palmira. Cali, Colombia. e-mail: mwbeans@gmail.com (Entidad actual: Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira); ⁴Biólogo. Investigador Visitante. Laboratorio de Caracterización de Germoplasma de Frijol. Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT. Km 17 recta Cali-Palmira. Cali, Colombia. e-mail: pauloizquierdo@gmail.com (Entidad actual: CENICAÑA. Cali).

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 79 - 86, 2013

RESUMEN

Con el objeto de seleccionar líneas parentales promisorias con adaptación a la zona, adecuado rendimiento y tipo de grano, se evaluaron 100 genotipos (95 líneas RC2 y 5 testigos) de frijol arbustivo (*Phaseolus vulgaris* L.) en un diseño de látice 10 x 10, en la Granja Experimental Tunguavita en el municipio de Paipa, Boyacá. Las líneas RC2 provienen de retrocruce avanzado entre la población Radical Cerinza (padre recurrente) y la accesión silvestre G10022 (padre donante). Se registraron datos de vigor, días a floración y a madurez, rendimiento de grano y sus componentes: número de vainas por planta, número de granos por vaina y peso de 100 granos. El rendimiento final de grano presentó sus mayores coeficientes de correlación y significancia con los componentes número de vainas por planta y peso de 100 granos. Se identificaron varias líneas manifestando segregación transgresiva sobre el padre recurrente Radical Cerinza, en las variables número de vainas por planta, peso de 100 granos y rendimiento final, con siete líneas superiores significativamente en rendimiento y adecuado tipo de grano. La línea de mayor rendimiento con 3.894 kg ha⁻¹ superó al padre recurrente, en 1.811 kg ha⁻¹. Estos resultados indican que la metodología de retrocruces avanzados se está mostrando como eficiente para introgresar genes para alto rendimiento, desde accesiones silvestres hacia cultivares mejorados. Las líneas

de mejor comportamiento deberán seguir siendo avanzadas con dicha metodología, para la búsqueda de progenitores donantes de genes para alto rendimiento, para la obtención de nuevas variedades mejoradas de frijol arbustivo, para la zona fría del Departamento de Boyacá.

Palabras clave: Retrocruce avanzado, pre-mejoramiento, frijol, rendimiento y componentes.

SUMMARY

In order to select potential parents with adaptation to the area, adequate yield and grain type, 100 genotypes (95 RC2 lines and 5 witnesses) of bush bean (*Phaseolus vulgaris* L.) were evaluated in a lattice design 10 x 10 at the Experimental Farm Tunguavita, Paipa-Boyaca. The RC2 lines were obtained from an advanced backcross between Radical Cerinza population (recurrent parent) and a wild accession G 10022 (donor parent). Vigor, days to flowering and maturity, grain yield and its components: number of pods per plant, number of grains per pod and weight of 100 grains, were evaluated. The final grain yield showed its highest correlation coefficients and significance for the components number of pods per plant and weight of 100 grains. Several lines, expressing transgressive segregation of Radical Cerinza, the recurrent parent, in the variables number of pods per plant, weight of

100 grains and final yield, with seven significantly superior lines in yield and appropriate grain type were identified. The line of maximum yield with 3.894kg ha⁻¹ exceeded the recurrent parent in 1.811kg ha⁻¹. These results indicate that the advanced backcross method is proving to be efficient for high yield genes, introgressed from wild accessions to improved cultivars. The lines with best yields should furthermore be advanced with this methodology, in the search of donor parents of high yield genes to obtain new bush bean improved varieties, for cold climate of the Boyacá department.

Key words: Advanced backcross, pre-breeding, beans, yield and components.

INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es la especie más importante para el consumo humano, entre las leguminosas de grano alimenticias. Tiene gran importancia en la dieta de la población colombiana, por su alto contenido proteico y de minerales esenciales, siendo un producto clave en la seguridad alimentaria. Hacen ventajoso su consumo, desde el punto de vista nutricional, su elevado contenido de lisina, fibra alimentaria y presencia de vitaminas del complejo B (Voysset, 2000; Arias *et al.* 2007). Su producción abarca áreas muy diversas, cultivándose prácticamente en todo el mundo. América Latina es el mayor productor y consumidor, con más del 45% de la producción mundial (CNPAF- EMBRAPA, 2003).

Colombia es uno de los principales productores de frijol en la zona andina, con alrededor de 86.134 hectáreas, sembradas por año. Los departamentos de mayor producción son Antioquia, Huila, Santander, Nariño, Tolima y Boyacá (CCI & MADR, 2009); debido a las bondades del clima y la lluvia, el rendimiento está entre los mayores en América Latina, con un promedio de 1.200kg ha⁻¹. La variabilidad de ambientes, desde los 500 hasta los 2.800msnm, permite la producción de muchas variedades, entre las cuales, se destacan los cargamantos y bola rojas, para los volubles y los calima, nima y radicales, para los arbustivos (Arias *et al.* 2007).

Según la Encuesta Nacional Agropecuaria (CCI & MADR, 2009), en el departamento de Boyacá se sembraron 7.266ha de frijol, distribuidas en 26.492 unidades productoras, con una producción de 10.515t y un rendimiento promedio de 1,4t ha⁻¹.

Debido a que el frijol es una especie autógama y su reproducción sexual es por autofecundación, cada genotipo tiende a aislarse de otro, restringiendo el libre intercambio de genes. Por esto, la base genética de los cultivares mejorados es en realidad muy estrecha (Adams, 1977; McClean *et al.* 1993; Voysset *et al.* 1994) y, únicamente, un cierto tipo de

cultivares, genéticamente muy relacionados, predomina en cada zona. Así, se logra muy poca o ninguna ganancia genética, a través de cruzamientos entre cultivares de la misma clase comercial o acervos de frijol, siendo el mayor limitante a la hora de mejorar el rendimiento (Singh *et al.* 1989). Además, el mejoramiento para alto rendimiento debe ser llevado a cabo dentro de unos parámetros de hábito de crecimiento, madurez, adaptación local, factores específicos de resistencia a plagas y enfermedades, tamaño de semilla y las diferentes preferencias en calidad de cada región, donde se consume frijol. De no ser así, el material resultante tendrá un valor económico reducido; por tal razón, las estrategias de mejora deben ser guiadas al uso de materiales con potencial para aumentar el rendimiento, sin afectar estos factores importantes (Iriarte *et al.* 2006).

Durante la última década, se ha incrementado el interés en las formas silvestres de plantas cultivadas, en general, y de leguminosas, en particular. Éstas son utilizadas como una fuente importante de genes, principalmente, para resistencia a plagas y a enfermedades, ayudando a la producción de nuevas variedades de alto rendimiento (Gepts, 1991). Los silvestres representan una fuente de diversidad adicional para los cultivados, convirtiéndose en un reto para el mejorador encontrar el sistema de cruzamiento y de selección, que permita transferir esta diversidad con la mayor eficiencia a los cultivados, sobre todo, si se trata de caracteres poligénicos (Gepts, 1994), dada su menor heredabilidad y la importancia agronómica de los mismos, como en el caso del rendimiento.

El fitomejoramiento debería ser uno de los principales usuarios del germoplasma conservado en los bancos, como fuente del recurso “genes valiosos”, a ser introducidos en la base genética adaptada. Pero la brecha genética entre el pool de germoplasma élite de los programas de mejoramiento genético y el de germoplasma ubicado en los bancos puede ser grande, resultando necesario realizar etapas de trabajo, previas al desarrollo de variedades para facilitar su utilización.

El pre-mejoramiento (pre-breeding) realiza este trabajo de intermediación, incorporando genes o grupos de genes asociados a características favorables, provenientes de genotipos exóticos, otras especies, géneros o familias vegetales. El material resultante, “genéticamente valorizado”, es posteriormente incorporado en los programas de mejoramiento, como líneas parentales para el desarrollo de cultivares. Por esta razón, este proceso también se denomina “diseño de líneas parentales” (parent building). El pre-mejoramiento constituye, entonces, la primera etapa en la utilización de los recursos genéticos, luego de las etapas de colecta, de identificación, de conservación y de caracterización/evaluación (Pritsch, 2001; Paredes *et al.* 2010).

Cuando se trabaja con cruzamientos entre genotipos silvestres y cultivados, la mayor parte de la variación observada puede ser explicada a partir de unos cuantos genes mayores, relacionados con el síndrome de la domesticación y los genes, con menores efectos, son imposibles de identificar (Tanksley & Nelson, 1996). Se cree que al eliminar la variación atribuida a los genes de domesticación por medio de retrocruces, se revelarán aquellos alelos novedosos que puedan contribuir positivamente al rendimiento. Para hacer esto de manera eficiente es necesario introgresar el genoma del silvestre en bloques, por medio de la metodología de retrocruces avanzados, sugerida por Tanksley & Nelson (1996), como una nueva estrategia de mejora genética basada en ciclos de retrocruzamiento sin selección, seguido de varios ciclos de autofecundación, “inbred backcross”, propuesto por Bliss & Brown (1983). Recientemente, el Centro Internacional de Agricultura Tropical –CIAT–, ha venido aplicando esta metodología para generar una población, partiendo de una variedad andina mejorada de tipo Radical y una accesión silvestre colombiana. Con los datos obtenidos de los ensayos buscan mostrar incrementos en el rendimiento de variedades andinas de fríjol común y confirmar la utilidad del proceso de retrocruces avanzados para introgresar genes de alto rendimiento, desde genotipos silvestres hacia cultivados (Iriarte *et al.* 2006; Blair *et al.* 2006).

En este trabajo, se evaluaron 95 líneas RC2 (de segundo retrocruce), más cinco testigos en las condiciones agroecológicas de la Granja Experimental Tinguavita en Paipa (Boyacá), con el objeto de seleccionar progenitores potenciales para futuros cruzamientos o líneas promisorias con adaptación a la zona, adecuado rendimiento y calidad de grano.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento, se realizó en un lote de la Granja Experimental Tinguavita en Paipa (Boyacá), propiedad de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, ubicada a 2.470msnm, con 13,8°C de temperatura promedio anual y 74% de humedad relativa, con un régimen bimodal de lluvias que aportan 835mm de precipitación anual.

Material vegetal: La población RC2, de la cual provienen las 95 líneas, se desarrolló a partir del cruce entre el cultivar Radical Cerinza, como padre recurrente y la accesión silvestre G10022, de la Colección de Germoplasma del CIAT, como padre donante. El padre recurrente Radical Cerinza es, según Astudillo & Blair (2008), un cultivar local arbustivo de grano mediano y color rojo, colectado en Restrepo (Valle). La semilla de los genotipos en evaluación fue facilitada por el CIAT, mediante un Acuerdo de Transferencia de Germoplasma (ATG).

Manejo agronómico: La siembra, se efectuó en surcos de

3m de longitud por cada material, a 0,6m de distancia entre surcos y 10cm entre plantas. Con base en recomendaciones de Buenas Prácticas Agrícolas para el cultivo de fríjol (Arias *et al.* 2007), para la fertilización constante, como enmienda y fuente de calcio, se aplicó el equivalente a 768kg ha⁻¹ de CaO con Abono Paz del Río (0–9–0–48). La dosis de fósforo, como P₂O₅ fue de 157kg ha⁻¹ con fuentes Abono Paz del Río y el compuesto 17-6-18-2. Se aplicaron dosis de N y K₂O equivalentes a 40kg ha⁻¹, usando como fuente el compuesto 17–6–18–2. Se efectuó manejo preventivo de enfermedades, con aplicación de clorotalonil + benomil, en dosis de 25cm³ + 20cm³/20L de mezcla, respectivamente, debido a que por el tipo de cruce original se puede presentar susceptibilidad a patógenos, en algunas líneas en evaluación. Para el manejo de plagas, se aplicó etofenprox, en dosis de 10cm³/20L de mezcla. Las arvenses se manejaron con control manual.

Diseño experimental: Se evaluaron 95 líneas y 5 genotipos testigos (el padre recurrente Radical Cerinza (2 veces), NUA 35, CAL 96 y AFR 298), en un diseño de látice 10 x 10, con tres repeticiones. Para el análisis estadístico de las variables evaluadas: rendimiento de grano seco al 14% de humedad (REND) y sus componentes: número de vainas por planta (VPP), número de granos por vaina (GPV) y peso de 100 granos (P100G), más los días a floración (DFL) y los días a maduración (DAM), se utilizó el sistema estadístico SAS v.8e (Cary, NC). Como primer paso, se comprobó estadísticamente el ajuste de las variables a los supuestos de normalidad y de homogeneidad de varianzas del modelo, mediante la prueba de normalidad, con el estadístico Shapiro – Wilk y la prueba de Levene, respectivamente, para aplicar estadística paramétrica. A las variables que no se ajustaron a la normalidad, se les aplicó transformación de los datos, siendo efectiva la transformación raíz cuadrada (\sqrt{X}), para algunas de ellas. Para las variables en las cuales ninguna transformación fue efectiva, se les realizó análisis de varianza de una vía no paramétrico, mediante la prueba de Kruskal – Wallis. En las variables con comportamiento ajustado a normalidad, se aplicó prueba de comparación de medias de Duncan; también se realizó análisis de correlación lineal múltiple. Para la determinación de humedad del grano y convertir los datos de rendimiento final de grano seco y P100G al 14% de humedad de los materiales evaluados, se utilizó un Medidor Motomco Moisture Meter modelo 919 del Laboratorio de Semillas de FENALCE en Tunja.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para los genotipos evaluados, inicialmente, mediante prueba de normalidad, se observó que los datos de ninguna de las variables se ajustaban a la normal. Solamente a los datos de número de vainas por planta (NVAI) y rendimiento final de grano seco (REND), se les logró comportamiento ajustado a la normal, mediante la transformación raíz cuadrada (\sqrt{X}).

En el análisis de varianza (Tabla 1), se puede observar que el diseño de látice fue más preciso que el diseño de bloques completos al azar, como lo demuestra el valor de su eficiencia relativa respecto al segundo, que fue de 113,29. En la tabla 2, se muestra parte de la prueba de comparación de medias de Duncan para NVAI y REND de 7 líneas seleccionadas, entre las 95 evaluadas, por su mayor rendimiento de grano y tipo de grano, con características cercanas (color rojo y tamaño) al del padre recurrente Radical Cerinza. Se

observa que la línea BID 30 presentó el mayor rendimiento de grano, con 3.894kg ha⁻¹, superior significativamente al de Radical Cerinza en 1.811kg ha⁻¹ y al de los demás testigos. Las otras 6 líneas seleccionadas mostraron también un buen comportamiento y tipo de grano, superando los 3.000kg ha⁻¹ de rendimiento. Estas siete líneas se muestran promisorias para continuar su avance y selección con la metodología de retrocruces avanzados.

Tabla 1. Análisis de varianza para rendimiento y número de vainas/planta en genotipos evaluados. Granja Experimental Tinguavita. Paipa, Boyacá. 2010-A.

Fuentes de variación	Cuadrados Medios		
	G.L	NVAI ¹	REND. ¹ (kg/ha)
Replicaciones	2	3,0952	160,97
Bloques dentro de replicaciones (Aj.)	27	1,474	227,12
Componente B	27	1,474	227,12
Tratamientos (Sin Aj.)	99	1,1288	204,49
Error intrabloque	171	0,54	47,6247
Error de B. C. randomizados	198	0,6749	72,1015
Total	299	0,814	116,53

¹: Variables con transformación raíz cuadrada.

Eficiencia relativa frente a DBCA= 113,29

G.L.: Grados de libertad. NVAI: Numero de vainas/planta. REND; Rendimiento

Tabla 2. Medias ajustadas de siete líneas RC2 seleccionadas de las 95 evaluadas y comparadas con testigos para las variables NVAI y REND. Granja Experimental Tinguavita. Paipa, Boyacá. 2010-A.

LÍNEA/GENOTIPO	NVAI	REND (kg/ha)
BID 30	31,62 ab	3893,61 a
BID 112	23,71 abcd	3719,94 a
BID 91	34,80 a	3510,50 a
BID 47	25,92 abc	3157,73 ab
BID 80	21,90 bcd	3075,87 ab
BID 65	22,99 abcd	3055,99 ab
BID 77	29,09 ab	3021,39 ab
Radical Cerinza	14,68 de	2083,10 bc
NJA 35	15,28 cde	1652,82 c
AFR 298	15,50 cde	1516,82 c
CAL 96	10,66 e	1468,47 c

DMS al 0,05= 11,3761 DMS al 0,05= 1071,84

Medias con letras distintas indican diferencia significativa según DMS al 0,05.

Los excelentes resultados en incremento de rendimiento respecto al progenitor recurrente cultivado, demuestran segregación transgresiva positiva y confirman que las variedades silvestres tienen el potencial de aportar genes para alto rendimiento a las variedades cultivadas, constituyéndose en un valioso recurso germoplásmico para el mejoramiento genético del cultivo, como lo demostraron inicialmente en arroz, en China, donde comprobaron que QTL's derivados de *O. rufipogon*, una variedad silvestre de arroz, estuvieron asociados con incremento en el rendimiento, en una variedad híbrida (Xiao *et al.* 1996; Xiao *et al.* 1998) y como se ha deducido de investigaciones realizadas en arroz y en frijol por el CIAT, en Colombia (Moncada *et al.* 2003; Iriarte *et al.* 2006). Estos resultados también coinciden con lo reportado por Herrera & Acosta (2008), en cuanto a que en cruzamientos de genotipos silvestres con genotipos cultivados, se obtiene una ganancia genética, en cuanto a rendimiento.

El estudio de detección de QTL's, mediante marcadores moleculares en esta misma población de líneas con la metodología de retrocruces avanzados, lo está desarrollando el CIAT (datos sin publicar).

Barrios (2011) utilizó una retrocruza (RC2F2:5) entre Radical Cerinza y la accesión silvestre G24390 para, mediante marcadores microsatélites, construir un mapa genético e identificar posibles QTLs asociados a características agronómicas de interés, relacionadas con características agronómicas asociada a rendimiento. Se hallaron un total de 9 QTLs para las características fenotípicas evaluadas, por medio del análisis por intervalo compuesto, entre los que se resalta el QTL REND4,2, asociado a la característica rendimiento en la localidad de Popayán, que explicó una variabilidad fenotípica del 21%, atribuida al padre silvestre G24390, demostrando también la importancia de la introgresión de características de importancia, desde accesiones silvestres a líneas élite de frijol.

En cuanto al número de vainas por planta (NVAI), las líneas BID 91 y BID 30 presentaron los mejores resultados, con 35 y 32 vainas, respectivamente, coincidiendo con su alto rendimiento y mostrando diferencia significativa con Radical Cerinza y con los otros testigos, respecto a este componente (Tabla 2).

En la tabla 3, efectivamente se observa que el rendimiento final de grano seco de los genotipos evaluados presentó su mayor coeficiente de correlación ($r=0,6828$) en forma positiva y altamente significativo, con el componente número de vainas por planta (NVAI). Este resultado es coincidente con numerosos reportes de investigación, a nivel nacional e internacional, respecto a que el número de vainas por planta es el principal componente del rendimiento en frijol (Nienhuis & Singh, 1986; Ranalli, 1996; Furtado *et al.* 2002; Gómez & Frankow-Lindberg, 2005; López & Ligarreto, 2006). El rendimiento también presentó correlación positiva y altamente significativa, aunque de menor magnitud, con el peso de 100 granos ($r=0,5027$), lo cual, también ha sido reportado en algunos estudios en frijol, aunque con resultados no siempre coincidentes en este sentido (Coimbra *et al.* 1999).

En la tabla 3, para analizar e interpretar la correlación del Vigor con las demás características evaluadas, es necesario tener en cuenta que la escala estándar que se utiliza para su evaluación, es inversa en sus valores numéricos, que expresan la calificación de cada genotipo, o sea, que las líneas más vigorosas que el testigo tienen calificación numérica baja, 1 o 3, al testigo se le asigna calificación 5 (vigor normal), mientras que en los vigores inferiores al testigo, es decir, los genotipos con menor vigor, su calificación numérica es alta, 7 o 9 (CIAT, 1987). En otras palabras, que un menor valor en la escala refleja un mejor comportamiento en cuanto a esta característica; es por esta razón, que la mayoría de los coeficientes de correlación del Vigor con las otras variables evaluadas fue de signo negativo, pero en realidad se deben interpretar como de signo positivo.

Tabla 3. Coeficientes de correlación de Pearson para características evaluadas en 100 genotipos de frijol. Granja Experimental Tunguavita. Paipa, Boyacá.

Característica	VIG	NVAI	NGRA	P100g
NVAI	-0,6795 N.S.			
NGRA	-0,2298**	-0,1420*		
P100G	-0,3546**	0,0281 N.S.	0,1504**	
REND	-0,3389**	0,6828**	0,3643**	0,5027**

VIG: Vigor; NVAI: Número de vainas/planta; NGRA: Número de granos/vaina; P100G: Peso de 100 granos en gramos; REND: Rendimiento.

(N.S): No significativo; (*): Significativo al 5%; (**): Significativo al 1%.

Para los 100 genotipos evaluados, las variables: Vigor, definida por CIAT (1987), como la adaptación vegetativa, días a floración (DAF), días a maduración (DAM), número de granos por vaina (NGRA) y peso de 100 granos (P100G), que no presentaron comportamiento ajustado a la normalidad y, por cuanto, se les realizó análisis de varianza no paramétrico, se observa en la tabla 4 que, según la Prueba de Kruskal – Wallis, no se presentaron diferencias significativas entre los genotipos en cuanto a DAF y DAM, lo cual, era de esperarse, debido a que estas líneas en la etapa anterior de evaluación fueron seleccionadas buscando un fenotipo más cercano a Radical Cerinza que al progenitor silvestre, voluble y de ciclo tardío. Para las variables: Vigor, NGRA y P100G, según la misma prueba (Tabla 4), sí se presentó diferencia significativa, lo cual indica que, al menos una de las medianas de los genotipos evaluados fue diferente para estas características.

Se podría concluir y recomendar que las siete líneas RC2 seleccionadas (Tabla 2), por su adaptación al área de evaluación en Paipa (Boyacá), significativo mayor rendimiento y adecuado tipo de grano, deben continuar avanzando, mediante la metodología de retrocruces avanzados hacia el padre recurrente Radical Cerinza, pues son promisorias para al final del proceso convertirse en potenciales progenitores, para ser involucrados en nuevos cruzamientos o en líneas promisorias para la futura obtención de nuevas variedades arbustivas de frijol, para el Departamento de Boyacá. En el actual avance, algunas de estas líneas aún no poseen una arquitectura de planta adecuada, pues presentan tendencia a ser postradas y requerirían de retrocruces adicionales hacia el padre recurrente Radical Cerinza, para obtener hábitos de crecimiento recomendables.

Se vislumbra con este y otros trabajos similares, la utilidad de la metodología de retrocruces avanzados, como técnica de pre-mejoramiento para la introgresión de genes benéficos, desde materiales silvestres hacia cultivares mejorados.

El buen comportamiento de líneas de la población en el área de evaluación, se debe, sin duda, a la adaptación a la zona del progenitor recurrente Radical Cerinza, que ha sido el ge-

notipo de mejor comportamiento en la Granja Tunguavita (Paipa, Boyacá), en anteriores ensayos realizados.

Conflictos de intereses: El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados. **Financiación:** Este estudio fue financiado por la Dirección de Investigaciones (DIN) de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. UPTC, Tunja.

BIBLIOGRAFÍA

- ADAMS, M. 1977. An estimation of homogeneity in crop plants with specific reference to genetic vulnerability in the dry bean, *Phaseolus vulgaris* L. *Euphytica*. 26:665-679.
- ARIAS, J.H.; JARAMILLO, M.; RENGIFO, T. 2007. Manual Técnico: Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) en la producción de frijol voluble. CORPOICA – MANA – FAO. C.I. La Selva. Medellín.
- ASTUDILLO, C.; BLAIR, M.W. 2008. Evaluación del contenido de hierro y zinc en semilla y su respuesta al nivel de fósforo en variedades de frijol colombianas. *Agr. Col.* 26:471-476.
- BARRIOS, R. del P. 2011. Identificación de QTLs asociados a características agronómicas de interés, en una retrocruza avanzada de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Disponible desde Internet en: http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_Ciat/2011_Identificacion_de_QTLS_Frijol.pdf (con acceso el 25/07/12).
- BLAIR, M.W.; IRIARTE, G.; BEEBE, S. 2006. QTL analysis of yield traits in an advanced backcross population derived from a cultivated Andean wild common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cross. *Theoret. Appl. Genetics*. 112:1149-1163

Tabla 4. Resultado del análisis de varianza no paramétrico para las variables no normales de genotipos evaluados, según la Prueba de Kruskal – Wallis.

Prueba de Kruskal - Wallis	VIGOR	DAF	DAM	NGRA	P100G
Chi - Cuadrado	131,72	108,74	106,78	168,75	256,06
G.L.	98	98	98	98	98
Pr > Chi - Cuadrado	0,0131 *	0,2153 N.S.	0,2556 N.S.	<0,0001 *	<0,0001 *

G. L.: Grados de libertad. *: Diferencia significativa (5%). N.S.: No significativo.

6. BLISS, F.A.; BROWN, J.W.S. 1983. Breeding common bean for improved quantity and quality of seed protein. Janick, J. (Ed.). Plant Breeding Reviews 1: 59-102.
7. CCI – MADR, 2009. Encuesta Nacional Agropecuaria. Disponible desde Internet en: www.agronet.gov.co/www/docs_agronet/201046112648_RESULTADOS_ENA_2009.pdf (con acceso el 10/11/10).
8. CIAT (CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL). 1987. Sistema estándar para la evaluación de germoplasma de frijol. van Schoonhoven, A.; Pastor-Corrales, M.A. (Comps.). Cali, Colombia. 56p.
9. CNPAF - EMBRAPA. 2003. Cultivo de feijoeiro. Disponible desde Internet en: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/index.htm> (con acceso el 03/04/10).
10. COIMBRA, J.L.M.; GUIDOLIN, A.F.; FÉLIX DE CARVALHO, F.I.; COIMBRA, S.M.M.; MARCHIORO, V.S. 1999. Análise de trilha I: Análise do rendimento de grãos e seus componentes. Ciência Rural, Santa Maria 29(2):213-218.
11. FURTADO, M.R.; CRUZ, C.D.; CARDOSO, A.A.; FERNANDEZ COELHO, A.D.; PETERNELLI, L.A. 2002. Análise de trilha do rendimento do feijoeiro e seus componentes primários em monocultivo e em consórcio com a cultura do milho. Ciência Rural. 32(2):217-220.
12. GEPTS, P. 1991. La biotecnología aclara el proceso de domesticación del frijol. Diversity. 7(1-2):52-53.
13. GEPTS, P. 1994. Análisis moleculares del proceso de domesticación en plantas: El ejemplo del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). En: Congreso Latinoamericano de Genética (Área Vegetal) y Congreso de Fitogenética. Monterrey (México). 25-30 Sep. 1994. Memorias. Chapingo, México. Sociedad Mexicana de Fitogenética. p.3-28.
14. GÓMEZ, O.J.; FRANKOW-LINDBERG, B.E. 2005. Yield formation in Nicaraguan landraces of common bean compared to bred cultivars. J. Agr. Sci. 143:369-375.
15. HERRERA, T.; ACOSTA, J. 2008. Rendimiento de tres tipos de cruces entre genotipos silvestres y cultivados de frijol. Agr. Téc. Méx. 34(2):167-176.
16. IRIARTE, G.; BLAIR, M.W.; HOYOS, A.; BEEBE, S. 2006. Evaluación agronómica de una retrocruza avanzada entre una accesión silvestre colombiana y la variedad cultivada de frijol común, ICA Cerinza. Fitotecn. Col. 6(1):24-32.
17. LÓPEZ, J.E.; LIGARRETO, G.A. 2006. Evaluación por rendimiento de 12 genotipos promisorios de frijol voluble (*Phaseolus vulgaris* L.) tipo Bola Roja y Reventón para las zonas frías de Colombia. Agr. Col. 24(2):238-246.
18. McCLEAN, P.E.; MYERS, J.R.; HAMMOND, J.J. 1993. Coefficient of parentage and cluster analysis of North American dry bean cultivars. Crop Sci. 33:190-197.
19. MONCADA, M.; MARTÍNEZ, C.; McCOUCH, S. 2003. Detección de QTLs para rendimiento y caracteres de importancia económica en una población F₂RC₂ del cruzamiento *Oryza sativa* x *Oryza rufipogon*. Fitotecn. Col. 3(2):69-85.
20. NIENHUIS, J.; SINGH, S.P. 1986. Combining ability analyses and relationships among yield, yield components and architectural traits in dry bean. Crop Sci. 26:21-27.
21. PAREDES, M.; BECERRA, V.; CONDÓN, F.; GERMÁN, S.; BARBIERI, R.L. 2010. Utilización de los recursos fitogenéticos. En: Estrategia en los recursos fitogenéticos para los países del Cono Sur / IICA Montevideo: PROCISUR, IICA, 2010. p.97-116.
22. PRITSCH, C. 2001. El pre-mejoramiento y la utilización de los recursos fitogenéticos. En: Estrategia en recursos fitogenéticos para los países del Cono Sur. PROCISUR. 2001. Documentos. Montevideo, Uruguay. p.111-121.
23. RANALLI, P. 1996. Phenotypic recurrent selection in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) based on performance of S₂ progenies. Euphyt. 87(2):127-132.
24. SINGH, S.P.; URREA, C.A.; GUTIÉRREZ, J.A.; GARCÍA, J. 1989. Selection for yield at two fertilizer levels in small-seeded common bean. Can. J. Plant Sci. 69:1011-1017.
25. TANKSLEY, S.D., NELSON, J.C. 1996. Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTL from germoplasm into elite breeding lines. Theoret. Appl. Genetics. 92:191-203.
26. VOYSEST, O.; VALENCIA, M.C.; AMÉZQUITA, M.C. 1994. Genetic diversity among Latin America An-

- dean and Mesoamerican common bean cultivars. *Crop Sci.* 34:1100-1110.
27. VOYSEST, O. 2000. Mejoramiento Genético del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.): Legado de variedades de América Latina 1930-1999. Centro Internacional de Agricultura Tropical. CIAT. Cali (Colombia). 195p.
28. XIAO, J.; LI, J.; YUAN, L.; TANKSLEY, SD. 1996. Identification of QTLs affecting traits of agronomic importance in a recombinant inbred population derived from a subspecific rice cross. *Theoret. Appl. Genetics.* 92:230-244.
29. XIAO, J.; LI, J.; GRANDILLO, S.; SANG-NAG, A.; YUAN, L.; TANKSLEY, S.D.; MCCOUCH, S.R. 1998. Identification of trait-improving quantitative trait loci alleles from a wild rice relative, *Oryza rufipogon*. *Genetics.* 150:899-909.
- Recibido: Septiembre 23 de 2011
Aceptado: Abril 2 de 21013

COMPONENTES DE VARIANCIA EN VARIABLES DE CRECIMIENTO Y FOTOSÍNTESIS EN FRÍJOL COMÚN (*Phaseolus vulgaris* L.)

COMPONENTS OF VARIANCE IN GROWTH TRAITS AND PHOTOSYNTHESIS IN COMMON BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.)

Gustavo A. Ligarreto M.¹

¹ I.A. Ph.D., Profesor Asociado. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. e-Mail: galigarretom@unal.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 87 - 96, 2013

RESUMEN

Las colecciones de fríjol se han estudiado por características morfológicas y de producción, pero hace falta el conocimiento de los caracteres relacionados con el crecimiento de la planta y la fotosíntesis; la aplicación de esta investigación permite apoyar a los programas de mejora genética de cultivares de alto valor para la seguridad alimentaria. En una colección de fríjol común, compuesta por 29 materiales de procedencias Argentina, Bolivia, Colombia, México y Perú existente en el banco de germoplasma de la Nación colombiana que administra la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), se midieron 34 variables cuantitativas relacionadas con el crecimiento de la planta y la fotosíntesis, con el objetivo de seleccionar las variables de mayor aporte genético y poco efecto de ambiente. Los análisis para las variables cuantitativas de índole fisiológica revelaron alto efecto del ambiente sobre su expresión, excepto sobre los componentes de crecimiento razón área foliar (RAF), razón peso foliar (RPF) y área foliar específica (AFE), que presentaron mayor expresión genética, indicando que son caracteres que se pueden usar para describir las accesiones de la colección y como variables, con uso potencial, para la selección de genotipos, en programas de mejoramiento genético.

Palabras clave: Crecimiento y desarrollo, evaluación, germoplasma, leguminosa comestible.

SUMMARY

Bean collections have been documented by morphological and production traits, but the knowledge related with growth and photosynthesis are deficient, allowing the application of

this research to support breeding programs of high value cultivars for food security. In a common bean population of 29 accessions of the Colombian germplasm bank administrated by the "Corporación Colombiana de Investigación agropecuaria (Corpoica)" with origins in Argentina, Bolivia, Colombia, Mexico and Peru, 34 variables were measured with several quantitative characteristics related to plant growth and photosynthesis, in order to identify the variables with higher genetic improvement and lower environmental effects. The analysis of the 34 quantitative variables of physiologic nature revealed the high effect of the environment on their expression, except on the leaf area ratio (LAR), the leaf weight ratio (LWR) and the specific leaf area (SLA), which are more genetic expression, showing them as possible characters to be used at accessions description and as potential variables for the genotype selection in breeding programs.

Key words: Growth and development, evaluation, germplasm, food legume.

INTRODUCCIÓN

La descripción y la documentación de las colecciones de germoplasma que se relacionan en los datos de pasaporte constituyen el valor agregado de las accesiones, pues dejan reconocer su uso potencial, al igual que permite a los programas de recursos genéticos vegetales a conocer la variabilidad genética que conservan y sirven para que los programas de mejoramiento genético disminuyan el número de genotipos y el tiempo invertido en premejoramiento (Borém, 1998).

Durante las últimas décadas, se han aplicado múltiples estrategias tendientes a aumentar la producción de

alimentos; sin embargo, las ganancias han sido evaluadas como simples métodos de incremento de los componentes del rendimiento, como peso del grano, el peso de la vaina, mazorcas, espigas y panojas, entre otras estructuras reproductivas y del número de granos por estructura, pero la producción es el resultado del componente genético y del ambiente, considerando el cultivar y el efecto de los factores bióticos y abióticos sobre su expresión. Por tanto, en cualquier intención de mejora genética, es importante considerar la posibilidad de manipular los genes involucrados en el rendimiento, en las resistencias a patógenos y en el estrés abiótico, en la alta calidad nutricional y en la eficiencia fisiológica, a través del uso de los recursos genéticos con genes de interés (Bressan & Pereira, 2003).

El frijol presenta contenido de proteína, que varía del 20 al 28% y tiene aminoácidos esenciales, como metionina, lisina y triptófano, además de calcio y hierro; este alto valor nutricional ha hecho que la especie sea considerada la principal fuente de proteína para poblaciones de escasos recursos, especialmente, para países en desarrollo, donde el consumo *per capita* puede alcanzar los 50kg en algunas regiones (Broughton *et al.* 2003). Para el 2009, a nivel global, se cosechó un área de 25.563.866ha, con una producción de 20.698.984t, en el que participaron 121 países (FAO, 2011).

La producción de esta leguminosa podría estar seriamente afectada, puesto que el frijol se considera como uno de los cultivos más vulnerables al cambio climático. Según el programa de investigación enfocado en cambio climático, agricultura y seguridad alimentaria (CCAAF), que hace parte del Grupo Consultivo para Investigación Agrícola Internacional (CGIAR), la generación de variedades que respondan a las nuevas y variables condiciones ambientales, se destaca como una de las soluciones para enfrentar y mitigar el efecto del cambio climático en la agricultura (Jarvis *et al.* 2011).

La descripción de los estados de desarrollo de las plantas, el estudio de la dinámica de la materia seca por órgano, las relaciones fuente-vertedero, las tasas fotosintética y respiratoria, la concentración de pigmentos fotosintéticamente activos, como clorofila α , β y total y los modelos de crecimiento son de gran utilidad para definir los requerimientos de regeneración de colectas y en la selección de progenitores por características de interés, para enfrentar los retos de seguridad alimentario y de cambio climático (González *et al.* 1995; Mohr & Schopfer, 1995).

Estudios con marcadores moleculares sugieren que las poblaciones de frijol se clasifican en dos grupos: uno, de Meso-América, que corresponde a genotipos de semilla pequeña y, el otro, de la parte central de los Andes, que

conciene a variedades de semilla grande (Gepts & Bliss, 1986; Kwak & Gepts, 2009); los dos grupos genéticos también difieren por su potencial de rendimiento. En general, las accesiones mesoamericanas se destacan por presentar mayor producción que las andinas; este comportamiento puede ser función de la tasa de acumulación de biomasa durante su crecimiento (Sexton *et al.* 1994).

Las características para la identificación de la variabilidad genética entre los diferentes acervos genéticos de las especies silvestres y cultivadas de frijol, casi siempre han sido fenotípicas, como el tamaño de la semilla y la forma y el tamaño de la hoja, la longitud de los entrenudos y el hábito de crecimiento, el tipo de faseolina, las aloenzimas, y el ADN del núcleo y de las mitocondrias (Gepts, 1988); sin embargo, los estudios donde se miden caracteres fisiológicos como aporte al conocimiento de la variabilidad genética son muy escasos (González *et al.* 1995).

La fotosíntesis es el proceso que más contribuye a la producción de biomasa; por tanto, el manejo genético y bioquímico de esta característica es especialmente importante en la producción de alimentos. Para mejorar la fotosíntesis es necesario manejar otros procesos, que permitan reducir los costos de energía y la tasa de respiración e incrementar el uso eficiente de los nutrientes, como P y N, así como realizar cambios morfológicos en la arquitectura de la planta (Foyer *et al.* 1995).

En varios cultivos se ha documentado que existe variación genética en la capacidad fotosintética. En frijol, Lynch *et al.* (1992) observaron contrastes genéticos significativos en parámetros relacionados con la fotosíntesis entre poblaciones silvestres de diferentes regiones de origen, mientras Bressan & Pereira (2003) reportaron elevados valores de heredabilidad ($> 0,50$), para parámetros fisiológicos en frijol cultivado, indicando una fuerte influencia de los factores genéticos sobre la fotosíntesis; en consecuencia, las diferencias fotosintéticas de los genotipos puede ser explotada en el fitomejoramiento.

Un mayor grosor de la hoja es usualmente asociado con alta tasa de asimilación de carbono foliar y varios estudios igualan la masa foliar específica con este grosor (White & Montes, 2005). Esta aproximación es útil porque ignora las diferencias entre el verdadero grosor, debido a la variación del contenido de agua, aire y otros factores. Muchos de los parámetros relacionados con el grosor de la hoja en frijol presentan grandes diferencias entre líneas o genotipos, lo cual, es consistente con varios reportes que sugieren que materiales de Mesoamérica tienen mayor grosor de hoja que los andinos (White & Montes, 2005).

En este trabajo, se evaluaron parámetros de crecimiento

y variables de eficiencia fotosintética en una colección de germoplasma de fríjol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y se determinó el efecto de los componentes genético y ambiental, en la expresión del conjunto de las variables en estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

En la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), C.I. Tibaitatá, ubicado a 4°42' de latitud norte, 74°12' de longitud oeste y 2540m de altitud, en el Municipio de Mosquera (Cundinamarca, Colombia), se llevó a cabo un estudio de evaluación fisiológica de fríjol en dos semestres, con precipitación por ciclo de cultivo de 396 y 267mm y 13,2 y 13,5°C de temperatura diaria, en promedio, respectivamente. Los suelos de los lotes, donde se efectuó el trabajo, presentaron niveles adecuados de fertilidad, con estructura franco limosa, materia orgánica 3,7%, fósforo 30ppm, capacidad de intercambio catiónico 31,8 y meq/100g, de suelo de: Ca 19,0; Mg 2,8; K 0,19 y Na 0,63 (Flor, 1985).

Se utilizaron 29 accesiones de fríjol (*Ph. vulgaris* L.); 25, corresponden a cultivares regionales e introducciones de los acervos genéticos Andes y Mesoamérica, de la colección colombiana de fríjol existente en el banco de germoplasma de Corpoica en el C.I. Tibaitatá; a su vez, 14 son de crecimiento determinado arbustivo (tipo I): Antioquia 10, Antioquia 19, Antioquia 27A, Boyacá 18, Cundinamarca 148, Nariño 12, Tolima 17-2, Tolima 43, Bolivia 7, México 171, México 496, México 497, Perú 40 y Perú 154; tres de hábito indeterminado arbustivo (tipo II): Antioquia 20, Tolima 17-1 y Argentina 1 e indeterminado postrado (tipo III), ocho accesiones: Antioquia 21, Cauca 34, Huila 5, Nariño 7A, Tolima 16, Tolima 16B, Perú 5 y Perú 224. Esta colección incluyó cuatro variedades mejoradas de importancia comercial en zonas frías de Colombia: Diacol Andino, ICA Cerinza y la línea élite L-34400 de hábito tipo I e ICA Tundama de hábito de crecimiento tipo II, usadas como testigos.

Las 25 accesiones regionales e introducidas, se tomaron al azar y representan el 15% de la colección de germoplasma, conformada por 165 accesiones. Todas las colectas, se sembraron en dos semestres o ambientes en la localidad C.I. Tibaitatá, bajo el diseño experimental de bloques completos al azar, con 29 tratamientos y cuatro repeticiones. Los tratamientos fueron las accesiones. La unidad experimental fue un área de 9,6m², estuvo constituida por 4 surcos de 4m de largo, distanciados 0,6m entre ellos, con distancia de 10cm entre plantas.

La medición de las variables de peso seco y área foliar, se realizó en una planta por parcela, a partir de los 17 días después de la emergencia del cultivo hasta el estado de

madurez fisiológica; las lecturas se tomaron cada 8 días, para un total de 22; se hizo la selección de plantas, con el objeto de hacer uniforme el estado biológico de las muestras.

En la tabla 1, se relacionan las 34 variables cuantitativas de origen fisiológico evaluadas en el estudio. Para tal efecto, se separaron en cada planta las hojas, los tallos, la raíz remanente después del arranque de la planta del suelo y los frutos y se secaron en un horno Mettler PE 3600, a 70°C, por 48 horas, en las que se determinó el peso seco por órgano y total de la planta; el área foliar, se midió en material fresco, empleando el medidor LI-300.

La fotosíntesis neta, se halló con el equipo portátil Licor 6200, sobre uno de los trifolios del estrato superior de la planta, en la fase vegetativa, en la etapa fenológica V4: tercera hoja trifoliada y en la fase reproductiva, en las etapas fenológicas R6: floración y R7: formación de vainas (Fernández *et al.* 1985). De igual manera, en extractos vegetales de plantas en etapas V4, R6 y R7, mediante espectrofotometría, se cuantificó la absorbancia a 649 y 665nm, con lo cual, a su vez, se determinó la concentración de clorofila α , β y la total.

Con base en los datos del peso seco y área foliar, se calcularon los índices de crecimiento: tasa de asimilación neta (TAN), tasa de crecimiento relativo (TCR), relación área foliar (RAF), duración área foliar (DAF), como relación de área foliar contra el tiempo entre dos momentos, área foliar específica (AFE) y relación peso foliar (RPF), por el método tradicional, propuesto por Radford (1967), con cumplimiento de los supuestos fisiológicos de variación del peso seco, en forma continua, en un período de tiempo t_1 a t_2 y dependencia lineal entre el peso seco total y el área foliar. La dinámica de la materia seca expresada en porcentaje, se calculó con base en el peso seco acumulado, a través del tiempo por cada órgano y para cada una de las 29 accesiones de fríjol.

Los datos de las variables fisiológicas, se procesaron con el sistema SAS®, versión 9,4. Se determinaron las estadísticas descriptivas, como promedios y desviaciones estándar y se realizaron los análisis de varianza para cada variable, en los dos ambientes de evaluación; con el procedimiento Univariate, se obtuvo la prueba de normalidad del supuesto del modelo estadístico ($e_{ij} \approx N I (0, \sigma^2)$). Las variables de peso seco y área foliar sin normalidad, se transformaron a logaritmo natural (\log_e).

Los componentes de varianza, se generaron a partir de los cuadrados medios de las repeticiones y ambientes, como efectos fijos y accesiones y, el error experimental, como efectos aleatorios del análisis de varianza; este análisis, se realizó con la aplicación del procedimiento Varcomp. Los estimadores de los componentes, se calcularon de la siguiente forma:

Tabla 1. Caracteres fisiológicos cuantitativos evaluados en 29 accesiones de la colección colombiana de fríjol.

VARIABLES	ABREVIATURAS	UNIDADES
Área foliar total	Aftol	cm ²
Peso seco total	Pstol	g
Peso seco de hojas	Pshoj	g
Peso seco de raíz	Psrai	g
Peso seco de flores	Psflo	g
Peso seco de vainas	Psvai	g
Peso seco de granos	Psgra	g
Peso seco de tallos	Pstal	g
Proporción peso seco de hojas	Ppsho	%
Proporción peso seco de raíz	Ppsra	%
Proporción peso seco de flores	Ppsfl	%
Proporción peso seco de vainas	Ppsva	%
Proporción peso seco de granos	Ppsgr	%
Proporción peso seco de tallos	Ppsta	%
Tasa de asimilación neta	TAN	g cm ⁻² . día ⁻¹
Tasa de crecimiento relativo	TCR	g . g ⁻¹ . día ⁻¹
Relación área foliar	RAF	cm ² . g ⁻¹
Duración área foliar	DAF	Días
Área foliar específica	AFE	cm ² . g ⁻¹
Razón peso foliar	RPF	g . g ⁻¹
Radiación	Radia	μ mol . m ⁻² . s ⁻¹
Temperatura	Tempe	°C
Fotosíntesis	Fotos	μ mol . m ⁻² . s ⁻¹
Conductancia de CO ₂	Conduc	mol CO ₂ . m ⁻² . s ⁻¹
Resistencia estomática	Resto	s . cm ⁻¹
Conductancia estomática	Cesto	cm . s ⁻¹
Transpiración	Trans	mg.cm ⁻² de H ₂ O.h ⁻¹
Absorbancia a 649	Ab649	nm
Absorbancia a 665	Abs665	nm
Concentración de clorofila α	Ccloa	mg . m ⁻²
Concentración de clorofila β	Cclob	mg . m ⁻²
Proporción de clorofila α	Pcloa	%
Proporción de clorofila β	Pclob	%
Clorofila total	Clort	mg . m ⁻²

$$\sigma^2 = M1; \sigma_g = (M3-M2) / r . a;$$

$$\sigma_{ga}^2 = (M3-M2) / r ;$$

$$\sigma_a^2 = (M5- M3-M4+M1) /g . r$$

Donde: g = accesión; a = ambiente; r = repetición; y los valores de M son los cuadrados medios de cada fuente de variación.

Con estos estimadores, se halló el coeficiente de repetibilidad (Y), propuesto por Goodman & Paterniani (1969), para estudios de clasificación de colectas, que permite determinar

las variables con bajo aporte ambiental sobre la expresión fenotípica de los materiales, que a su vez, pueden ser útiles para hallar similitud y disimilitud entre accesiones (Ligarreto & Martínez, 2002). El coeficiente se representa como:

$$Y = [\sigma_g^2 / (\sigma_a^2 + \sigma_{ga}^2)] > 1$$

Los caracteres con $\sigma > 1$ indican que la medida entre accesiones tiene más expresión genética que efecto de ambiente e interacciones. Los estimadores negativos de las varianzas se pueden deber a errores en el muestreo y toma de los datos causados por efecto de ambiente (Ligarreto, 2003; Chávez, 2003).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los promedios, las desviaciones estándar, las varianzas y los coeficientes de variación sobre la colección de 29 accesiones de frijol sugieren la presencia de alta variación entre las accesiones para todas las variables, en los dos ambientes de estudio (Tabla 2). La variable que indicó menor dispersión de las accesiones fue la temperatura de la hoja, por presentar el coeficiente de variación más bajo, con valor de 3,9%, debido a que la morfología de las hojas entre las accesiones fue similar entre sí.

Un amplio rango de dispersión correspondió a las variables porcentaje de peso seco de la flor, conductancia de CO₂ y conductancia estomática, los valores altos de varianza y las desviaciones estándar pueden obedecer a la magnitud y al rango de las variables, como también al efecto de ambiente y a la época de muestreo (White & Montes, 2005).

Según la tabla 3 y asumiendo lo sugerido por Goodman & Paterniani (1969), que las variables con coeficientes de repetibilidad (Y) superior a 1 aseguran su estabilidad en los diferentes ambientes de evaluación, se encontró en el estudio que las únicas variables de heredabilidad alta fueron

Tabla 2. Estadísticas descriptivas para 34 variables fisiológicas evaluadas en 29 accesiones de frijol.

Variabes	Nº de Obs.	Media	Varianza	C. V. (%)	Nor. 1/
Área foliar total	210	964,9	186246,5	44,7	si
Peso seco hojas	210	4,6	3,1	38,6	si
% Peso seco de hojas	210	47,1	81,0	19,1	no
Peso seco total	210	13,6	32,6	41,9	si
Peso seco de raíz	210	0,6	0,0	34,6	si
% Peso seco de raíz	210	13,4	9,6	23,2	si
Peso seco de flor ^{2/}	120	0,3	0,9	378,2	no
% Peso seco de flor ^{2/}	120	3,6	921,8	834,6	no
Peso seco de vainas	210	9,4	38,0	65,7	no
% Peso seco de vainas	210	27,1	139,9	43,7	si
Peso seco de granos	200	8,5	50,4	83,5	no
% Peso seco de granos	200	22,5	308,2	78,1	no
Peso seco de tallos	210	3,9	2,9	44,1	si
% Peso seco de tallos	210	27,9	20,1	16,0	no
Tasa de asimilación neta	210	0,0	0,0	53,7	no
Tasa de crecim. relativo	210	0,0	0,0	14,0	si
Razón área foliar	210	100,0	200,7	14,2	no
Duración área foliar	210	257,9	47213,3	84,2	no
Área foliar específica	210	112,3	53263,5	205,5	no
Razón peso foliar	210	0,2	0,2	184,0	no
Radiación ^{2/}	116	378,6	24504,2	41,3	si
Temperatura ^{2/}	116	20,2	0,6	3,9	si
Fotosíntesis	205	8,4	17,3	49,6	no
Conductancia de CO ₂	205	5,2	9226,3	1858,5	no
Resistencia estomática	205	0,5	0,6	140,6	no
Conductancia estomática	204	13,3	3107,2	420,4	no
Transpiración	204	11,3	33,0	50,7	si
Absorbancia a 649	206	0,2	0,0	46,4	no
Absorbancia a 665	206	0,1	0,0	59,8	no
Clorofila α	206	1994354,8	4,52x10 ¹²	106,7	no
% de clorofila α	206	20,5	149,3	59,7	no
Clorofila β	206	7214794,7	2,57x10 ¹³	70,3	no
% de clorofila β	206	79,5	149,3	15,4	no
Clorofila total	206	9209149,5	4,46x10 ¹³	72,6	no

^{1/} Prueba de normalidad de Shapiro - Wilk (1965); distribución normal "si" corresponde a $p > 0.01$, "no" normalidad corresponde a $p \leq 0.01$.

^{2/} Variables estudiadas en un único ambiente.

la razón área foliar (RAF), con $\Upsilon=3,97$ y la razón peso foliar (RPF), de $\Upsilon=1,38$; mientras el área foliar específica (AFE), al presentar $\Upsilon=0,90$, se podría considerar como de heredabilidad media; las otras 31 variables implican en su expresión diferencias entre las 29 accesiones, a través de los ambientes de evaluación, es decir, dependen en alto grado del efecto de ambiente, por presentar valores Υ cercanos a cero (Tabla 3).

La RAF es un parámetro compuesto, parcialmente determinado por la distribución (RPF) y la morfología de la hoja (AFE) (Bayuelo *et al.* 2003). Se entiende la RAF como la relación del material asimilatorio por unidad de material de la planta, la RPF como la utilización del material asimilatorio para la producción de hojas y la AFE como la masa por unidad de área foliar: las tres variables están relacionadas con la tasa de fotosíntesis (White & Montes, 2005).

Tabla 3. Componentes de varianza estimados de 29 accesiones de frijol (σ^2_g), ambientes (σ^2_a), interacción accesiones x ambiente ($\sigma^2_{g,a}$) y coeficientes de $\Upsilon = \sigma^2_g / \sigma^2_a \cdot \sigma^2_{g,a}$ en 34 variables fisiológicas^{1/}.

VARIABLES	σ^2_g	σ^2_a	$\sigma^2_{g,a}$	$\Upsilon^{2/}$
Área foliar total	35549,010	32149,640	40821,743	0,49
Peso seco hojas	-0,726	22,765	3,702	-0,03
% Peso seco de hojas	0,193	0,354	0,692	0,18
Peso seco total	0,005	0,021	0,007	0,02
Peso seco de raíz	0,009	0,070	0,864	0,01
% Peso seco de raíz	0,843	38,970	0,431	0,02
Peso seco de flor ^{3/}	0,548	53,155	-0,487	0,07
% Peso seco de flor ^{3/}	0,088	0,492	1,133	0,05
Peso seco de vainas	12,528	21,577	-8,365	0,42
% Peso seco de vainas	1,098	6,854	0,643	0,15
Peso seco de granos	-1,899	-0,460	923,989	0,002
% Peso seco de granos	27,171	175,656	0,382	0,15
Peso seco de tallos	26,872	323,461	15,822	0,08
% Peso seco de tallos	4,911	12,157	1,031	0,37
Tasa de asimilación neta	0,000	0,000	0,000	0,00
Tasa de crecim. relativo	-0,000002	0,0000003	0,000006	0,00
Razón área foliar	87,633	22,062	-0,035	3,97
Duración área foliar	37,494	34462,019	-890,241	0,001
Área foliar específica	-2779,416	-176,897	2894,223	0,90
Razón peso foliar	0,0172	-0,0004	-0,0121	1,38
Radiación ^{3/}	1309,170	1926,29	21771,890	0,05
Temperatura ^{3/}	0,019	0,064	0,557	0,03
Fotosíntesis	-0,500	-0,474	0,830	0,38
Conductancia de CO ₂	316,693	-39,611	-734,348	0,40
Resistencia estomática	-0,015	0,487	0,076	0,563
Conductancia estomática	110,279	187,280	-168,916	0,30
Transpiración	0,198	51,733	0,193	0,004
Absorbancia a 649	0,00041	0,00025	-0,011	0,30
Absorbancia a 665	0,00009	0,0017	-0,0011	0,032
Clorofila α	43x10 ⁹	-148x10 ⁹	-900x10 ⁹	0,04
% de clorofila α	123x10 ¹⁰	677x10 ¹⁰	-414x10 ¹⁰	0,11
Clorofila β	3,151	83,525	-17,020	0,031
% de clorofila β	3,151	83,525	-17,020	0,031
Clorofila total	168x10 ¹⁰	653x10 ¹⁰	-849x10 ¹⁰	0,11

^{1/} Para variables evaluadas en un ambiente el valor σ^2_a corresponde al componente de repetición σ^2_r y $\sigma^2_{g,a}$ al error experimental (σ^2_e). El coeficiente $\Upsilon = \sigma^2_g / \sigma^2_a \cdot \sigma^2_{g,a}$. Todos los componentes de varianza presentaron diferencias altamente significativas.

^{2/} El coeficiente Υ se obtuvo del valor absoluto de las varianzas.

^{3/} Variables estudiadas en un solo ambiente.

El alto componente genético en la expresión de estas variables implican bajo efecto del ambiente, porque son índices que relacionan dos variables de respuesta, como pesos o áreas foliares que, implícitamente, llevan este efecto, lo cual, es diferente a los índices derivados de una variable de respuesta peso o área, en relación con el tiempo (Radford, 1967).

La baja expresión genética en caracteres de peso seco y fotosíntesis en este estudio contrasta con lo obtenido por Bressan & Pereira (2003), quienes reportaron heredabilidades medias a superiores (>50%), atribuidas a la divergencia fisiológica entre los progenitores usados y a la alta expresividad de los caracteres en la población segregante. También, Ligarreto (2005), en trabajos de variabilidad en germoplasma de fríjol mediante análisis de componentes principales, determinó que la clasificación de cultivares por respuesta a 34 variables de índole fisiológica, se debe en su orden a: área foliar total, peso seco de hojas, RAF, AFE fotosíntesis y a los índices de crecimiento TAN y RPF.

De acuerdo con Poehlman & Allen (2003), los reportes de heredabilidad se aplican solamente a la población particular muestreada y al ambiente, en el cual, la población se cultivó, por ende, la interpretación de los resultados es puntual; no obstante, dado que en el estudio los materiales evaluados se cogieron al azar de la colección de 165 entradas de fríjol arbustivo, las estimaciones de heredabilidad alta para RAF, RPF y la heredabilidad media para AFE, se pueden extrapolar a toda la población muestreada, en este caso a la colección de frijol tipos I, II y III, del banco de germoplasma.

Cuando se trabaja con variabilidad producto de componentes principales lo que se tiene son varianzas acumuladas de toda la población, producto de los datos de evaluación o descripción de las plantas, por lo que se puede seleccionar las variables de mayor varianza total; en tanto, al tener varianzas de poblaciones en ambientes, se puede estimar, de manera confiable, si el carácter se hereda (Rojas, 2003).

Los resultados de este trabajo que sugieren las variables RAF, RPF y AFE con aporte genético importante en la clasificación de accesiones de germoplasma de una colección colombiana de frijol por parámetros fisiológicos, coinciden con varios reportes, que las consideran como variables de gran utilidad en los análisis de crecimiento, al estar estrechamente relacionadas con la tasa potencial de crecimiento de las plantas (Lambers & Poorter, 1992), además de estar asociadas con una mayor tasa de asimilación de carbono (White & Montes, 2005).

En los dos acervos genéticos de fríjol andino y mesoamericano, la RAF presentó tendencia creciente a través del tiempo, con picos altos entre prefloración (R6) y floración (R7), cuando la plantas alcanzaron su mayor crecimiento foliar y el desarrollo

de sus estructuras reproductivas. Para el efecto, en la figura 1:A, B, se presenta el comportamiento promedio de la RAF por pool genético, con las accesiones L-34400 y Cauca 34, representativas de cada acervo, como lo indica Ligarreto (2005). En cambio, para el uso del material asimilatorio en la producción de hojas (RPF), el promedio del ciclo de vida de la planta fue mayor en el acervo mesoamericano que en el andino, comportamiento que pudo obedecer a la mayor área foliar de las accesiones mesoamericanas, con predominio de hábito de crecimiento indeterminado postrado (tipo III), lo que a su vez, coincide con lo reportado por Maldonado & Corchuelo (1993), quienes detectaron mayor disminución de RPF durante el ciclo de vida, en variedades de fríjol de hábito determinado (I), con respecto al hábito de crecimiento indeterminado (II y III).

Los puntos máximos de incremento de la RAF en las dos accesiones L-34400 y Cauca 34, obedecen a puntos de inflexión en el peso seco total de la planta, atribuidos al comienzo de la traslocación de fotoasimilados y a la remoción de elementos constituyentes del tejido foliar de las plantas hacia las vainas y los granos, con el fin de contribuir a su llenado (Figura 1), es decir, que el suministro de asimilados afecta poco el grosor de la hoja. El fríjol es una planta C_3 con rápida traslocación de asimilados, debido a las cortas distancias entre la fuente y la demanda, en especial, cuando los cultivares son de hábito arbustivo (González *et al.* 1995; Ligarreto, 2005).

El grosor de las hojas (AFE) promedio de ciclo de vida del cultivo, para el caso específico de las accesiones L-34400 y Cauca 34 representativas de los acervos andino y mesoamericano, respectivamente, y con hábitos de crecimiento I y III, en su orden fue de 374,34 y de 179,78 $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$; la mayor AFE en la accesión del hábito de crecimiento determinado (I) fue ocasionada por la reducción en el peso de las hojas, como también a la translocación de asimilados hacia las estructuras reproductivas (figura 1 A y C). Caso contrario es el de la accesión Cauca 34 con menor AFE, posiblemente, al incremento del peso de las hojas al continuar la producción de las mismas, por su condición de hábito indeterminado, ocurriendo la fase vegetativa al mismo tiempo que la reproductiva y la translocación de asimilados hacia las vainas y nuevas hojas, ocurre de manera simultánea (Ligarreto, 2005).

Según Joshi (1997), los reportes acerca de la heredabilidad de los factores que determinan la biomasa y la fotosíntesis en fríjol común son escasos, por ser procesos complejos, controlados por un gran número de genes y estar fuertemente afectados por el ambiente; efecto que también se encontró en este estudio, al presentar muchas de estas variables coeficientes de repetibilidad menores a la unidad ($\gamma < 1$).

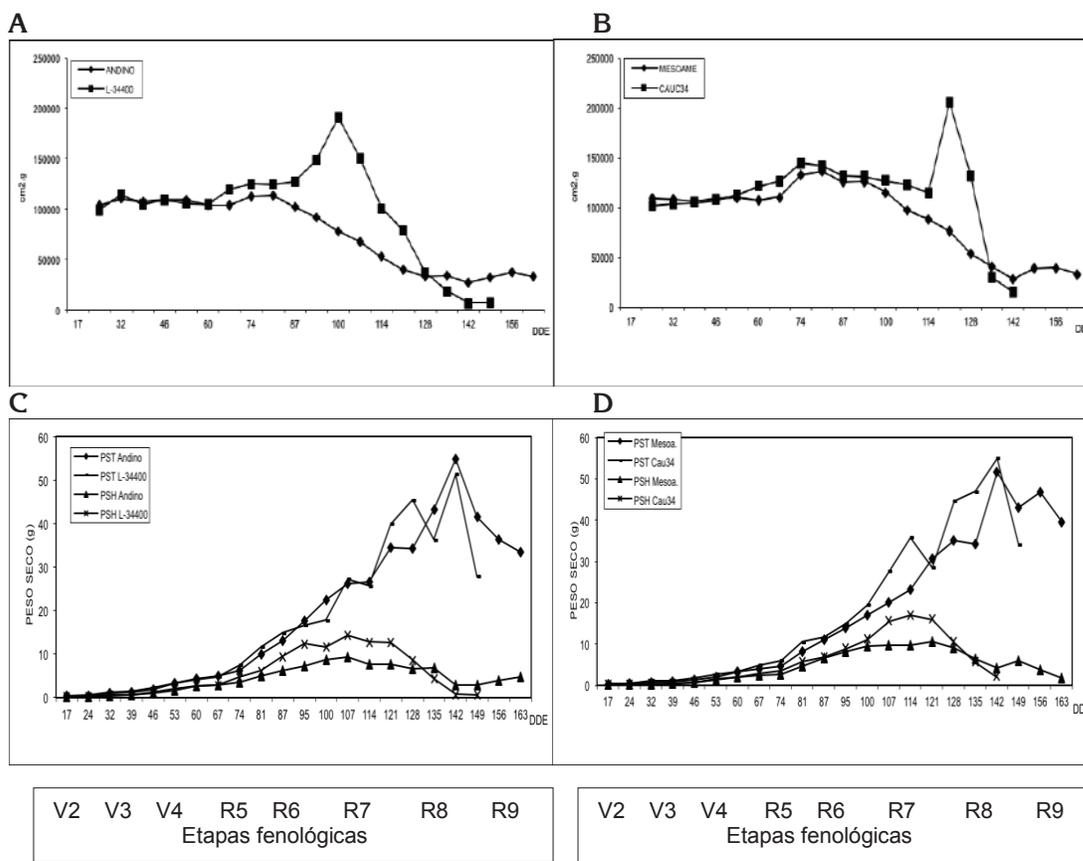


Figura 1. Relación área foliar (RAF), peso seco total (PST) y peso seco de hojas (PSH). A) promedio de la RAF del acervo andino y línea 34400 típica andina, B) promedio de la RAF en el acervo mesoamericano y variedad mesoamericana cultivada cauca 34. C) promedios del PST y PSH del acervo andino y línea 34400 y D) promedios del PST y PSH del acervo mesoamericano y de la variedad Cauca 34. Etapas: V2: vegetativa; V3: primera hoja trifoliada; V4: tercera hoja trifoliada; R5: prefloración; R6: floración; R7: formación de vainas; R8: llenado de vainas; R9: maduración.

Rosales *et al.* (2004), en estudios de cultivares de frijól, detectaron diferencias en la acumulación y en la distribución de biomasa por hábitos de crecimiento. En este mismo sentido, la fotosíntesis, aún cuando tiene baja heredabilidad, por ser el proceso que más contribuye a la formación de biomasa, se ha considerado útil en algunos estudios de variabilidad genética y en la selección de progenitores y líneas de mejoramiento.

A partir del valor agregado de la colección por estos índices de crecimiento, se pueden determinar agrupamientos de accesiones para realizar acciones de enriquecimiento de las bases genéticas del germoplasma y así poder ofertar progenitores con alelos de interés para programas de fitomejoramiento. Cuando se desee trabajar poblaciones de frijól para selección por estas variables, se pueden usar los métodos de mejoramiento masal o selección recurrente, que son adecuados para el manejo de variables cuantitativas al

incrementar, de manera gradual, la frecuencia de los alelos favorables, sin reducir la variabilidad genética de la población inicial (Poehlman & Allen, 2003).

De acuerdo con Bayuelo *et al.* (2002), en frijoles cultivados (*Ph. vulgaris* y *Ph. acutifolius*), factores adversos del cultivo causan estrés en las plantas reduciendo la RAF, por consiguiente, es pertinente realizar selección de progenitores en los bancos de germoplasma, dado su comportamiento por este índice. En el caso de cultivares susceptibles al factor adverso salinidad de los suelos, se puede presentar menor RAF causada por un decrecimiento en la AFE, al haber un incremento de biomasa por unidad de área foliar, como efecto de ajuste osmótico de la hoja, debido a una elevada concentración de sal o un decrecimiento en la proporción de materia seca distribuida en el tejido foliar (RPF).

Según Bayuelo *et al.* (2003), en cultivares de frijól la RPF

mantiene valores relativamente estables, con incrementos de la salinidad entre 0,40 y 80mM de NaCl; mientras la AFE decrece significativamente con el estrés a la salinidad, igual comportamiento presenta la RAF, indicando a su vez, la alta sensibilidad hacia el desarrollo del área foliar en fríjol. El decrecimiento de RAF con la salinidad fue, en primer lugar, debido al decrecimiento en la AFE (incremento en biomasa por unidad de área), antes que al decrecimiento en la proporción de distribución de materia seca en el tejido foliar (RPF).

En fríjol cultivado y silvestre resulta importante considerar el comportamiento de los índices de crecimiento AFE, RPF y AFE y su asociación con el peso seco de las estructuras y el total de la planta y con el área foliar, por ser variables derivadas de estos caracteres. Su valoración aporta al conocimiento de la distribución de recursos desde la zona foliar hacia las otras estructuras reproductivas y de anclaje, como la raíz. Además, permite discriminar a los cultivares por parámetros de índole fisiológico.

La afirmación que las variables fisiológicas son procesos complejos, controlados por muchos genes y con fuerte afectación por el ambiente, fue confirmada para un gran número de variables, como peso seco de estructuras, área foliar y fotosíntesis en fríjol, con excepción en los índices de crecimiento RAF, RPF y AFE, que representaron estabilidad al ambiente y expresaron aporte genético útil para estudios de medición de caracteres en poblaciones, tanto para analizar diversidad genética en programas de recursos fitogenéticos como para procesos de selección de progenitores, en el premejoramiento genético y líneas de mejora genética de la especie.

Puede resultar útil la hibridación de los dos acervos genéticos presentes en la colección colombiana de fríjol para generar incrementos en rendimiento, con el aporte en la eficiencia fisiológica por parte de los cultivares mesoamericanos y la adaptación a las zonas productoras, por el acervo andino. Hay que considerar que se puede tener avance genético al realizar cruces dentro de cada acervo dada la gran variabilidad genética existente en cada pool genético.

Agradecimientos: El autor agradece a la División de Investigación de la Universidad Nacional de Colombia, Bogotá y a Colciencias, por el soporte financiero. Al profesor Stanislav Magnitskiy, de la Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, por la revisión del manuscrito. **Conflicto de intereses:** El manuscrito fue preparado y revisado por el autor, quien declara que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

1. BAYUELO, J.S.; DEBOUCK, D.G.; LYNCH, J.P. 2002. Salinity tolerance of *Phaseolus vulgaris* species during early vegetative growth. *Crop Sci.* 42:2184-2192.
2. BAYUELO, J.S.; DEBOUCK, D.G.; LYNCH, J.P. 2003. Growth, gas exchange, water relations, and ion composition of *Phaseolus* species grown under saline conditions. *Field Crops Res.* 80:207-222.
3. BRESSAN, R.; PEREIRA M.G. 2003. Inheritance analysis of photosynthetic characteristics in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Physiol. Mol. Biol. Plants.* 9(2):249-253.
4. BORÉM, A. 1998. Melhoramento de plantas. 2ª ed. Viosa, Editora UFV. 453p.
5. BROUGHTON, W.J.; HERNANDEZ, G.; BLAIR, M. 2003. Beans (*Phaseolus* spp.) – model food legumes. *Plant and Soil.* 252:55-128.
6. CHÁVEZ, J.L. 2003. Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica. p.72-76. En: Franco, T.; Hidalgo, R. (eds). Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos filogenéticos. *Bol. Técn. IPGRI* n. 8. Roma, Italia, v. 8, 89p.
7. FAO. 2011. FAOSTAT. Disponible desde Internet en: <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx?anchor> (con acceso 05/12/2011).
8. FERNÁNDEZ, F.; GEPTS, P.; LÓPEZ, M. 1985. Etapas de desarrollo en la planta de fríjol. p.61-78. En: López, M., Fernández, F.; Van Schoonhoven, A. (eds.). Fríjol investigación y producción. CIAT, Cali, Colombia. 417p.
9. FLOR, C. 1985. Revisión de algunos criterios sobre la recomendación de fertilizantes en frijol. En: López, M., Fernández, F.; Van Schoonhoven, A. (eds). Fríjol investigación y producción. CIAT, Cali, Colombia. p.287-312.
10. FOYER, C.; CHAUMEONT, M.; MURCHIE, E.; GALTIER, N.; FERRARIO, S. 1995. End-product modulation of carbon partitioning with a view to improved biomass production. In: Madore, M.A.; Lucas, W.J. (eds). Carbon partitioning and source-sink interactions in plants. *Am. Soc. Plants Physiol.* p.45-55.

11. GEPTS, P.; BLISS, F.A. 1986. Phaseolin variability among wild and cultivated common beans (*Phaseolus vulgaris*) from Colombia. *Econ. Bot.* 40(4):469-478.
12. GEPTS, P. 1988. Genetic resources of *Phaseolus* beans. Kluwer Acad. Publish. p.215-241.
13. GONZÁLEZ, A.; LYNCH, J.; TOHME, J.M.; BEEBE, S.E.; MACCHIAVELLI, R.E. 1995. Characters related to leaf photosynthesis in wild populations and landraces of common bean. *Crop Science* 35:1468-1476.
14. GOODMAN, M.M.; PATERNIANI, E. 1969. The races of maize III choices appropriate characters for racial classification. *Econ. Bot.* 23:265-273.
15. JARVIS, A.; RAMIREZ, J.; BONILLA-FINDJI, O.; ZAPATA, A. 2011. Impacts of climate change on crop production in Latin America p. 44-56. In: YADAV, S.S.; REDDEN, R.; HATFIELD, J.L.; LOTZE-CAMPEN, H.; HALL, A. (eds.) *Crop Adaptation to Climate Change*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK. 596p.
16. JOSHI, A.K. 1997. Genetic factors affecting photosynthesis. In: *Handbook of photosynthesis*, Ed. Pessaraki, M.; Dekker, M. (eds). *Handbook of Photosynthesis*. p.751-767.
17. KWAK, M.; GEPTS, P. 2009. Structure of genetic diversity in the two major gene pools of common bean *Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae). *Theor. Appl. Genet.* 118:979-992.
18. LAMBERS, H.; POORTER, H. 1992. Inherent variation in growth rate between higher plants: a search for physiological causes and ecological consequences. *Adv. Ecol. Res.* 23:187-261.
19. LIGARRETO, G.A. 2003. Conceptos y mediciones útiles para la caracterización de germoplasma. p.77-79. En: Franco, T.; Hidalgo, R. (eds). *Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos filogenéticos*. Bol. Técn. IPGRI no.8. Roma, Italia, v. 8, 89 p.
20. LIGARRETO, G.A. 2005. Uso de índices de crecimiento y caracteres relacionados con la fotosíntesis para el análisis de la variabilidad genética de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). *Fitotec. Col.* 5(1):23-35.
21. LIGARRETO, G.A.; MARTÍNEZ, O. 2002. Variabilidad genética en frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), análisis de variables morfológicas y agronómicas cuantitativas. *Agr. Col.* 19(1-2):69-80.
22. LYNCH, J.; GONZÁLEZ, A.; TOHME, J.M.; GARCIA, J.A. 1992. Variation in characters related to leaf photosynthesis in wild bean populations. *Crop Sci.* 32:633-640.
23. MALDONADO, G.; CORCHUELO, G. 1993. Dinámica del crecimiento de dos variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agr. Col.* 10(2):114-121.
24. MOHR, H.; SCHOPFER, P. 1995. *Plant Physiology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York. 629p.
25. POEHLMAN, J.M.; ALLEN, D. 2003. Mejoramiento genético de las cosechas. Ed. Limusa, 2ª ed. México, D.F. 511p.
26. RADFORD, P.J. 1967. Growth analysis formulae-their use and abuse. *Crop Sci.* 7(3):171-174.
27. ROJAS, W. 2003. Caracterización morfológica de germoplasma. Estudio de caso 1. Análisis de la variabilidad genética en quinua, p 27-39. En: Franco, T.; Hidalgo, R. (eds). *Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos filogenéticos*. Bol. Técn. IPGRI n°8. Roma, Italia, 89 p.
28. ROSALES, R.; KOHASHI, J.; ACOSTA, J.A.; TREJO, C.; ORTIZ, J.; KELLY, J.D. 2004. Biomass distribution, maturity acceleration and yield in drought-stressed common bean cultivars. *Field Crops Res.* 85:2003-2011.
29. SEXTON, P.J.; WHITE, J. W.; BOOTE, K.J. 1994. Yield-determining processes in relation to cultivar seed size of common bean. *Crop Sci.* 34:84-91.
30. SHAPIRO, S.S.; WILK, M.B. 1965. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika.* 52:591-611.
31. WHITE, J.W.; MONTES, C. 2005. Variación in parameters related to leaf thickness in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Field Crops Res.* 91:7-21.

Recibido: Julio 30 de 2012

Aceptado: Febrero 28 de 2013

***IN VITRO* MULTIPLICATION OF *Gmelina arborea* Roxb. ADULT TREES**

MULTIPLICACIÓN *IN VITRO* DE ÁRBOLES ADULTOS DE *Gmelina arborea* Roxb.

Isidro E. Suárez¹, Claudia C. Acosta², Kellen C. Gatti³

¹Ingeniero Agrónomo Ph.D., Profesor Departamento de Ingeniería Agronómica y Desarrollo Rural, Universidad de Córdoba, Carrera 6 No. 76-103, Montería – Colombia. Email: iesuarez@correo.unicordoba.edu.co; ²Ingeniera Biotecnóloga M.Sc. Biotecnología Vegetal, Departamento de Ingeniería Agronómica y Desarrollo Rural, Universidad de Córdoba, Carrera 6 No. 76-103, Montería – Colombia. ³Ing. Forestal, M.Sc. Departamento de Ingeniería Agronómica y Desarrollo Rural, Universidad de Córdoba, Carrera 6 No. 76-103, Montería – Colombia.

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 97 - 102, 2013

SUMMARY

Melina (*Gmelina arborea* Roxb.) is a forest species with fast growing, tall trees. Melina propagation is based on cuttings isolated from juvenile seedlings. The present research focused on micropropagation of melina plants, grown from cuttings isolated from mature trees. Explants were surface disinfected with NaOCl (0.5%) and established on semisolid MS with (in mg L⁻¹) myo-inositol (100), sucrose (30.000) and TC-agar (7.000). The effect of BAP (0; 0.44; 1.33 and 2.22 μM) on shoot proliferation, AIB (0, 0.49, 1.48 and 2.46 μM) on *in vitro* rooting and substrate (sand and peat) on ex vitro survival were evaluated. Treatments were distributed with a complete randomized design, 20 replicates per treatment and 80 total experimental units were evaluated. Collected data showed that compared to control BAP increased shoot proliferation, shoot length and leaf number, while IBA induced higher root number, root length and rooting percentages. Higher survival rates were observed when plants were transferred to peat.

Key word: BAP, forest tree, *in vitro* rooting, micropropagation.

RESUMEN

Melina (*Gmelina arborea* Roxb.) es una especie forestal de gran potencial por la rapidez de crecimiento y altura de sus árboles; sin embargo, la propagación clonal para siembra de huertos forestales se basa preferencialmente en el enraizamiento de estacas provenientes de plantas jóvenes obtenidas a partir de semillas. En el presente estudio se evaluó la micropropagación de plantas de melina obtenidas de miniestacas enraizadas aisladas de árboles adultos. Los explantes fueron desinfectados con 0,5% NaOCl y establecidos en medio MS semisólido con (en mg L⁻¹)

mio-inositol (100), sacarosa (30.000) y agar (7.000). Se evaluó el efecto de BAP (0; 0,44; 1,33 y 2,22 μM) sobre la multiplicación de brotes, el efecto de AIB (0; 0,49; 1,48 y 2,46 μM) sobre el enraizamiento de tallos micropropagados y el del tipo de sustrato (arena y turba) sobre la adaptación ex vitro de las plantas micropropagadas. Todos los tratamientos se distribuyeron con un DCA y cada tratamiento se repitió 20 veces para un total de 80 unidades experimentales. Los resultados mostraron que el suministro de BAP en el medio incrementa significativamente la tasa de multiplicación, la longitud de brotes y el número de hojas producidas, mientras que la adición de AIB aumenta el porcentaje de enraizamiento e influye significativamente en las variables número de raíces por tallo y longitud promedio de raíz. La mayor supervivencia se observó en el sustrato turba.

Palabras clave: BAP, enraizamiento *in vitro*, forestal, micropropagación.

INTRODUCTION

Melina (*Gmelina arborea* Roxb.) is a Lamiaceae species native to Southeast Asia and distributed through Pakistan, Cambodia, India, Sri Lanka and South China. In South America, melina was introduced into Costa Rica, Brasil, Venezuela, Trinidad, Cuba Belice and Colombia where is well adapted and commercially cultivated mostly in the Northern Coast. The rapid tree growth (up to 30m in 8-10 years) and trunk diameter makes this plant species suitable for forestry, wood production, energy and CO₂ capture (Onyekwelu, 2004; Dvorak, 2004; Wang, 2004; Roshetko *et al.* 2004; Morales, 2004; USDA, 2013). Additionally, the plant tolerance to adverse soil conditions such as low pH, low nutrient and tropical rainforest climate has contributed

to position melina as the fourth largest forest tree crop in the Colombian Caribbean Coastal area (Murillo *et al.* 2011).

Melina can be propagated by seeds and cuttings, usually from juvenile seedlings. However, both sources result in high plant variability which affects crop management and productivity (Lauridsen & Kjaer, 2002; Gatti *et al.* 2011). Commonly, industrial management of forest plantations depends on large quantities of high quality uniform plant material for planting and crop rotation; in Cordoba, melina crops area is expected to increase at least three folds in the next few years (FORCARIBE, 2010). Therefore, micropropagation based on explants isolated from adult trees is an alternative for genetic stability, size uniformity, plant quality and a continuous source of plants for new crops (Nguyen & Kozai, 2001).

Melina micropropagation has been previously reported (Kannan & Jasrai, 1996; Gamboa & Abdelnour, 1999). However, results are based on the use of juvenile explants from *in vitro* and *ex vitro* germinated seedlings. In the present research, clonal propagation of *G. arborea* was achieved by inducing *in vitro* proliferation of explants with axillary meristems isolated from selected adult trees.

MATERIALS Y METHODS

Mother plants were grown from cuttings isolated from eight-year old plants (Clones 12010 y 12019) planted at the Forest For Future (3F) field (Tierralta-Córdoba, Colombia 8°47'11" LN / 75°51'26" LO) by January 2010. The cuttings were rooted and maintained in a shade house with 60% light penetration, 30°C, foggy mist and weekly sprays with benzoimidazole (2g L⁻¹), copper oxychloride (2g L⁻¹) and Nutrifoliar® (3mL L⁻¹), on the leaves. Explants consisted of 2-3cm-stem sections with axillary shoots, rinsed with distilled water added with Extran®(0.1%), benzoimidazole (0.15%) during 5min., followed by an instant methanol (70%) immersion and thereafter surface-disinfected with a NaOCl (0.5%) solution for 15 min, followed by three rinses with sterile distilled water. Surface-disinfected explants were established in semisolid establishment medium (EM) consisting of MS (Murashige & Skoog, 1962) with (in mg L⁻¹) myo-inositol (100), sucrose (30.000) and TC-agar (7.000), with four-week transfers to fresh medium with the same formulation.

In vitro established explants were cultured in EM independently supplied with different (0.0, 0.44, 1.33 and 2.22μM) benzilaminopurine (BAP) levels to evaluate explant proliferation. A single 2-3cm shoot was transferred into a 250cc glass flask containing 30mL of EM. Flasks were covered with heavy duty aluminum foil, sealed with Parafilm® and stored at 20°C with 12 hour photoperiod using cool-white fluorescent lamps (40μmol m⁻² s⁻¹). Treatments were repeated 20 times for a total of 80 experimental units distributed using

a complete randomized design. After four weeks of culture, data for number of new shoots per explant, leaf number per explant and shoot length were registered.

In vitro proliferated shoots were individually transferred onto EM independently supplied with different (0.0, 0.49, 1.48 and 2.46μM) indole-3-butyric acid (IBA) concentrations to evaluate the effect on *in vitro* shoot rooting. Cultures were stored as indicated for the shoot proliferation stage. After four weeks of culture, the number of rooted shoots, roots per shoot and root length were registered. *In vitro* rooted shoots and *in vitro* proliferated, non-rooted, shoots were transferred to either sand or peat substrate, placed inside a shade house with 50% light penetrations and foggy mist for 2 min every hour. Shoots were planted in 48 cell plastic trays filled with the respective substrate. A single shoot was placed per cell and a 144 total number of shoots were evaluated for each treatment. After six weeks, the number of *ex vitro*-adapted plants was registered.

All media pH was adjusted to 5.7–5.8 previous to agar addition. Media were sterilized in autoclave at 121°C and 1.1kgcm⁻². Data were analyzed with an ANOVA and means separated with a Tukey test ($\alpha = 0.05$) based on the statistical model $Y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + ab_{ij} + \epsilon_{ijk}$; where μ was the mean, i the clones, j the PGR levels and ϵ the experimental error.

RESULTS AND DISCUSSION

New shoots emerged from axillary meristems present in the original explants, although a callus growth at the basal end of the explants was observed; no shoots grew from the callus tissue (Figure 1). The analysis of variance showed significant differences ($Pr < 0,005$) among treatments with respect to the number of new shoots per explant, leaf number and shoot length. The general data indicated that shoots cultured in medium supplemented with BAP at 2.22μM produced the highest multiplication rate, more leaves per shoot and longer shoots for both clones. In contrast explants cultured without BAP showed the lowest values for the same variables (Table 1). Additionally, clone 12019 showed a better performance in terms of number of shoots per explant and shoot length than clone 12010 at the highest BAP level, indicating a possible genotype-associated effect.

Micropropagation based on repeated axillary meristem elongation is possible by culturing explants with pre-existing meristems on high levels of cytokinin supplied media (Kane, 1996). Based on biological efficiency and costs, BAP is probably the most used cytokinin for micropropagation of forest species, a group of plants with recalcitrance for tissue culture purposes. Several studies have shown the effects of cytokinin-supplied media on *in vitro* melina shoot multiplication: Gamboa & Abdelnour (1999) reported a

Table 1. Effect of different BAP level on *Gmelina arborea* Robx. shoot multiplication

CLONES						
BAP (μM)	12010			12019		
	Shoots per explant	Shoot length (cm)	Leaf number	Shoots per explant	Shoot length (cm)	Leaf number
0.00	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a
0.44	0.41 b	2.11 b	6.13 b	1.54 b	2.48 b	8.77 b
1.33	0.57 c	2.12 b	6.62 b	1.63 b	2.82 c	10.19 c
2.22	1.10 d	2.36 c	10.59 d	2.37 c	3.71 d	11.30 d

Numbers with the same letter are not different according to Tukey ($\alpha = 0.05$).



Figure 1. Shoot multiplication, *in vitro* rooting and ex vitro adaptation of *Gmelina arborea* Robx. micropropagated plants.

2.41 new shoot formation from explants with pre-existing meristems, isolated from *in vitro* germinated plants, cultured in $2.46\mu\text{M}$ BAP supplied MS semisolid medium. Kannan & Jasrai (1996), using plant material from similar origin and similar BAP supply, reported a four shoot per explant multiplication rate. In the present research, explants consisted of rejuvenated shoots originally isolated from adult plants, which allows to knowing the phenotypic characteristics of the tree in contrast to randomly using juvenile plants as explant source.

Studies conducted on tropical forest species, others than melina, show micropropagation responses similar to the results observed in the present study. Castro *et al.* (2002) reported a 2.1 new shoots per explant of teak (*Tectona grandis*) cultured on semisolid MS with $2.22\mu\text{M}$ BAP. Daquinta *et al.* (2001) observed a maximum of 2.6 new shoots from teak explants isolated from adult trees cultured on semisolid MS simultaneously supplied with $4.44\mu\text{M}$ BAP and $1.83\mu\text{M}$ kinetin, while Suárez *et al.* (2006) reported 2.5 new shoots from explants isolated from four-year old *Tabebuia rosea*

plants cultured on semisolid MS supplied with $17.76\mu\text{M}$ BAP. Although, the present study elucidate the way to *in vitro* propagate melina plants from explants isolated from mature trees, multiplication rates are still low therefore research to improve the protocol efficiency should be continued.

The data presented in this results showed that in addition to the significant increase on the shoot multiplication rate, the BAP medium supply significantly ($\text{Pr} < 0.005$) increases shoot length and number of leaves per explant compared to the control treatment as well (Table 1). This performance is particularly important, based on the fact that *in vitro* cultured plants are photosynthetically inactive (Kane, 1996); therefore, an increase in the number and size of organs (leaves and shoots) are important to accumulate energetic reserves. Since photosynthetic competence is low during transfer to *ex vitro* conditions, reserves accumulated on organs are used to fulfill plant functioning needs until new photosynthetically active leaves are formed and roots are capable of nutrient adsorption.

Adventitious roots from micropropagated shoots of all rooting treatments emerged from the basal end of the shoots (Figure 1). Rooting percentage increased accordingly with AIB supply in the medium. Shoots cultured in absence of IBA had the lowest rooting percentage (22%) while those cultured with $\geq 1.48\mu\text{M}$ IBA showed 80-100% root formation (Table 1).

The ANOVA results indicated that IBA addition to the medium significantly ($P < 0.05$) increases the root number per shoot and root length per shoot in both, 12010 and 12019, clones (Table 2). Roots per shoot increased $> 10\text{x}$ in shoots

cultured with $2.46\mu\text{M}$ IBA compared to those without IBA while root length was three times longer in IBA treated shoots compared to control cultured shoots. Rooting performance was statistically similar for both clones (Table 2).

In vitro rooting is promoted by exogenous auxin supply on the culture medium. Root development is intended to provide a water and nutrient uptake mechanism when *in vitro* cultured plants are transferred to *ex vitro* conditions (Kane, 1996). Previous melina rooting studies show close-related data with the present study. Sen *et al.* (1992) and Kannan & Jasrai

Table 2. Effect of different IBA levels on *in vitro* *Gmelina arborea* Robx. shoot rooting.

CLONES						
AIB (μM)	12010			12019		
	Rooting (%)	Root number per shoot	Root length (cm)	Rooting (%)	Root number per shoot	Root length (cm)
0.00	22	0.33 a	0.22 ac	30	0.50a	0.72 a
0.49	60	2.40 b	1.34 b	40	2.00a	0.75 a
1.48	100	12.71 c	2.48 c	80	11.20b	2.05 b
2.46	100	13.10 c	3.30 d	100	14.00b	3.74 c

Numbers with the same letter are not different according to Tukey ($\alpha = 0.05$).

(1996) reported 80% shoot rooting with a $4,9\mu\text{M}$ IBA supply on semisolid $\frac{1}{2}\text{MS}$. Gamboa & Abdelnour (1999) reported $< 50\%$ rooting percentage in melina micropropagated shoots cultured on different semisolid MS salt concentrations media with no auxin supply.

Micropropagated shoots from both clones showed a higher survival rate when transferred onto peat (c12010=90%; c12019=80%) rather than those transferred onto sand (c12010=35%; c12019=25%). The propagation substrate provides anchorage, and supply water and nutrients to the growing plant. Water retention is probably the most important factor during *ex vitro* plant adaptation since permanent water is necessary for cell multiplication and differentiation during rhizogenesis (Marks *et al.* 2002). As a result of particle size, sand does not have water retention but provides drainage; in contrast, peat has > 80 water retention and additionally provides air exchange (Walczak *et al.* 2002). Water supply is critical for callus formation (cell division) and root emission, while oxygen is required for root respiration and growth of the rooting structure; peat guarantee both elements in a more consistently way than sand does (Sturion, 1981; Paiva, 2000).

The low functionality of *in vitro* grown roots and auxin

supply costs are concerns that makes necessary to look for alternatives to avoid *in vitro* rooting. The collected data showed that melina is probably an easy rooting species with more than 20% rooting percentage, even in explants cultured without IBA supply, due to probably high levels of endogen auxin synthesis (Hartmann *et al.* 2000). Despite the efficient response of micropropagated melina shoots to IBA for *in vitro* root development, both *in vitro* rooted and non-rooted shoots showed similar survival rates after six weeks of culture on *ex vitro* conditions ($> 70\%$ on peat and $< 40\%$ on sand). These results may indicate that *in vitro* rooting may not be necessary to obtain high survival rates on *ex vitro* transferred micropropagated melina shoots; this possibility can additionally help to reduce costs and time for plant production.

A protocol for *G. arborea* plant micropropagation has been developed using rejuvenated explants from adult trees which increases uniformity of plant material for establishing new crops allowing technical management of crop activities, reduces loses from seed-borne diseases and facilitates handling a deliveries of large amounts of plant material. Significant increases in shoot multiplication rates due to BAP supplied media were observed letting to

potentially produce miles of plants from a single explant in a year-round multiplication cycle using a 2.22 μ M in the multiplication medium and *ex vitro* adaptation using peat as substrate; however, studies to improve multiplication rates are necessary. Although rooting was positively increased by culturing micropropagated shoots on IBA supplied media, *ex vitro* adaptation of micropropagated non-rooted *in vitro* shoots is possible.

Acknowledgements: The authors would like to express their gratitude to the following for their support: Universidad de Córdoba, Cadena Forestal de Córdoba (FORCARIBE), 3F-Kanguroid and Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia - Project No. 021-2007k7104-352-07. **Conflict of interest:** The manuscript was prepared and reviewed with the participation of all the authors, who declare that no conflict of interest exists, that jeopardizes the validity of the results presented.

BIBLIOGRAPHY

- CASTRO, D.; DÍAZ, J.; LINERO, J. 2002. Propagación *in vitro* de árboles élite de teca (*Tectona grandis* L.). Rev. Col. Biotecn. 1:49-53.
- DAQUINTA, M.; RAMOS, L.; RODRÍGUEZ, R.; ESCALONA, M. 2001. Algunos elementos en la micropropagación de la teca. Biotecn. Vegetal (Cuba) 1:39-44.
- DVORAK, W. 2004. World view of *Gmelina arborea*: opportunities and challenges. New Forests (The Netherlands). 28(2-3):111-126.
- GAMBOA, J.P.; ABDELNOUR, A. 1999. Micropropagación de melina (*Gmelina arborea* ROXB). Agr. Costarricense 23(1):69-76.
- FORCARIBE (CADENA FORESTAL DE CÓRDOBA). Acuerdo Regional de Competitividad para la Cadena Forestal en el departamento de Córdoba, Colombia. CONIF (Colombia), 14p.
- GATTI, K.; SUÁREZ, I.; ESPITIA, M.; TOBAR, D. 2011. Producción de Plántulas Forestales de *Tectona grandis* Linn F., *Acacia mangium* Willd y *Gmelina arborea* Roxb. Universidad de Córdoba, Colombia, 77p.
- USDA. 2013. ARS National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network - (GRIN) [Online Database]. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland(USA). URL: available through Internet in: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?17827> (accessed 14/02/2013)
- HARTMANN, H.; KESTER, D.; DAVIES, J.; GENEVE, R. 1997. Plant Propagation, Principles and Practices. Prentice Hall Inc., Upper Saddle River (USA), 770p.
- KANE, M. 1996. Micropropagation from Pre-existing Meristemos, En: Gray, D.; Trigiano, R, (Eds.) Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises. CRC Press (USA), p.75-86.
- KANNAN, V.; JASRAI, Y. 1996. Micropropagation of *Gmelina arborea*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (The Netherlands). 46:269-271.
- LAURIDSEN, E.; KJAER, E. 2002. Provenance research in *Gmelina arborea* Roxb. A summary of results from three decades of research and discussion of how to use them. Int. Forestry Rev. (UK) 4(1):1-15.
- MARKS, T.; FORD, Y.; CAMERON, R.; GOODWIN, C.; MYERS, P.; JUDD, H. 2002. A role for polar auxin transport in rhizogenesis. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 70(2):189-198.
- MORALES, A. 2004. Potential of *Gmelina arborea* for solid wood products. New Forests. 28(2-3):293-297.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. (Finland) 15:473-497.
- MURILLO, O.; ESPITIA, M.; CASTILLO, C. 2011. Fuentes Semilleras para la Producción Forestal. Universidad de Córdoba, (Colombia) Montería, 77p.
- NGUYEN, Q.; KOZAI, T. 2001. Photoatrophic micropropagation of tropical and subtropical woody plants. Progress Biotechn. (USA) 18:335-344.
- ONYEKWELU, C. 2004. Obove-ground biomass production and biomass equations for even-aged *Gmelina arborea* (ROXB) plantations en south-western Nigeria. Biomass and Bioenergy (USA). 26(1):39-46.
- PAIVA, H. 2000. Aspectos gerais da propagacao de plantas. UFV, Viçosa (Brasil). 632p.
- ROSHETKO, J.M.; MCLAWARMAN; PURNOMOSIDHI, P. 2004. *Gmelina arborea* – a viable species for smallholder tree farming in Indonesia? New Forests. 28(2-3):207-215.

-
-
20. SEN, J.; ISLAM, M.; ROY, S.; HADIQZMAN, S. 1992. Micropropagation of juvenile and adult *Gmelina arborea*. Bangladesh Assoc. Plant Tissue Culture & Biotechn. 2(2):89-95.
21. STURION, J. 1981. Métodos de producao y técnicas de manejo que influenciam o padrao de qualidade de mudas de essencias florestais. EMBRAPA (Brasil) p.1-8.
22. SUÁREZ, I.; AVILA, M.; JARMA, A. 2006. Desarrollo de un protocolo para propagación *in vitro* de roble (*Tabebuia rosea* Bertol DC). Rev. Temas Agrarios (Colombia) 11(2):52-62.
23. WALCZAK, R.; ROVDAN, E.; WITKOWSKA-WALCZAK, B. 2002. Water retention characteristics of peat and sand mixtures. Int. Agrophys. (Poland). 16:161-165.

Received: 7 May 2012

Accepted: 27 February 2013

FACTORES NUTRICIONALES Y ALTERACIÓN EN EL CONTENIDO DE ANTOCIANINAS RELACIONADOS CON EL ENNEGRECIMIENTO DE LOS PÉTALOS EN ROSA (*Rosa* sp.)

NUTRITIONAL FACTORS AND MODIFICATION IN THE CONTENT OF ANTHOCYANINS ASSOCIATED WITH THE BLACKENING OF ROSE PETALS (*Rosa* sp.)

Wilson Bohórquez¹, John Gómez², Víctor Flórez³

¹ Microbiólogo Agrícola, Especialista en Horticultura, Magíster en Ciencias Agrarias, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. wbohorquez@gmail.com; ² Ingeniero Agrónomo, Esp. Estadística Aplicada, profesor Facultad Ciencia y Tecnología U.D.C.A. johngomez@udca.edu.co; ³ Doctor en Ciencias, profesor Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. Cra. 30 No. 45-03, Ciudad Universitaria, Bogotá, D.C., Colombia. Autor de Correspondencia: vjflorez@unal.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 103 - 112, 2013

RESUMEN

Uno de los desórdenes fisiológicos más importantes en los cultivares de rosa roja corresponde al ennegrecimiento de los pétalos, lo que afecta pétalos externos e internos y resulta en flores de baja calidad. Esta revisión de literatura tiene por objetivo abordar la fisiopatía del ennegrecimiento de los pétalos, desde sus causas más posibles, con la finalidad de poner a disposición de productores, de académicos y de científicos, así como de los interesados en general, insumos que permitan desvendar su origen y optimizar su manejo. Los síntomas del ennegrecimiento de los pétalos se manifiestan, especialmente, cuando las flores son cosechadas y almacenadas en condiciones de cuarto frío, debido a la acumulación de pigmentos del tipo de las antocianinas, posiblemente, a causa de condiciones de estrés, como alta o baja radiación UV, bajas temperaturas o a un desbalance de nutrientes en los tejidos afectados. Se profundizará sobre: i) los nutrientes calcio y boro y su interacción, ii) el calcio y los desórdenes fisiológicos, iii) los pigmentos involucrados en el color rojo de los pétalos y iv) el papel de los compuestos fenólicos, en particular de las antocianinas, las cuales, son las responsables de la mayoría de los colores rojo, rosado, púrpura y azul observados en las partes de la planta; así como, sobre factores ambientales que, en su conjunto, pudieran influir en la fisiopatía del ennegrecimiento de los pétalos de la rosa roja.

Palabras clave: Fenoles, antocianinas, interacción calcio - boro.

SUMMARY

One of the most important physiological disorders of red rose cultivars is blackening of petals, it affects outer and inner ones and results in flowers of poor quality. The goal of this review is to make an approach to the blackening disorder, determining the main possible causes in order to make available to growers, academics, scientifics as well as stakeholders, the inputs that allows to unveil its origin and to optimize its handling. Symptoms of blackening are showed especially when the flowers have been harvested and stored under cold room conditions; due to high accumulation of pigments, such as anthocyanins, also could be due to stress conditions, such as high or low UV radiation, low temperatures or a nutrient imbalance in the affected tissues. The following subjects will be treated: i) calcium and boron and their interaction, ii) calcium and physiological disorders, iii) pigments involved in the petals red color, iv) role of the phenolic compounds, particularly the anthocyanins, which are responsible for most of the red, pink, purple and blue colors observed in plant parts; as well as the environmental factors that can influence the blackening on red rose.

Key words: Phenolics, anthocyanins, calcium and boron interaction.

INTRODUCCIÓN

El manejo agronómico y los factores ambientales imperan-

tes en la precosecha inciden, directamente, sobre diferentes procesos bioquímicos y fisiológicos y pueden afectar parámetros de calidad en las flores de corte.

Uno de los problemas en poscosecha que disminuye el valor de ornato en rosas rojas es el ennegrecimiento de los pétalos, que consiste en una necrosis de los ápices de los pétalos, que puede extenderse a la totalidad de la flor. A pesar que se han realizado diferentes investigaciones con el propósito de dilucidar sus causas, aún no existen aspectos concluyentes sobre el tema. Entre las causas sugeridas, se encuentran condiciones ambientales, como bajas temperaturas, alta radiación lumínica y bajos niveles de calcio y de boro (Cabrera *et al.* 2007); sin embargo, los resultados obtenidos en diferentes investigaciones con respecto al papel de elementos nutritivos en el fenómeno del ennegrecimiento son contradictorios. Para Franck *et al.* (2007) es ocasionado por una acumulación de compuestos fenólicos, en particular pigmentos del tipo antocianinas, debido a diferentes causas aún no determinadas. En la mayoría de las ocasiones los síntomas aparecen después que la flor es cortada.

Con el propósito de indagar sobre la participación de factores nutricionales y la alteración en la concentración de pigmentos del tipo de antocianinas en el fenómeno del ennegrecimiento de los pétalos de rosa, se hizo la presente revisión de literatura. Este estudio permitirá a productores, académicos y científicos, así como a los interesados en general, abordar dicha fisiopatía, desde sus causas más posibles y, de esta forma, optimizar su manejo.

Factores nutricionales en el ennegrecimiento de los pétalos:

El calcio: El calcio (Ca^{++}) es relativamente inmóvil en el floema de la planta, lo cual, significa que una vez ubicado en un tejido en particular, su movimiento es lento o casi nulo (Epstein, 1973). Esto sugiere que los órganos vegetales con crecimiento activo, tales como los frutos carnosos, los bulbos y las flores necesitan un suministro constante del elemento. Según Reuter & Robinson (1986), el requerimiento de calcio para *Rosa* spp. está entre 1 a 1,5%. Su transporte a larga distancia, generalmente, es por el xilema (espacios intercelulares: apoplasto) o por medio de los plasmodesmos (simplasto). En el apoplasto, parte del Ca^{++} está firmemente ligado a las estructuras, otra parte es intercambiable en las paredes celulares y en la superficie exterior de la membrana plasmática. Una elevada cantidad de Ca^{++} forma complejos con aniones orgánicos, como el malato e inorgánicos, como el nitrato y el cloruro y se almacenan en las vacuolas, cloroplasto y retículo endoplásmico rugoso, mientras que su concentración en el citoplasma es extremadamente baja (10^{-7} M). Una concentración baja de Ca^{++} en el citoplasma es esencial para prevenir la precipitación del Pi, competencia con el magnesio por los sitios de unión y, posiblemente,

como prerequisite para que funcione como mensajero secundario (Marschner, 1995).

Respecto a su función como mensajero secundario, al percibir la planta un estímulo externo, se presenta una entrada de Ca^{++} al citoplasma desde los sitios de almacenamiento. Esto puede activar varias enzimas, a través de la fosforilación dependiente de proteínas quinasas, que están involucradas en diferentes reacciones metabólicas, que conducen a respuestas en los procesos de crecimiento y desarrollo vegetal (Poovaiah, 1988).

La mayoría de las funciones del Ca^{++} como componente estructural de las membranas y paredes celulares, se debe, principalmente, a la capacidad que tiene el elemento para formar complejos estables, pero reversibles con los pectatos de la lamela media, que están conformadas de cadenas de residuos de ácido poligalacturónico con inserciones de ramnosa, de grupos fosfatos y de carboxilatos de las proteínas, manteniendo, de esta manera, la permeabilidad selectiva, la integridad y la compartimentalización celular (Blowers & Trewavas, 1988; Roux & Slocum, 1982; Rahman & Punja, 2007).

Debido a que su transporte se realiza, preferiblemente, por las células muertas del xilema, los síntomas visuales de deficiencia, por lo general, son observados en los tejidos jóvenes. Las zonas meristemáticas de las raíces, los tallos y las hojas, donde existen divisiones celulares permanentes, son las más susceptibles, quizás porque es fundamental para que se forme una nueva lamela media (Taiz & Zeiger, 2006).

Frecuentemente, es observado que los órganos de las plantas que presentan baja transpiración manifiestan desórdenes, debido a deficiencia de Ca^{++} . Las rosas de corte, así como los frutos y los tubérculos, se encuentran dentro de esta categoría. El Ca^{++} , en dichos órganos, es conducido dentro de la planta, generalmente, por el xilema (Marschner, 1995) y, por lo tanto, la baja transpiración podría resultar en menor cantidad del elemento transportado hacia esos órganos. Este fenómeno ha sido propuesto para explicar por qué las rosas crecidas en alta humedad relativa presentan menores concentraciones del elemento y menor vida en florero (Torre *et al.* 1999).

Una baja concentración de Ca^{++} en los tejidos que muestra baja tasa de transpiración es necesaria para permitir rápida expansión celular y elevada permeabilidad en sus membranas celulares; sin embargo, se incrementa el riesgo que su contenido en los tejidos caiga por debajo del nivel crítico requerido, para la estabilización de la pared celular y la integridad de la membrana y, quizá también, para que funcione como mensajero secundario (Taiz & Zeiger, 2006).

Aunque los cambios fisiológicos y bioquímicos de la senes-

cencia están controlados genéticamente, existe evidencia que supone la participación del Ca^{++} en este proceso. Su función estaría ligada al mantenimiento estructural de algunas moléculas de la membrana celular, a través de uniones con moléculas cargadas negativamente, como los fosfolípidos y las proteínas, que mantienen funcionando a la célula (Blowers & Trewavas, 1988; Roux & Slocum, 1982). Itzhaki *et al.* (1998) y Torre *et al.* (1999) reportaron que el Ca^{++} retrasa la descomposición de tales moléculas en el proceso senescente. De igual manera, Borochoy *et al.* (1982) mencionan que en la senescencia de pétalos de rosa se disminuye la fluidez de las membranas celulares, debido a una pérdida de los fosfolípidos y a la disminución en su síntesis.

La deficiencia de Ca^{++} , especialmente en el tejido meristemático, puede reducir la estabilidad de la pared y la membrana celular, conduciendo a la muerte del tejido. Su deficiencia puede ser debida más a un transporte inadecuado por los conductos vasculares de la planta que causada por baja absorción o disponibilidad en el suelo (Cresswell & Weir, 1997).

Es indispensable separar los fenómenos de “deficiencia” y de “estrés” de Ca^{++} , para entender lo relacionado con la dinámica de este elemento en la fisiología de la planta. Una “deficiencia” se logra corregir, a través de la adición de una fuente del elemento, mientras que el “estrés” es causado por una localización inadecuada del elemento; en este caso, los síntomas no se expresan en la totalidad de la planta, sino en puntos específicos de crecimiento del tejido (Cresswell & Weir, 1997).

El estrés abiótico, frecuentemente, conduce a un incremento del Ca^{++} libre en el citoplasma de las células, que conlleva a la expresión génica que activa respuestas bioquímicas, que permiten a la planta adaptarse a condiciones adversas de diferente naturaleza. De esta manera, el Ca^{++} está involucrado en los mecanismos regulatorios, que le facultan a la planta realizar ajustes en condiciones adversas, como temperatura alta, daño por frío y estrés hídrico y salino (Liang *et al.* 2009). Esto ha conducido a relacionar las deficiencias del elemento en los tejidos de la planta con la aparición de desórdenes fisiológicos presentados en diferentes cultivos, especialmente en tejidos y en órganos, que presentan una baja tasa de transpiración (Martyn *et al.* 2007).

Es así como Collier & Huntington (1983) y Martyn *et al.* (2007) relacionan la deficiencia de Ca^{++} en los tejidos directamente con desórdenes fisiológicos, como la quemazón del ápice en lechuga, pardeamiento en *Telopea* spp. y en *Euphorbia pulcherrima*, pudrición apical en tomate y ennegrecimiento de pétalos de rosa; no obstante, Murray *et al.* (1972) investigaron estos desórdenes fisiológicos en tomate y en flores de corte sin encontrar diferencias significativas en la concentración del Ca^{++} en los tejidos y en los órganos

afectados, en comparación con los que no expresaron los síntomas característicos. Al respecto, Franco *et al.* (1999) observaron una alta incidencia de la pudrición apical en tomate, pese a encontrar niveles altos de Ca^{++} en la parte distal del fruto. Adicionalmente, Chiu & Bould (1976) no observaron la manifestación del desorden en plantas crecidas con bajo suministro de Ca^{++} .

Debido a lo anterior, Wissemeier (1993), Saure (1998) y Franco *et al.* (1999) cuestionan el papel del Ca^{++} como causa primaria y fundamental en estos desórdenes y sugieren que, por encima de su concentración en los tejidos, factores ambientales, como temperaturas extremas, transpiración alta, viento y radiación lumínica alta, pueden estar más comprometidos con la manifestación de los síntomas.

Por ejemplo, al estudiar el ennegrecimiento de brácteas de *Telopea* spp., Martyn *et al.* (2007) no encontraron relación entre las brácteas afectadas por este síntoma y la concentración de Ca^{++} en los tejidos. Además, las brácteas de las plantas cultivadas bajo sombra mostraron menor afectación que las sometidas a luz plena, lo que demuestra que la radicación lumínica de alguna forma está relacionada con el desorden. Lo que indica que las condiciones ambientales que conducen la planta a situaciones de estrés podrían influir en la manifestación de los síntomas. Por otra parte, la incidencia de otro desorden fisiológico, conocido como quemazón del ápice, que afecta a lechuga, coliflor y calabacín, se reduce significativamente, cuando las plantas se someten a condiciones de baja radiación lumínica (Wissemeier, 1996).

Las condiciones ambientales que conducen al estrés resultan más críticas, cuando los tejidos susceptibles se encuentran en estadios de máxima tasa de división y de crecimiento celular (Saure, 2001 y 1998; Palzkill *et al.* 1980). Por ejemplo, una mayor incidencia en el pardeamiento de las brácteas de *Telopea* spp. coincidió con la etapa de máximo desarrollo de sus inflorescencias (Martyn *et al.* 2007).

Por otra parte, el crecimiento rápido de los tejidos vegetales estaría en función de una reducción en la concentración de Ca^{++} que, a su vez, estaría asociado a un incremento en la actividad de las giberelinas, que interfieren en la toma y transporte del Ca^{++} en los tejidos de las plantas (Grunzweig *et al.* 2000); mientras el Ca^{++} protege la integridad de las membranas celulares, reduciendo su permeabilidad y previniendo la liberación de iones, a causa del estrés (Grattan & Grieve, 1999), las giberelinas tienen el efecto opuesto, por lo tanto, la susceptibilidad al estrés se incrementa por bajas concentraciones de Ca^{++} y altos niveles de giberelinas (Fletcher *et al.* 2000).

De esta forma, las bajas concentraciones de Ca^{++} presentes en los tejidos en activo crecimiento pueden ser fisiológica-

mente razonables, tal como lo señala Marschner (1983), al indicar que en los tejidos en rápido crecimiento se requiere una alta permeabilidad de la membrana para el flujo de los solutos. Esto significa, que en estos tejidos una alta demanda en el suministro de Ca^{++} podría no existir, ya que, incluso, se reduciría el crecimiento de brotes y de frutos y la producción total (Hadi *et al.* 1996).

A pesar de los resultados contradictorios en cuanto al papel de los factores externos y endógenos en estos desórdenes, es evidente que son promovidos por situaciones de estrés, que resultan más severos cuanto más intenso es el estrés y más susceptible el cultivar (Saure, 1998).

Si la hipótesis es correcta al indicar que en los diferentes desórdenes fisiológicos vinculados, inicialmente con deficiencia de Ca^{++} en los tejidos, los síntomas del daño y la baja tolerancia, debidos al estrés resultan en niveles elevados de giberelinas activas, entonces, la deficiencia localizada de Ca^{++} sería un indicador primario del incremento de la actividad de esta clase de hormonas, más que la causa fundamental del problema (Saure, 1998).

El papel del Ca^{++} aplicado consistiría, principalmente, en contrarrestar el efecto de las giberelinas sobre las membranas celulares, pero su efectividad para controlar la incidencia del desorden dependería del nivel de estrés: si el crecimiento es vigoroso y no es seguido por estrés severo, no se esperaría mayor incidencia, independientemente de la cantidad del elemento aplicado (Saure, 1998).

El Boro: El boro (B) está implicado en la síntesis, en el mantenimiento y en la estabilidad de la pared celular; en el metabolismo de carbohidratos, RNA, auxinas y fenoles y en la respiración y transporte, a través de membrana (Bolaños *et al.* 2004; Cara *et al.* 2002), por lo tanto, su deficiencia, puede causar daños irreversibles a las plantas, cuando se encuentran en estadios fenológicos críticos (Lehto *et al.* 2004).

El requerimiento de B, se encuentra en un rango de 2 en monocotiledóneas hasta 80mg.L^{-1} en dicotiledóneas. La cantidad óptima para algunas especies puede ser tóxica o insuficiente para otras (Karabal *et al.* 2003). Para el caso de *Rosa spp.*, la concentración se encuentra entre 30 y 60mg.L^{-1} (Reuter & Robinson, 1986).

Las raíces de las plantas absorben B como ácido bórico no disociado H_3BO_3 y borato, transportados en las hojas, vía xilema. La transpiración es un factor clave que afecta su absorción y su concentración en los tejidos, aunque también es móvil por el floema y puede ser retranslocado en cantidades considerables, por lo tanto, la reducción en el transporte de agua puede reducir la acumulación de niveles tóxicos en los tejidos (Karabal *et al.* 2003).

El B se encuentra en las células formando complejo con las pectinas y con los fenoles y en forma libre (Ruiz *et al.* 1998). Es un elemento esencial para la estructura de la pared celular, debido a la formación de complejos con pectina, a través de uniones ester con grupos hidroxilos de carbohidratos o glucoproteínas (Pfeffer *et al.* 2001). Según Blevins & Lukaszewski (1998), en condiciones de deficiencia de B, se interrumpe la síntesis de la pared celular.

El ácido bórico tiene la capacidad de formar complejos con moléculas que contienen grupos dioles y polioles, especialmente *cis*-dioles, dentro de su estructura. Dentro de tales compuestos, se incluyen diferentes azúcares y sus derivados (azúcares alcoholes y ácidos urónicos), en especial manitol y sorbitol. Estos compuestos funcionan como constituyentes de la fracción de hemicelulosa de las paredes celulares (Blevins & Lukaszewski, 1998). En contraste, azúcares, como la glucosa, la fructosa, la galactosa y sus derivados (sacarosa, por ejemplo), no contienen la configuración *cis*-diol y, por lo tanto, no forman complejos estables con el borato (Marschner, 1995). La proporción relativa del B unido a la pared celular varía con la especie, órgano y suministro de boro (Ishii & Matsunaga, 2001).

Las uniones que el borato forma con los componentes de la pared celular son relativamente débiles y, por consiguiente, apropiadas para permitir el rompimiento y la reconstrucción, durante la elongación celular. Adicionalmente, provee cargas negativas para las interacciones iónicas necesarias para el crecimiento celular (Marschner, 1995).

En estudios *in vivo* e *in vitro* realizados por Bolaños *et al.* (2004), se comprobó que el Ca^{++} inhibe la descomposición del dímero RGII-B (Ramnogalacturona II -B) de la pared celular. Con base en trabajos sobre la estabilidad de diferentes fracciones de B en raíces intactas, Apostol & Zwiazek (2004) sugieren que el Ca^{++} puede incrementar la fortaleza de los complejos RGII-B. Además, reportan alteraciones en la traslocación de Ca^{++} en brotes y en frutos en plantas que presentan deficiencia de B.

Por otra parte, la acumulación de fenoles libres es una característica de las plantas deficientes en B y probablemente se relaciona con la función que realiza el microelemento, mediante la formación de complejos *cis*-dioles con determinados azúcares y fenoles. Al presentarse dicha deficiencia, el flujo de sustratos se direcciona hacia el ciclo de las pentosas fosfato, aumentando, de esta manera, la biosíntesis de fenoles. La formación de estos complejos, quizá está involucrada en la regulación de fenoles libres (Cara *et al.* 2002). En deficiencia de B, los fenoles se acumulan en los tejidos y la actividad de la polifenol oxidasa se incrementa, conduciendo a la producción de quinonas en las paredes celulares. Estas moléculas son efectivas en la producción de radicales supe-

róxico, potencialmente eficaces en el daño a las membranas celulares, a través de la peroxidación de los lípidos (Marschner, 1995).

De igual manera, la radiación lumínica alta conduce a mayores requerimientos de B. El requerimiento adicional de B es utilizado para detoxificar o neutralizar las mayores concentraciones de fenoles, a través de la formación de los complejos borato - fenol (Marschner, 1995). Así, se ha propuesto que la pérdida en la integridad de la membrana, causada por niveles deficientes de B puede ser debido a una acumulación de productos fenólicos y sus productos oxidados, los cuales, causan alteraciones en dicha estructura celular (Cara *et al.* 2002).

Las Antocianinas: Son compuestos fenólicos del grupo de los flavonoides, que se encuentran principalmente en frutos, en flores y en hojas (Lee *et al.* 2011), responsables de conferir los colores rojo, azul y violeta (Leguizamón *et al.* 2005; Tatsuzawa *et al.* 2010), dependiendo de la copigmentación o interacción con compuestos, como metales, alcaloides, taninos y polisacáridos (Lee *et al.* 2008). Por ejemplo, la copigmentación entre antocianinas y flavonoles en los pétalos de las flores de *Heliphila coronopifolia*, da como resultado su coloración azul (Saito *et al.* 2011). Las antocianinas también tienen un papel importante en la ecología de las plantas, ya que al completarse el desarrollo del fruto, su presencia transforma su color a rojo o púrpura, lo que conduce a la dispersión de las semillas por parte de pájaros y otros animales (Petroni & Tonelli, 2011).

Las antocianinas, se caracterizan por su alto poder reductor y pueden ser inducidas rápidamente en respuesta a condiciones de estrés, ocasionados por factores abióticos o bióticos (Petroni & Tonelli, 2011); por ejemplo, alta radiación lumínica, bajas temperaturas, deficiencias de elementos minerales como nitrógeno, fósforo, boro y manganeso (Whittaker *et al.* 2009) o incidencia de patógenos (Jakopic *et al.* 2009; Leguizamón *et al.* 2005; Grotewold, 2006), condiciones que conllevan a la producción exagerada de especies reactivas de oxígeno. De esta manera, las antocianinas pueden neutralizar los efectos nocivos de los radicales libres que causan daño y muerte celular o disipar energía radiante, que no puede ser utilizada en el proceso fotosintético (O'Neill & Gould, 2003). Solamente, seis antocianinas son comunes en los vegetales superiores: cianidina, pelargonidina, peonidina, malvidina, petunidina y delfinidina (Lee *et al.* 2005), siendo cianidina 3-glucósido la antocianina con mayor poder antioxidante (Grotewold, 2006) y la de mayor contenido en diferentes cultivares de rosa (Tatsuzawa *et al.* 2010; Lee *et al.* 2011).

La biosíntesis de antocianinas, se lleva a cabo a partir de la ruta del ácido siquímico y su regulación se realiza de manera diferente en monocotiledóneas y dicotiledóneas (Petroni &

Tonelli, 2011); se acumulan, especialmente, en las vacuolas de las células epidérmicas y mesofílicas (Schmitzer *et al.* 2009). Su estructura molecular puede variar, debido a la sustitución glucosílica que presenten (glucosa, galactosa, rhamnosa, xylosa y arabinosa) y a la acilación de los grupos de azúcares con ácidos, en especial, ácido acético, cumárico, caféico, malónico, felúrico, oxálico y succínico (Grotewold, 2006).

La naturaleza y el número de azúcares ligados a la molécula, la posición de esta unión, la naturaleza y el número de ácidos alifáticos y aromáticos que se unen al azúcar durante la acetilación, juegan un rol importante en el color y en la estabilidad del compuesto. Otros factores de estabilización son la formación de complejos con iones metálicos, como aluminio e hierro (Markovic *et al.* 2005), presencia de proteínas, pH, luz y temperatura (Rodríguez-Saona & Wrolstad, 2001; Kim *et al.* 2011; Schmitzer *et al.* 2012).

En cuanto al papel del pH, Brouillard (1988) estableció que el valor de este parámetro en la vacuola de la célula puede afectar el color de los pétalos, a través de la alteración física entre los electrones del pigmento. Por otra parte, en *Hydrangeas* sp., cultivadas en suelo con el pH de 5,5, el color de la flor es azul, pero si el pH incrementa a 6,0, el color es rosado. En este caso, a pH bajo, el aluminio se torna más disponible y se encuentra en altas concentraciones en los pétalos, formando complejo con las antocianinas que resultan en el color azul (Quintana *et al.* 2007).

Alteración en el Contenido de Antocianinas: En la mayoría de las plantas, la biosíntesis y la acumulación de antocianinas en las flores, se encuentra bajo regulación ambiental y endógena y coincide con el crecimiento de los pétalos (Mol *et al.* 1996). Su acumulación es parte integral del desarrollo de las flores que, posiblemente, son reguladas por los mismos factores que controlan su crecimiento (Weiss, 2000). En cuanto a la biosíntesis presentada en los frutos, Chen *et al.* (2012) indican que en mora (*Rubus* spp. cv. Arapoho), la concentración de antocianinas es baja en los estados iniciales de desarrollo y se incrementa drásticamente cuando los frutos alcanzan la madurez.

De acuerdo con lo anterior, Halevy & Zieslin (1974), investigando los factores ambientales y bioquímicos implicados en el ennegrecimiento de los pétalos de rosa cv. Baccara, encontraron que los pétalos de los tallos afectados contenían entre dos y cinco veces más antocianinas totales y la PPO (Polifenol oxidasa) presentaba una actividad significativamente más alta, en comparación con los pétalos de los tallos florales no afectados. Las flores afectadas por los síntomas fueron aquellas procedentes de plantas que crecieron fuera de los invernaderos, sometidas a bajas temperaturas nocturnas (Halevy & Zieslin, 1974; Jaffrin, 2002).

Por otro lado, trabajos realizados en vid, confirmaron que la alta radiación lumínica incidente en los racimos provocaron un incremento en la concentración total de antocianinas monoméricas y flavonoles, pero se redujeron por las excesivas temperaturas (Steyn *et al.* 2000). De igual forma, Iglesias *et al.* (1999) reportaron que el nivel de antocianinas en la epidermis de frutos de manzano estaba inversamente relacionado con la temperatura, especialmente, con la nocturna.

En cuanto al efecto que produce el estrés fisiológico sobre las antocianinas, Wanga *et al.* (2012) indican que en la epidermis de frutas de uvas, procedentes de plantas cultivadas bajo restricción radicular, se encontró una mayor concentración total e individual de estos pigmentos y que la acumulación de azúcares en los órganos reproductivos de las plantas sometidas a este tipo de estrés, estaría relacionado con el aumento considerable de las antocianinas.

De igual manera, la luz induce la acumulación de antocianinas en tejidos verdes y en células en suspensión: plantas crecidas con baja intensidad lumínica desarrollan flores pálidas con bajo nivel de estos pigmentos (Griesbach, 1992). En los tejidos verdes, las antocianinas actúan como pigmentos de protección, que absorben la luz UV. La radiación UV-B (280 a 320nm) induce la síntesis de antocianinas en las hojas de varias especies de plantas (Jenkins *et al.* 1995); sin embargo, el efecto que tiene la radiación UV sobre la pigmentación de los pétalos los y frutos, por lo tanto, en la síntesis de antocianinas depende de la especie vegetal, ya que en algunas es requerida y, en otras, no tiene ningún efecto (Weiss, 2000; Petroni & Tonelli, 2011). Por ejemplo, en hojas de diferentes líneas de maíz híbrido, la radiación UV-B incrementa significativamente el contenido de antocianinas, posiblemente, en respuesta metabólica al estrés ocasionado. De esta manera, las plantas sembradas en los lugares con mayor nivel de radiación presentaron contenidos de antocianinas 45% mayores en comparación con los cultivares que crecieron con menor radiación. La mayor concentración de antocianinas es una respuesta de las plantas a los efectos adversos de este tipo de radiación, los cuales, pueden causar mortalidad del polen, asincronía en floración y esterilidad en plantas de maíz (Pinter *et al.* 2007).

De acuerdo con Lu *et al.* (2009), cerca del 52% de la variación del contenido de antocianinas en pétalos de diferentes cultivares de *Ipomoea purpurea* puede ser explicado por el efecto de la temperatura y la radiación UV. Así, las plantas cultivadas, tanto en campo como en invernadero, aumentaron la concentración de antocianinas, cuando estuvieron expuestas a bajas temperaturas y alta radiación lumínica.

Ennegrecimiento de los pétalos: El ennegrecimiento de pétalos de rosa, se manifiesta como áreas negras o cafés hundidas en los ápices de los pétalos, síntomas frecuentemente

evidentes después de la cosecha, lo que en ocasiones da lugar a flores severamente afectadas.

Algunos cultivadores de rosas en Colombia muestran que la fisiopatía se desarrolla especialmente en días nublados, en donde prevalecen temperatura baja y alta humedad relativa. Además, manifiestan que existe un fuerte componente genético involucrado, ya que algunos cultivares son más susceptibles que otros. Los síntomas más evidentes en los cultivares susceptibles, se suelen presentar cuando los tallos florales son sometidos al tratamiento de frío habitual, en la producción comercial (Cabrera *et al.* 2007).

De acuerdo con Cabrera *et al.* (2007), en los cultivos comerciales de rosa de cultivares susceptibles en California (Estados Unidos), el desorden se manifiesta cuando se presentan temperaturas entre 10 y 15°C por una a dos semanas antes que la flor sea cosechada. El mantenimiento de la temperatura por encima de 15°C, conlleva a la supresión de los síntomas.

En trabajo de investigación llevado a cabo recientemente por los autores de la presente revisión, la privación de calcio y de boro en la solución nutritiva de plantas de rosa cv. Freedom, afectó la acumulación de estos elementos en los tejidos, lo que confirma el sinergismo de estos dos elementos; sin embargo, el contenido de pigmentos de tipo antocianinas no mostró diferencias significativas entre los tratamientos. Se infiere que las condiciones ambientales presentadas durante el desarrollo de las plantas pudo tener una implicación más directa en el ennegrecimiento de los pétalos que el balance nutricional.

Desórdenes similares al ennegrecimiento de los pétalos de rosa, se presentan en hortalizas (lechuga, tomate, calabacín), frutos (manzano y peral) y en ornamentales, posiblemente, debido a una deficiencia de Ca⁺⁺, aunque diferentes investigaciones indican que las causas podrían estar más relacionadas con factores ambientales que conduce al estrés (Franck *et al.* 2007; Wissemeyer, 1993; Saure, 1998).

En lo que respecta al papel de la parte nutricional en el desorden, experimentos realizados con rosa roja cv. Royalty, mostraron que la incidencia del ennegrecimiento en los pétalos fue generalmente mayor en las plantas que se cultivaron en soluciones nutritivas que contenían bajas concentraciones de Ca⁺⁺ y B y que al aumentar la concentración de estos elementos, los síntomas disminuyeron; no obstante, sorprendió que los tallos cosechados dos días después del punto comercial de corte no presentaban los síntomas, sin importar la solución nutritiva utilizada. Se infiere que existe un estadio en el desarrollo de la flor, en el cual, se presenta una mayor susceptibilidad en la expresión del desorden, en condiciones que promueven una baja absorción y acumula-

ción de estos minerales, especialmente, en hojas y en tallos (Cabrera *et al.* 2007).

Lo anterior confirma que las concentraciones bajas de Ca⁺⁺ por sí mismas no son la causa fundamental del problema, excepto en las condiciones de estrés, producidas en el proceso de poscosecha de la flor cortada.

Un desorden fisiológico relacionado con el ennegrecimiento de los pétalos de rosa es el pardeamiento de algunos frutales, como el peral y el manzano, que se presenta por oxidaciones enzimáticas de compuestos fenólicos, debido a la acción de la polifenol oxidasa (PPO) a quinonas, moléculas muy reactivas, que forman polímeros de color marrón. Los factores más importantes involucrados en el pardeamiento enzimático son la concentración de fenoles y la actividad de la PPO (Franck *et al.* 2007). Al respecto, Hamauzu & Hanakawa (2003) encontraron que las variedades de peral que evidenciaron menor concentración de compuestos fenólicos fueron menos susceptibles al pardeamiento.

De acuerdo con los resultados previamente reportados sobre las causas del ennegrecimiento de los pétalos en rosas rojas (Halevy & Zieslin, 1974; Cabrera *et al.* 2007), es posible inferir que la predisposición genética del cultivar y las bajas temperaturas son los factores que más influyen en la incidencia de este desorden fisiológico. Es probable, que las condiciones nutricionales y los portainjertos utilizados para el desarrollo de las plantas de rosa (*Rosa* sp.), se puedan considerar factores secundarios.

Conflictos de intereses. El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados. **Financiación.** Este estudio fue financiado por la División de Investigación de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, en el marco del proyecto «Papel de la interacción calcio x boro en el desarrollo floral en el ennegrecimiento de los pétalos de rosa».

BIBLIOGRAFÍA

1. APOSTOL, K.; ZWIAZEK, J. 2004. Boron and water uptake in jack pine (*Pinus Banksiana*) seedlings. *Environ. Exp. Bot.* 51(2):145-153.
2. BLOWERS, D.P.; TREWAVAS, A.J. 1988. Phosphatidylinositol kinase activity of a plasma membrane-associated calcium-activated protein kinase from pea. *Fed. Eur. Biochem. Soc.* 238(1):87-89.
3. BLEVINS, D.; LUKASZEWSKI, K. 1998. Boron in plant structure and function. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 49:481-500.
4. BOLAÑOS, L.; LUKASZEWSKI, K.; BONILLA, I.; BLEVINS, D. 2004. Why boron? *Plant Physiol. Biochem.* 42(11):907-912.
5. BOROCHOV, A.; MAYAK, S.; BROUIN, R. 1982. The involvement of water stresses and ethylene in senescence of carnation flowers. *J. Exp. Bot.* 33:1202-1209.
6. BROUILLARD, R. 1988. The Flavonoids: Advances in research. In: Harborne, J.B. (Ed.). *Flavonoids and flower color*. Chapman & Hall, (London). p.525-538.
7. CABRERA, R.I.; SOLÍS-PÉREZ, A.R.; McCORMICK, J. 2007. The role of calcium and boron in rose development and petal blackening: Observations in commercial rose greenhouses and shoot tissue nutrient status. Progress Report (July to December). Texas A&M University. Research and Extension Center. 5p.
8. CARA, F.; SÁNCHEZ, E.; RUIZ, J.; ROMERO, L. 2002. Is phenol oxidation responsible for the short term effect of boron deficiency on plasma-membrane permeability and function in squash root? *Plant Physiol. Biochem.* 40(10):853-858.
9. CHEN, Q.; YU, H.; TAN, H.; WANG, X. 2012. Identification and expression analysis of genes involved in anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis in the fruit of blackberry. *Sci Hort.* 141:61-68.
10. CHIU, T.F.; BOULD, C. 1976. Effects of shortage of calcium and other cation on Ca mobility, growth and nutritional disorders of tomato plants (*Lycopersicon esculentum*). *J. Sci. Food Agr.* 27:969-977.
11. COLLIER, G.F.; HUNTINGTON, V.C. 1983. The relationship between leaf growth, calcium accumulation and distribution, and tipburn development in field grown butterhead lettuce. *Sci. Hort.* 21(2):123-128.
12. CRESSWELL, G.C.; WEIR, R.G. 1997. *Plant Nutrient Disorders 5: Ornamental Plants and Shrubs*. Inkata Press, Melbourne. 234p.
13. EPSTEIN, E. 1973. Flow in the phloem and the immobility of calcium and boron: A new hypothesis in support of an old one. *Experientia.* 29:133-136.
14. FLETCHER, R.; GILLEY, A.; SANKHLA, N.; DAVIS, T. 2000. Triazoles as plant growth regulator and stress protectants. *Hort. Rev.* 24:55-138.

15. FRANCO, J.A.; PEREZ-SAURA, P.J.; FERNANDEZ, J.A.; PARRA, M.; GARCIA, A.L. 1999. Effect of two irrigation rates on yield, incidence of blossom-end rot, mineral content, and free amino acid levels in tomato cultivated under drip irrigation using saline water. *J. Hort. Sci. & Biotechn.* 74:430-435.
16. FRANCK, C.; LAMMERTYN, J.; HO, Q.T.; VERBOVEN, P.; VERLINDEN, B.E.; NICOLAI, B.A. 2007. Review: Browning disorders in pear fruit. *Posth. Biol. Techn.* 43:1-13.
17. GRATAN, S.; GRIEVE, C. 1999. Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. *Sci. Hort.* 78:127-157.
18. GRIESBACH, R.J. 1992. Correlation of pH and light intensity on flower color in potted *Eustoma grandiflorum* Grise. *Hort. Sci.* 27(7):817-818.
19. GROTEWOLD, E. 2006. The genetics and biochemistry of floral pigments. *Ann. Rev. Plant Biol.* 57:761-780.
20. GRUNZWEIG, J.; RABINOWICH, H.; KATAN J.; WODNER, M.; BEN - TAL, Y. 2000. Involvement of endogenous gibberellins in the regulation of increased tomato shoot growth in solarized soil. *Plant Growth Reg.* 30:233-239.
21. HADI, M.; CONWAY, W.; SAM, C. 1996. Effect of calcium on yield and incidence of blossom-end rot of three tomato cultivars. *J. Hort. Sci.* 31:672-679.
22. HALEVY, A.; ZIESLIN, N. 1974. The development and cause of petal blackening and malformation of "Baccara" rose flower. *Acta Hort.* 14:149-155.
23. HAMAIZU, Y.; HANAKAWA, T. 2003. Relation of highly polymerised procyanidin to the potential browning susceptibility in pear fruits. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* 72:415-421.
24. IGLESIAS, J.; GRAELI, G.; ECHEVERRIA, M.; VENDRELL. 1999. Differences in fruit color development, anthocyanin content, yield and quality of seven delicious apple strains. *Fruit Var. J.* 53(1):133-145.
25. ISHII, T.; MATSUNAGA, T. 2001. Pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II is covalently linked to homogalacturonan *Phytochem.* 57:969-974.
26. ITZHAKI, H.; NAVEH, L.; LINDAHL, M.; COOK, M.; ADAM, Z. 1998. Identification and characterization of DegP, a serine protease associated with the luminal side of the thylakoid membrane. *J. Biol. Chem.* 273:7094-7098.
27. JAFFRIN, A. 2002. Ennegrecimiento de los pétalos de rosas bajo diferentes tipos de invernadero. *Plasticulture.* 121(3):12-21.
28. JAKOPIC, J.; STAMPAR, F.; VEBERIC, R. 2009. The influence of exposure to light on the phenolic content of 'Fuji' apple. *Sci. Hort.* 123:234-239.
29. JENKINS, G.I.; CHRISTIE, J.M.; FUGLEVAND, G.; LONG, J.C.; JACKSON, J.A. 1995. Plant responses to UV and blue light: Biochemical and genetic approaches. *Plant Sci.* 112:117-138.
30. KARABAL, E.; YÜCEL, M.; AVNI, H. 2003. Antioxidant responses of tolerant and sensitive barley cultivars to boron toxicity. *Plant Sci.* 164 (6):925-933.
31. KIM, D.; BAE, J.; LEE, D.; LEE, H.; JOO, M.; YOO, S. 2011. Positive effects of glycosylated anthocyanin isolated from an edible berry fruit (*Acanthopanax sessiliflorum*) on its antioxidant activity and color stability. *Food Res. Int.* 44:2258-2263.
32. LEE, J.; LEE, H.; CHOING, M. 2011. Anthocyanin compositions and biological activities from the red petals of Korean edible rose (*Rosa hybrida* cv. Noble-red). *Food Chem.* 129:272-278
33. LEE, J.; RENNAKER, C.; WROLSTAD, R.E. 2008. Correlation of two anthocyanin quantification methods: HPLC and spectrophotometric methods. *Food Chem.* 110:782-786.
34. LEE, J.; DURST, R.W.; WROLSTAD, R.E. 2005. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *J. AOAC Int.* 88(5):1269-1278.
35. LEGUIZAMÓN, G.V.; GONZALEZ, L.A.; BAEZ, S.R. 2005. Grape anthocyanins (*Vitis vinifera* L.) and their relation to color. *Rev. Fitotec. Mex.* 28(4):359-368.
36. LEHTO, T.; RÄISÄNEN, M.; LAVOLA, A.; JULKUNEN-TITTO, R.; APHALO, P. 2004. Boron mobility in deciduous forest trees in relation to their polys. *New Phytol.* 163:333-339.
37. LIANG, W.J.; WANG, M.L.; AI, X.Z. 2009. The role of calcium in regulating photosynthesis and related phy-

- biological indexes of cucumber seedlings under low light intensity and suboptimal temperature stress. *Sci. Hort.* 123:34-38.
38. LU, Y.; DU, J.; TANG, J.; WANG, F.; ZHANG, J.; HUANG, J.; LIANG, W.; WANG, L. 2009. Environmental regulation of floral anthocyanin synthesis in *Ipomoea purpurea*. *Molec. Ecol.* 18:3857-3871.
39. MARKOVIC, D.J.; NADEZJDA, J.; PETRANOVIC, A.; BARANAC, J.M. 2005. The copigmentation effect of sinapic acid on malvidin: a spectroscopic investigation on color enhancement. *J. Photochem. Photobiol. B, Biol.* 78(3):223-228.
40. MARSCHNER, H. 1995. Mineral nutrient of higher plants, 2nd. ed. Academic Press (London). 446p.
41. MARSCHNER, H. 1983. General introduction to the mineral nutrition of plants. In: Läuchli, A.; Bielecki, R.L. (eds.) *Encyclopedia of Plant Physiology, New Series*, Vol. 15A. Springer-Verlag (Berlin). p.5-60.
42. MARTYN, A.; THOMAS, CH.; O'NEILL, M.; OFFORD, C.; McCONCHIE, R. 2007. Bract browning in waratahs (*Telopea* spp.) is not a localized calcium deficiency disorder. *Sci. Hort.* 112:434-438.
43. MARTYN, A.; GOLLNOW, B.; McCONCHIE, R.; OFFORD, C. 2007. Characterization of bract browning and the effect of shade on browning in waratah (*Telopea* spp., Proteaceae) cultivars 'Fire and Brimstone', 'Olympic Flame' and 'Wirrimbirra White'. *Sci. Hort.* 112:427-433.
44. MOL, J.; JENKINS, G.; SCHAFFER, E.; WEISS, D. 1996. Signal perception, transduction, and gene expression involved in anthocyanin biosynthesis. *Crit. Rev. Plant Sci.* 15:525-557.
45. MURRAY, S.A.; SPURR, A.R.; PAULSON, K.N. 1972. Electron probe analysis of Ca, Mg and K in the fruit of the tomato, *Lycopersicon esculentum*, with reference to blossom-end rot. *Agr. J.* 64(5):586-588.
46. O'NEILL, S.; GOULD, S.K. 2003. Anthocyanin in leaves: light attenuators or antioxidants? *Func. Plant Biol.* 30:865-873.
47. PALZKILL, D.A.; TIBBITTS, T.W.; STRUCKMEYER, B.E. 1980. High relative humidity promotes tipburn on young cabbage plants. *HortSci.* 15:659-660.
48. PETRONI, K.; TONELLI, Ch. 2011. Recent advances on the regulation of anthocyanin synthesis in reproductive organs. *Ann. Rev. Plant Sci.* 181:219-229
49. PFEFFER, H.; DANNEL, F.; RÖMHELD, V. 2001. Boron compartmentation in root sunflower: A study using the stable isotopes ^{10}B and ^{11}B adopting two independent approaches. *Physiol. Plant.* 113:346-351.
50. PINTER, J.; KÓSA, E.; HADI, G.; HÉGYI, Z.; SPITKO, T.; TOTH, Z.; SZIGETI, Z.; PALDI, E.; MARTON, C. 2007. Effect of increased UV-radiation on the anthocyanin content of maize (*Zea mays* L) leaves. *Acta Agr. Hung.* 55(1):7-17.
51. POOVAIAH, B.W. 1988. The molecular and cellular aspects of calcium action. *HortSci.* 23:267-271.
52. QUINTANA, A.; JANA ALBRECHTOVA, J.; GRIESBACH, R.; FREYRE, F. 2007. Anatomical and biochemical studies of anthocyanidins in flowers of *Anagallis monelli* L. (Primulaceae) hybrids. *Sci. Hort.* 112:413-421.
53. RAHMAN, M.; PUNJA, Z. 2007. Calcium and plant disease. In: Datnoff, L.E.; Elmer, W.H., and Huber, D.M. (eds.) *Mineral Nutrition and Plant disease*. The American Phytopathological Society. Ed. APS Press (St. Paul). 7993p.
54. REUTER, D.J.; ROBINSON, J.B. 1986. *Plant Analysis: An Interpretation Manual*. Ed. Inkata Press (Melbourne). 218p.
55. RODRIGUEZ-SAONA, L.E.; WROLSTAD, R.E. 2001. Extraction, isolation and purification of anthocyanins. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley and Sons. Inc. 11p.
56. ROUX, S.J.; SLOCUM, R.D. 1982. Role of calcium in mediating cellular functions important for growth and development in higher plants. In: Cheung, W. Y. ed. *Calcium and cell function*, Vol III. Academic Press (New York), p.408-453.
57. RUIZ, J.; BRETONES, G.; BAGHOUIR, M.; RAGALA, L.; BELAKBIR, A.; ROMERO, L. 1998. Relationship between boron and phenolic metabolism in tobacco leaves. *Phytochem.* 48(2):269-272.
58. SAITO, N.; TATSUZAWA, F.; TOKI, K.; SHINODA, K.; SHIGIHARA, A.; HONDA, T. 2011. The blue anthocyanin pigments from the blue flowers of *Heliphila coronopifolia* L. (Brassicaceae). *Phytochem.* 72:2219-2229.

59. SAURE, M. 1998. Causes of the tipburn disorder in leaves of vegetables. *Sci. Hort.* 76:131-147.
60. SAURE, M. 2001. Blossom-end rot of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) a calcium - or a stress-related disorder? *Sci. Hort.* 90:193-208.
61. SCHMITZER, V.; OSTERC, G.; VEBERIC, R.; STAMPAR, F. 2009. Correlation between chromaticity values and major anthocyanins in seven *Acer palmatum* Thunb. cultivars. *Sci. Hort.* 119:442-446.
62. SCHMITZER, V.; VEBERIC, F.; STAMPAR, F. 2012. Prohexadione-Ca application modifies flavonoid composition and color characteristics of rose (*Rosa hybrida* L.) flowers. *Sci Hort.* 146:14-20.
63. STEYN, W.J.; HOLCROFT, D.M.; WAND, S.J.E.; COOKS, N.C.; JACOBS, G. 2000. Dating Rosemarie: How to make her blush?. Proceedings of the cape Pomological association Symposium. South Africa. p.55-62.
64. TAIZ, L.; ZEIGER, E. 2006. *Plant Physiology*. 3rd edition, Sinanuer Associate, Inc. (USA). 690p.
65. TATSUZAWA, F.; ICHIHARA, K.; SHINODA, K.; MIYOSHI, K. 2010. Flower colours and pigments in *Disa* hybrid (Orchidaceae). *South Afr. J. Botany.* 76:49-53.
66. TORRE, S.; BOROCHOV, A.; HALEVY, A.H. 1999. Calcium regulation of senescence in rose petals. *Phys. Plant.* 107:214-219.
67. WANGA, B.; HEA, J.; DUANB, Ch.; YUA, X.; ZHUA, L.; XIEA, Z.; ZHANGA, C.; XUA, W.; WANG, S. 2012. Root restriction affects anthocyanin accumulation and composition in berry skin of 'Kyoho' grape (*Vitis vinifera* L. × *Vitis labrusca* L.) during ripening. *Sci Hort.* 137:20-28.
68. WISSEMEIER, A.H. 1996. Calcium-Mangel bei Salat (*Lactuca sativa*L.) und Poinsettie (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch): Einfluß von Genotyp und Umwelt. Verlag Ulrich E. Grauer (Stuttgart). 299p.
69. WISSEMEIER, A.H. 1993. Marginal bract necrosis in Poinsettia cultivars and the relationship to bract calcium nutrition. *Gartenbauwiss.* 58:158-163.
70. WEISS, D. 2000. Regulation of flower pigmentation and growth: Multiple signaling pathways control anthocyanin synthesis in expanding petals. *Phys. Plant.* 110:152-157.
71. WHITTAKER, A.; VAZZANA, C.; VECCHIO, V.; BENEDETTELLI, S. 2009. Evaluation of direct and indirect effects of flavonoids, mineral elements and dry weight on antiradical scavenging activity in leaf material of field-grown *Trifolium pratense* cultivars using Path Analysis. *Field Crops Res.* 113:1-11.

Recibido: Febrero 12 de 2012

Aceptado: Febrero 28 de 2013

DRIS NORMS FOR THE RUBBER CLONE FX3864 IN THE EASTERN PLAINS OF COLOMBIA

NORMAS DRIS PARA CAUCHO CLON FX3864 EN LOS LLANOS ORIENTALES DE COLOMBIA

Edinson Chacón-Pardo¹, Jesús H. Camacho-Tamayo^{2*}, Jaime H. Bernal³

¹I.A., M.Sc. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Grupo de Investigaciones Agrícolas, Tunja, Colombia. E-mail: echaconp@unal.edu.co; ²I. Agrícola, M.Sc. Profesor Asistente. Facultad de Ingeniería, Programa de Ingeniería Agrícola, Universidad Nacional de Colombia. Cra. 45 No. 45 – 03, Bogotá, Colombia. E-mail: jhcamachot@unal.edu.co; *Corresponding author, ³Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – CORPOICA, C.I. La Libertad, Villavicencio, Colombia. E-mail: jbernal@corpoica.org.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 113 - 120, 2013

SUMMARY

The present study aimed to establish the preliminary diagnosis and recommendation integrated system (DRIS) norms for the rubber tree clone FX3864 (*Hevea brasiliensis*) under the conditions of the Colombian Eastern Plains for the elements N, P, K, Ca, Mg, Na, S, Fe, Cu, Zn and B. For this purpose, 77 foliar samples were taken from a 10- to 12-year-old commercial crop. The element ratios that contributed the greatest variance between high- and low- productivity populations were selected for conversion into norms. Of the 132 possible ratios, 66 were selected, with ratios including P/N, N/K and NXCa proving most important. The most limiting nutrients were K and N when deficient and Ca and S when in excess.

Key words: Foliar analysis, mineral nutrition, diagnosis and recommendation, fertilization.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue obtener las normas preliminares de diagnóstico y recomendación integral DRIS para el cultivo de caucho clon FX3864 (*Hevea brasiliensis*) bajo condiciones de la altillanura colombiana para los elementos N, P, K, Ca, Mg, Na, S, Fe, Cu, Zn y B, para ello se tomaron 77 muestras de tejido foliar de plantaciones comerciales con edades entre 10 y 12 años. Para la selección de las relaciones que se convirtieron en normas se utilizó el método de mayor relación entre varianzas entre la población de baja productividad sobre la de alta productividad. De las 132 relaciones posibles se seleccionaron 66, destacándose relaciones como P/N, N/K, NXCa. El nutriente más limitante es el K seguido del N por defecto y el Ca seguido del S por exceso.

Palabras clave: Análisis foliar, nutrición mineral, diagnóstico y recomendación, fertilización.

INTRODUCTION

The eastern plains of Colombia extend from the town of Puerto López (Meta) to the source of the Orinoco River. This area has a high agricultural potential, with an estimated 4.5 million potentially arable hectares (Rivas *et al.* 2004). Agricultural projects are being developed in the region with the hope of introducing crops such as soybean, sugarcane, oil palm and rubber, among others, as alternative crops for owners of both small and large farms.

In this region, rubber is principally found in the municipality of Puerto López, where there are commercial plantations in the productive and (primarily) growing stages. These plantations are managed at the nutritional level with fertilizer applications based on research from countries such as Malaysia, Brazil and India (DANE, 2010). This previous research was specific to the production zones in which it was conducted, and its applicability depends on the clone type, plant population, soil characteristics and environmental resources of the plantation. Therefore, although production in the eastern plains of Colombia is not low (approximately 1800 kg ha⁻¹ yr⁻¹), it could be improved by determining the specific fertilization requirements for the particular soil conditions of the area.

The diagnosis and recommendation integrated system (DRIS) is a tool for correctly interpreting foliar analysis under these conditions. DRIS was proposed by Beaufils (1973), based on research into plant physiology and nutrition, as an alternative to the nutritional evaluation of crops. In contrast

to approaches such as the critical-value or range-of-sufficiency methods, DRIS is based on the utilization of nutrient ratios instead of absolute or individual concentrations. Some ratios among nutrients are more important than others for a specific crop, and these can be identified in high-productivity populations when compared to low-productivity populations, which nonetheless also occasionally display ideal or optimal ratios, as reported by Wadt & Dias (2012).

DRIS was initially developed using rubber crops in Vietnam, and subsequent refinements of the method were conducted in sugar cane and corn crops in South Africa by Beaufils (1973). At present, DRIS norms have been developed for crops such as roses, coffee, apples and citrus fruits, among others (Nachtigall & Dechen, 2007).

The DRIS method studies nutrient concentrations in the leaves of a crop to establish the interactions between pairs of nutrients, then uses the interactions observed in a high-yielding population as references to develop norms (Mourão Filho, 2004). This method is based on the estimation of an index for each pair of nutrients (Dias *et al.* 2010a). DRIS norms are used for the nutritional evaluation of a low-yielding population, employing mathematical formulas derived from different DRIS functions (Beaufils, 1973; Jones, 1981; Wadt *et al.* 2007).

DRIS has advantages over other diagnostic methods because it generates an easily interpreted continuous scale, allows for the classification of nutrients from the most deficient to the most excessive, detects cases of yield limitation due to nutrient imbalances (including when no nutrients are below the critical level) and allows for a total nutritional diagnosis of the plant through the nutritional balance index (Huang *et al.* 2012).

Once the norms are established, DRIS indices are calculated for each nutrient. A negative index signifies that the element in question is deficient; if the index is positive, the element is present in excess; and if the index is near zero, the nutrient is present at an adequate or balanced level in the plant. The present study aims to establish the DRIS norms for the rubber crop clone FX 3864 under the conditions of the eastern plains of Colombia.

MATERIALS AND METHODS

Study area. The study was conducted in the town of Puerto López in the province of Meta, Colombia, in a 10-year-old commercial rubber plantation located at 40°5'46"N, 72°57'30"W and an altitude of 184 m. The soil is an Inseptic Hapludox, characterized by a high aluminum saturation and a low base saturation. The predominant texture is sandy loam. The chemical characteristics of the soil are shown in table 1.

Foliar and yield sampling. During the month of July 2010, recently matured leaves from the third medium plant were sampled. Sampling occurred between 06:00 and 10:00 of each day to reduce diurnal nutritional variability, according to the methodology proposed by Malavolta *et al.* (1997). In total, 80 samples were taken. The samples were prepared by removing the petioles, and the films were washed with tap water and dried in a cool environment before being sent to the laboratory.

The foliar samples were taken to the laboratory and, by means of dry digestion and atomic absorption, the elements K, Ca, Mg, Na, K, Fe, Cu, Mn and Zn were determined. In a similar manner, the colorimetric method was used to de-

Table 1. Descriptive statistics of the chemical soil attributes in the study area.

Attribute	(CV, %)	Median	Minimum	Maximum
OM (%)	4.55(15.07)	4.49	2.98	6.17
P (mg kg ⁻¹)	3.64(23.05)	3.61	2.00	5.67
Al+H (cmol ₍₊₎ kg ⁻¹)	1.75(15.31)	1.72	1.14	2.4
Al (cmol ₍₊₎ kg ⁻¹)	1.44(17.22)	1.38	0.91	2.05
Ca (cmol ₍₊₎ kg ⁻¹)	0.38(28.88)	0.34	0.21	0.69
Mg (cmol ₍₊₎ kg ⁻¹)	0.11(10.81)	0.11	0.09	0.14
K (cmol ₍₊₎ kg ⁻¹)	0.05(24.81)	0.05	0.02	0.07
Na (cmol ₍₊₎ kg ⁻¹)	0.07(11.68)	0.07	0.05	0.08
CE (dS)	0.05(18.44)	0.05	0.03	0.07

termine P and B; as well as wet digestion and the Kjeldahl method for N and turbidimetry for S.

Three latex measurements were conducted in the field to establish productivity. These measurements were taken in June, September and December, coinciding with the periods of high, medium and low precipitation, respectively, because the productivity of rubber is highly related to the water state of the plant (Ribeiro & Cássia, 2006). These measurements were made on the same trees from which the foliar samples were taken.

Samples without productivity information or with a productivity of zero were eliminated from the study. Information regarding the planting date, area and production of each of the remaining analyzed lots was compiled.

Data analysis. Populations were separated using the descriptive statistics described by Wadt *et al.* (1999): samples in the highest quartile of productivity, averaged over the three latex measurements, were considered to represent high productivity, and those below that quartile were considered to represent low productivity.

DRIS norms. After the populations were selected, the coefficients of variation, minima, maxima and variances for each element, as well as the ratios between each element, were calculated in both the high- and low-productivity populations. The element ratios that contributed the greatest variance between high- and low-productivity populations were selected for conversion into norms, as proposed by Summer (1990), who stated that

If $[s^2(A/B)_b / s^2(A/B)_i] > [s^2(B/A)_b / s^2(B/A)_i]$, then the norm and the relationship chosen ratio = A/B;
If $[s^2(A/B)_b / s^2(A/B)_i] < [s^2(B/A)_b / s^2(B/A)_i]$, then, the norm and the relationship chosen ratio = B/A;

where $s^2(A/B)_i$ is the difference of the ratio between the variances of the concentrations of the nutrients A and B in the reference population (r) and $s^2(A/B)_b$ is the difference of the ratio between the variances of the concentrations of the nutrients A and B in the low-productivity population (b).

Nutritional balance index. The nutritional indices (NI) were calculated using the methodology proposed by Beaufils (1973):

If $A/B < a/b$, then

$$f(A/B) = (A/B - a/b) / sa/b \times (a/b / A/B);$$

otherwise,

$$f(A/B) = (A/B - a/b) / sa/b,$$

where $f(A/B)$ is the DRIS function for any two nutrients (A and B), A/B is the ratio between nutrients A and B in the sample,

a/b is the ratio between nutrients A and B in the reference standard and sa/b is the standard deviation of ratio A/B from the reference standard.

The sum of the values for the modulus of the NI of all nutrients constituted the nutritional balance index (NBI), and the nutrient average balance index (IBNm) was obtained by dividing this value by the number of NBI nutrients according to the expression $IBNm = (|NI_A| + |NI_B| + |NI_C| + \dots + |NI_N|) / n$, using as samples the averages of the low-yield population (Dias *et al.* 2011; Sánchez *et al.* 2009).

RESULTS AND DISCUSSION

Foliar description and population separation. The median values of N and K were deficient, at 2.85% and 0.67%, respectively (Table 2); the median value of P was at an adequate level of 0.27%. These conclusions are based on the values reported by Pushparajah & Teng (1972), who observed that the content of N in rubber leaves on the basis of dry mass is between 3.30% and 3.70%, that of P is between 0.209% and 0.25% and that of K is between 1.30% and 1.60%.

After eliminating those samples without complete productivity information from the database, 77 samples remained, exhibiting a normal distribution. The medium productivity of these samples was $1802.8 \text{ kg ha}^{-1} \text{ yr}^{-1}$, with a minimum of $392.0 \text{ kg ha}^{-1} \text{ yr}^{-1}$ and a maximum of $3492.7 \text{ kg ha}^{-1} \text{ yr}^{-1}$. These results suggest that the samples adequately represent the variation of the study area, a requirement for the development of DRIS norms (Maia, 2012).

The most productive quartile, the high-productivity/reference population, contained 19 of the 77 samples, with a minimum production threshold of $2183.4 \text{ kg ha}^{-1} \text{ yr}^{-1}$ (Table 3); 58 of the 77 samples were below this threshold and made up the low-productivity population. This division meets the criterion of Reis Junior & Monnerat (2003), who suggested that the high-productivity population should consist of at least 10% of the samples.

The median nutrient concentrations of N, K, Ca and Mg, among others, were greater in the high-productivity population; concentrations were similar between populations for P and greater in the low-productivity population for B and S. Because foliar analysis was conducted at the peak of production, elements such as N, Ca and Mg may have been in greater demand for latex formation than the other elements in the study.

Nutrient concentrations for the high-yield population were, in general, lower than those reported by Flores *et al.* (2004) in a study conducted in Venezuela on the clones IAN 873, IAN 710 and FX 3864, with the exception of Ca. The levels detected in the present study were, however, in agreement

Table 2. Mean values of the foliar nutrients of the rubber (*Hevea brasiliensis*) clone FX 3864 in the eastern plains of Colombia.

Nutrient		CV(%)	Minimum	Maximum
Yield (kg ha ⁻¹ yr ⁻¹)	1802.80	30.35	392.00	3492.70
N (%)	2.85	12.05	2.15	3.86
P (%)	0.27	20.67	0.17	0.44
K (%)	0.67	32.92	0.12	1.40
Ca (%)	0.68	29.96	0.33	1.37
Mg (%)	0.23	41.82	0.06	0.62
Na (%)	0.02	49.91	0.007	0.09
S (%)	0.08	104.23	0.03	0.52
Fe (mg kg ⁻¹)	162.94	42.63	15.34	388.19
Cu (mg kg ⁻¹)	8.30	66.90	4.002	40.02
Mn (mg kg ⁻¹)	140.23	39.90	50.03	336.17
Zn (mg kg ⁻¹)	12.40	39.18	6.00	33.35
B (mg kg ⁻¹)	121.55	20.80	67.91	218.03

Table 3. Mean (\bar{x}), minimum (Min.), maximum (Max.) values of foliar nutrients for high- and low-productivity populations of the rubber (*Hevea brasiliensis*) clone FX 3864 in the eastern plains of Colombia.

Nutrient	High yield population			Low yield population		
	(CV, %)	Min.	Max.	(CV, %)	Min.	Max.
Yield (kg ha ⁻¹ yr ⁻¹)	2550.1(14.27)	2138.4	3492.7	1558(21.31)	392	2084.9
N (%)	2.97(12.36)	2.36	3.64	2.81(11.68)	2.15	3.85
P (%)	0.27(16.62)	0.19	0.36	0.27(21.95)	0.17	0.43
K (%)	0.67(23.4)	0.43	1.01	0.66(35.69)	0.12	1.41
Ca (%)	0.71(26.83)	0.42	1.14	0.66(31.06)	0.33	1.37
Mg (%)	0.25(47.27)	0.10	0.62	0.21(38.74)	0.06	0.48
Na (%)	0.01(21.94)	0.01	0.02	0.02(55.66)	0.00	0.09
S (%)	0.06(18.85)	0.03	0.078	0.08(111.84)	0.03	0.51
Fe (mg kg ⁻¹)	166.2(54.45)	30.7	388.2	161.87(38.3)	15.34	380.86
Cu (mg kg ⁻¹)	9.34(81.86)	4.00	40.02	7.95(59.16)	4.00	40.02
Mn (mg kg ⁻¹)	153.00(50.29)	50.00	295.5	136.04(34.72)	67.37	336.17
Zn (mg kg ⁻¹)	13.38(44.93)	6.67	33.35	12.08(36.69)	6.00	25.34
B (mg kg ⁻¹)	118.54(20.89)	67.91	173.35	122.54(20.88)	70.5	218.03

with those reported by Bataglia *et al.* (1988) for rubber trees in Brazil, with a production level greater than 1500 kg ha⁻¹ yr⁻¹. Both that study and the present study reported lower levels of N and P and higher levels of Mg than those suggested by Pushparajah & Teng (1972) to be adequate for the development of rubber in Malaysia. It must be considered that, ac-

ording to the type of material and its genetics, nutrient contents vary to greater or lesser degrees (Mendes *et al.* 2012), and although previous studies provide reference levels, it is possible that plants exhibit different nutrient requirements depending on their different growing conditions (Bataglia *et al.* 1998; Nguyen, 2013).

DRIS norms. The respective norms of the high- and low-productivity populations were determined as coefficients or products, whichever was more appropriate in each case (Table 4). The coefficients of variation were highest for the ratios involving Fe, Cu and S. This result is due to the high coefficients of variation for these elements in the global database (Table 2), a situation that is generally true for the determination of DRIS norms, as reported by different authors (Nachtigall & Dechen, 2007). Flores *et al.* (2004) concluded

that this situation does not complicate the interpretation of the norm, as the coefficient values represent the real variation that exists for the nutrient contents of rubber populations with average yield.

The norms obtained for the ratios and products of the elements were selected based on which contributed the greatest variance between the high- and low-productivity populations. Of the 132 possible ratios, 66 were selected,

Table 4. DRIS norms for the rubber (*Hevea brasiliensis*) clone FX 3864 in the eastern plains of Colombia.

Ratio	CV(%)	S ²	F(Sb/Sa)	Ratio	(CV %)	S ²	F(Sb/Sa)
P/N	0.09(15.1)	1.9x10 ⁻⁴	2.13	100Ca/Fe	0.59(73.26)	0.186	1.24
N/K	4.69(27.51)	1.669	5.51	100Ca/Cu	9.21(27.33)	6.337	3.74
NXCa	2.13(27.64)	0.349	0.84	100Ca/Mn	0.53(32.98)	0.031	1.04
CaXN	2.13(27.64)	0.349	0.84	Zn/100Ca	0.19(41.94)	0.006	1.49
NXMg	0.76(51.24)	0.153	0.38	B/100Ca	1.72(26.63)	0.21	2.19
Na/N	0.006(25.58)	2.87x10 ⁻⁶	6.13	Na/Mg	0.08(34.79)	9.2x10 ⁻⁴	2.89
S/N	0.02(23.87)	2.76x10 ⁻⁵	48.19	S/Mg	0.29(42.61)	0.016	7.34
100N/Fe	2.5(86.08)	4.631	0.73	Fe/100Mg	7.85(61.05)	22.97	1.14
100N/Cu	39.47(33.39)	173.773	0.84	100Mg/CU	3.31(51.12)	2.871	0.81
100N/Mn	2.41(43.86)	1.12	0.50	Mn/100Mg	6.61(49.13)	10.559	1.02
100N/Zn	25.4(35.09)	79.44	1.17	Zn/100Mg	0.60(46.65)	0.077	1.32
100N/B	2.65(31.7)	0.707	0.48	B/100Mg	5.44(41.6)	5.137	2.52
P/K	0.42(26.09)	0.012	4.77	S/Na	3.51(31.65)	1.235	13.71
PXCa	0.19(26.03)	0.002	2.30	100Na/Fe	0.01(65.84)	1.04x10 ⁻⁴	3.41
PXMg	0.06(47.82)	0.001	0.99	100Na/Cu	0.25(42.35)	0.012	4.43
Na/P	0.07(27.56)	4.12x10 ⁻⁴	6.60	100Na/Mn	0.01(49.93)	5.89x10 ⁻⁵	3.74
S/P	0.24(25.35)	0.003	39.06	100Na/Zn	0.16(34.66)	0.003	3.19
100P/Fe	0.22(77.82)	0.03	0.67	100Na/B	0.01(33.65)	3.3x10 ⁻⁵	3.28
100P/Cu	3.59(37.34)	1.801	0.87	100S/Fe	0.05(81.14)	0.001	6.65
Mn/100P	5.79(54.78)	10.073	0.48	100S/Cu	0.83(34.19)	0.081	17.15
100P/Zn	2.27(34.68)	0.623	1.20	100S/Mn	0.05(53.69)	8.06x10 ⁻⁴	9.76
KXCa	0.49(38.34)	0.035	1.03	100S/Zn	0.54(39.38)	0.046	29.44
KXMg	0.17(51.44)	0.008	1.08	100S/B	0.05(20.14)	1.2x10 ⁻⁴	31.83
Na/K	0.02(26.77)	6.4x10 ⁻⁵	12.63	Cu/Fe	0.06(79.06)	0.003	1.76
S/K	0.09(26.06)	6.7x10 ⁻⁴	43.00	Mn/Fe	0.01(90.77)	1.4	0.98
100K/Fe	0.55(77.31)	0.184	2.82	Zn/Fe	0.10(74.69)	0.006	1.18
100K/Cu	8.80(36.23)	10.176	1.66	B/Fe	0.97(81.92)	0.641	1.03
Mn/100K	2.29(44.99)	1.067	3.33	Mn/Cu	19.46(49.2)	91.701	1.25
Zn/100K	0.20(35.12)	0.004	6.23	Zn/Cu	1.78(47.33)	0.71	0.81
B/100K	1.82(25.07)	0.21	9.28	B/Cu	15.48(37.28)	33.31	1.11
Ca/Mg	3.21(34.64)	1.241	1.62	Mn/Zn	12.07(48.77)	34.621	0.73
Na/Ca	0.02(29.22)	6.8x10 ⁻⁵	8.21	B/Mn	0.94(44.73)	0.179	0.73
S/Ca	0.09(28.31)	7.1x10 ⁻⁴	39.19	B/Zn	9.90(35.93)	12.678	1.35

with ratios including P/N, N/K and NXCa proving most important. These ratios exhibited clear differences with the results of previous research on rubber trees conducted by Flores *et al.* (2004): for example, the P/N ratio was 0.07 in the Flores study and 0.09 in the present study, indicating greater quantities of P for the high-yield population in the present case. Bataglia & Santos (1999) concluded that low levels of P in the soil and leaves negatively affect the productivity of rubber trees in soils of otherwise high fertility.

For the N/K and NXCa ratios, Flores *et al.* (2004) obtained values of 6.67 and 1.07, respectively, whereas the values obtained in the present study were 4.69 and 2.13, respectively. Norms can vary significantly from one region to another, as has been previously reported (Dias *et al.* 2010b; Partelli *et al.* 2006). Bolton (1964) acknowledged these differences when he reported that the N, P and K standards for rubber obtained in Vietnam were inadequate for application in Malaysian plantations due to their improper balance for high-production populations.

The ratios involving K in the present study were either higher or lower than those reported by Flores *et al.* (2004), depending on K's role as either a numerator or denominator, respectively. Higher levels of K overall were observed in the leaves of the present study, a difference that may impact productivity.

Nutritional balance index. Once the DRIS norms were established, the nutritional diagnosis was conducted by calculating the DRIS indices for each nutrient (Table 5) and establishing the nutritional balance indices (NBI), grouping them from the most to the least limiting and using as samples the averages of the low-yield population, as has been proposed for coffee (Wadt & Dias, 2012), cupuaçu (Dias *et al.* 2011) and orange (Dias *et al.* 2013) in the Brazilian Amazon region.

Wadt *et al.* (1999) and Wadt (2005) stated that if the NI of an element is greater than the NBI_m, it is possible to generate a productivity response by adjusting levels of that element. Elements such as N and K, for example, would cause higher productivity when added, whereas the restriction of elements such as S would lead to higher productivity.

In addition, the nutritional balance of the sample was calculated, and the order of nutrients in terms of importance was K>N>Cu>Zn>Mg>B>Mn>P>Fe>Na>Ca>S.

These results suggest that, for the case of the low-yield population, the most limiting nutrients were K and N when deficient and Ca and S when in excess. These results are concordant with the levels found in the low-productivity population (Table 3) and support the results of Bataglia *et al.* (1998), who found that low contents of K and high contents of Ca

induced deficiencies of K and N in rubber, respectively, negatively influencing its productivity.

DRIS norms were established for a rubber crop on the eastern plains of Colombia based on 66 nutrient ratios. These norms supply a tool for interpreting the nutritional state of a rubber crop based on foliar analysis. The most limiting element under the study conditions is K. The obtained norms establish the differences between high- and low-productivity populations, indicating which elements and factors should be considered for future crop management.

Table 5. Nutritional balance index (NBI) for the low-yield population of the rubber (*Hevea brasiliensis*) clone FX 3864 in the eastern plains of Colombia.

Nutrient	NBI
N	-3.58
P	-0.63
K	-4.05
Ca	2.25
Mg	-1.28
Na	1.73
S	9.68
Fe	-0.19
Cu	-2.34
Mn	-0.93
Zn	-2.37
B	-1.13
NBI	30.16
NBI _m	2.51

Acknowledgements: The authors thank the “Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural” of Colombia for financial support and Mavalle S.A. for logistical support. **Conflicts of interest:** The manuscript was prepared and reviewed with the participation of all authors, who declare the absence of conflicts of interest that jeopardize the validity of the results presented.

BIBLIOGRAPHY

- BATAGLIA, O.C.; CARDOZO, M.; VISCAINO, C.M. 1988. Situação nutricional de seringais produtivos no estado de São Paulo. *Bragantia*. (Brazil) 47(1):109-123.

2. BATAGLIA, O. C.; SANTOS, W. R. 1999. Efeitos da adubação NPK na fertilidade do solo, nutrição e crescimento da seringueira. *Rev. Bras. Ciênc. Solo. (Brazil)*. 23(4):881-890.
3. BATAGLIA, O.C.; SANTOS, W.R.; IGUE, T.; GONÇALVES, P.S. 1998. Resposta da seringueira clone RRIM 600 à adubação NPK em solo Podzólico Vermelho Amarelo. *Bragantia*. 57(2):367-377.
4. BEAUFILS, E.R. 1973. Diagnosis and recommendation integrated system (DRIS). University of Natal (Bloemfontein, South Africa). 132p.
5. BOLTON, J. 1964. The manuring and cultivation of *Hevea brasiliensis*. *J. Sci. Fd. Agric. (USA)*. 15(1):1-8.
6. DANE - Departamento Administrativo Nacional de Estadística. 2010. Informe de resultados del censo de unidades productoras de plantaciones de caucho –IUPC. DANE, Dirección de Regulación, Planeación, Estandarización y Normalización (Colombia). 66p.
7. DIAS, J.R.M.; PEREZ, D.V.; SILVA, L.M.; LEMOS, C.O.; WADT, P.G.S. 2010a. Normas DRIS para cupuaçuzeiro cultivado em monocultivo e em sistemas agroflorestais. *Pesq. Agropec. Bras.* 45(1):64-71.
8. DIAS, J.R.M.; WADT, P.G.S.; PEREZ, D.V.; SILVA, L.M.; LEMOS, C.O. 2011. DRIS formulas for evaluation of nutritional status of cupuaçu trees. *Rev. Bras. Ciênc. Solo. (Brazil)*. 35(1):2083-2091.
9. DIAS, J.R.M.; WADT, P.G.S.; SAMPAIO, F.A.R.; PITTELKOW, F.K.; MIOTTI, A.A.; ROSA, M.R. 2010b. Estabelecimento de normas DRIS para cupuaçuzeiro na região amazônica. *Rev. Caatinga. (Brazil)*. 23(4):121-128.
10. DIAS, J.R.M.; WADT, P.G.S.; TUCCI, C.A.F.; SANTOS, J.Z.L.; SILVA, S. V. 2013. Normas DRIS multivariadas para avaliação do estado nutricional de laranja 'Pera' no estado do Amazonas. *Rev. Ciênc. Agron. (Brazil)*. 44(2):125-134.
11. FLORES, J.A.; GARAY, V.J.; PEÑA, C. 2004. Evaluación Nutricional de Plantaciones de *Hevea brasiliensis* Muell. Arg., Sector El Pozo, San Fernando de Atabapo, Estado Amazonas, Venezuela. *Rev. For. Lat. (Venezuela)*. 19(2):83-107.
12. HUANG, H.; HU, C.X.; TAN, Q.; HU, X.; SUN, X.; BI, L. 2012. Effects of Fe-EDDHA application on iron chlorosis of citrus trees and comparison of evaluations on nutrient balance with three approaches. *Sci. Hortic. (USA)*. 146(1):137-142.
13. JONES, W.W. Proposed modifications of the diagnosis and recommendation integrated system (DRIS) for interpreting plant analyses. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 12:785-794, 1981.
14. MAIA, C.E. 2012. Fertilization response likelihood for the interpretation of leaf analyses. *Rev. Bras. Ciênc. Solo.* 36(2):437-445.
15. MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. 1997. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2a. Edição. Potafos (Piracicaba, Brazil). 319p.
16. MENDES, A.D.R.; OLIVEIRA, L.E.M.; NASCIMENTO, M.N.; REIS, K.L.; BONOME, L.T.S. 2012. Concentração e redistribuição de nutrientes minerais nos diferentes estádios foliares de seringueira. *Acta Amaz. (Brazil)*. 42(4):525-532.
17. MOURÃO-FILHO, F.A.A. DRIS: 2004. Concepts and applications on nutritional diagnosis in fruit crops. *Sci. Agric. (Brazil)*. 61(5):550-560.
18. NACHTIGALL, G. R.; DECHEN, A. R. 2007. DRIS norms for evaluating the nutritional state of apple tree. *Sci. Agric.* 64(3):282-287.
19. NGUYEN, B.T. 2013. Large-scale altitudinal gradient of natural rubber production in Vietnam. *Ind. Crop Prod. (USA)*. 41:31-40.
20. PARTELLI, F.L.; VIEIRA, H.D.; MONNERAT, P.H.; VIANA, A.P. 2006. Estabelecimento de normas DRIS em cafeeiro conilon orgânico e convencional no estado do Espírito Santo. *Rev. Bras. Ciênc. Solo.* 30(1):443-451.
21. PUSHPARAJAH, E.; TENG, T.K. 1972. Factors influencing leaf nutrient levels in rubber. In: Proceedings of the R.R.I.M. Malaya Planters Conference, Kuala Lumpur 1972. Rubber Research Institute of Malaya, Kuala Lumpur. p.140-154.
22. REIS JÚNIOR, R.A.; MONNERAT, P.H. 2003. DRIS norms validation for sugarcane crop. *Pesq. Agropec. Bras.* 38(3):379-385.

23. RIBEIRO, J.C.; CÁSSIA, C.E. 2006. Fotossíntese e relações hídricas de duas cultivares jovens de seringueira. *Rev. Bras. Bot.* 29(4):701-708.
24. RIVAS, L.; HOYOS, P.; AMEZQUITA, E.; MOLINA, D.L. 2004. Manejo y uso de suelos en la altillanura Colombiana. Análisis económico de una estrategia para su conservación y mejoramiento: construcción de una capa arable. CIAT (Cali, Colombia). 9p.
25. SÁNCHEZ, A.A.; CRUZ, J.G.; ZÉREGA, L.; RODRÍGUEZ, O.; DE OLIVEIRA, S.A., PÉREZ VIANEL, J. 2009. Normas preliminares DRIS desarrolladas para caña de azúcar a partir de un bajo número de muestras. *Pesq. Agropec. Bras.* 44(12):1700-1706.
26. SUMMER, M. 1990. Advances in the use and Application of Plant Analysis. *Com. Soil Sci. Plant Anal. (USA)*. 21(13-16):1409-1430.
27. WADT, P.G.S. 2005. Relationships between soil class and nutritional status of coffee plantations. *Rev. Bras. Ciênc. Solo.* 29(2):227-234.
28. WADT, P.G.S.; DIAS, J.R.M. 2012. Normas DRIS regionais e inter-regionais na avaliação nutricional de café Conilon. *Pesq. Agropec. Bras.* 47(6):822-830.
29. WADT, P.G.S.; NOVAIS, R.F.; ALVAREZ, H.H.; BRAGANCA, S.M. 1999. Alternativas da aplicação do DRIS á cultura do café conilon (*Coffea canepora* Pierre). *Sci. Agric. (Brazil)*. 56(1):83-92.
30. WADT, P.G.S.; SILVA, D.J.; MAIA, C.E.; TOME JUNIOR, J.B.; COSTA PINTO, P.A.; MACHADO, P.L.O.A. 2007. Modelagem de funções no cálculo dos índices DRIS. *Pesq. Agropec. Bras.* 42(1):57-64.

Received: 12 October 2012

Accepted: 6 February 2013

CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE ALBAHACA (*Ocimum basilicum* L.) BAJO CUBIERTA EN LA SABANA DE BOGOTÁ

GROWTH AND DEVELOPMENT OF BASIL (*Ocimum basilicum* L.) UNDER COVER IN THE SABANA OF BOGOTÁ

Fernando Colorado¹, Imelda Montañez², Catalina Bolaños³ Jorge Rey⁴

¹ M.Sc. Profesor titular. Facultad de Ingeniería Agronómica Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales, U.D.C.A, Bogotá, fcolorad@udca.edu.co; ² M.Sc. Profesora Facultad de Ingeniería Agronómica Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Bogotá, bmontañez@udca.edu.co; ³ Estudiante Ingeniería Agronómica U.D.C.A, ktkhermosa@gmail.com; ⁴ Estudiante Ingeniería Agronómica U.D.C.A bbscolombia@gmail.com

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 121 - 129, 2013

RESUMEN

El desarrollo de la albahaca puede ser establecido y cuantificado, mediante la obtención de parámetros de crecimiento y con la caracterización de sus fases de desarrollo, información útil para el manejo agronómico y comercial. En el presente trabajo, se buscó obtener la TCR, el IAF y la TAN de esta especie, sembrada bajo cubierta; igualmente, determinar sus fases de desarrollo. El ensayo, se realizó en la U.D.C.A, entre el 2010 y el 2011, en un lote de 70m², con la especie *Ocimum basilicum* L. Se empleó una densidad de población de 12 plantas por m². Se midió altura, número de hojas, área foliar y peso seco. La lectura se hizo cada cuatro días. El ensayo, se llevó hasta el inicio de la floración: 61ddt. Los parámetros de crecimiento, se estipularon empleando el enfoque funcional del modelo logístico, con el paquete estadístico SAS. A partir de la información analizada, se determinó la eficiencia fisiológica. Las fases de desarrollo, se caracterizaron en el mismo período de tiempo y se estimaron contabilizando los días transcurridos entre eventos fisiológicos de la planta o cambios observables en las variables de estudio y determinando la eficiencia fisiológica por fase. Se establecieron tres fases de desarrollo y las tasas de crecimiento se especificaron, obteniendo valores máximos de TCR de 0,1082 g g⁻¹ d⁻¹, a los 5ddt; TAN de 0,0083g cm² d⁻¹, al finalizar los 14ddt e IAF de 0,047, a los 31ddt.

Palabras clave: Eficiencia fisiológica albahaca, planta condimentaria, manejo agronómico.

SUMMARY

The development of basil can be established and quantified by obtaining growth parameters and the characterization of the developmental phases, useful information for its commercial and agricultural management. In this paper it was sought to obtain the TCR, the IAF and the TAN of the species, planted under cover, also to determine their stages of development. The research was conducted in the U.D.C.A between 2010 and 2011 in an area of 70m² with the species *Ocimum basilicum* L. A population density of 12 plants per m² was used. Height, number of leaves, leaf area and dry weight was measured. The counts were made every four days. The trial was carried up to the start of flowering: 61ddt. Growth parameters were determined using the functional approach of the logistic model with the SAS statistical package. From the analyzed information the physiological efficiency was determined. The development phases were characterized in the same period and were estimated by counting the days elapsed between plant physiological events or observable changes in the variables and determining the physiological efficiency per phase. Three phases of development were identified and growth rates were specified, obtaining maximum TCR values of 0.1082g g⁻¹ d⁻¹ at 5ddt; TAN of 0.0083g cm² d⁻¹ at the end of the 14ddt and IAF of 0.047 at 31ddt.

Key words: Basil physiology efficiency, spice plant, agronomic management.

INTRODUCCIÓN

La albahaca (*Ocimum basilicum* L.) es una de las plantas aromáticas más apetecidas en el ámbito culinario, por tener un sabor dulce y fragante. Para obtener hojas con altas concentraciones de aceites esenciales, se deben coleccionar poco antes de la floración, ya que contienen una mayor cantidad de sustancias oleosas, que determinan su aroma; las hojas adultas, se caracterizan por tener un sabor picante (CCI, 2007). Originaria de la India y es empleada como especia y condimento alimentario. Existe una variedad de hoja pequeña, denominada albahaca simplemente y otra de hoja ancha, de mayor uso gastronómico, llamada más comúnmente basilico (Berdonces, 2010). De la anterior, se conocen la variedad *genovese* y el híbrido *nufar*, de porte más vigoroso y de mayor productividad que la *genovese*. Puede llegar a producir entre 60 y 70t ha⁻¹ de hoja en fresco y se cultiva en los departamentos de Boyacá, Valle, Cundinamarca y Antioquia (CCI, 2007).

El crecimiento de una planta es un incremento irreversible de tamaño, de peso seco y de cantidad de citoplasma, los cuales, son cambios cuantitativos. El proceso de desarrollo está constituido por los cambios de forma, así como por el grado de diferenciación y de complejidad, que alcanza cada organismo, como son la aparición de flores, de frutos o de semillas.

El crecimiento es una aproximación holística, explicativa e integral, para comprender la forma y las funciones de los vegetales (Hunt, 2003). En cualquier sistema biológico, el crecimiento es la consecuencia de la división celular (incremento en número) y de la elongación celular (aumento en tamaño) (Casierra & Cardozo, 2009)

Las curvas de crecimiento en los vegetales son un reflejo del comportamiento de una planta en un ecosistema particular con respecto al tiempo (Casierra-Posada *et al.* 2003). Su elaboración permite conocer el crecimiento de una planta, a través del tiempo; curva que varía en función de variables propias de la especie y del ambiente donde crece.

Hunt (2003) afirma que, por lo general, los análisis de crecimiento se hacen con materia seca y que las plantas anuales y perennes que crecen bajo condiciones normales han mostrado, en sus primeros estados, la misma curva típica de crecimiento.

Abello *et al.* (2006) aseveran que el crecimiento es un proceso irreversible derivado de un aumento en el tamaño y es el resultado de la división de la célula y de su elongación.

Al representar el crecimiento en función del tiempo, se obtiene una curva sigmoidea, denominada curva de crecimiento. La

zona de crecimiento lento responde al proceso inicial en que no existen muchos centros meristemáticos y la incorporación de masa, a través de la fotosíntesis es pequeña. A medida que en la planta joven aumenta la masa se produce un aumento de células meristemáticas y de área fotosintética y, por tanto, el potencial de crecimiento se hace mayor y entran así en la zona de crecimiento rápido (Barceló *et al.* 1995). Salisbury & Ross (1994) afirman que la curva sigmoidea está representada por tres fases: logarítmica, lineal y de senescencia.

El conocimiento de la fenología en diferentes fechas de siembra y en distintas condiciones agroecológicas constituye uno de los aspectos agronómicos fundamentales para el cultivo y la producción de cualquier vegetal. El registro de los diferentes eventos fisiológicos que determinan las fases fenológicas de las plantas permiten al investigador y productor relacionar el comportamiento del cultivo con el clima y el manejo de las plantas (Barroso & Jerez, 2002). Los citados investigadores, trabajando en un suelo ferrolítico de La Habana y a diferentes épocas de siembra de albahaca blanca caracterizaron seis fases fenológicas del cultivo, desde siembra y durante 76 días hasta la senescencia del primer par de hojas verdaderas.

Ghazi *et al.* (2012) señalan cuatro etapas de desarrollo en albahaca trabajando en Irán con dos variedades de la especie (blanca y morada), diferentes arreglos de siembra y diferente población: una primera etapa, va desde siembra hasta que la planta posee entre 4 y 6 hojas verdaderas; la segunda, se extiende hasta floración; la producción de semilla caracteriza el inicio de la tercera etapa y la madurez de la planta, la ubica en la cuarta.

Basado en lo anterior, esta investigación planteó obtener la tasa de crecimiento del cultivo (TCR), el índice de área foliar (IAF) y la tasa de asimilación neta (TAN), como parámetros de crecimiento de la albahaca (*O. basilicum* L.); igualmente, caracterizar sus fases de desarrollo bajo condiciones de invernadero, en la Sabana de Bogotá.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo, se llevó a cabo en la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, en Bogotá D.C, entre el segundo semestre de 2010 y el primer semestre de 2011, a una altitud de 2540msnm, con las siguientes condiciones de invernadero: temperaturas mínimas en las horas de la mañana, entre 2°C y 5°C; temperatura al mediodía, entre los 25°C y los 29°C y temperaturas máximas alrededor de las 3:00 p.m., cercanas a los 38°C. La humedad relativa fluctuaba al mediodía, entre el 45% y 62%, llegando al 98%, como máxima y, entre el 15% y 20%, como mínima. El lote destinado para el ensayo tuvo un área de 70m². Para conocer

las condiciones físicas y químicas del suelo, se tomó una muestra de suelo al iniciar los ciclos de siembra; se rotuló y se envió al laboratorio, para la caracterización de elementos mayores y menores.

El material vegetal utilizado fue de la especie *O. basilicum* L. variedad *genovese*. Para la siembra, se utilizó una plantilla según la especie, llegando a una densidad de población de doce plantas por m². El ensayo se manejó agronómicamente efectuando labores de deshierbas, riegos, aporques, según necesidad del cultivo; no se aplicaron sustancias orgánicas o químicas para la protección de cultivos. El trabajo evaluó las siguientes variables: altura de planta, número de hojas, área foliar y peso seco de la planta completa.

Para tomar la información correspondiente de las variables de estudio, se identificó el 20% de la población de plantas en campo, de forma aleatoria. La lectura de las variables a evaluar se hizo cada cuatro días. El ensayo, se llevó hasta el inicio de la floración, bajo las condiciones anteriormente descritas: 61 días después de trasplante. El registro de datos fue de la siguiente forma: peso seco: una vez tomado el dato de peso fresco de la planta, el material vegetal se depositó en bolsas de papel para ser secadas en una estufa de 400kg de capacidad, a temperatura de 70°C, durante 48 horas. Área foliar: se determinó empleando la metodología del cm², que consiste en tomar un centímetro cuadrado de hoja, pesarlo y extrapolar al peso total de las hojas. Altura: se midió en cm desde la base del tallo hasta su ápice. Número de hojas: con conteo manual de hojas verdaderas.

Como parámetros de crecimiento, se tomaron la tasa de asimilación neta (TAN), la tasa relativa de crecimiento (TRC) y el índice de área foliar (IAF). Estos parámetros, se determinaron empleando el enfoque funcional del modelo logístico, donde la curva de crecimiento se define por la expresión matemática:

$$y = \alpha / 1 + e^{-k(t-y)}$$

donde α la asíntota superior, es el máximo tamaño, es decir, $y = \alpha$ cuando $t \rightarrow \infty$ y $y = 0$ cuando $x \rightarrow -\infty$ es la asíntota inferior y es el tiempo en que se logra la máxima tasa de crecimiento (Flórez *et al.* 2006).

Con base en estos coeficientes obtenidos por el paquete estadístico SAS, se construyó la curva de crecimiento. A partir de la información analizada, se determinó la eficiencia fisiológica. Las fases de desarrollo se caracterizaron desde el momento del trasplante hasta el momento de inicio de la floración y se estimaron contabilizando los días transcurridos entre eventos fisiológicos de la planta o cambios observables en las variables de estudio y determinando la eficiencia fisiológica por fase.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados del análisis químico el suelo donde se realizó la investigación es ácido (pH 5,4) y presenta valores altos en cuanto a materia orgánica (14,3%), fósforo disponible (266mg kg⁻¹), calcio (14,3cmol(+) kg⁻¹), magnesio (4,3cmol(+) kg⁻¹), azufre (126mg kg⁻¹), hierro (149mg kg⁻¹) y zinc (29,4mg kg⁻¹). Igualmente, la capacidad de intercambio catiónica es alta (53,1cmol(+) kg⁻¹). En el caso del potasio (0,33cmol(+) kg⁻¹), cobre (2,0mg kg⁻¹) y boro (0,24mg kg⁻¹), su contenido en el suelo está en nivel medio, lo mismo que el porcentaje de saturación de bases (37,9%). La relación calcio: magnesio es óptima (3,32:1) y el elemento que se encuentra bajo es el manganeso (3,6mg kg⁻¹). También se presenta bajo el porcentaje de saturación de aluminio (2,1%), lo cual, es importante, dado que la toxicidad de aluminio es el principal factor limitante del crecimiento de las plantas en los suelos ácidos (Dong *et al.* 2002).

El contenido alto de materia orgánica representa una cualidad importante en este suelo, teniendo en cuenta que las condiciones de temperatura bajo cubierta favorecen la mineralización de la misma y, con ello, se incrementa la disponibilidad de algunos elementos nutricionales esenciales para el cultivo, como el nitrógeno, el fósforo y el potasio (Matus & Maire, 2000).

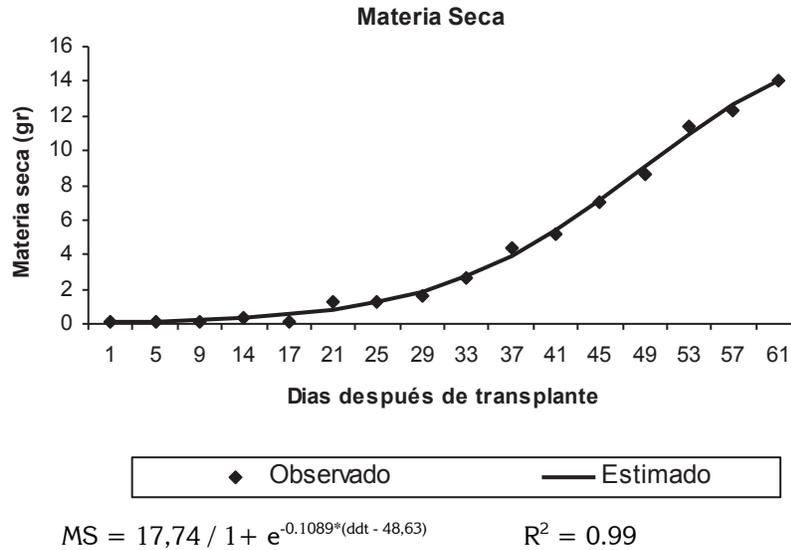
Los resultados del análisis indican que el suelo empleado en la investigación presenta buena disponibilidad de nutrientes esenciales para la planta, por su buena saturación de bases, contenido de materia orgánica y niveles adecuados de elementos mayores.

Materia seca: El contenido de materia seca se fue incrementando paulatinamente hasta obtener valores de 14,07g a los 61 días después de trasplante (ddt), presentándose un comportamiento típico en el crecimiento, como se ilustra en la gráfica 1A, donde se observa la curva sigmoidea. La expresión matemática empleada para definir la curva de crecimiento tuvo un buen ajuste al obtener R² de 0,99. Carranza *et al.* (2009) llegaron a una situación similar en plantas de lechuga sembradas en un suelo salino de la Sabana de Bogotá.

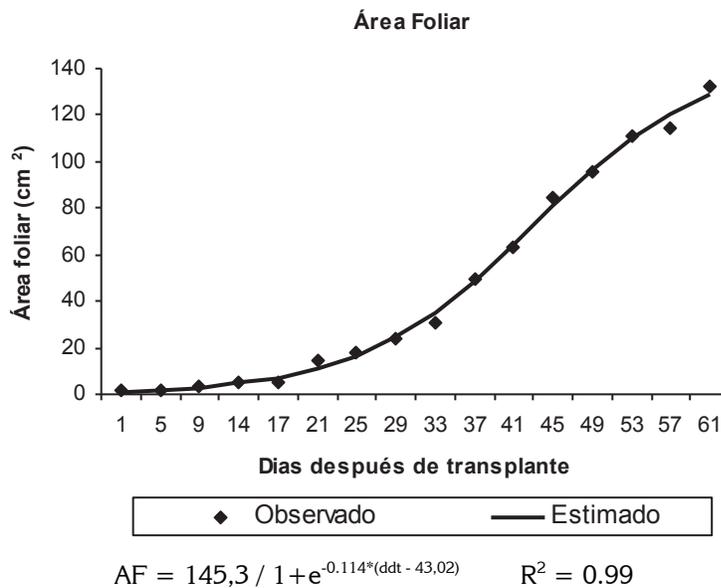
Área foliar: De forma similar al contenido de materia seca, el área foliar se fue incrementando hasta obtener valores de 132,6cm² a los 61 días después de trasplante (gráfica 1B). La tasa de crecimiento de las hojas depende de la masiva e irreversible expansión de células jóvenes, las cuales, son producidas por la división celular en los tejidos meristemáticos (Carranza *et al.* 2009). El área foliar total, que ha sido directamente relacionada con la cantidad de clorofila, es un parámetro importante para estimar la habilidad de la planta para sintetizar materia seca (Campostrini & Yamanishi,

2001). Se presentó una fase lenta de crecimiento de área foliar, que coincide con la baja acumulación de materia seca en los primeros 19 días después de trasplante (Gráficas 1A, 1B). En un trabajo en papa realizado por Aguilar *et al.* (2006) en Metepec, México, midiendo crecimiento de dos variedades, se encontró un comportamiento similar, donde la etapa lenta de crecimiento duró dos semanas. La curva descrita en la gráficas 1B obedece a un buen ajuste, obtenido con la expresión matemática con un R^2 de 0,99; quiere decir esto, que el crecimiento de la albahaca se asemeja a la curva

sigmoide, expresada mediante la ecuación matemática planteada; sin embargo, es de resaltar el hecho que el área foliar obtenida es baja si se compara con resultados hallados en otros trabajos; es así que Contreras & Gómez (2008), trabajando en Honduras con tres variedades de albahaca, *nufar*, *genovese* y *aromaz*, en dos sistemas de producción, suelo e hidroponía, encontraron valores de área foliar de $901,4\text{cm}^2$ y $2002,7\text{cm}^2$ para hidroponía y suelo, respectivamente.



A.



B.

Gráfica 1. Comportamiento de la materia seca (A) y área foliar (B) de plantas de albahaca incluyendo la modelación empleada.

Altura y número de hojas: La albahaca incrementó su altura en 35,5cm, al pasar de 2cm al momento del trasplante a 37,5cm, al finalizar el ensayo; en el mismo periodo de tiempo, pasó de 3 a 45 hojas (Tabla 1). Aunque estas variables no son componentes de los parámetros de crecimiento, sí resulta importante su cualificación, pues son determinantes a la hora del manejo comercial del cultivo, ya que en esta especie se cosechan sus hojas en varios cortes. La altura de

la planta tuvo un buen comportamiento para las condiciones del trabajo, puesto que en clima cálido, Ramírez *et al.* (2001) reportan una altura promedio de 28,7cm trabajando con siete variedades de albahaca, en zona cafetera colombiana. Al respecto, Castro (2005) afirma que temperaturas entre 24°C y 30°C, durante el día y 16°C y 20°C, en la noche, combinados con una longitud del día de 16h, inducen una alta tasa de desarrollo.

Tabla 1. Fases de desarrollo de albahaca.

Fase		Altura (cm)		Número de hojas		Peso (g)		Área foliar (cm ²)		Tasas de crecimiento		
	DDT	Variación total	Variación / día	Variación total	Variación / día	Variación total	Variación / día	Variación total	Variación / día	TRC (g g ⁻¹ d ⁻¹)	TAN (g cm ² d ⁻¹)	IAF
1	0 - 14	2 - 4,6	0,18	3 - 7	0,29	0,08 - 0,3	0,062	2 - 4,8	0,2	0,1064	0,0083	0,0082
2	14 - 31	4,6 - 9	0,35	7 - 12	0,32	0,3 - 2,63	0,62	4,8 - 31,1	1,64	0,092	0,0071	0,047
3	31 - 61	9 - 37,5	1,14	12 - 45	1,12	2,63 - 14,07	2,82	31,1 - 132,6	4,8	0,022	0,0024	0,206

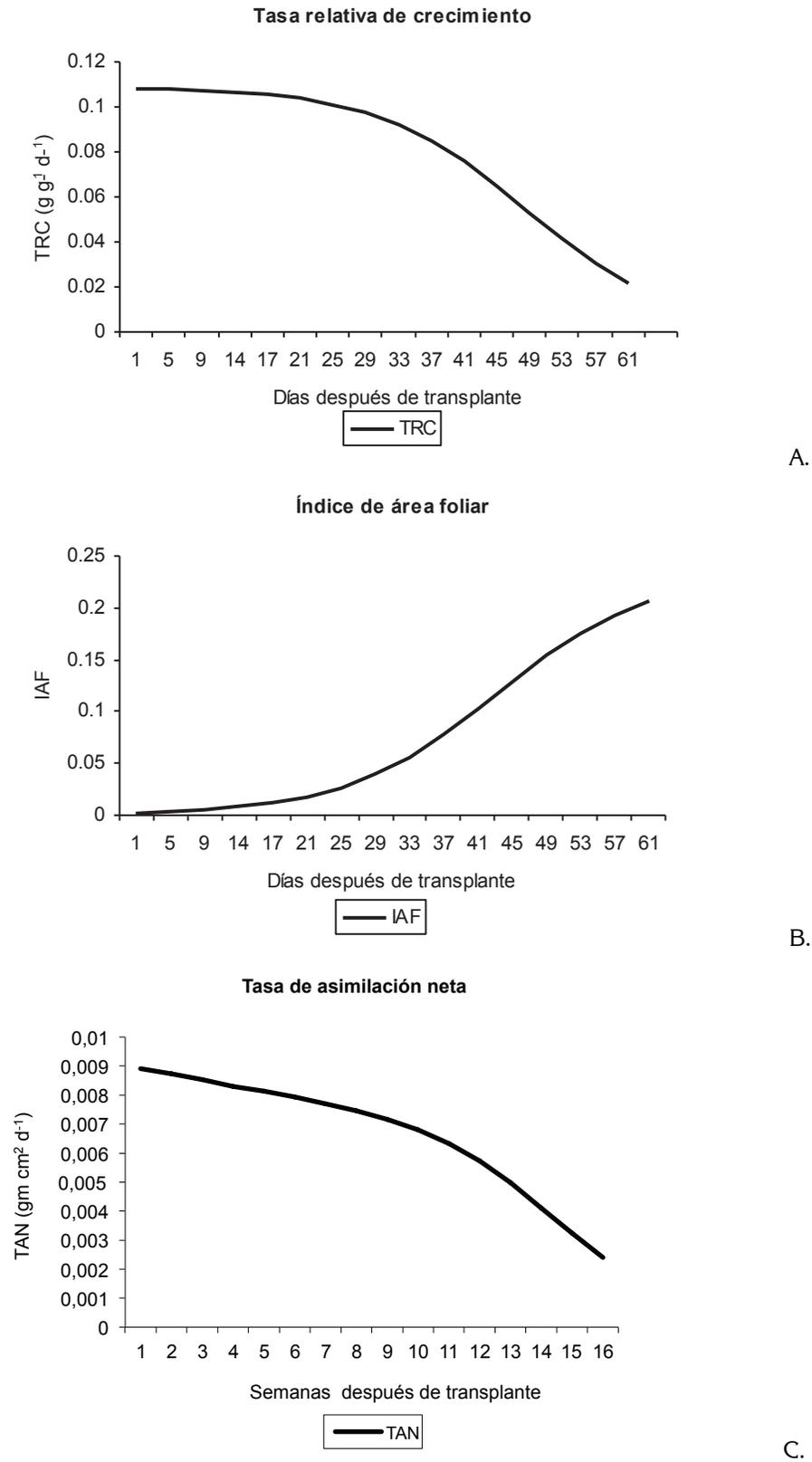
Tasas de crecimiento: El crecimiento de la albahaca expresado con las tasas de crecimiento tuvo un comportamiento típico en cuanto a la secuencia de eventos fisiológicos, dados en las tres fases de desarrollo cualificadas, es decir, crecimiento lento, lineal y exponencial, durante el período de tiempo analizado. Las plantas manifiestan cambios en características de desarrollo y de estructura, debido a su exposición en ambientes particulares (Grime & Mackey, 2002).

Tasa relativa de crecimiento (TRC): La TRC máxima se alcanzó en los primeros cinco días, con 0,1082g g⁻¹ d⁻¹, reduciéndose a 0,1064g g⁻¹ d⁻¹, al finalizar el día 14, después de trasplante (ddt); posteriormente, entre el día 15 y el día 31 llegó a una tasa de 0,092g g⁻¹ d⁻¹, para finalizar a los 61ddt, con una tasa de 0,022g g⁻¹ d⁻¹ (Tabla 1). Baracaldo *et al.* (2010), trabajando con la variedad Nelson en clavel, identificaron un comportamiento similar en esta tasa, argumentando que de acuerdo a Brown (1984), el máximo valor ocurre al principio y luego decrece con la importación de asimilados a diferentes órganos de la planta. Barreiro *et al.* (2006) encontraron una TCR de 0,08g g⁻¹ d⁻¹, a los 50 días después de siembra (dds), para plantas de albahaca tratadas con agua en presiembra; la tasa decreció casi hasta 0g g⁻¹ d⁻¹, a los 106dds.

Índice de área foliar (IAF): De lento crecimiento durante los primeros 31ddt, la tasa alcanzó un valor de 0,047, durante este período y finalizó en 0,206, a los 61 ddt (gráfica 2B). El índice es bajo, como consecuencia de un área foliar reducida, que se traduce en una baja capacidad para interceptar la

radiación solar. Maldonado & Corchuelo (1993) reportan un IAF, de 2,88 y 3,1, para las variedades *cerinza* y *tundama* de frijol, a los 64dds; aunque Barraza *et al.* (2004), trabajando con tomate, variando densidades de población, hallaron un IAF cercano al 0,5, a los 60dds y de 4,1, a los 105dds. Los resultados anteriores para albahaca son importantes, ya que Ruíz *et al.* (2008), ensayando con la especie en Baja California, México, encontraron una relación positiva ($r = 0,49$), entre el IAF y el rendimiento agrícola obtenido, que decrece en la medida que el IAF sea bajo.

Tasa de asimilación neta (TAN): El comportamiento de esta tasa fue decreciente a lo largo del período de tiempo evaluado, teniendo un valor de 0,0083g cm² d⁻¹, al finalizar los 14ddt; posteriormente, al finalizar los 31ddt presentó un valor de 0,0071g cm² d⁻¹, para finalizar a los 61ddt, en 0,0024g cm² d⁻¹ (gráfica 2C). Barreiro *et al.* (2006) determinaron una TAN máxima para albahaca, a los 64dds, de 0,005g cm² d⁻¹. La capacidad de la planta para generar fotoasimilados está en función del área foliar, de la disposición y edad de las hojas y de los procesos de regulación interna, relacionados con la demanda de asimilados (Hunt, 1982); igualmente, los autores afirman que la TAN decrece con el desarrollo del cultivo a lo largo del ciclo de producción. Jarma *et al.* (2006) reportaron valores de TAN para estevia, cercanos a 0,001g cm² d⁻¹, a los 60dds, con un 100% de radiación incidente. La respuesta en este parámetro es consistente a juicio de Hunt (1982), quien indica que esta tasa puede ser modificada por fluctuaciones en el ambiente, durante el período de



Gráfica 2. Parámetros de crecimiento de la planta de albahaca. A. Tasa relativa de crecimiento (TRC); B. Índice de área foliar (IAF); C. Tasa de asimilación neta (TAN).

tiempo analizado; de otra parte, Brown (1984) afirma que la TAN decrece con la edad de la planta, resultando en bajas eficiencias fotosintéticas. Carranza *et al.* (2009), encontraron para lechuga sembrada bajo un suelo salino un valor máximo de TAN de $0,00046 \text{ g cm}^2 \text{ d}^{-1}$, a los 24ddt, para luego empezar a decrecer.

Fases de desarrollo: Barroso & Jerez (2002), trabajando con diferentes fechas de siembra de albahaca en un suelo ferrolítico de Cuba, determinaron seis fases: a) siembra, b) emisión del primer par de hojas verdaderas, c) emisión del primer par de ramas en las yemas laterales, d) aparición de la inflorescencia en el tallo central, e) aparición de la inflorescencia en el primer par de ramas laterales y f) senescencia del primer par de hojas. Contreras & Gómez (2008) sugirieron cuatro fases para su trabajo: a) adaptación, b) crecimiento, c) aumento de biomasa y d) producción (prefloración). La caracterización de las fases de desarrollo, se sintetiza en la tabla 1 y se describe a continuación.

Fase 1. Esta primera fase va desde el momento de transplante, los 14 días después de transplante, donde la planta de albahaca inicia su crecimiento, acorde a la curva sigmoide, descrita por Salisbury & Ross (1994), crecimiento lento, constante y positivo. Los parámetros de crecimiento indicaron los siguientes valores: TRC de $0,1064 \text{ g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$, TAN de $0,0083 \text{ g cm}^2 \text{ d}^{-1}$ e IAF de 0,0082.

Fase 2. Va desde el día 15 hasta el día 31 después de transplantada la planta de albahaca; se caracteriza por un mayor crecimiento en sus variables: altura, número de hojas, peso fresco y área foliar. Los parámetros de crecimiento indicaron los siguientes valores: TRC de $0,092 \text{ g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$, TAN de $0,0071 \text{ g cm}^2 \text{ d}^{-1}$ e IAF de 0,047. Esta fase se caracterizó por mayores variaciones en las variables de crecimiento, con respecto a la fase anterior.

Fase 3. La tercera fase empieza a partir del día 31 después de transplante y culmina bajo las condiciones del ensayo, el día 61 después de transplante. Esta fase, se caracteriza por un incremento importante en la altura y el número de hojas de la planta, como se muestra en la tabla 1; el peso de la planta también se incrementó de forma importante, al igual que el área foliar. Los parámetros de crecimiento indicaron los siguientes valores: TRC de $0,022 \text{ g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$, TAN de $0,0024 \text{ g cm}^2 \text{ d}^{-1}$ e IAF de 0,206.

Los valores de estos parámetros (TRC y TAN) indican una mayor eficiencia fisiológica de la planta de albahaca en la fase uno, como se puede apreciar en la tabla 1, eficiencia que va disminuyendo con el incremento del IAF de la planta, como se puede observar en las gráficas 2A, 2B y 2C. Trabajo realizado por Carranza *et al.* (2009) mostró resultados similares en lechuga, en un suelo salino de la Sabana de Bogotá.

El mejor desempeño fisiológico de la planta de albahaca se manifestó durante los primeros 14ddt, para ir decreciendo hasta los 61ddt, como consecuencia de un crecimiento sigmoide característico; crecimiento controlado que, en un momento dado, puede variar por la interacción de la planta con el medio ambiente y por el manejo que se le de al cultivo. Se concluye que el productor debe centrar su atención al cultivo durante los primeros 14ddt, período donde la planta debe llegar a maximizar su crecimiento y que las prácticas agronómicas, como variedad, nutrición, despuntes y riego, al igual que la siembra del cultivo en zonas cálidas, deberían cambiar los valores de crecimiento de la albahaca aquí presentados.

Se determinaron tres fases de desarrollo hasta llegar a floración, bajo las condiciones del trabajo, caracterizadas por cambios importantes en las variables evaluadas y en las tasas calculadas. Estas fases deben cambiar en los valores obtenidos en zonas cálidas, como el Valle del Cauca y Tolima, donde el ciclo del cultivo llega a los 48 – 50 días y el despunte que se le realiza al cultivo modifica la estructura de la planta y la eficiencia fisiológica de la misma; sin embargo, la información aquí expresada es útil, como referente para futuras investigaciones y para el cultivador de albahaca, ya que permite conocer el comportamiento del cultivo, a unas condiciones dadas de manejo y de ambiente.

Conflicto de intereses: El trabajo fue preparado y revisado por el primer autor, con el aval de los otros autores; no existe ningún conflicto de intereses que pongan en riesgo la validez de los resultados presentados. **Financiación:** Esta investigación fue financiada por la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (U.D.C.A).

BIBLIOGRAFÍA

- ABELLO, J.; CLAVIJO, J.; BAREÑO, P. 2006. Estudio preliminar de algunos descriptores fisiológicos en cinco hierbas aromáticas. En: Últimas tendencias en hierbas aromáticas culinarias para exportación en fresco. Curso de extensión. Universidad Nacional de Colombia. Producción Editorial Produmedios. p.13-15.
- AGUILAR, M.; CARRILLO, S.; RIVERA, A.; GONZÁLEZ, V. 2006. Análisis de crecimiento y de relaciones fuente-demanda en dos variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.). Rev. Fitotecn. Mex. A.C. 29(2):145-156.
- BARACALDO, A.; IBAGUÉ, A.; FLÓREZ, V. 2010. Tasas e índices de crecimiento a segundo pico de cosecha en clavel estándar cv. Nelson cultivado en suelo y en sustratos. Agr. Col. 28(2):209-217.

4. BARCELÓ, J., G NICOLÁS, G.; SABATER, B.; SÁNCHEZ, R. 1995. Fisiología Vegetal. Madrid, España. Ediciones Pirámide. 662p.
5. BARRAZA, F.; FISCHER, G.; CARDONA, C. 2004. Estudio del proceso de crecimiento del cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en el valle del Sinú medio, Colombia. Agr. Col. 22(1):81-90.
6. BARREIRO, A.; ZUCARELI, V.; ORIKA, E.; DOMINGOS, J. 2006. Análise de crescimento de plantas de manjeriço tratadas com reguladores vegetais. Bragantia. 65(4):563-567
7. BARROSO, L.; JEREZ, E. 2002. Fenología de la albahaca blanca (*Ocimum basilicum* L) cultivada en diferentes fechas de siembra. Cultivos Tropicales. 23(2):43-46
8. BERDONCES, J. 2010. Gran Enciclopedia de las Plantas Medicinales. De la A a la Z. Tomo 1. Grupo Océano, España, 646p.
9. BROWN, R.H. 1984. Growth of the green plant. En: Physiological Basis of Crop Growth and Development. Am. Soc. Agr. Madison. p.153-174.
10. CAMPOSTRINI, E.; YAMANISHI, O.K. 2001. Estimativa da área foliar do mamoeiro utilizando o comprimento da nervadura central. Sci. Agr. (Brasil). 58(1):39-42.
11. CARRANZA, C.; LANCHERO, O.; MIRANDA, D.; CHAVES, B. 2009. Análisis de crecimiento de lechuga (*Lactuca sativa* L.) "Batavia" cultivada en un suelo salino de la Sabana de Bogotá. Agr. Col. 27(1):41-48.
12. CASIERRA-POSADA, F.; HERNÁNDEZ, D.I.; LÜDDERS, P.; EBERT, G. 2003. Crecimiento de frutos y ramas de manzano Anna (*Malus domestica* Borkh.) cultivado en los altiplanos colombianos. Agr. Col. 21(1-2):69-74.
13. CASIERRA, F.; CARDOZO, M. 2009. Análisis básico del crecimiento en frutos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill cv. "Quindio") cultivados a campo abierto. Rev. Fac. Nac. de Agr. Medellín. 62(1):4815-4822
14. CASTRO, R. 2005. Algunas notas sobre el cultivo de albahaca en un sistema hidropónico bajo invernadero, California USA. En: Hierbas Aromáticas culinarias para exportación en fresco. Curso de extensión. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía. Proyecto Hierbas Aromáticas. 15p.
15. CONTRERAS, A.; GÓMEZ, C. 2008. Evaluación de tres variedades de albahaca y dos dosis de fertilización en producción hidropónica y en suelo. Carrera de Ciencia y producción Agropecuaria. Zamorano, Honduras. 13p.
16. CORPORACIÓN COLOMBIA INTERNACIONAL CCI. 2007. Albahaca. En: Plan Hortícola Nacional. p. 223-232.
17. DONG, B.; SANG, W.L.; JIANG, X.; ZHOU, J.M.; KONG, F.X.; HU WANG, L.S. 2002. Effects of aluminum on physiological metabolism and antioxidant system of wheat (*Triticum aestivum* L.). Chemosph. 47(1):87-92.
18. FLÓREZ, V.; MIRANDA, D.; CHAVES, B.; CHAPARRO, L.; CÁRDENAS, C.; FARIAS, A. 2006. Parámetros considerados en el análisis de crecimiento en rosa y clavel en los sistemas de cultivo en suelo y sustrato. En: Flórez, V.J.; Fernández, A.; Miranda, D.L.; Chaves, B.C.; Guzmán, J.M. (eds.) Avances sobre fertirriego en la floricultura colombiana. UNIBIBLOS. p.43-52.
19. GHAZI, M.; NOBAHAR, A.; ALÍ, M. 2012. Effects of variety, planting pattern and density of plant phenology traits basil plants (*Ocimum basilicum* L.). Int. J. Agr. Crop Sci. 4(17):1221-1227
20. GRIME, J.P.; MACKEY, L.P. 2002. The role of plasticity in resource capture by plants. Evol. Ecol. 16:299-307.
21. HUNT, R. 1982. Plant growth curves. The functional approach to plant growth analysis. Edward Arnold Publishers, London. 248p.
22. HUNT, R. 2003. Plant growth analysis: individual plants. En: Thomas, B.; Murphy, D.J.; Murray, D. (eds). Encyclopaedia of Applied Plant Sciences. Academic Press, London, p.579-588
23. JARMA, A.; RENGIFO, T; ARAMÉNDIZ-TATIS, H. 2006. Fisiología de estevia (*Stevia rebaudiana*) en función de la radiación en el Caribe Colombiano. II. Análisis de crecimiento. Agr. Col. 24(1):38-47.
24. MALDONADO, G.; CORCHUELO, G. 1993. Dinámica de crecimiento de dos variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). I. Análisis de crecimiento por períodos fijos. Agr. Col. 10(2):114-121.
25. MATUS, F.; MAIRE, C. 2000. Relación entre la materia orgánica del suelo, textura del suelo y tasas de mineralización de carbono y nitrógeno. Agr. Téc. 60(2):112-126.

26. RAMÍREZ, J.; MORENO, A.; MURILLO, E. 2001. Evaluación agronómica e industrial de siete variedades de albahaca en la zona cafetera colombiana. *Cenicafé*. 52(2):117-126.
27. RÚÍZ, F.; MARRERO, P.; CRUZ, O.; MURILLO, B.; GARCÍA, J. 2008. Influencia de los factores agroclimáticos en la productividad de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) en una zona árida de Baja California sur, México. *Rev. Ciencias Téc. Agrop.* 17(1):44-47
28. SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. 1994. *Fisiología Vegetal*. Grupo Editorial Iberoamericana S.A. Mexico, 759p.

Recibido: Enero 24 de 2012
Aceptado: Marzo 25 de 2013

EVALUACIÓN DE INSECTICIDAS NO CONVENCIONALES PARA EL CONTROL DE *Aphis gossypii* Glover (HEMIPTERA: APHIDIDAE) EN FRÍJOL

EVALUATION OF NON-CONVENTIONAL INSECTICIDES FOR THE CONTROL OF *Aphis gossypii* Glover (HEMIPTERA: APHIDIDAE) IN BEANS

Manuel J. Peña¹, Julio C. Castro², Alberto Soto³

¹ Especialista en Agroecología Tropical Andina. Universidad Santa Rosa de Cabal, Colombia; manueljp75@misena.edu.co ² Especialista en Agroecología Tropical Andina. Universidad Santa Rosa de Cabal, Colombia; jucecavi@misena.edu.co ³ I.A., M.Sc., Ph.D. Profesor Titular Universidad de Caldas. Calle 65 No 26-10 Manizales, Caldas, Colombia; alberto.soto@ucaldas.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 131 - 138, 2013

RESUMEN

La concentración letal (CL) es usada para estimar la toxicidad de pesticidas a artrópodos; sin embargo, la CL es una medida incompleta de los efectos de los productos sobre poblaciones, pues analiza solamente la mortalidad, como parámetro de toxicidad. Se sabe que individuos que sobreviven a la exposición a pesticidas pueden sufrir efectos subletales. En este trabajo fue estudiado en laboratorio los efectos letales y subletales del caldo sulfocálcico, *Azadirachta indica* (Bioneem®) y *Allium sativum-Capsicum chinense* (Alisin®) en el crecimiento poblacional de *A. gossypii* y el efecto fitotóxico de estos insecticidas sobre plantas de fríjol. Los efectos letales fueron estimados a través de test de toxicidad aguda con obtención de curvas dosis-respuesta y sus respectivas concentraciones letales y los efectos subletales, a través de la estimativa de la tasa instantánea de crecimiento poblacional (r_i). Las concentraciones letales (CL₉₅) y subletales (CL₅₀) del Caldo sulfocálcico fueron 0,64 y 0,25% del producto, respectivamente, para el Bioneem®, de 1,22 y 0,71% del producto, y para el Alisin®, de 2,18 y 0,94% del producto, lo que indica que se podrían utilizar para el control del fitófago. No se presentaron síntomas graves de fitotoxicidad sobre las plantas asperjadas. El manejo de *A. gossypii* en fríjol es posible de ser realizado con los productos Caldo sulfocálcico, Bioneem® y Alisin®.

Palabras clave: Áfidos, *Azadirachta indica*, azufre, productos alternativos.

SUMMARY

The lethal concentration (CL) is used to estimate the toxicity of pesticides in arthropods; however, CL is an incomplete measure of the effects of these products on populations, since it only examines toxicity as a function of mortality. It is known that individuals which survive the exposure to pesticides may suffer sublethal effects. This work studied, under laboratory conditions the lethal and sublethal effects of lime sulphur, *Azadirachta indica* (Bioneem®) and *Allium sativum-Capsicum chinense* (Alisin®) on the population growth of *A. gossypii* and the phytotoxic effect of these insecticides on bean plants. Lethal effects were estimated through tests of acute toxicity to obtain dosage-response curves and their respective lethal concentrations and sublethal effects by estimating the instantaneous population growth rate (r_i). The lethal and sublethal concentrations of lime sulfur against were 1.22 and 0.25% of the product, respectively, for the Bioneem® were 1.22 and 0.71% of the product, respectively, and the Alisin® 2.18 and 0.94% of the product, indicating that it could be used to control this phytophagous insect. There were no severe symptoms of phytotoxicity detected on sprayed plants. The management of *A. gossypii* in beans can be made with lime sulphur, Bioneem® and Alisin®.

Key words: Aphids, *Azadirachta indica*, sulfur, alternative products.

INTRODUCCIÓN

Aphis gossypii Glover, 1877 (Hemiptera: Stenorrhyncha: Aphididae) es una plaga cosmopolita y altamente polífaga, presente en más de 90 familias de plantas (Michelotto *et al.* 2004). Las altas poblaciones de este insecto ocasionan deformación y encrespamiento de las hojas y retraso en el crecimiento de las plantas, además de ser importantes agentes transmisores de virus (Bueno, 2005).

El control químico sigue siendo la herramienta más utilizada por los productores para el control de la plaga; sin embargo, a pesar de su eficiencia, presenta aspectos negativos, como selección de individuos resistentes, debido al uso continuo de ingredientes activos, reducción o supresión de especies benéficas, alta toxicidad de los productos a los aplicadores, presencia de residuos en los alimentos y, en el medio ambiente, fitotoxicidad, entre otros (Filgueira, 2000; Easterbrook *et al.* 2001; Fragoso *et al.* 2002; Picanço *et al.* 2007).

Una alternativa viable a los problemas ocasionados por el uso excesivo de plaguicidas sintéticos en el cultivo de frijol es la utilización de nuevos ingredientes activos que deben priorizar la seguridad ambiental y social y que sean eficientes en el control de *A. gossypii*. En la búsqueda de tales sustancias, productos alternativos, como los caldos fitoprotectores y los extractos de plantas, han sido usados por productores de hortalizas para control de plagas y enfermedades, especialmente, en los sistemas de producción ecológicos y orgánicos (Penteado, 2000; Campanhola & Bettiol, 2003; Venzon *et al.* 2007; Soto *et al.* 2011).

Dentro de esos productos, se encuentra el nim *Azadirachta indica* A. Juss, cuyo principal compuesto activo es la azadirachtina, un tetranortriterpenoide aislado de las semillas (Rembold, 1989; Martínez, 2002), que presenta elevada acción insecticida y acaricida, bajísima toxicidad al hombre y animales domésticos, selectividad a los enemigos naturales, además de no agredir el ambiente (Mansour & Ascher, 1983; Spollen & Isman, 1996; Momen *et al.* 1997; Castagnoli *et al.* 2000; El-Gengaihi *et al.* 2000; Mourão *et al.* 2004; Brito *et al.* 2006; Soto *et al.* 2011).

El ajo, *Allium sativum* y el ají, *Capsicum*, se han utilizado para el control de insectos minadores, chupadores, barrenadores y masticadores. Estas plantas presentan acción repelente y actúan por ingestión, causando trastornos digestivos, por lo tanto, el insecto deja de alimentarse. El Alisin® es un producto comercial a base de ají-ajo utilizado por los agricultores, para el control de plagas en hortalizas (Vásquez, 2005).

El caldo sulfocálcico es otro producto alternativo empleado para el control de plagas, obtenido por el tratamiento térmi-

co del azufre y de la cal. El efecto tóxico de ese producto a los insectos y ácaros es debido a la liberación de gas sulfídrico (H₂S) y azufre coloidal, cuando se aplica sobre las plantas (Abbot, 1945). El uso del Caldo sulfocálcico ha sido relatado con éxito para el control de insectos y de ácaros (Wardlow & Ludlam, 1975; Guerra, 1985; Penteado, 2000; Guirado, 2001; Ocete *et al.* 2003; Venzon *et al.* 2007; Soto, 2009; Soto *et al.* 2011).

En este trabajo, se evaluó el potencial del caldo sulfocálcico (31,5⁰B) y de formulaciones comerciales a base de nim Bioneem® y de Ají-ajo Alisin®, para el control de *A. gossypii*. Inicialmente, se avaluó la toxicidad letal, a través de la estimativa de la concentración letal (CL) de los productos; sin embargo, como la CL es una medida incompleta de los efectos de los productos sobre poblaciones, pues analiza solamente la mortalidad como parámetro de toxicidad (Stark & Banks, 2003); se apreció también los efectos subletales de los productos, por medio de la estimativa de la tasa instantánea de crecimiento poblacional (ri) (Stark & Rangus, 1994). Posteriormente, fue evaluado en invernadero la fitotoxicidad que causan dichos productos sobre las plantas de frijol asperjadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo, se realizó en el laboratorio de Entomología del Departamento de Producción Agropecuaria, de la Universidad de Caldas, Manizales. La cría de *A. gossypii* fue iniciada con áfidos colectados en plantas de frijol provenientes de la granja Tesorito de la Universidad de Caldas y mantenida en plantas de frijol infestadas con el insecto y ubicadas en jaulas de madera, forradas con muselina. Fueron estudiados los efectos letales y subletales del caldo sulfocálcico a 31,5⁰Baumé y de los productos comerciales Bioneem® (3,3mg/L de Azadirachtina) y Alisin® (70g/L de ají-ajo) sobre *A. gossypii*. Los efectos letales fueron estimados a través de test de toxicidad aguda con obtención de curvas dosis-respuesta y sus respectivas concentraciones letales (CL) y los efectos subletales, por medio de la estimativa de la tasa instantánea de crecimiento poblacional (ri).

Fueron estimadas las concentraciones letales del Caldo sulfocálcico, que fue preparado de acuerdo con metodología adaptada de Penteado (2000), utilizando tratamiento térmico del azufre y cal virgen (para cada litro de agua, 250g de azufre y 125g de cal virgen) y de los productos Bioneem® y Alisin®, para hembras adultas de *A. gossypii*. Las concentraciones evaluadas fueron escogidas a través de bioensayos iniciales y se situaron entre el límite inferior, donde el producto no causó mortalidad y el límite superior de respuesta, donde generó 100% de mortalidad.

Los bioensayos de concentración-respuesta fueron realiza-

dos utilizándose hembras del áfido *A. gossypii* al inicio de la fase reproductiva. Los productos fueron pulverizados en discos ($\varnothing = 3,0\text{cm}$) de hojas de fríjol, acondicionados en caja de Petri, por medio de aspersor manual Brudden® modelo S.S., con capacidad de cinco litros, provisto con una boquilla tipo cono regulable, con una presión de 5lb/pul² y con aplicación de un volumen igual a 2,5mL, lo que corresponde a un depósito de $1,70 \pm 0,07\text{mg/cm}^2$ sobre la superficie tratada

Los discos asperjados con los productos y con agua (testigo) fueron expuestos al ambiente por una hora. Posteriormente, 10 hembras de *A. gossypii* fueron colocadas sobre cada disco; cada concentración del producto fue repetida cinco veces. Los discos de hojas tratados fueron mantenidos en cámara climatizada ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\%$ HR y 12h de luz); la mortalidad fue evaluada 24h después a la aplicación de los productos y las curvas de concentración-mortalidad fueron estimadas por el análisis de Probit (Finney, 1971).

La evaluación de la acción subletal de los productos sobre el áfido *A. gossypii* fue realizada utilizándose la misma metodología citada para la evaluación de la acción letal de los productos; el tiempo de evaluación fue de 15 días.

Para cada concentración de cada producto fueron ejecutadas cinco repeticiones, donde cada una fue representada por un disco con diez hembras de *A. gossypii*. Los áfidos fueron mantenidos en cámaras climatizadas sobre las mismas condiciones descritas en los experimentos de toxicidad letal. La evaluación del efecto subletal, se realizó a través de la estimativa de la tasa instantánea de crecimiento (r_i), por la siguiente fórmula (Stark & Banks, 2003):

$$r_i = \ln (N_f / N_0) / \Delta t$$

Donde N_f es el número final de individuos; N_0 es el número inicial de individuos y Δt es la variación de tiempo (duración del experimento 15 días). El valor positivo de r_i significa que la población está en crecimiento; $r_i = 0$, indica que la población está estable, mientras que un valor negativo de r_i señala que la población está en descenso y en vías de extinción. El análisis de regresión, se aprovechó para la evaluación de r_i en función de las concentraciones utilizadas.

Fueron evaluados los síntomas visuales de fitotoxicidad en plantas de fríjol variedad calima con 30 días de edad, para cada tratamiento (caldo sulfocálcico 0,25 y 0,64%, Bio-neem® 0,71 y 1,22%, y Alisin® 0,94 y 2,18%), por dos observadores, a través de la siguiente escala visual de notas: Nota 0: Plantas con hojas normales, sin síntoma de quemaduras; Nota 1: Plantas con hojas levemente lesionadas o con pequeñas áreas quemadas; Nota 2: Plantas con hojas medianamente quemadas, amarillas y con bordes y ápices quemados; Nota 3: Plantas con hojas intensamente lesionadas, presentando severa defoliación.

Los datos de fitotoxicidad fueron transformados para $\text{arcsen}\sqrt{x/100}$ y sometidos a análisis de varianza del Modelo Lineal General. Este tipo de análisis fue hecho usando el indicador Wilks' Lambda (SAS Institute, 1989), versión 9.0 con especificación PROFILE.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Toxicidad letal: Para el Caldo sulfocálcico fueron obtenidas Cl_{50} de 0,25 y la Cl_{95} de 0,64% de concentración del producto a 31,5° B. Para el Bioneem® fueron obtenidas Cl_{50} de 0,71 y la Cl_{95} de 1,22% de ese producto. Para el Alisin® fueron obtenidas Cl_{50} de 0,94 y la Cl_{95} de 2,18% de concentración del producto (Tabla 1).

Tabla 1. Toxicidad de los productos alternativos al áfido *A. gossypii*.

Producto	N ¹	Coefficiente Angular $\pm EP^2$	Cl_{50}^3 (I.C. a 95%)	Cl_{95}^4 (I.C. a 95%)	χ^2	P
Caldo sulfoc.	150	0,21 \pm 0,05	0,25 (0,20 -0,32)	0,64 (0,38- 0,70)	0,63	0,41
Bioneem®	220	0,33 \pm 0,12	0,71 (0,67- 0,74)	1,22 (1,02- 1,43)	0,39	0,78
Alisin®	310	0,41 \pm 0,07	0,94 (0,81- 1,32)	2,18 (2,01 -2,44)	0,92	0,64

¹Número de áfidos evaluados

²Coefficiente angular y error padrón de la media

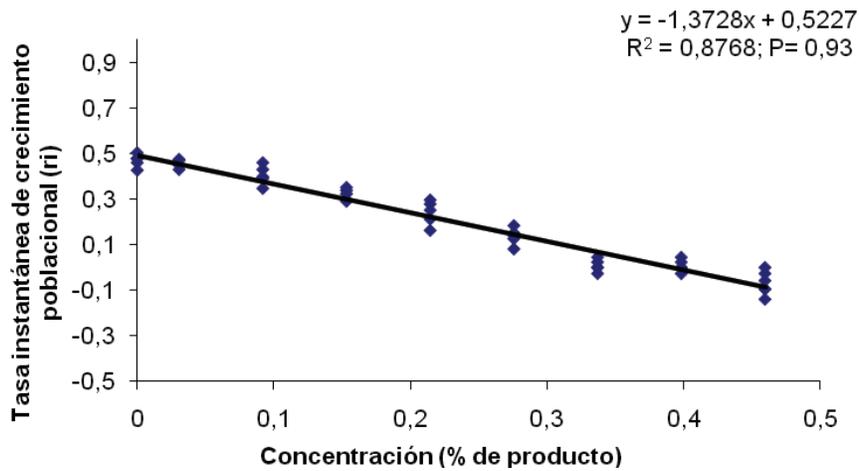
³Concentración letal media e intervalo de confianza a 95%

⁴Concentración letal que causa 95% de mortalidad e intervalo de confianza a 95%

Tasa instantánea de crecimiento poblacional: La tasa instantánea de crecimiento poblacional de *A. gossypii* fue igual a cero, indicando que la población está estable en las concentraciones de 0,39% del Caldo sulfocálcico; 0,56% del producto Bioneem® y 1.43% del producto Alisin® (Figuras 1 a 3).

Evaluación de la fitotoxicidad: Con relación a la fitotoxicidad, el análisis de varianza con medidas repetidas en el tiempo

indicó efectos significativos del producto ($F_{2,9} = 31,29$; $P = <0,0001$), de la concentración ($F_{1,9} = 6,32$; $P = 0,01$) y de la interacción producto x concentración ($F_{2,9} = 3,01$; $P = 0,03$) (Tabla 2). No se presentó efecto significativo entre el tiempo (Wilks' Lambda = 0,6539; $F = 0,51$; $GL_{num} = 2$; $GL_{den} = 12$; $P = 0,56$) y de las interacciones producto x tiempo (Wilks' Lambda = 0,3556; $F = 1,58$; $GL_{num} = 6$; $GL_{den} = 31,25$; $P = 0,14$), concentración x tiempo (Wilks' Lambda = 0,7928; $F = 0,23$; $GL_{num} = 2$; $GL_{den} = 12$; $P = 0,86$) y producto x



a

Figura 1. Tasa instantánea de crecimiento poblacional (r_i) de *A. gossypii* en función de la aplicación de concentraciones del Caldo sulfocálcico.

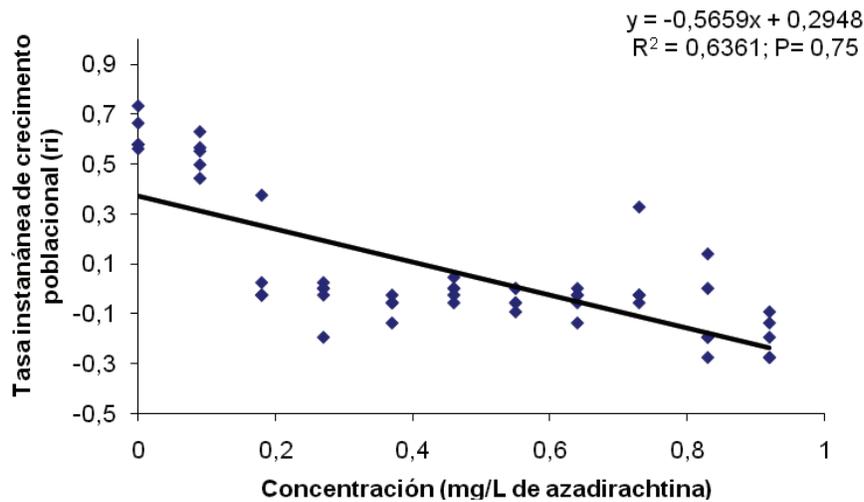


Figura 2. Tasa instantánea de crecimiento poblacional (r_i) de *A. gossypii* en función de la aplicación de concentraciones de Bioneem®.

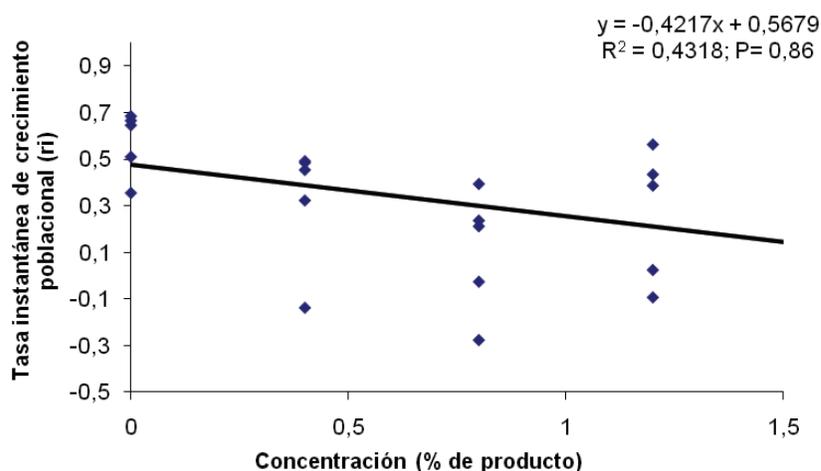


Figura 3. Tasa instantánea de crecimiento poblacional (r_i) de *A. gossypii* en función de la aplicación de concentraciones del producto comercial Alisin®.

concentración x tiempo (Wilks' Lambda= 0,5231; F= 0,89; GLnum= 6; GLden= 31,25; P= 0,53) (Tabla 3). Solamente se observó baja fitotoxicidad en las plantas asperjadas con Caldo sulfocálcico hasta el quinto día después de la aplicación; los otros tratamientos no presentaron síntomas de fitotoxicidad.

Para que se obtenga un 95% de mortalidad de *A. gossypii*, las concentraciones del caldo sulfocálcico, Bioneem® y Alisin® no fueron superiores a 0,64%, 1,22% y 2,18%, respectivamente. Eso demuestra que estos productos muestran potencial para ser aplicados sobre el cultivo de fríjol, con el objetivo de controlar poblaciones de *A. gossypii*, actualmente considerado como una importante plaga que ataca varios cultivos (Soglia *et al.* 2002; Pallini *et al.* 2004). Con relación a las concentraciones del Caldo sulfocálcico requeridas para el control de *A. gossypii*, las concentraciones letales y subletales fueron menores que las recomendadas y utilizadas en sistemas de cultivo orgánico. Estas concentraciones varían de 2 a 4% del producto que posee una densidad de 29 a 32°Baumé (Penteado, 2000; D'Andrea, 2001), aproximadamente, 0,58 a 1,28% de polisulfuro de calcio en el producto

pulverizado. Breda *et al.* (2011) evaluaron el insecticida a base de Azadirachtina Azamax® y el extracto acuoso de semillas de nim en concentraciones de 0 a 2% y de 0 a 2,5%, respectivamente, sobre el áfido *A. gossypii*, encontrando una mortalidad del 64 a 100% para Azamax® y de 12 a 92%, para el extracto acuoso de nim.

Soto *et al.* (2010) evaluaron sobre el cultivo de fresa los productos Neem Pro®, Organic Neem® y Natuneem® para el control de *T. urticae* (Acari: Tetranychidae), los cuales, controlaron el 95,28% de la población siete días después de la aplicación de los mismos, sin afectar a su predador *Phytoseiulus macropilis* (Acari: Phytoseiidae). En otro trabajo, se evaluaron dichos productos para el control del ácaro *Tetranychus evansi* (Acari: Tetranychidae) en el cultivo de tomate, ocasionando el 82% de control de la población de la plaga, un día después de la aplicación (Soto *et al.* 2011).

Los productos caldo sulfocálcico, Bioneem® y Alisin® representan una alternativa para el control de plagas, especialmente, cuando los agrotóxicos no son permitidos, como en cultivos orgánicos. Otro punto importante a ser considerado

Tabla 2. Análisis de varianza entre productos y dosis de la fitotoxicidad de los productos alternativos.

FV	GL	F	P
Producto	2	31,29	<0,0001 *
Concentración	1	6,32	0,01 *
Producto x concentración	2	3,01	0,03 *
Error	12		

Tabla 3. Análisis de varianza entre tiempo, productos y dosis de la fitotoxicidad de los productos alternativos.

FV	Wilks' Lambda	F	GL numerador	GL denominador	P
Tiempo	0,6539	0,51	2	12	0,56
Producto x tiempo	0,3556	1,58	6	31,25	0,14
Concent. x tiempo	0,7928	0,23	2	12	0,86
Producto x concent. x tiempo	0,5231	0,89	6	31,25	0,53

es que para aplicaciones cuyos áfidos no presentan mortalidad inmediata, debido a la concentración aplicada, fueron estudiados los efectos retardados de estos productos, esto es, efectos subletales, que representan cuál es la concentración que lleva a la parálisis del crecimiento poblacional. El crecimiento poblacional de *A. gossypii* fue interrumpido cuando se usó el Caldo sulfocálcico, el Bioneem® y el Alisin® en concentración de 0,39%, 0,56%, 1,43%, respectivamente. La obtención de control de *A. gossypii* a bajas concentraciones representa un gran avance en relación a los estudios, que buscan el control de ese áfido; sin embargo, el hecho que *A. gossypii* presente alta susceptibilidad, no implica que estos productos puedan ser aplicados indiscriminadamente en concentraciones más altas que las recomendadas, como resultado de experimentos científicos en campo o en invernadero, ya que se podría presentar problemas de fitotoxicidad.

Los efectos de las dosis subletales de los productos en la población se ven manifestados a través de la reducción en el periodo de vida, disminución de fertilidad, reducción de la fecundidad, cambios en el comportamiento sexual y en la alimentación (Stark *et al.* 1992); esto demuestra la importancia de utilizar concentraciones subletales de los productos alternativos para el manejo de *A. gossypii*. La decisión de usar concentraciones letales o subletales de los productos alternativos depende de la población plaga al momento de la aplicación. Los productos a base de nim y caldo sulfocálcico, en dosis subletales, presentan, normalmente, selectividad para los enemigos naturales (Dimetry *et al.* 1993; Castiglioni *et al.* 2002; Soto *et al.* 2011).

Estos resultados demuestran la eficiencia de la aplicación de los productos alternativos para el control de poblaciones de *A. gossypii*; sin embargo, la eficiencia de los productos alternativos para el control de plagas, así como la selectividad a enemigos naturales está relacionada con la dosis y con la formulación empleada. Es necesario tener un conocimiento técnico sobre el producto que se va a utilizar, para que se obtenga un control satisfactorio de las poblaciones de plagas, de manera que no afecte a los enemigos naturales asociados a estas (Soto *et al.* 2010).

La necesidad de encontrar productos alternativos a los agro-tóxicos convencionales con potencial preventivo y curativo contra las plagas y que no presenten efectos dañinos al medio ambiente, consumidor y productor viene creciendo en todo el mundo. Por presentar esas características, los productos caldo sulfocálcico, Alisin® y Bioneem® pueden ser considerados como importantes alternativas para uso en la agricultura tradicional y orgánica. En general, los efectos benéficos de los productos alternativos muchas veces son colocados en duda, debido a la posible fitotoxicidad que los mismos pudieran provocar; no obstante, en este trabajo fueron evaluados los posibles efectos fitotóxicos ocasionados por la aplicación de los productos alternativos, encontrándose muy baja fitotoxicidad.

La aplicación de los productos Alisin® (0,94 y 2,18%), Bioneem® (0,71 y 1,22%) y el Caldo sulfocálcico (0,25 y 0,64%), representan una alternativa viable para el control de *A. gossypii* sobre plantas de frijol, tanto cuando se aplican en las dosis letales como en las dosis subletales. En la utilización de dosis subletales es importante considerar el tiempo para la acción insecticida de esos productos.

Agradecimientos: Al Servicio Nacional de Aprendizaje SENA, Colombia, por el financiamiento de la investigación. **Conflictos de intereses:** El artículo fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

1. ABBOT, C.E. 1945. The toxic gases of lime-sulfur. J. Econ. Entomol. 38(5):618-620.
2. BREDA, M.O.; OLIVEIRA, J.; MARQUES, E.J.; FERREIRA, R.G.; SANTANA, M.F 2011. Inseticidas botânicos aplicados sobre *Aphis gossypii* e seu predador *Cycloneda sanguinea* em algodão colorido. Pesquisa Agropec. Brasileira. 46(11):1424-1431.

3. BRITO, H.M.; GUEDES, M.; VARGAS, A.; GOMES, C.A. 2006. Toxicidade de Natuneem sobre *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e ácaros predadores da família Phytoseiidae. *Ciência e Agrotecnol.* 30:75-78.
4. BUENO, V.H.P. 2005. Controle biológico de pulgões ou afídeos-praga em cultivos protegidos. *Informe Agropecuário, Belo Horizonte.* 26(225):9-17.
5. CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. 2003. Panorama sobre o uso de agrotóxicos no Brasil. In: Campanhola, C.; Bettiol, W. (ed.). *Métodos alternativos de controle fitossanitário.* Jaguariúna. Embrapa Meio Ambiente. p.13-51.
6. CASTAGNOLI, M.; SIMONI, S.; GOGGIOLI, D. 2000. Attività biológica di sostanze vegetali nei confronti di *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e del suo predatore *Neoseiulus californicus* (Mcgregor) (Acari: Phytoseiidae). *Redia.* 83:141-150.
7. CASTIGLIONI, E.; VENDRAMIM, J.D.; TAMAI, M.A. 2002. Evaluación del efecto tóxico de extractos acuosos y derivados de meliáceas sobre *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari: Tetranychidae). *Agrociência.* 6:75-82.
8. D'ANDREA, P.A. 2001. Aspectos práticos e tendências no uso dos fertiprotetores. In: Hein, M. (org). *Resumos do 1º Encontro de Processos de Proteção de Plantas: controle ecológico de pragas e doenças.* Agroecológica. Botucatu. p.97-101.
9. DIMETRY, N.Z.; AMER, S.A.A.; REDA, A.S. 1993. Biological activity of two neem seed kernel extracts against the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch. *J. Appl. Entomol.* 116:308-312.
10. EASTERBROOK, M.A.; FITZGERALD, J.D.; SOLOMON, M.G. 2001. Biological control of strawberry tarsonemid mite *Phytonemus pallidus* and two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* on strawberry in the UK using species of *Neoseiulus* (*Amblyseius*) (Acari: Phytoseiidae). *Exp. Appl. Acarol.* 25:25-36.
11. EL-GENGAIHI, S.; DIMETRY, N.Z.; AMER, S.A.A.; MOHAMED, S.M. 2000. Acaricidal activity of lipoidal matter of different plant extracts against the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch. *Insect Sci. Appl.* 20 (3):191-194.
12. FILGUEIRA, F.A.R. 2000. *Novo manual de olericultura - agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças.* Viçosa: UFV. 402p.
13. FINNEY, D.J. 1971. *Probit analysis.* Cambridge: Cambridge University Press. 333p.
14. FRAGOSO, D.B.; GUEDES, R.N.C.; PICANÇO, M.C.; ZAMBOLIM, L. 2002. Insecticide use and organophosphate resistance in the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). *Bull. Entomol. Res.* 92:203-212.
15. GUERRA, M.S. 1985. *Receituário caseiro: alternativa para o controle de pragas e doenças de plantas cultivadas e seus produtos.* Brasília: EMATER. 166p.
16. GUIRADO, N. 2001. Extrato de plantas no controle da leprose dos citros. In: Hein, M. (org). *PRIMER ENCONTRO DE PROCESSOS DE PROTEÇÃO DE PLANTAS: Controle ecológico de pragas e doenças.* Agroecológica, Botucatu. p.147-159.
17. MANSOUR, F.A.; ASCHER, K.R.S. 1983. Effects of neem (*Azadirachta indica*) seed kernel extracts from different solvents on the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*. *Phytoparasitica.* 11:177-185.
18. MARTÍNEZ, S.S. 2002. *O nim Azadirachta indica: Natureza, Usos Múltiplos, Produção.* Londrina, IAPAR-Instituto Agrônômico do Paraná. 142p.
19. MICHELOTTO, M.D.; Silva, R.A.; Busoli, A.C. 2004. Tabelas de vida para *Aphis gossypii* Glover, 1877 (Homiptera: Aphididae) em três espécies de plantas daninhas. *Bol. San. Veg. Plagas. Madrid.* 30(1):211-217.
20. MOMEN, F.M.; REDA, A.S.; AMER, S.A.A. 1997. Effect of Neem Azal-F on *Tetranychus urticae* and three predacious mites of the family Phytoseiidae. *Acta Phytopath. Entomol. Hung.* 32:355-362.
21. MOURÃO, S.A.; SILVA, J.C.T.; GUEDES, R.N.C.; VENZON, M.; JHAM, G.N.; OLIVEIRA, C.L.; ZANUNCIO, J.C. 2004. Seletividade de extratos de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) ao ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* (Denmark & Muma) (Acari: Phytoseiidae). *Neotrop. Entomol.* 33:613-617.
22. OCETE, R.; LÓPEZ, M.A.; DANCShÁZY, Z.; OCETE, M.E.; PÉREZ, M.A.; KAJATI, I.; RÜLL, G. 2003. IPM-sustainable tests on two apple tree pests, *Eriosoma lanigerum* Hausm (Homoptera: Aphididae) and *Aphis pomi* De Geer (Homoptera: Aphididae), carried out in La Rioja (Spain). *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.* p.35-45.

23. PALLINI, A.; VENZON, M.; OLIVEIRA, H.G.; FADINI, M.A.M. 2004. Manejo Integrado de Pragas em cultivos protegidos. In: Aguilar, R.L.; Darezzo, R.J.; Roza-ne, D.E.; Aguilera, G.A.H. & Silva, D.J.H. Cultivo em ambiente protegido. Viçosa, M.G. UFV. 1:207-224.
24. PENTEADO, S.R. 2000. Controle alternativo de pragas e doenças com as caldas bordalesa, sulfocálcica e Viçosa. Buena Mendes Gráfica e Editora, Campinas. 95p.
25. PICANÇO, M.C.; SOTO, A.; BACCI, L.; FIDELIS, E.G.; SILVA, G.A.; DE SENA, M.E. 2007. Controle biológico das principais pragas de hortaliças no Brasil. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). Manejo integrado de doenças e pragas hortaliças. Viçosa: UFV. p.505-537.
26. REMBOLD, H. 1989. Azadirachtina, their structure and mode of action. In: ARNASON, J.T.; PHILOGENE, B.J.R.; MORAND, P. (Eds.) Insecticides of plant origin. Washington: ACS. 11. p.150-163.
27. SAS INSTITUTE. 1989. SAS User's Guide: Statistics, Version 9.0, 7th ed. SAS Institute, Cary, NC.
28. SOGLIA, M.C.M.; BUENO, B.H.P.; SAMPAIO, M.V. 2002. Desenvolvimento e sobrevivência de *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) em diferentes temperaturas e cultivares comerciais de crisântemo. Neotrop. Entomol. 31(2):211-216.
29. SOTO, A. 2009. Control del ácaro *Oligonychus ilicis* con calda sulfocálcica. Revista Agronomía. U. Caldas. 17(1):7-11.
30. SOTO, A.; VENZON, M.; OLIVEIRA, R.M.; OLIVEIRA, H.G.; PALLINI, A. 2010. Alternative control of *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard (Acari: Tetranychidae) on tomato plants grown in greenhouses. Neotrop. Entomol. 39(4):638-644.
31. SOTO, A.; OLIVEIRA, H.; PALLINI, A. 2011. Integración de control biológico y de productos alternativos contra *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Rev. U.D.C.A. Act. & Div. Cient. 14 (1):23-29.
32. SPOLLEN, K.M.; ISMAN, M.B. 1996. Acute and sublethal effects of a neem insecticide on the commercial biological control agents *Phytoseiulus persimilis* and *Amblyseius cucumeris* (Acari: Phytoseiidae) and *Aphidoletes aphidimyza* (Diptera: Cecidomyiidae). J. Econ. Entomol. 89:1379-1386.
33. STARK, J.D.; VARGAS, R.I.; MESSING, R.H.; PURCELL, M. 1992. Effects of cyromazine and diazinon on three economically important Hawaiian tephritid fruit flies (Diptera: Tephritidae) and their endoparasitoids (Hymenoptera: Braconidae). J. Econ. Entomol. 85:1687-1694.
34. STARK, J.D.; BANKS, J.E. 2003. Population – level effects of pesticides and other toxicants on arthropods. Ann. Rev. Entomol. 48:505- 519.
35. STARK, J.D.; RANGUS, T. 1994. Lethal and sublethal effects of the neem insecticide, Margosan-O, on pea aphid. J. Pest Sci. 41:155-160.
36. VÁSQUEZ, R.F. 2005. Evaluación de extractos vegetales en el control de insectos plaga a nivel de huerto familiar. Memoria de residencia. ITAO. No. 23 Oaxaca. México. 35p.
37. VENZON, M.; PALLINI, A.; FADINI, M.A.M.; OLIVEIRA, H.; MIRANDA, V.S.; DE ANDRADE, A.P.S. 2007. Controle alternativo de ácaros em hortaliças. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). Manejo integrado de doenças e pragas hortaliças. Viçosa: UFV. p.607-625.
38. WARDLOW, L.R.; LUDLAM, F.A.B. 1975. Biological studies and chemical control of brown scale (*Parthenolecanium corni* (Bouché)) on Red Currant. Plant Pathol. 24:213-216.

Recibido: Octubre 23 de 2012

Aceptado: Abril 22 de 2013

PLÁSTICOS EN LA AGRICULTURA: BENEFICIO Y COSTO AMBIENTAL: UNA REVISIÓN

PLASTIC PRODUCTS IN AGRICULTURE: BENEFICE AND AMBIENT COST: A REVIEW

Ingeborg Zenner de Polanía¹, Fernando Peña Baracaldo²

¹ I.A., M.Sc., Ph.D. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, izenner@udca.edu.co; ² I.A., M.Sc. Docente Investigador, Facultad de Ingeniería Agronómica, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Calle 222 No. 55-37, Bogotá, DC. fepena@udca.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1):139 - 150, 2013

RESUMEN

El empleo de diversos elementos plásticos, tales como bolsas, cintas, coberturas, mangueras, entre otras, en la agricultura y su deshecho inadecuado, se traduce en la contaminación ambiental y visual del agro colombiano. El actual manuscrito presenta un análisis de los principales usos de estos productos, de su vida útil, de su positiva o negativa biodegradabilidad y de su posible costo ambiental, basado en recomendaciones de su manejo, descrito en la literatura, observaciones de campo y sugerencias de posibles maneras de disponer de estas "basuras", una vez que los elementos cumplan su propósito. Igualmente, se hace un análisis de un factible remplazo del "plástico" por otros elementos, menos contaminantes, pero potencialmente utilizables, para los propósitos enunciados, en bien de la producción agrícola de frutas, de la protección del suelo, del manejo de malezas, entre otras prácticas agronómicas. Se concluye que, a pesar de la amplia aceptación de la tecnología de la plasticultura, no se fundamenta en investigación autóctona que compruebe sus beneficios, sino en la adopción de conocimientos foráneos. Considerable actividad investigadora, se está realizando, sin embargo, en el país en la búsqueda de polímeros biodegradables que podrían reemplazar los sintéticos.

Palabras clave: Polímeros, contaminación, prácticas agrícolas, almidón, sostenibilidad.

SUMMARY

The use in agriculture of diverse plastic elements, such as bags, covers, hoses, between others, and the inappropriate destruction, translates into environmental and visual pollution of the Colombian field. The present manuscript presents an analysis of the main uses of these products, of their useful

life, of its positive or negative bio-degradability and its potential environmental cost, based on recommendations of its management, described in the literature, field observations and suggestions of ways to dispose of this "rubbish", once the elements comply with its purpose. Also, an analysis of a possible replacement of the "plastic" by other elements, less polluting, but potentially usable for the purposes are included in the interest of the agricultural fruit production, soil protection, weed management, between other agronomic practices. We conclude that despite the wide acceptance of the plasticulture technology this is not based on indigenous research that proves its benefits, but in adopting foreign knowledge. Substantial research activity is however being performed in the country in search of biodegradable polymers that could replace the synthetic ones.

Key words: Polymers, pollution, agricultural practices, starch, sustainability.

INTRODUCCIÓN

El empleo de diferentes tipos de polímeros sintéticos en la agricultura es una tecnología emergente que ha permitido convertir tierras aparentemente improductivas en explotaciones agrícolas productivas y, en algunos casos, incrementar la calidad de frutas y de hortalizas. Tiene múltiples aplicaciones, que se concentran en su uso en invernaderos, en túneles, en microtúneles, en alcochado o mulching, en mallas para sombrío y en embolsado (Macías *et al.* 2011; Stavisky, 2010; Espi *et al.* 2006). La plasticultura, el uso de plásticos en la agricultura, como lo definen Delgado *et al.* (2011), se introdujo en los países desarrollados en la mitad del siglo pasado, mientras que los países en vía de desarrollo adoptaron esta tecnología, en forma profusa, en los años noventa. De acuerdo a Espi *et al.* (2006), los materiales más emplea-

dos para invernaderos y túneles corresponden a polietileno de baja densidad y copolímeros de acetato de vinil etileno o acrilato butil etileno y de polietileno de baja densidad lineal para el acolchado.

La tecnología emplea estos elementos plásticos de corta vida útil que, cumplidos su función, se convierten, al no ser reciclado, en basura contaminante. La mayoría de estos productos son de baja biodegradabilidad (alta recalcitrancia), generando elevadas cantidades de residuos (Meneses *et al.* 2007). Permanecen, a la vista causando, fuera de la contaminación ambiental, una marcada contaminación visual. De este aspecto negativo, se percata el habitante de las ciudades al pasear por el campo en busca de esparcimiento o, como ocurre en muchos casos, compra de frutas y de verduras, empacadas en bolsas plásticas, que luego terminan en el borde de las carreteras. A menudo, se observan también invernaderos improductivos abandonados y la dispersión del plástico de cobertura por el viento (Foto 1a).

El polietileno agrupa una familia numerosa de polímeros de distintas estructuras moleculares, que confieren distintas características. Tenemos: polietileno de Alta Densidad (PEAD), Polietileno de Baja Densidad (PEBD) y Polietileno Lineal de Baja Densidad (PELBD) (butano, hexeno, octeno) (Espí *et al.* 2006; González-Viñas & Mancini, 2003).

Aquellos investigadores que están encaminando sus trabajos a la búsqueda de alternativas poliméricas biológicas para reemplazar los sólidos plásticos consideran, precisamente, que estos materiales son los contaminantes más comunes, a nivel mundial (Baraldi de Pauli *et al.* 2001; Medina & Salas, 2003). La preocupación acerca de los contaminantes plásticos ha llegado a que inclusive, se diseñen y evalúen cadenas de desechos agrícolas plásticos, desde la generación hasta la disposición, con fines de recuperación de energía (Hiskakis *et al.* 2008).

La era “plástica”, se inició en Colombia en los años 70-80, con la construcción de los mal llamados “invernaderos”, para el cultivo de flores, inicialmente, el clavel, con la función básica de proporcionar condiciones climáticas más favorables que las existentes externamente, para acelerar el desarrollo de la flor y programar la cosecha destinada a la exportación. Tanto los invernaderos como los túneles y microtúneles facilitan también el manejo de las heladas con quemadores y riego. Estas estructuras cubiertas con “plástico” son también utilizados para hortalizas, como es el caso de tomate, que en Colombia se cultiva en aproximadamente 3800ha, bajo estas condiciones (FAO, 2007), en el Brasil, para pimentón (Scivittaro *et al.* 1999) y en México, para la producción de plántulas de ají, para disminuir el impacto de las enfermedades en los semilleros a aire libre (Macías *et al.* 2011).

Mulching o cobertura plástica del suelo tiene la finalidad de evitar el crecimiento de malezas, disminuir la evaporación del agua de riego mejorando la retención de humedad y evitar el contacto de los frutos con el suelo; su mayor aplicación se tiene en la actualidad para el cultivo de fresa (Santos & Obregón, 2009; Yuri *et al.* 2012); otras especies vegetales que son cultivadas bajo estas condiciones son el melón (Medeiros *et al.* 2006; Silva *et al.* 2005). Una investigación fue ejecutada por Arruda *et al.* (2005) en el algodón en Brasil, empleando cobertura para el control del coquito *Cyperus rotundus*, en cultivos con y sin riego. Establecieron que la plasticultura para el control de malezas es solamente económico, en un cultivo que depende de las lluvias.

Los filmes para acolchados constituyen la segunda aplicación en importancia (luego de invernaderos), por el volumen de los plásticos en las aplicaciones agrícolas; la superficie mundial bajo esta modalidad es de 4.530.000ha. Detallando por países, se destaca China, con 2.000.000ha; Japón, con 150.000ha y, Francia y España, con 100.000ha, cada uno. En Latinoamérica esta aplicación se ha desarrollado principalmente en Centroamérica y en México, superando este último país las 9000ha (Thompson *et al.* 2009).

Mallas para sombrío: Normalmente de color negro y de diversos mesh y calibre, cubren diversos cultivos, ante todo flores y las hortalizas, en la zona cafetera del país. Estas mallas evitan la incidencia directa de los rayos solares y modifica el microclima. En el Brasil, su empleo se ha generalizado en algunas áreas en el cultivo de la vid, con el propósito de disminuir la incidencia de enfermedades y promover un aumento en el desarrollo de la planta y del rendimiento (Chavarria & Santos, 2009; Chavarria *et al.* 2007).

Embolse: El uso masivo en la agricultura del embolse de frutas, se inició a principios de los años noventa, para la protección de los racimos de plátano y en plantaciones, cuya producción tenía la exportación, como fin principal (Belalcazar *et al.* 1991). Esta práctica ya estaba siendo utilizada con éxito en Costa Rica (Vargas *et al.* 2010), con anterioridad en el Brasil (Rodrigues *et al.* 2001; Moreira (1987) y en Australia, donde ha sido de uso común desde los años cincuenta (Berrill, 1956; Robinson & Nel, 1984).

Fuera de la contaminación con los desechos parecen existir pocas desventajas de la plasticultura. Una revisión acerca del manejo de enfermedades fue realizado por Vida *et al.* (2004) y concluyeron que las condiciones climáticas bajo techo pueden incrementar el impacto de algunos problemas bióticos y abióticos y, además, que enfermedades secundarias se pueden convertir en destructivas. Observaciones similares realizaron los autores de esta revisión en relación a plagas insectiles, como por ejemplo, la mosca blanca de los inver-

naderos, cuyas poblaciones en tomate son alarmantes. Otra desventaja del cambio de las condiciones climáticas representa la factibilidad que insectos de otros pisos térmicos se adapten y causen daño económico a los cultivos bajo techo.

El objetivo de la presente revisión no fue solamente presentar el panorama, sino también advertir acerca de la prácticamente nula investigación sobre el tema en el país y alertar a la sociedad rural y urbana sobre el daño que se está causando a las futuras generaciones. Además, examinar las posibilidades de mermar la contaminación, evaluando y aplicando alternativas ya existentes y viables de reemplazar a los polímeros sintéticos y disponer de estas “basuras”, teniendo en cuenta que en la gran mayoría de las zonas rurales del país no existe el servicio de recolección de basuras.

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta revisión, se basó en el análisis de la literatura acerca de la plasticultura en, ante todo Centro y Sur América; se centró en especies vegetales, cuya producción en Colombia, se desarrolla con la ayuda de plásticos, como son plátano y banano, fresa y lechuga. Igualmente, se examinaron lo pertinente a su vida útil, a la legislación existente sobre su disposición o reciclaje, para poder recomendar algunas prácticas que disminuyan, tanto la contaminación ambiental como la visual. También, se incluyen algunas experiencias de los autores en el uso de plásticos y observaciones de campo.

Se tuvo en cuenta que el campo de los materiales plásticos es inmenso y de una movilidad enorme. Por otra parte, ningún plástico, en su presentación en el mercado, es un material muy definido, pues la combinación de distintas resinas y la incorporación de distintos aditivos: plastificantes, antioxidantes, colorantes y otros, le confieren propiedades muy distintas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Embolse de racimos de banano y plátano: Corresponde a la práctica de colocar una bolsa de polietileno al racimo en formación con destino a exportación, para protegerlo de factores bióticos y abióticos, que demeritan su calidad. Este procedimiento está ampliamente difundido en las plantaciones de banano de Centro y Sur-américa; igualmente, está implementado para la protección de plátano en el departamento del Quindío. Las bolsas plásticas perforados del color azul (Foto 1b), con una densidad de 1,0gmL, impregnados con un insecticida son las más recomendadas (Lima, 2002). Especificaciones, establecidas en el Brasil referente a las características físicas de las bolsas, se encuentran en el tratado “O cultivo da Bananeira” (Trinidad *et al.* 2004); se menciona que el embolse aumenta el crecimiento de los frutos, evita el ataque de plagas, mejora la cualidad del fruto y protege los

frutos del efecto abrasivo de los fungicidas utilizados contra la Sigatoka.

El incremento de la producción a raíz del embolse no se puede generalizar. Moreira (2008) determinó que el beneficio depende de los cultivares del banano, mientras que Costa *et al.* (2002) no encontraron diferencias entre el tamaño y la calidad del racimo. Rodrigues *et al.* (2001) tampoco hallaron diferencias significativas en el peso de los racimos y el peso de las manos, pero sí una reducción en el tiempo de cosecha de 12 días. Barrera *et al.* (2007), en la zona de Tierralta (Córdoba, Colombia), no obtuvieron una mayor producción con ésta y la práctica de desmane, pero sí un producto limpio y exportable. En esta zona y en el Urabá colombiano, los insectos que afectan los racimos y cuyo daño ocasiona el rechazo de las manos son la abejita *Trigona*, al cucarrón *Colaspis* y a los trips. Contra estas plagas y el daño causado por pájaros y por murciélagos está destinada la impregnación de las bolsas o fundas con productos químicos. Así, al disponer de manera inadecuada la funda, la contaminación aumenta aún más. El insecticida más empleado es el clorpirifos, normalmente incluido en bolsas de baja densidad. También, se han empleado piretroides, como la bifentrina, tanto en bolsas de baja como de alta densidad (Gómez & Romero, 2002).

Tanto en el Quindío como en la zona bananera del Magdalena, el color azul de las bolsas es predominante (Foto 1a); este color permite la transmisión de calor, a la vez, que reduce el daño que puede causar la radiación solar (Robinson, 1996). La evaluación realizada por Vargas-Calvo & Valle-Ruiz (2011) de dos tipos de fundas, una de color azul (Azul Santa Lucía) y la otra transparente foto-selectiva, ambas impregnadas con bifentrina, no mostró diferencias significativas. Tampoco se habían encontrado en Costa Rica diferencias entre los colores azul, verde y rojo y una densidad alta y baja de las bolsas de polietileno (Vargas *et al.* 2010).

La investigación relacionada con el embolse de los racimos de plátano y de banano es amplia y numerosa, ante todo en Australia, Costa Rica y Brasil; sin embargo, ninguno de los trabajos analizados presenta el aspecto de la contaminación y reciclaje de estas fundas. En el país existen numerosas fábricas de plásticos, dos de ellas de dedicación a los implementos de polietileno para la industria bananera. C.I. Banacol S.A, localizado en Turbo, Urabá antioqueño, produce todos los insumos plásticos para la industria bananera, desde los materiales de embolse hasta los productos de empaque (Banacol, s.f.). Igualmente, se responsabiliza de las actividades de recolección de las bolsas tratadas con clorpirifos y de entrega para la disposición final de estas bolsas a empresas acopiadoras y recicladoras en los departamentos de Antioquia, Magdalena y Quindío. Este compromiso, entre otros, está estipulado en la Resolución número (0272) 16 de febrero 2009, en la cual, llama la atención el siguiente

a.



a

b.



a

Foto 1. a: Este invernadero en el que se producía tomate fue abandonado al término de la cosecha principal y por el bajo precio de la hortaliza en CORABASTOS; b. Turistas, no familiarizados con el embolsado de racimos de banano que viajan por la vía Santa Marta – Riohacha, se asombran de esta práctica.

aparte: “Las comercializadoras en cumplimiento de normas internacionales y los planes de manejo ambiental registrados ante las diferentes corporaciones, exigirán a las fincas entregar adecuadamente la bolsa tratada poscosecha a las autorizados por C.I. Banacol S.A. Estos hacen una separación manual, secan, prensan, embalan, aglutinan y venden los reciclables”: Se pregunta: ¿con estas actividades se soluciona el problema de la contaminación? Los “reciclables” siguen impregnados del insecticida clorpirifos y al convertirlos en, por ejemplo, mangueras negras de polietileno o causar contaminación del aire al incinerar los empaques de Pyritilene (clorpirifos) en una cementera de Nobsa (Boyacá), ¿se puede asegurar la ausencia de contaminación?

Olefinas (s.f.) produce “fundas para embolsado”, impregnadas ya sea con clorpirifos o con bifentrina. La empresa presenta un listado de recomendaciones para el cuidado y el almacenaje de sus bolsas bananeras, entre los cuales, se pueden mencionar: no comer, frotarse los ojos, ni fumar mientras embolsa; no empacar comida en este material; lavarse las manos con agua y jabón después de terminada la labor y antes de fumar o comer y evitar que los niños jueguen con este material. No figura entre las recomendaciones el cómo disponer o reciclar las bolsas ya no reutilizables.

Desde el punto de vista salud humana y daño al medio ambiente existe la resolución 637 de 2004, que hace referencia al decreto 1180 de 2003, que asigna a las Corporaciones Autónomas Regionales, entre otras obligaciones, otorgar licencia para “la construcción y operación de instalaciones cuyo objetivo sea el almacenamiento, tratamiento, aprovechamiento, recuperación y/o disposición final de residuos o desechos peligrosos...”. Entre los residuos peligrosos figuran las bolsas plásticas utilizadas para la protección de racimos de plátano y de banano.

Cobertura, acolchado o mulching en fresa y lechuga: Se trata de extender sobre el suelo un material plástico, generalmente polietileno de color negro o blanco, con el fin de manejar malezas, evitar la evaporación del agua del suelo, impedir que los frutos estén en contacto con el suelo y así protegerlos de posibles pudriciones (Foto 2 a). Menciona Sanz (2012), que el plástico negro es el más empleado en España, que evita el desarrollo de malas hierbas por la barrera que suponen a la radiación luminosa, pero su influencia sobre la precocidad y el rendimiento es escasa.

Se utilizan diferentes tipos de plástico; en cuanto al color, varía dependiendo de las necesidades del cultivo y la región, cada uno de ellos posee determinadas características, que dan lugar a efectos diferentes sobre los cultivos. Es preciso que el agricultor antes de utilizarlos conozca los efectos de cada uno para tomar las decisiones más correctas, de acuerdo al cultivo que va a establecer y las condiciones climáti-

cas de la época y región en que se encuentra (Medina *et al.* 2006). Los productores enfrentan serios problemas cuando el tipo y el color del plástico empleado no es el correcto o cuando se emplea en una zona y época donde los efectos climatológicos no actúan favorablemente en combinación con el color del acolchado empleado: Estos se ven fuertemente modificados por los diferentes colores, provocando efectos impredecibles pudiendo ser favorables o desfavorables para el cultivo, cuando no se tiene el conocimiento necesario (Medina *et al.* 2006).

La radiación reflejada, absorbida y transmitida por los diferentes acolchados determina, en gran medida, la temperatura que se generan en el suelo y el efecto positivo y negativo de esta temperatura sobre el desarrollo y el rendimiento de las plantas (Oriolani *et al.* 1979; Thompson *et al.* 2009; Vargas *et al.* 2010). Los mismos autores designan los colores, como: Cristal, natural o transparente, que es el polietileno sin ningún tipo de pigmento ni aditivos y se usa principalmente para elevar la temperatura del suelo; Negro, presenta la menor reflexión (9%) y es el que más se calienta pudiendo causar quemaduras en aquellas estructuras de la planta en contacto con el mulch; asegura un perfecto control de malezas a menor costo que los otros materiales verdes, blanco/negro, plata/negro; Blanco/Negro, asegura un perfecto control de malezas, se calienta menos que el negro, porque la coloración blanca refleja parte de la radiación, aumenta la radiación fotosintética que llega a la planta; Plata/Negro, permite un perfecto control de malezas, mientras que la reflexión del plata repele insectos protegiendo la planta, también disminuye la temperatura de suelo, aumenta la radiación fotosintética; Verde traslucido, ofrece un control adecuado de malezas permitiendo el calentamiento del suelo y, finalmente, Naranja/Marrón, que permite el paso del calor durante el día, con cierta opacidad para prevenir las malezas, reduciendo la pérdida de calor durante la noche.

El tratado más completo sobre este tema lo presentan Santos & Obregón (2009), en un boletín sobre el cultivo de la fresa. Resaltan las ventajas del acolchado en comparación con la producción en suelo desnudo. Indican que incrementa el desarrollo del cultivo y los rendimientos y permite adelantar la cosecha; inhibe el crecimiento de malezas, actuando como barrera física e interceptando la radiación solar; mejora la retención de humedad, lo que permite economizar agua y reduce la pudrición de la fruta, actuando como una barrera física protectora entre el suelo y la fruta; mantiene limpia la fruta. Entre las desventajas resaltan el “retiro y descarte”, considerándolo el mayor problema, ya que la mayoría de los acolchados no son biodegradables y deben ser retirados una vez cumplidos su cometido. Indican que “el descarte presenta un problema severo debido al volumen de la basura generado”. El mismo problema se visualiza en España, como lo describe Sanz (2012); las coberturas de polietileno se con-

a.



a

b.



a

Foto 2. a. Cobertura de polietileno incoloro y negro en un cultivo de fresa en Cundinamarca; b. La degradación de un plástico, calibre 7, al cabo de un año a la intemperie es prácticamente nula.

vierten en un residuo que tiene que ser retirado y enviado a una empresa autorizada para su destrucción o reciclaje.

Existen investigaciones que han cuantificado el ahorro de agua logrado con el uso de acolchado de polietileno, tal es el caso de Renquist *et al.* (1982), quienes señalan que al cultivar fresa con acolchado de polietileno en verano, se requiere un tercio del agua en comparación a la que necesita cuando es cultivada sin acolchado.

En relación del color del polietileno no existen resultados coincidentes. En la Sabana de Bogotá, se usa con mayor frecuencia el color negro, pero también se observa el color blanco (Foto 2a). Comparando, en Israel, polietileno transparente con el de color negro, Converse (1981) obtuvo un 10 a 15% de aumento en rendimiento en fresa de invierno con el uso de polietileno transparente. Igualmente, Bringham & Voth (1990) tuvieron como resultado que el acolchado de polietileno transparente es una de las técnicas más recomendables para mejorar la producción de fresas en California durante la estación fría, encontraron que este tipo de polietileno es de mayor provecho en inviernos más fríos, ya que incrementa, considerablemente, la temperatura del suelo. ¿Valdría la pena evaluar, en zonas del altiplano Cundiboyacense, donde se presentan heladas, el uso del plástico transparente para disminuir el efecto de las bajas temperaturas, al aumentar aquellas del suelo?

Lechuga: Tal vez la hortaliza en la que se han realizado el mayor número de experimentos con el uso de acolchonado ha sido la lechuga, aunque en el país no se ha incursionado en el uso del mulch, para esta especie vegetal. Las investigaciones realizadas en otros países, la mayoría de climas templados son relevantes y los resultados obtenidos se deberían evaluar en, por ejemplo, en el altiplano Cundiboyacense y en Nariño.

No solamente se han trabajado con acolchonados plásticos, sino también orgánicos, representados, por ejemplo, heno, cascarilla de arroz y otros productos biodegradables, incorporables al suelo. Este tipo de mulch reduce también la temperatura del suelo, mantiene la humedad y aumenta el rendimiento en comparación con el suelo descubierto, significativamente mayor que en suelo descubierto (Adentuji, 1993). Sería recomendable para su uso en zonas áridas, donde, además, los suelos, por lo general, son carentes de materia orgánica.

Igual que en fresa, existen resultados relacionados en lechuga con el color de la cobertura. El efecto de papel negro y café y polietileno negro como acolchado fue investigado por Echin & Deiser (1991), quienes determinaron que el desarrollo de la hortaliza no fue afectado; lograron cabezas limpias de mayor valor comercial, por la disminución de pu-

drición de las hojas externas; también hubo un aceptable manejo de malezas. Schrevels *et al.* (2005), con un mulch de polietileno transparente, demostraron que las más altas temperaturas de suelo ocasionaron una mayor precocidad, traducida en ocho días respecto al testigo; también registraron altas temperatura de suelo bajo acolchado naranja y negro; mientras el coextruido blanco/negro presentó las más bajas temperaturas. Los mismos autores indican que la calidad de la lechuga fue mejorada con el uso de acolchados de color naranja, transparente, negro y gris humo, destacándose el tratamiento con acolchado naranja, que superó la calidad obtenida en el testigo y con acolchado blanco y coextruido blanco/negro.

También existen unos pocos trabajos referentes al efecto de la fertilización, con y sin acolchonado. En lechuga romana, se determinó un mayor nivel de nitrato en suelos con acolchado que en los descubiertos (Al-Assir *et al.* 1992); concluyeron los autores en climas moderados y suelos con adecuado nivel de nitrógeno, este tipo de lechuga no responde al uso de polietileno transparente. La producción de lechuga bajo techo se vio favorecida con el empleo del acolchado de polietileno, ya que el porcentaje de colonización de raíces por micorrizas vesículo arbusculares aumentó considerablemente, disminuyéndose la necesidad de fertilización potásica (Contreras *et al.* 1993).

Plástico biodegradable: Stevens (2001) inicia el primer capítulo de su libro “Plásticos Verdes: Una Introducción a la Nueva Ciencia de Plásticos Biodegradables”, señalando que ningún producto sobre la tierra ha sido tan altamente valorado por su utilidad, pero a la vez considerado tan maligno como el plástico. Ilustra sobre el futuro de los plásticos biodegradables a base de materiales renovables, biodegradables.

En España, indica Sanz (2012), el Centro Tecnológico de la Agroindustria (Adesva), se dedica al desarrollo de plásticos a base de almidón de maíz para el acolchado de fresa. Estas investigaciones están siendo realizados en el marco del proyecto Agrobiofilm, para evitar el uso del tradicional, muy contaminante, plástico negro de polietileno. La comparación en campo entre el plástico elaborado con almidón y el plástico sintético mostró la ausencia de diferencias significativas entre los materiales en la producción de fresa. El mulch, al terminar la cosecha, sería triturado e incorporado al suelo. En Colombia, la investigación relacionada con la obtención de polímeros biodegradables se ha concentrado en la utilización de almidón de yuca (Ruiz Aviles, 2006; Meneses *et al.* 2007; Ruiz *et al.* 2009). Hasta donde se logró determinar, por el momento, los estudios se han centrado en la evaluación de la biodegradabilidad bajo diversas condiciones, entre las cuales, figuran la simulación de un relleno sanitario. Todavía no existen, aparentemente, investigaciones relacionadas con su empleo en, por ejemplo, la fabricación de fundas para la

protección de los racimos de musáceas o el acolchado de fresa u otros usos agrícolas.

Hasta tanto no evolucione la obtención y el uso práctico de plásticos a base de almidón procedente de diversas especies vegetales, se seguirá en la búsqueda de un aceptable reciclaje o reutilización del polietileno sintético, previa concientización de los usuarios del polímero. Aquí cabe lo que se puede observar (Foto 2b): después de un año la “degradación” de un plástico colocado a la intemperie, solamente causó la cristalización parcial; el material sigue volviéndose pedazos que son distribuidos por el viento.

Consideraciones y observaciones adicionales:

En su mayoría, el plástico proviene del petróleo y se estima que entre un 5 y 7% de la producción mundial de este recurso es destinado a la producción de este material. Para producir un kilo de plástico se requieren dos kilos de petróleo (ACRR *et al.* 2004). El plástico es un material inorgánico que tiene alta durabilidad. Se calcula que puede tardar entre 100 y 1000 años para degradarse, dependiendo del tipo de plástico. Hay tres grandes grupos en los que se clasifican los plásticos (González-Viñas & Mancini, 2003): los **termoestables** o **termo rígidos**, se moldean con calor y presión y una vez están fríos adquieren una forma y no pueden volver a ser moldeados; son difíciles de reciclar, ya que para hacerlo se requiere la destrucción de su estructura molecular para poder fundirlos y esto hace que se alteren las propiedades originales, es decir, en vez de fundirse se queman cuando la temperatura aumenta. Los **elastómeros** presentan una gran elasticidad, tienen una gran resistencia a todo tipo de esfuerzos (tracción, compresión, torsión y flexión), se deforman cuando son sometidos a un esfuerzo, pero recuperan su forma original al dejar de ejercerse la fuerza; no toleran bien el calor, lo que dificulta su reciclado al degradarse con temperaturas no muy altas. Los **termoplásticos**, se derriten con el calor y se endurecen cuando se enfrían; pueden ser reciclados fácilmente, ya que mantienen sus propiedades plásticas y pueden recalentarse y formar otros objetos; sin embargo, van perdiendo propiedades por lo que no pueden ser reciclados más de 5 o 7 veces. Dentro de este grupo entran una gran variedad de termoplásticos.

Como lo plantea Leff (2003), los impactos no pueden ser valorados de acuerdo a criterios económicos exclusivamente; no obstante, existe un desconocimiento de la resiliencia, regeneración y recuperación de los ecosistemas afectados por los residuos plásticos. A nivel mundial, el principal impacto ambiental de estos residuos es la contaminación de los océanos. Se han encontrado cantidades substanciales contaminando los hábitats marinos, desde costas remotas inhabitadas hasta costas altamente pobladas y áreas profundas del océano (Thompson *et al.* 2009; Barnes *et al.* 2009).

En el caso de los rellenos sanitarios, los aditivos y los elementos constitutivos pueden ser liberados e introducidos al ambiente (Teuten *et al.* 2009). No todos los residuos plásticos son perceptibles a la vista, pues se desintegran por las condiciones de exposición al sol y lo que se detecta son los fragmentos de este material (Thomson *et al.* 2004).

El PVC también ha sido cuestionado por sus impactos en la salud humana y en el ambiente. Para obtener el cloruro de polivinilo, se requiere gas de cloro, usando el 40% de la producción mundial del mismo, unos 16 millones de toneladas. El PVC es el responsable del mayor volumen de producción de organoclorados, una clase de químicos que están siendo analizados desde la última década, por sus severos riesgos (Thornton, 2002).

Se han desarrollado, a nivel mundial, diferentes técnicas para reciclar los residuos plásticos. Aunque, se debe recordar que el reciclaje de plásticos tiene restricciones, dentro de las limitaciones, se encuentra que no todos los plásticos son reciclables. No solamente los elastómeros y los termorígidos presentan restricción, incluso, los termoplásticos pueden no ser reciclados si están tan contaminados, que es más costoso limpiarlos que botarlos.

El mercado del reciclaje no procesa material reciclable cuando es poco atractivo económicamente, ya que los diferentes tipos de plásticos requieren un conocimiento especializado para su correcta separación. Además, la variedad de plásticos no permite obtener cantidades significativas de algunos tipos, por lo que no se pueden reducir los costos de procesamiento por unidad, haciendo no rentable el reciclaje de ciertos plásticos

A nivel mundial, la industria ha desarrollado diferentes tecnologías y alternativas para que el plástico acelere su proceso de degradación y se biodegraden. La biodegradación consiste en degradar un material con hongos, bacterias y otros microorganismos, para obtener dióxido de carbono, metano, compuestos inorgánicos, agua y biomasa.

Los polímeros se convierten en biodegradables en ambientes aerobios, como el compostaje o en el agua o, en ambientes anaerobios, como en los rellenos sanitarios. En condiciones aerobias, el carbono es oxidado biológicamente a dióxido de carbono, liberando energía, que es aprovechada por los microorganismos. Bajo condiciones anaerobias, se produce CO₂ más metano. La biodegradación que se da en los rellenos genera emisiones de metano que contribuyen al cambio climático (BPI, 2010; Platt, s.f).

Los productos biodegradables más conocidos son los oxobiodegradables. La biodegradación de estos consiste en la introducción de metales (cobalto, manganeso, magnesio,

hierro, zinc, entre otros), que en teoría fomenta la oxidación y rompe la cadena del plástico, cuando se expone al calor, aire o luz. Al romper la cadena, los microorganismos encontrados en los sitios de disposición final se alimentarían del material. Para los rellenos, no se ha presentado datos que soporten una completa biodegradación en los ambientes anaeróbicos. En condiciones climáticas áridas con exposición al calor y a la luz solar, los aditivos oxo-biodegradables aceleran la fragmentación tradicional de los polímeros; sin embargo, la fragmentación no es señal de biodegradación y no se registran datos que muestren por cuánto tiempo los fragmentos se mantienen en los suelos o en el agua (BPI, 2010).

Existen métodos para medir la descomposición, estandarizados en Estados Unidos. La Sociedad Americana de Pruebas y Materiales (ASTM, American Society of Testing and Materials) definió qué constituye la biodegradabilidad, de acuerdo a los ambientes de disposición final. En Europa y en otros países tienen estándares similares, según sus condiciones propias. En Colombia, no existen estos estándares y no actúa ningún organismo que compruebe que los productos que se venden en el mercado local efectivamente cumplan con la biodegradación en las condiciones locales. En Estados Unidos, la División Nacional de Publicidad del Consejo de Mejores Negocios, cuyo objetivo es comprobar la veracidad de la publicidad, recomendó discontinuar las bolsas que aseguran ser oxo-degradables, por no cumplir con los estándares, demostrado en California, por lo tanto, en este Estado, se restringió el uso de los términos “compostable”, “biodegradable”, “degradable” y “degradable en agua” en las bolsas plásticas (Platt, s.f.). Incluso, el término “reciclable” estaría no sustentado, pues no se ha comprobado que los aditivos para la biodegradación no afecten el proceso de reciclaje.

De esta revisión, se concluye que es necesario realizar investigaciones tendientes a evaluar, en nuestro medio, prácticas, ante todo de acolchado, utilizadas en países con un mayor desarrollo agrícola y, además, seguir trabajando en la búsqueda de polímeros biodegradables, tanto para fines agrícolas como para otros usos. Igualmente, se puede indicar que dado el beneficio que el uso del plástico representa, no más en el ahorro de agua de riego y de herbicidas, existe un equilibrio entre beneficio y costo ambiental.

Conflicto de interés: El manuscrito fue preparado y revisado por los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

- ADENTUJI, I. 1993. Effect of mulches and irrigation on growth and yield of lettuce in semi-arid región. Hort. Abstracts. 63:1147.
- AL-ASSIR, I.; RUBEIZ, I.; KHOURY, R. 1992. Response of all greenhouse cos lettuce to clear mulch and nitrogen fertilizer. Hort. Abstracts. 62:3893.
- ARRUDA, F.P.; ANDRADE, A.P.; BELTRÃO, N.E.; PEREIRA, W.E.; LIMA, J.R.F. 2005. Viabilidade econômica de sistemas de preparo do solo e métodos de controle de Tiririca em algodoneiro. Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient. 9(4):481-488.
- ASOC. CIUDADES Y REGIONES PARA EL RECICLAJE-ACRR, ASOC. FABRICANTES DE PLÁSTICOS DE EUROPA-APME, CONSEJO EUROPEO FABRICANTES DE VINILIO-ECVM, RECICLADORES EUROPEOS DE PLÁSTICOS- EUPR, TRANSFORMADORES EUROPEOS DE PLÁSTICOS-EUPEC. 2004. Guía de Buenas Prácticas para el Reciclaje de los Residuos Plásticos. Una guía por y para las autoridades locales y regionales. s.p.
- BANACOL. s.f. Fábrica de plásticos. Disponible desde Internet en: www.banacol.com/Fabricaplasticos/359/1/FabricadePlasticos (con acceso 23/07/2012).
- BARALDI DE PAULI, R.; BATTESTIN QUAST, L.; MOTTEIN DEMIATE, I.; SETSUKO SAKANAKA, L. 2011. Production and characterization of oxidized cassava starch (*Manihot esculenta* Crantz) biodegradable films. Stärke (Starch). 63(10):595-603.
- BARNES, D.A.; GALGANI, F.; THOMSON, R.C.; BARLAZ, M. 2009. Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 364(1526):1985-1998.
- BARRERA, J.L.; VERGARA, D.C.; MARÍN, O.J. 2007. Contribución del desmane y embolsado del racimo a la producción y calidad del plátano hartón. Agron. 15(1):39-44.
- BELALCAZAR C., S.; SALAZAR M., C.A.; CAYÓN S., G.; LOZADA Z., J.E.; CASTILLO, L.E.; VALENCIA M., J.A. 1991. Manejo de Plantaciones. En: Belalcazar C. (ed.), El Cultivo del Plátano en el Tropicó. ICA. Man. Asist. Técn. 50. Impr. Feriva Ltda. Cali. 376p.
- BERRILL, F.W. 1956. Bunch covers for bananas. Queensland Agr. J. 82(8):435-440.
- BIODEGRADABLE PRODUCTS INSTITUTE BPI. 2010. Background on Biodegradable Additives. Disponible desde Internet en: <http://www.bpiworld.org/resources/Documents/Biodegradable%20Additives%20Fact%20Sheet%20v8%20July%2009.pdf> (con acceso 3/03/2013).

12. BRINGHURST, R.; VOTH, V. 1990. Culture and physiological manipulation of California strawberries. *Hortscience* 25 (8):889-892.
13. CHAVARRIA, G.; SANTOS, H. P. dos. 2009. Manejo de videiras sob cultivo protegido. *Cienc. Rural* [online]. 39(6):1917-1924.
14. CHAVARRIA, G.; SANTOS, H.P. dos; SÔNEGO, O.R.; BETTIO MARODIN, G.A.; BERGAMASCHI, H.; CARDOSO, L.S. 2007. Incidência de doenças e necessidade de controle em cultivo protegido de videira. *Rev. Bras. Frutic.* 29(3):477-482.
15. CONTRERAS, A.; BORIE, F.; RÚBIO, R.; MORAGA, E. 1993. The effects of plastic protection on the development of mycorrhizal infection in roots of different horticultural cultivars. *Hort. Abstracts* 63:1117.
16. CONVERSE, R. 1981. The Israeli strawberry industry. *Hortscience*. 16(1):19-22.
17. COSTA, J.N.M.; SCARPARE FILHO, J.A.; KLUGE, R.A. 2002. Efeito do ensacamento de cachos de banana 'Nanicão' na produção e no intervalo entre inflorescência e colheita. *Pesq. Agropec. Bras.* 37(11):1575-1580.
18. DELGADO, A.E.; APERADOR, W.; BAUTISTA RUIZ, J.H. 2011. Optical properties of Ldpe films with different additives mixtures. *Ing. Cienc.* [online]. 7(14):49-70.
19. EICHIN, R.; DEISER, E. 1991. Paper mulch in cabbage lettuce. *Hort. Abstracts* 61: 3675.
20. ESPI, E.; SALMERÓN, A.; FONTECHA, A.; GARCÍA, Y.; REAL, A.I. 2006. PLastic films for agricultural applications. *J. Plastic Film Sheeting*. 22(2):85-102.
21. FAO. 2007. Faostat Estadística Databases, Agricultura, Cultivos Primarios, Tomate. Disponible desde Internet en: <http://Faostat.Fao.Org/Site/340/Default.aspx> (con acceso 20(10/12)).
22. GÓMEZ, P; ROMERO, F. 2002. Evaluación del insecticida piretroide Bifentrina impregnado en la funda para el control de plagas del racimo en el cultivo de banano en Machala, Ecuador. (*Musa paradisiaca* L). En: Memorias XV Reunión Asociación de Bananeros de Colombia AUGURA. Cartagena de Indias. 27 de Octubre - 2 de Noviembre 2002.p.202-206.
23. GONZÁLEZ-VIÑAS, W.; MANCINI, H.L. 2003. Ciencia de los Materiales. Editorial Ariel Ciencia (España). 240p.
24. HISKAKIS, M.; BRIASSOULIS, D.; BABOU, E.; LIANTZAS, K. 2008. Agricultural plastic waste mapping in Greece. *Acta Hort. (ISHS)* 801:351-358.
25. LIMA, M.B. 2002. O ensacamento do cacho da bananeira. Cruz das Almas-BA. Embrapa Mandioca e Fruticultura. 2p.
26. LEFF, E. 2003. Ecología y Capital. Siglo XXI Editores, España. 437p.
27. MACÍAS, H.; MUÑOZ, J.A.; VELÁSQUEZ, M.A.; SÁNCHEZ, I. 2011. Tecnología de producción de plántula y cosecha de chile con plasticultura. Caso de estudio: Región Lagunera. En: Spring, O. (ed.) Los retos de la investigación del agua en México. UNAM. p.283-290.
28. MEDEIROS, J.F. de; SILVA, M.C. de C.; CÂMARA NETO, F.G.; ALMEIDA, H.B. de ; O. SOUZA, J. de; NEGREIROS, M.Z. de; SOARES, S.P.F. 2006. Crescimento e produção do melão cultivado sob cobertura de solo e diferentes frequências de irrigação. *Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient.* [online]. 10(4):792-797.
29. MEDINA, J.A.; SALAS, J.C. 2003. Caracterización morfológica del granulo de almidón nativo: Apariencia, forma, tamaño y su distribución. *Rev. Ing.* [online]. 27:56-62.
30. MEDINA, A.; COOMAN, A.; PARRADO, C.A; SCHREVEN, E. 2006. Evaluation of energy use and some environmental impacts for greenhouse tomato production in the high altitude tropics. *Acta Hort. (ISHS)* 718:415-422.
31. MENESES, J.; CORRALES, C.M.; VALENCIA, M. 2007. Síntesis y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca. *Rev. EIA. Esc. Ing. Antioq.* [online]. 8:57-67.
32. MOREIRA, A. 2008. Proteção de cachos de bananeira com sacos de polietileno nas condições edafoclimáticas do estado do Amazonas. *Cienc. Agrotec.* 32(1):129-136.
33. MOREIRA, R.S. 1987. Banana: teoría e práctica de cultivo. Campinas; Fundação Cargill. 335p.
34. OLEFINAS PLÁSTICOS PARA EL DESARROLLO. s.f. Fundas para embolsado (treebags). Disponible desde Internet en: www.olefinas.com/index.php/es/banano/treebags (con acceso 23/07/2012).

35. ORIOLANI, M.; DE TORRONTÉGUI, A.; MARTIN, G. 1979. Uso de película de polietileno como cobertura de suelo. Folleto INTA N° 57. 30p.
36. PLATT, B. (s.f.). Biodegradable Plastics: True or False? Good or Bad? Disponible desde Internet en: <http://www.sustainableplastics.org/spotlight/biodegradable-plastics-true-or-false-good-or-bad> (con acceso 15/10/2012).
37. RENQUIST, T.A.; MARTIN, L.W.; BREEN, P.J. 1982. Effect of polyethylene mulch and summer irrigation regimes on subsequent flowering and fruiting of "Olympus" strawberry. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 107(2):373-376.
38. RESOLUCIÓN NÚMERO (0272) 16 de febrero 2009. Por la cual se acepta un plan de gestión de devolución de productos posconsumo de plaguicidas" Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Disponible desde Internet en: www.minambiente.gov.co/documentos/res_0272_160209.pdf (con acceso 12/05/2012).
39. RESOLUCIÓN 637 DE 2004. Licencia Ambiental para la disposición final de desechos y/o sustancias peligrosas. Disponible desde Internet en: www.avancejuridico.com/actualidad/.../r_mavdt_0637_2004.html (con acceso 12/05/2012).
40. RODRIGUES, M.G.V.; SOUZO, R.F.; MENEGUCCI, J.L.P. 2001. Influência do ensacamento do cacho na produção de frutos da bananeira-'prata-anã' irrigada, na região norte de minas gerais. *Rev. Bras. Frutic.* 23(3):559-562.
41. ROBINSON, J.C.; NEL, D.J. 1984. Banana bunches covers in winter. *Citrus Subtrop. Fruit Res.* 138(1):5-6.
42. ROBINSON, J.C. 1996. Bananas and Plantains. CAB International, Wellingford, WK. 238p.
43. RUIZ, G.; MONTOYA, C.; PANIAGUA, M. 2009. Degradabilidad de un polímero de almidón de yuca. *Rev. EIA.* 12:67-78.
44. RUIZ AVILES, G. 2006. Obtención y caracterización de un polímero biodegradable a partir de almidón de yuca. *Ing. y Ciencia.* 2(4):5-28.
45. SANTOS, B.M.; OBREGÓN, H.A. 2009. Prácticas culturales para la producción comercial de fresas en Florida. Depto. Horticultural Sci., Servicio de Extensión Cooperativa de la Florida. U. de Florida. 15p.
46. SANZ, D. 2012. Plástico fabricado con maíz para el cultivo de la fresa. Disponible desde Internet en: www.ecologiaverde.com/plastico-fabricado-con-maiz-para-el-cultivo-de-la-fresa/ (con acceso 11/05/2012).
47. SCHREVEENS, E.; PORTIER, K.; DARIUS, P.; COOMAN, A.; TENORIO, T.; MEDINA, A. 2005. Simulation-based environments for practicing data-collection skills in greenhouse experimentation. *Acta Hort.* 691:871-876.
48. SCIVITTARO, W.B.; MELO, A.M.T.; TAVARES, M.; AZEVEDO FILHO, J.A. de; CARVALHO, C.R.L.; RAMOS, M.T.B. 1999. Caracterização de híbridos de pimentão em cultivo protegido. *Hort. Bras.* 17(2):147-150.
49. SILVA, M.C. de C.; MEDEIROS, J.F. de; NEGREIROS, M.Z. de; SOUSA, V.F. de. 2005. Produtividade de frutos do meloeiro sob diferentes níveis de salinidade da água de irrigação, com e sem cobertura do solo. *Hort. Bras.* [online]. 23(2):202-205.
50. STAVISKY, A. 2010. Plasticultura en la Argentina. Informe Frutihortícola. Comité Arg. Plásticos para la Producción Agropecuaria, CAPP. 4p.
51. STEVENS, E.S. 2001. Green Plastics: An introduction to the New Science of Biodegradable Plastics. Princeton University Press. 238p.
52. TEUTEN, E.L.; SAQUING, J.M.; KNAPPE, D.R.U.; BARLAZ, M.A.; JONSSON, S.; BJÖRN, A.; ROWLAND, S.J.; THOMPSON, R.C.; GALLOWAY, T.S.; YAMASHITA, R.; OCHI, D.; WATANUKI, Y.; MOORE, C.; VIET, P.H.; TANA, T.S.; PRUDENTE, M.; BOONYATUMANOND, R.; ZAKARIA, M.P.; AKKHAVONG, K.; OGATA, Y.; HIRAI, H.; IWASA, S.; MIZUKAWA, K.; HAGINO, Y.; IMAMURA, A.; SAHA, M.; TAKADA, H. 2009. Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. *Phil. Trans. R. Soc. B: Biol. Sci.* 364: 2027-2045.
53. THORNTON, J. 2002. Environmental impacts of polyvinyl chloride building materials – A Healthy Building Network report. Washington, DC: Healthy Building Network. Disponible desde Internet en http://www.healthybuilding.net/pvc/Thornton_Enviro_Impacts_of_PVC.pdf (con acceso 21/10/2012).
54. THOMPSON, R.C.; SWAN, S.H.; MOORE, C.J.; SAAL, F.V. 2009. Our plastic age. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 364:1973-1976.

55. THOMPSON, R.C.; OLSEN, Y.; MITCHELL, R.P.; DAVIS, A.; ROWLAND, S.J.; JOHN, A.W.G.; MCGONIGLE, D.; RUSSELL, A.E. 2004. Lost At Sea: Where is All the Plastic? *Science*. 304:838.
56. TRINIDADE, A.V.; BORGES, A.N.; TEXEIRA, A.H.; MATOS, A.; RITZINGER, C.H.; ALMEIDA, C.; COSTA, D.; DA COSTA, E.L; ALVES, E.J.; COELHO, E.; MATSÚURA, F.C.; DOS SANTOS-SEREJO, J.; DE CARVALHO, J.E.; SOUZA, J.; SOUZA, L.; SANTANA, M.; LIMA, M.; PEREIRA, M.; FRANCELLI, M.; FOLEGATTI, M.I.; MEISSNER FILHO, P.E.; DE OLIVEIRA E SILVA,S.; MEDINA V; CORDEIRO, Z.J. 2004. Ensacamento do Cacho. En: Borges, A.L.; da Silva Souza (eds). *O Cultivo da Bananeira*. Embrapa. Cruz das Almas-BA. p.121-123.
57. VARGAS-CALVO, A.; VALLE-RUIZ, H. 2011. Efecto de dos tipos de fundas sobre el fruto de banano (*Musa AAA*). *Agron. Mesoam*. 22(1):81-89.
58. VARGAS, A.; VALLE, H.; GONZÁLEZ, M. 2010. Efecto del color y de la densidad del polietileno de fundas para cubrir el racimo sobre dimensiones, presentación y calidad poscosecha de frutos de banano y plátano. *Agron. Costarricense*. 34(2):269-285.
59. VIDA, J.B.; ZAMBOLIM, L.; TESSMANN, D.J.; BRANDÃO Filho, J.U.T.; VERZIGNASSSI, J.R.; CAIXETA, M.P. 2004. Manejo de doenças de plantas em cultivo protegido. *Fitopatol. Bras.* [online]. 29(4):355-372.
60. YURI, J.E.; RESENDE, G.M de; COSTA, N.D.; MOTA, J.H. 2012. Cultivo de morangueiro sob diferentes tipos de mulching. *Hortic. Bras.* [online]. 30(3):424-427.

Recibido: Mayo 25 de 2012

Aceptado: Abril 3 de 2013

VARIABILIDAD Y CORRELACIÓN EN LA CONCENTRACIÓN DE LÍPIDOS SANGUÍNEOS EN DOS LÍNEAS GENÉTICAS DE GALLINAS PONEDORAS

VARIABILITY AND CORRELATION OF BLOOD LIPIDS CONCENTRATION IN TWO GENETIC LINES OF LAYING HENS

Jancy Darly Flórez¹, José Henry Osorio², Jorge Enrique Pérez³

¹DVM. M.Sc. Ciencias Veterinarias, Departamento de Salud Animal, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia jancydarly@yahoo.com.ar; ²DVM, M.Sc. Bioquímica. Ph.D. Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Laboratorio de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, Departamento de Ciencias Básicas de la Salud, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia: jose.osorio_o@ucaldas.edu.co; ³BSc.M.Sc. Microbiología, laboratorio de Microbiología, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia: labmicro@ucaldas.edu.co

Rev. U.D.CA Act. & Div. Cient. 16(1): 151 - 158, 2013

RESUMEN

En este estudio, se evaluaron y se correlacionaron los niveles de colesterol total, triglicéridos y colesterol de la lipoproteína de alta densidad en dos líneas de gallinas ponedoras y además, se tuvo en cuenta la producción de huevo, como trabajo inicial en la investigación, variabilidad del perfil lipídico en las gallinas ponedoras, en las diferentes etapas de producción. Se obtuvo suero de 90 gallinas ponedoras en ayunas, de 26 semanas de edad, 45 Hy-Line-W-36 y 45 Lohmann Brown-Classic. Se determinó la concentración de colesterol, triglicéridos y colesterol lipoproteína de alta densidad, mediante métodos enzimáticos colorimétricos. Las medias \pm error estándar en mg/dL, para los niveles de colesterol total, triglicéridos y colesterol de la lipoproteína de alta densidad, para la línea Hy-Line W-36 fueron de: 141,8 \pm 5,49; 773,2 \pm 48,06; 13,4 \pm 0,52; respectivamente y para la línea Lohmann Brown-Classic fueron de: 111,1 \pm 3,58; 431,7 \pm 28,74; 16,6 \pm 0,4, respectivamente. Todas las variables presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$). Se encontró relación positiva ($P < 0,05$) entre el colesterol total con los triglicéridos en las dos líneas y entre el colesterol total con el colesterol de la lipoproteína de alta densidad en la línea Lohmann Brown-Classic. La línea Hy-Line W-36 mostró mayores niveles de colesterol total, triglicéridos y la Lohmann Brown-Classic mayores niveles de colesterol de la lipoproteína de alta densidad y mayor producción de huevo, por lo tanto, se hace necesario realizar trabajos para conocer cómo repercutirían los niveles elevados de triglicéridos y colesterol en el huevo en aves, con una producción menor a la esperada y sus implicaciones en la salud humana.

Palabras clave: Colesterol, HDL, gallinas de postura, metabolismo, triglicéridos.

SUMMARY

This study evaluated and correlated the levels of total cholesterol, triglycerides and high density lipoprotein cholesterol in two laying hens lines; taking also into account the egg production, as initial work in the investigation, variability lipid profile in laying hens at different stages of production. After fasting, serum of 90 laying hens 45 Hy-Line W-36 y 45 Lohmann Brown-Classic of 26 weeks of age was taken. The levels of the total cholesterol, triglycerides and high density lipoprotein cholesterol were determined using the enzymatic-colorimetric method. Mean \pm standard error for total cholesterol, triglycerides and high density lipoprotein cholesterol for Hy-Line W-36 line in mg/dL were: 141.8 \pm 5.49; 773.2 \pm 48.06; 13.4 \pm 0.52; respectively, and Lohmann Brown-Classic line in mg/dL were: 111.1 \pm 3.58; 431.7 \pm 28.74; 16.6 \pm 0.4; respectively. There were differences ($P > 0.05$) among lines for levels of total cholesterol, triglycerides and high density lipoprotein cholesterol. Total cholesterol was positively correlated with triglycerides in two lines, and total cholesterol with the high density lipoprotein cholesterol in the Lohmann Brown-Classic line, with significance ($P < 0.05$). It was observed that Hy-Line W-36 line has higher levels of cholesterol and triglycerides, and the Lohmann Brown-Classic line has more levels of high density lipoprotein cholesterol and higher egg production, which makes it necessary to perform further research to determine how high levels of cholesterol and triglycerides within eggs have repercussions, with a decrease

in the expected production, and its implication in human health.

Key words: Cholesterol, HDL, laying hens, metabolism, triglycerides.

INTRODUCCIÓN

Los lípidos son biomoléculas orgánicas importantes en la alimentación humana y animal. Se caracterizan por ser hidrofóbicos, por lo que necesitan estar unidos a proteínas, específicamente, apolipoproteínas, para ser transportados por el torrente sanguíneo (Murray *et al.* 2004). Esta biomolécula es la principal fuente de energía metabólica, se oxida para producir ATP y es depositada en el tejido adiposo como triglicérido (Montgomery & Conway, 1998) y en la yema de huevo de las aves, como triglicérido, colesterol y fosfolípido (Walzem *et al.* 1999).

En este sentido, las variaciones en la concentración de estos lípidos y de las apolipoproteínas constituyen las lipoproteínas, las cuales, se clasifican en: portomicrones (quilomicrones en mamíferos) (Noyan *et al.* 1964); lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL, del inglés: Very Low density lipoprotein); lipoproteínas de densidad intermedia (IDL, del inglés: Intermediate density lipoprotein), lipoproteínas de baja densidad (LDL, del inglés: Low density lipoprotein) y lipoproteínas de alta densidad (HDL, del inglés: High density lipoprotein) (Hermier, 1997; Hermier *et al.* 1984; Newsholme & Leech, 1987). Además, las gallinas tienen la vitelogenina (VTG), una lipofosfoproteína de alta densidad que con otras lipoproteínas forman parte de la yema del huevo (Hermier *et al.* 1989).

Las gallinas ponedoras, por acción de los estrógenos, presentan hipertrigliceridemia, sobretodo en la máxima producción de huevos (Kudzman *et al.* 1975), debido a cambios metabólicos en las VLDL, que inducen a la síntesis de la apolipoproteína VLDL-II (apoVLDL-II), la cual, impide la hidrólisis de las VLDL y la liberación de los triglicéridos por la acción de la lipoproteína lipasa (LPL); además, inducen a la formación de las VLDLy (“y” del inglés “yolk”), ricas en triglicéridos, pero de menor tamaño, importante para facilitar la entrada al oocito (Walzem *et al.* 1999).

Las VLDL que no tienen la apoVLDL-II son hidrolizadas por la LPL y convertidas en LDL (ricas en colesterol esterificado y libre), a su vez, son captadas por las células somáticas, para mantener la homeostasis del colesterol, de forma similar a los mamíferos (Nimpf & Schneider, 1991).

Los estrógenos también afectan los niveles de lipoproteína de alta densidad (HDL), pero disminuyen su concentración en plasma; sin embargo, esta lipoproteína que también entra al oocito en crecimiento, incorpora colesterol libre a la yema

(Vieira *et al.* 1995). Cabe mencionar que las gallinas ponedoras se caracterizan por la aparente ausencia del patrón lipoproteína (LDL o HDL), común en mamíferos y en aves inmaduras (Hermier *et al.* 1989).

Los lípidos en las aves han sido estudiados y cuantificados en su mayoría en ambientes controlados (Nimpf & Schneider, 1991) y con diversos métodos analíticos, como ultracentrifugación de las lipoproteínas o Kits enzimáticos colorimétricos (An *et al.* 1997), los cuales, se basan en la medición del colesterol que transportan las lipoproteínas, medidas por ultracentrifugación.

Los investigaciones muestran que los niveles lipídicos en las gallinas varían entre las líneas genéticas, dependiendo de la cantidad del aditivo utilizado en la dieta (Yin *et al.* 2008); además, algunos aditivos en las dietas pueden llegar a disminuir los lípidos en la sangre de las gallinas ponedoras, hasta el punto de disminuir la producción de huevo (König *et al.* 2007).

También, se ha estudiado la correlación entre los lípidos sanguíneos y los lípidos incorporados a la yema de huevo (Chowdhury *et al.* 2002; Chowdhury *et al.* 2005; König *et al.* 2007; Salma *et al.* 2007; Vieira *et al.* 1995; Yin *et al.* 2008). Esta estructura del huevo posee, aproximadamente, 190 mg de colesterol por huevo (Liu *et al.* 2010; Anderson, 2011) y de triglicérido, cerca de 3100 mg/huevo (Salma *et al.* 2007). Estos lípidos, que en exceso son perjudiciales, han provocado la disminución del consumo de huevo, ya que solamente es recomendable el consumo de 300mg de colesterol diarios en hombres y en mujeres adultos sanos (Weggemans *et al.* 2001); no obstante, en cuanto a los triglicéridos, los niveles sanguíneos en las personas se ven alterados no únicamente por el consumo directo de lípidos y de carbohidratos, sino por el ejercicio físico, entre otros.

El objetivo del presente trabajo fue comparar la concentración sérica de colesterol total, triglicéridos y colesterol lipoproteína de alta densidad y su interacción en dos líneas genéticas de gallina ponedora, mediante métodos enzimáticos colorimétricos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales y dieta: La investigación, se desarrolló en la “Granja Montelindo”, propiedad de la Universidad de Caldas, Colombia, a una temperatura entre 23 y 30°C. Un total de 90 gallinas ponedoras (45 Hy-Line W-36 y 45 Lohmann Brown-Classic) fueron criadas, según diseño completamente al azar, durante las semanas 25 y 26 de edad, en pleno pico de puesta. Las gallinas se mantuvieron a régimen de 13 horas de luz.

El galpón estaba subdividido en 40 jaulas de piso (20 jaulas

por línea), el tamaño era de 2,5m de ancho x 2,5m de largo x 3m de alto; cada jaula poseía un nidial, dos comederos y un bebedero. Diariamente, se recogían los huevos y se cuantificaban por jaula. Para ser posible el presente ensayo, se escogieron dos jaulas, una para cada 45 gallinas, según la línea.

La dieta fue formulada a base de maíz y torta de soya. Para la dieta de las dos líneas utilizadas, nos basamos en un trabajo donde analizan cinco dietas para tres fases diferentes en dos líneas de gallina ponedora; en dicho trabajo, se basan en los manuales para la recomendación de los nutrientes, pero sin hacer distinción para cada línea (Novak & Scheideler, 2001) (Tabla 1). Se les administró durante las semanas 25 y 26: 90g/ave/día, para las gallinas Hy-Line w-36, las cuales, llegaron a un peso de 1.444g/ave y 110g/ave/día, para las gallinas Lohmann Brown-Classic, que llegaron a un peso de 1.851g/ave. El agua fue administrada ad libitum.

Tabla 1. Composición nutricional de la dieta para gallinas ponedoras (kg/100kg).

Ingredientes	kg
Maíz	59,120
Salvado de trigo	2,646
Torta de soya (48 %)	25,716
DL- metionina	0,220
L- treonina	0,055
Carbonato de calcio	8,628
Dicalfos (fosfato bical)	1,819
Aceite de soya	1,250
Colina	0,200
Premezcla de vitaminas y minerales	0,100
Sal	0,250

Composición calculada:

-Proteína cruda, %	17,61
-Energía metabolizable, kcal/kg	2748,97
-Extracto etéreo, %	3,83
-Metionina, %	0,45
-Lisina, %	0,90
-Tryptofano, %	0,20
-Treonina, %	0,75

Recolección de la muestra: Antes de la toma de muestras, las aves tuvieron 16h de ayuno, se tomó como referencia un trabajo, donde analizaron lípidos sanguíneos en gallinas ponedoras con un ayuno de 15h (Elkin *et al.* 1993); se extrajeron 5mL de sangre directamente de la vena yugular, en tubos de ensayo. La sangre, se centrifugó (Hettich Zentrifugen, EBA 20. Tuttlingen, Germany) a 3000 revoluciones por minuto (rpm), durante 15 minutos, a temperatura ambiente; seguido el suero obtenido, se congeló a -30°C, hasta su posterior análisis. Al momento de procesar las muestras, los sueros fueron descongelados a temperatura ambiente y, luego, fueron depositados en baño maría, a una temperatura de 37°C, por 10 minutos.

Métodos de análisis: Todos los reactivos pertenecían a los laboratorios BioSystems S.A., Barcelona, España, la concentración de colesterol libre, triglicéridos y C-HDL, fueron determinados por métodos enzimáticos-colorimétricos, de acuerdo a las recomendaciones del fabricante. Los análisis fueron realizados en un equipo RAYTO RT-1904C (Rayto Life and Analytical Sciences Co., Ltd. Shenzhen, China), analizador semiautomático de química.

Determinación del colesterol total (colesterol libre + ésteres de colesterol): La determinación del CT en suero, se realizó mezclando 10µL de la muestra y 1mL de reactivo (Pipes 35mmol/L, colato sódico 0,5mmol/L, fenol 28mmol/L, colesterol esterasa >0,2U/mL, colesterol oxidasa >0,1U/mL, peroxidasa >0,8U/mL, 4-amino antipirina (4AA) 0,5mmol/L, pH 7,0). Seguido, se agitó manualmente por 5 segundos la mezcla y se dejó incubar en los tubos de ensayo, durante 10 minutos, a temperatura ambiente. Los ésteres de colesterol fueron hidrolizaros por la colesterol esterasa, dando lugar al colesterol libre, que por acción de la colesterol oxidasa formó colesteno + peróxido de hidrógeno, este último, en presencia de la 4-AA y fenol dieron lugar a la quinonaimina, por acción de la peroxidasa. La quinonaimina es proporcional al colesterol total de la muestra y se cuantificó espectrofotométricamente.

Determinación de triglicéridos: Para determinar los TAG en suero fueron utilizados 10µL de la muestra y 1mL de reactivo (Pipes 45mmol/L, 4-clorofenol 6mmol/L, cloruro magnésico 5mmol/L, lipasa >100U/mL, glicerol-quinasa >1,5U/mL, glicerol-3P-oxidasa >4U/mL, peroxidasa >0,8U/mL, 4-AA 0,75mmol/L, ATP 0,9mmol/L, pH 7,0). Se agitó manualmente la mezcla por 5 segundos y se dejó incubar los tubos durante 15 minutos, a temperatura ambiente. En el anterior proceso, los triglicéridos fueron hidrolizados por la lipasa a glicerol y ácidos grasos; el glicerol, en presencia de ATP fue fosforilado por la glicerol-quinasa y dio lugar al glicerol 3P + ADP; el glicerol 3P en presencia de oxígeno formó peróxido de hidrógeno, por acción de la glicerol-3P-oxidasa; finalmente, se cuantificó espectrofotométricamente la quinonaimina

producto de la acción de la peroxidasa sobre el peróxido de hidrógeno en presencia de 4-AA y clorofenol; la quinonaimina es proporcional a la concentración de los TAG.

Determinación del colesterol HDL mediante el método de precipitado (Fosfotungstato): Para realizar este método fue mezclado 1mL de reactivo (Fosfotungstato 0,4mmol/L y cloruro de magnesio 20mmol/L), con 0,2mL de la muestra de suero; seguido, se agitó manualmente por 5 segundos y se dejó durante 10 minutos, a temperatura ambiente y se centrifugó por 10 minutos a 4000rpm. En el precipitado quedaron las VLDL, IDL y LDL, y en el sobrenadante las HDL.

Finalmente, se tomó 100 μ L del sobrenadante que fue depositado en otro tubo de ensayo, se mezcló con 1mL del reactivo para colesterol total (descrito anteriormente) y se incubó por 10 minutos, en baño maría, a 37°C. El colesterol HDL fue hidrolizado por la colesterol esterasa y la colesterol oxidasa, esto dio lugar a peróxido de hidrógeno, que fue consumido por una peroxidasa en presencia de la 4-AA y fenol, quedando como producto final la quinonaimina, siendo este producto proporcional al colesterol HDL de la muestra que fue cuantificado por espectrofotometría.

Los datos fueron analizados usando ANOVA simple. Las diferencias estadísticamente significativas, se determinaron con el P valor < 0,05 del test F. Se evaluó el coeficiente de correlación de Pearson entre colesterol total, triglicéridos y colesterol HDL con una significancia P < 0,05. Para el análisis estadístico se utilizó Statgraphics Plus 5.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El cambio en la composición nutricional de la dieta en la semana 25 redujo la producción de huevo, de 98 a 96%, en la línea Lohmann Brown-Classic; sin embargo, la línea Hy-Line W-36 aumentó su producción, de 94 a 96%. En la semana 26, después de la adaptación al alimento, las gallinas Lohmann Brown recuperaron su porcentaje de producción, de 98% y las Hy-Line lo mantuvieron, en un 96% (Tabla 2); no obstante, solamente hubo diferencias significativas entre líneas en la semana 26 (Tabla 3).

En la tabla 4, se observa la concentración lipídica sérica de dos líneas genéticas de gallinas ponedoras. La línea de gallinas ponedoras Hy-Line W-36 presentó las mayores concentraciones de colesterol total y triglicéridos; sin embargo, la concentración de colesterol HDL incrementó en la

Tabla 2. Porcentaje de producción de huevo de Hy-Line W-36 y Lohmann Brown-Classic.

Semana de Producción	Hy-Line W-36*		Lohmann B-C*	
	No. Huevos/semana	%	No. Huevos /semana	%
Semana 24	296	94	307	98
Semana 25**	302	96	301	96
Semana 26**	300	96	309	98

*45 aves de cada línea

**Alimentados con la dieta a base de maíz y torta de soya (Tabla 1)

Nota: No se tiene en cuenta la producción total de los dos lotes dentro del galpón

Tabla 3. Efecto de la línea en la producción de huevo.

Semana de Producción	Hy-Line W-36*		Lohmann B-C*	
	Media \pm ES		Media \pm ES	P-valor
Semana 24	42,28		43,85	0,21
Semana 25**	43,14		43,00	0,86
Semana 26**	42,57		44,14	0,02

*45 aves de cada línea

**Alimentados con la dieta a base de maíz y torta de soya (Tabla 1)

Nota: No se tiene en cuenta la producción total de los dos lotes dentro del galpón

Tabla 4. Efecto de la línea en el colesterol total, triglicéridos, C- HDL.

PARÁMETRO	Hy-Line W-36		Lohmann Brown-Classic		P-valor
	Media \pm ES (mg/dL)	CV (%)	Media \pm ES (mg/dL)	CV (%)	
Colesterol total	141,8 \pm 5,49	25,995	111,1 \pm 3,58	21,627	<0,001
Triglicéridos	773,2 \pm 48,06	41,698	431,7 \pm 28,74	44,660	<0,001
C-HDL	13,4 \pm 0,52	25,936	16,6 \pm 0,40	16,014	<0,001

^{a-b} Letras diferentes indican diferencias significativas con $P < 0,05$

ES: Error estándar, C-HDL (Colesterol de lipoproteína de alta densidad)

CV: Coeficiente de variación

línea Lohmann Brown-Classic, con diferencias significativas ($P < 0,05$), entre tratamientos.

Los niveles séricos de colesterol total son similares (135 - 145mg/dL) a los trabajos reportados por An *et al.* (1997) y Salma *et al.* (2007); no obstante, otras investigaciones muestran variaciones en los niveles de colesterol en sangre con menores (64,3 - 91,8mg/dL) (Yin *et al.* 2008) y mayores (150-240mg/dL) (Chowdhury *et al.* 2002) concentraciones. Hay que señalar que estas variaciones pueden corresponder a la línea genética, al tipo de dieta o al kit enzimático utilizado para el análisis de las muestras de dichos trabajos.

En este estudio, las diferencias encontradas en la concentración del colesterol total entre líneas, coinciden a lo reportado por Chowdhury *et al.* (2002), cuando evaluó estirpes alimentadas con ajo, con el fin disminuir el colesterol de la yema; sin embargo, Yin *et al.* (2008) trabajando con dos tipos de gallinas ponedoras, indicaron solamente diferencias significativas, cuando interactúan estirpes y dietas con diferentes niveles de ácido linoleico conjugado.

Es posible, que la mayor o menor concentración de colesterol en la sangre de las gallinas ponedoras, no sea un indicativo específico en el porcentaje de colesterol en la yema de huevo, pues se presentan resultados contradictorios en diversas publicaciones, ya sea indicando una correlación del colesterol sanguíneo con el colesterol del huevo (Chowdhury *et al.* 2002) o negando la relación directa de estos dos parámetros (Chowdhury *et al.* 2005). Las características genéticas de las diferentes líneas de gallinas ponedoras y el empleo de aditivos o nutrientes hipocolesterolémicos en las dietas o a la interacción entre líneas y dieta pudieran influir en estos resultados.

Otro factor que influye en los niveles de colesterol sérico es la edad de la gallina, ya que un estudio realizado por Peebles

et al. (2004), se encontró que las semanas de producción influyen en la redistribución del colesterol sérico de las diferentes lipoproteínas de las gallinas ponedoras; además, puede afectar el porcentaje de colesterol de la yema de huevo (Anderson, 2011).

Las diferencias observadas en los niveles de colesterol HDL entre las líneas Lohmann Brown Classic y Hy Line-W-36 del presente trabajo, coinciden con otra investigación, donde los autores presentan diferencias significativas entre dos líneas genéticas de gallinas ponedoras (Brown Dwarf y White Leghorn) (Yin *et al.* 2008); igualmente, indican que el colesterol en el huevo no depende, de manera directa, de los niveles de colesterol HDL en el suero; por consiguiente, los mayores niveles de colesterol HDL del suero en las gallinas Lohman Brown, no deberían afectar directamente la cantidad de colesterol en la yema de huevo de dicha línea. No obstante, esto contradice otro trabajo, donde los autores señalan que los niveles sanguíneos de HDL, influyen directamente con los niveles de HDL en la yema de huevo y, por lo tanto, con el colesterol que transportan (Vieira *et al.* 1995). Los datos contradictorios, se podrían deber, según Peebles *et al.* (2004), a las semanas de producción de las gallinas ponedoras.

El presente estudio muestra una correlación positiva y significativa entre los niveles de colesterol total y colesterol HDL ($P < 0,05$) en la línea Lohmann Brown-Classic; sin embargo, se observó una relación negativa no significativa en la línea Hy line W-36 (Cuadro 1). Esto se pudo haber debido a que las HDL son las encargadas de transportar el colesterol al hígado para su eliminación biliar (Lagarrigue *et al.* 2000) o a la yema de huevo (Vieira *et al.* 1995). Los niveles menores en suero de colesterol HDL y la relación negativa encontrada entre colesterol total y el colesterol HDL en la línea Hy-Line W-36 podrían indicar que esta línea, en la semana 26 de producción, tiene una menor cantidad de colesterol total disponible para la yema de huevo.

Cuadro 1. Coeficiente de correlación de las variables colesterol total (CT), triglicéridos (TAG), lipoproteínas de alta densidad (HDL).

Lohmann Brown-Classic	Hy-Line W-36			
	Parámetro	CT	TAG	C-HDL
CT			0,82**	-0,05
TAG		0,68**		-0,17
HDL		0,49*	0,27	

*Relación significativa ($P < 0,05$) relativamente débil

** Relación significativa ($P < 0,05$) moderadamente fuerte

En las gallinas ponedoras, la acción de los estrógenos aumentan los niveles de triglicéridos y disminuyen los niveles de HDL (Hermier *et al.* 1989); no obstante, al analizar la relación de los triglicéridos con el colesterol HDL en esta investigación, solamente se observó una correlación negativa en la línea Hy-line W-36 y una correlación positiva con la línea Lohmann Brown-Classic, pero sin significancia para las dos líneas (Cuadro 1).

En el presente estudio, los niveles de triglicéridos indicaron diferencias significativas entre líneas (Tabla 4), lo que contrasta con otros trabajos, donde no se observan diferencias entre las líneas estudiadas (Yin *et al.* 2008); asimismo, se observó, que los niveles de triglicéridos mantuvieron un rango amplio, especialmente, en las gallinas Hy-Line W-36; esto pudiera explicar que en las gallinas ponedoras las lipoproteínas sérica más abundantes son las VLDLs, debido a que los triglicéridos son los principales componentes (Hermier, 1997; Hermier *et al.* 1989) y su concentración varía en dependencia a la concentración de las VLDLs en el plasma.

Por otra parte, diversos estudios muestran variaciones en la concentración de triglicéridos sanguíneos en gallinas ponedoras: An *et al.* (1997); Peebles *et al.* (2004); König *et al.* (2007); Salma *et al.* (2007) y Yin *et al.* (2008) han reportado estas variaciones lipídicas e indican que se pudiera deber al mejoramiento genético, condiciones medioambientales, semana de producción o dieta, entre otros.

En este sentido, la mayor concentración de triglicéridos séricos en las gallinas de la línea Hy-Line W-36 (Tabla 4) pudiera ser por la línea genética, ya que fue creada para incrementar y para mantener una alta producción de huevo (345-361 huevos, hasta la semana 80 de edad) (Hy-Line International 2009); sin embargo, una excelente producción, depende de una alta concentración de VLDL en plasma, pues cuando disminuye la concentración de VLDL en el torrente sanguíneo, se deprime la producción de huevo, aunque no influye en los triglicéridos de la yema (König *et al.* 2007), acción que lograron los autores, usando clofibrato (sustancia hipo-

lipemiente).

No obstante, en el presente trabajo, es posible que la disminución de la producción de huevo en las gallinas Hy Line W-36 comparada con las gallinas Lohmann Brown-Classic, se deba a la excesiva manipulación o cambios de temperatura ambiental (Tabla 2); además, el lote de la línea Hy-Line W-36, de donde se adquirieron las aves, tenían solamente el 92% y el lote de la línea Lohmann Brown-Classic un 97% de producción en la semana 26 (datos no reportados). Pese a que los resultados del presente artículo, contradicen lo reportado por Mumma *et al.* (2006), donde indicaron en el estrés incrementa los niveles de colesterol y de HDL, pero disminuye los triglicéridos, en cualquier caso, donde los niveles de adrenocorticotropina (hormona del estrés), se aumenta por más de seis días.

También, se encontró que las altas concentraciones de triglicéridos están relacionadas significativamente con los niveles de colesterol total en las dos líneas (Cuadro 1). Esto se podría explicar por los altos niveles de VLDL presentes en las gallinas ponedoras, aunque la concentración de colesterol libre y esterificado dentro de las VLDL es baja (Hermier *et al.* 1989); entre más VLDL circule por el torrente sanguíneo más colesterol total y triglicéridos van a estar disponibles para la yema de huevo.

En conclusión, en la semana 26 de vida, las gallinas Hy-Line W-36 presentan niveles más elevados de colesterol y de triglicéridos en suero, contrario a la Línea Lohmann Brown-Classic, la cual, tuvo mayor concentración de colesterol HDL. Es pertinente tener en cuenta el efecto del estrés en las aves, para evitar posibles alteraciones en los resultados, no solamente en la bioquímica sanguínea sino en la producción de huevos.

Es necesario realizar trabajos adicionales, para saber cuánto puede afectar los altos niveles de triglicéridos, de colesterol total y de colesterol HDL en la grasa del huevo, cuando la producción está disminuida. Además, se sugiere realizar es-

tudios más profundos en cuanto a la relación del colesterol de las diferentes lipoproteínas, en el colesterol total del suero y, al mismo tiempo, con el colesterol total de la yema de huevo y como cambia la relación de estos parámetros en las diferentes líneas, especialmente, en las diferentes etapas de la producción.

Agradecimientos: A Jorge Enrique Pérez, por la colaboración en el análisis de las muestras; a Luis Fernando Reyes González y Alex Narváez Solís, por su colaboración en el trabajo de campo. **Conflicto de intereses:** El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de interés que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados. Fue financiado por los grupos de investigación en Ciencias Veterinarias CIENVET y BIOSALUD, de la Universidad de Caldas.

BIBLIOGRAFÍA

- AN, B.K.; NISHIYAMA, H.; TANAKA, K.; OHTANI, S.; IWATA, T.; TSUTSUMI, K.; KASAI, M. 1997. Dietary safflower phospholipid reduces liver lipids in laying hens. *Poult. Sci.* (United States) 76(5):689-695.
- ANDERSON, K.E. 2011. Comparison of fatty acid, cholesterol, and vitamin A and E composition in eggs from hens housed in conventional cage and range production facilities. *Poult. Sci.* 90(7):1600-1608.
- CHOWDHURY, S.R.; CHOWDHURY, S.D.; SMITH, T.K. 2002. Effects of dietary garlic on cholesterol metabolism in laying hens. *Poult. Sci.* 81(12):1856-1862.
- CHOWDHURY, S.R.; SARKER, D.K.; CHOWDHURY, S.D.; SMITH, T.K.; ROY, P.K.; WAHID, M.A. 2005. Effects of dietary tamarind on cholesterol metabolism in laying hens. *Poult. Sci.* 84(1):56-60.
- ELKIN, R.G.; FREED, M.; WATKINS, B.A.; SREBNIK, M.; KIEFT, K.A.; NEWTON, R.S. 1993. Evaluation of two novel biochemicals on plasma and egg yolk lipid composition and laying hen performance. *Poult. Sci.* 72(3):513-520.
- HERMIER, D. 1997. Lipoprotein metabolism and fattening in poultry. *J. Nutr.* (United States). 127(5):805S-808S.
- HERMIER, D.; CHAPMAN, J.; LECLERCQ, B. 1984. Plasma lipoprotein in fasted and refed chickens of two strains selected for high or low adiposity. *J. Nutr.* 114(6):1112-1121.
- HERMIER, D.; FORGEZ, P.; WILLIAMS, J.; CHAPMAN, M.J. 1989. Alterations in plasma lipoproteins and apolipoproteins associated with estrogen-induced hyperlipidemia in the laying hen. *Eur. J. Biochem.* 184(1):109-118.
- HY-LINE INTERNATIONAL. 2009. Hy-Line variety W-36 Commercial management guide. In: Hy-Line International, ed. International, H.L., Iowa (USA). p.4.
- KÖNIG, B.; KLUGE, H.; HAASE, K.; BRANDSCH, C.; STANGL, G.; EDER, K. 2007. Effects of clofibrate treatment in laying hens. *Poult. Sci.* 86(6):1187-1195.
- KUDZMA, D.J.; CLAIRE, F.; DELALLO, L.; FRIEDBERG, S.J. 1975. Mechanism of avian estrogen-induced hypertriglyceridemia: evidence for overproduction of triglyceride. *J. Lipid. Res.* (United States). 16(2):123-133.
- LAGARRIGUE, S.; DAVAL, S.; BORDAS, A.; DOUAIRE, M. 2000. Hepatic lipogenesis gene expression in two experimental egg-laying lines divergently selected on residual food consumption. *Genet Sel Evol.* 32:205-216.
- LIU, X.; ZHAO, H.L.; THIESSEN, S.; HOUSE, J.D.; JONES, P.J.H. 2010. Effect of plant sterol-enriched diets on plasma and egg yolk cholesterol concentrations and cholesterol metabolism in laying hens. *Poult. Sci.* 89(2):270-275.
- MONTGOMERY, R.; CONWAY, T. 1998. *Bioquímica casos y texto*. 6ta Ed. Harcourt Brace (Madrid). p.296-383.
- MUMMA, J.O.; THAXTON, J.P.; VIZZIER-THAXTON, Y.; DODSON, W.L. 2006. Physiological stress in laying hens. *Poult. Sci.* 85(4):761-769.
- MURRAY, R.K.; MAYES, P.A.; GRANNER, D.K.; ROWELL, V.W. 2004. *Harper Bioquímica ilustrada*. 16ava Ed. Manual Moderno (México D.F.). p.125-247.
- NEWSHOLME, E.A.; LEECH, A.R. 1987. *Bioquímica Médica*. Interamericana McGraw-Hill (Madrid). p.593-632
- NIMPF, J.; SCHNEIDER, W.J. 1991. Receptor mediated lipoprotein transport in laying hens. *J. Nutri.* 121(9):1471-1474.

19. NOYAN, A.; LOSSOW, W.J.; BROT, N.; CHAIKOFF, I.L. 1964. Pathway and form of absorption of palmitic acid in the chicken. *J. Lipid. Res.* 5(4):538-541.
20. NOVAK, C.; SCHEIDELER, S.E. 2001. Long-term effects of feeding Flaxseed-based diets. 1. egg production parameters, components, and eggshell quality in two strains of laying hens. *Poult. Sci.* 80(10):1480-1489.
21. PEEBLES, E.D.; BURNHAM, M.R.; WALZEM, R.L.; BRANTON, S.L.; GERARD, P.D. 2004. Effects of fasting on serum lipids and lipoprotein profiles in the egg-laying hen (*Gallus domesticus*). *Comp. Biochem. Physiol. Mol. Integr. Physiol.* 138(3):305-311.
22. SALMA, U.; MIAH, A.G.; TAREQ, K.M.A.; MAKI, T.; TSUJII, H. 2007. Effect of dietary *Rhodobacter capsulatus* on egg-Yolk cholesterol and laying hen performance. *Poult. Sci.* 86(4):714-719.
23. VIEIRA, P.M.; VIEIRA, A.V.; SANDERS, E.J.; STEYRER, T.E.; NIMPF, J.; J., S.W. 1995. Chicken yolk contains bona fide high density lipoprotein particles. *J. Lipid. Res.* 36:601-610.
24. WALZEM, R.L.; HANSEN, R.J.; WILLIAMS, D.L.; HAMILTON, R.L. 1999. Estrogen induction of VLDL Assembly in Egg-Laying hens. *J. Nutr.* 129(2):467S-472S.
25. WEGGEMANS, R.M.; ZOCK, P.L.; KATAN, M.B. 2001. Dietary cholesterol from eggs increases the ratio of total cholesterol to high-density lipoprotein cholesterol in humans: a meta-analysis. *Am. J. Clin. Nutr. (USA)*. 73(5):885-891.
26. YIN, J.D.; SHANG, X.G.; LI, D.F.; WANG, F.L.; GUAN, Y.F.; WANG, Z.Y. 2008. Effects of dietary conjugated linoleic acid on the fatty acid profile and cholesterol content of egg yolks from different breeds of layers. *Poult. Sci.* 87(2):284-290.

Recibido: Diciembre 19 de 2011

Aceptado: Febrero 8 de 2013

USE OF COMPUTATIONAL FLUID DYNAMICS TO SIMULATE TEMPERATURE DISTRIBUTION IN BROILER HOUSES WITH NEGATIVE AND POSITIVE TUNNEL TYPE VENTILATION SYSTEMS

USO DE DINÁMICA DE FLUIDOS COMPUTACIONALES PARA SIMULAR LA DISTRIBUCIÓN DE TEMPERATURAS EN GALPONES AVÍCOLAS TIPO TÚNEL CON SISTEMAS DE VENTILACIÓN POSITIVA Y NEGATIVA

Jairo Alexander Osorio Saraz¹, Marcio Arêdes Martins², Keller Sullivan Oliveira Rocha³, Neiton Silva Machado⁴,
Hector José Ciro Velasques⁵

¹Profesor - Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín, aosorio@unal.edu.co; ²Profesor - Universidad Federal de Viçosa - Brazil, aredes@ufv.br ³Ingeniero Agrícola, Ph.D. Universidad Federal de Viçosa – Brazil, kellersullivan@yahoo.com.br ⁴Profesor - Universidad Federal del Vale de San Francisco - Brazil, neiton.machado@univasf.edu.br ⁵Profesor - Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín, hjciro@unal.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 159 - 166, 2013

SUMMARY

In tropical and subtropical countries such as Brazil, temperatures inside agricultural facilities reach values greater than those considered suitable for thermal comfort for both animals and people. To predict the behavior and distribution of temperature in all directions of the structure and make correct decisions about the inside environment, the classic research method would require a significant experimental arrangement. Consequently, classic methodologies do not offer immediate information that might predict the internal behavior of the poultry houses against variations of external and internal conditions. The aim of this work was to use and validate the Computational Fluid Dynamics (CFD) as simulation tool to analyze the distribution of temperature in poultry houses with positive or negative pressure tunnel ventilation and with internal misting. The results from numerical simulation correlated well with the experimental data, and it is therefore recommended to predict the thermal behavior inside of poultry house for an animal production tunnel type.

Key words: Computational fluids dynamics (CFD), thermal control, broiler house, thermal comfort.

RESUMEN

En países tropicales y subtropicales como Brasil, las temperaturas dentro de las instalaciones agrícolas alcanzan valores

superiores a los considerados como adecuadas para el confort térmico de los animales y las personas. Para predecir el comportamiento y la distribución de temperatura en todas las direcciones de la estructura y tomar decisiones correctas acerca del control climático en el interior de las instalaciones en tiempo real, al usar los métodos clásicos de investigación se requerirán grandes arreglos experimentales. Por lo tanto, las metodologías clásicas no ofrecen información inmediata que pueda predecir el comportamiento interno de los galpones avícolas contra la variación de las condiciones ambientales externas e internas. El objetivo de este trabajo fue usar y validar la Dinámica de Fluidos Computacional (CFD) como herramienta de simulación para analizar la distribución de la temperatura en los galpones avícolas que trabajan con ventilación de presión positiva o negativa tipo túnel y con sistemas de nebulización interna. Los resultados de la simulación numérica mostraron una buena correlación con los datos experimentales, y que la técnica numérica puede ser usada para predecir el comportamiento térmico en el interior de los galpones avícolas para instalaciones tipo túnel.

Palabras clave: Dinámica de fluidos computacionales (CFD), control térmico, galpones avícolas, confort térmico.

INTRODUCTION

Brazil is the world largest exporter of poultry, which makes of vital importance that animal welfare laws are fulfilled as

imposed by the international market. Of the law forming processes relative to animal production, those adopted by the European Community are well advanced. These regulations seek to guarantee animal welfare, which strongly depend on maintenance of temperature levels inside the structures.

Today, the commercial broiler chicken is one of the animals with the greatest performance and speed of development. One of the greatest problems facing the housing of broiler chickens is the elevated indoor temperatures and high concentrations of toxic gases such as ammonia. These accumulations of heat and toxic gasses are the result of architectural and constructive characteristics, which associated with the physical and physiological characteristics of the birds, limit maximum productivity proportional to the animal's genetics. The high variation of Brazil climate (tropical and subtropical) increases the temperatures within the poultry houses during the majority of the year, impairing therefore the performance of the animals.

Temperature and air velocity are considered factors of the greatest influence on the performance of broiler chickens. To evaluate the distribution of these variables along the length of the installation, technical studies were carried out where experimental data are usually measured at the height of the birds at three points (beginning, middle and end) of the building (Curtis, 1983). Therefore, distribution of these parameters inside the poultry house upon variation in internal and external physical properties such as temperature, velocity and direction of the wind are unknown.

Understanding of the distribution of these variables can be used to improve thermal comfort of the animals and workers anywhere in the installation, as well as for improving the project in its architectural aspects and in the selection and localization of ventilation equipment. At the same time, this may allow for perfecting the environment in the poultry house, aiming to obtain thermal comfort for the birds economize energy and improve efficiencies. These advantages adequately contribute to animal welfare and environmental sustainability.

In the agriculture sciences the use of CFD models based on heat and mass transfer, as well as momentum ones, have been widely used in several studies to evaluate the effect of some climatic variables to predict the thermal response to inside of plant and animal installations (Ayad, 1999; Wu & Gebremedhin, 2001; Bjerg *et al.* 2002; Sun *et al.* 2002; Aerts & Berckmans, 2004; Gebremedhin & Wu, 2005; Norton *et al.* 2010). These CFD models reduce the number of experiments needed which has aided in achieving higher efficiencies in the agricultural industry.

Some of the advantages of the use of computational models

in agriculture sciences, have been presented by Schauburger *et al.* (2000) as follows: to quantify of the real requirements of ventilation in any part of an installation as function of its occupation; to incorporate external climate conditions for design and selection of ventilation systems; the models can also combine dependent spatial and temporal parameters, which affect distribution of pollutants inside the structure and calculate the concentration of these pollutants as a function of time.

The indoor environment of the poultry houses plays an important role in production performance. Air temperature, relative humidity, pollutant concentration, thermal radiation and air movement can all affect the animal comfort conditions, which reduce bird production as the energy required for their development is used to diminish discomfort based stress. These situations inside the installations can be simulated and analyzed through the use of CFD.

Up to 2007, only three studies on CFD applications in actual scale broiler houses had been published due to computational requirements to solve the equations of the model, an aspect that today has been overcome (Norton *et al.* 2007).

Based on these facts, the objective of this study was to utilize and validate a computational model for heat transfer and fluid flow based on computational fluid dynamics (CFD) to analyze the temperature distribution at the height of the birds in a acclimatized broiler house with tunnel ventilation systems of negative and positive pressure, with and without internal water misting, which are the most commonly employed types of environmental conditioning systems in Brazilian poultry industry.

MATERIAL AND METHODS

Operating and experimental conditions: The poultry house analyzed in this study is located in the region of Rio Verde (Goias, Brazil) and is part of the integrated system of the industry. A total of 22700 male Cobb broilers are housed in each installation with a stocking density of 14 birds per m^2 . The building dimensions are 126m in length, 12.8m in width and 3 m in height at the lateral wall, with 0.5m of overhang and 25% inclination of the roof. The installation presents two lateral air entrances (Figure 1).

The broiler house is non-insulated and is equipped with a mechanical air ventilation system (negative pressure) type tunnel composed of seven exhaust fans with the following characteristics: diameter of 1m, 1 HP, efficiency of 76.5% and air volumetric flow of $22788m^3 h^{-1}$ (air per exhaust fan). A total air flow rate of $159516m^3 h^{-1}$ is produced when all seven exhaust fans are operating, which occurs in the most critical conditions of thermal discomfort (air temperature $> 29^\circ C$) for broilers with an age greater than 28 days.

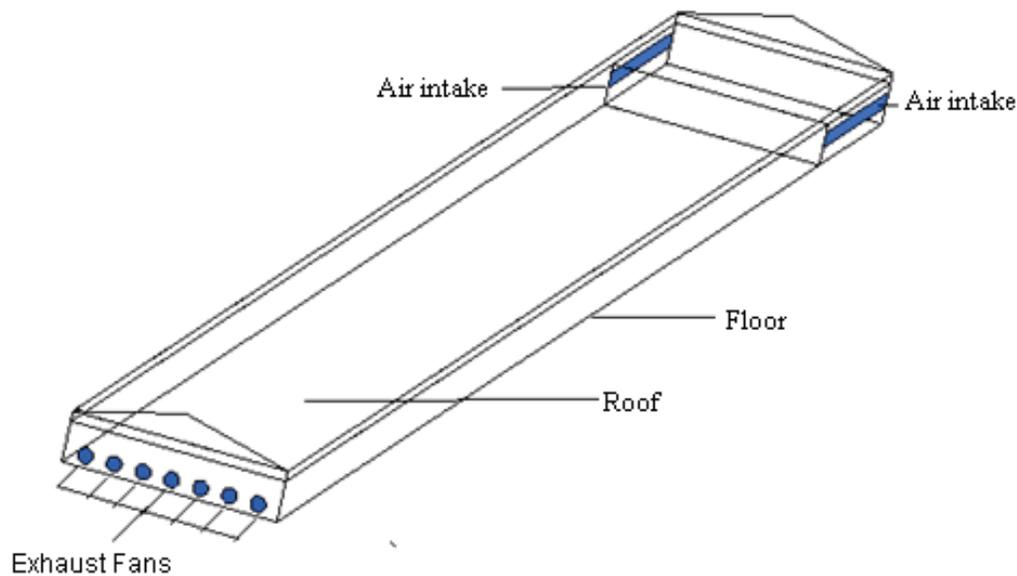


Figure 1. Schematic of the modeled and simulated broiler house

A misting system of the installation is located on the roof (3m) and consisted of 180 micro-misters which generated a water flow of $0.25\text{m}^3\text{h}^{-1}$ was uniformly distributed throughout the entire building. The misting system was considered in the model as a boundary condition of negative heat transfer and defined by the product of the evaporated water flow by the latent heat of vaporization ($h_{fg} = 2449\text{ kJ kg}^{-1}$) at 29°C .

The heat transfer generated by the birds was calculated by equation (1) proposed by Curtis (1983) which relates heat transfer to animal body weight. The average body weight used to broiler chicken ranged from 2.4 to 2.8kg.

$$Q_m = \frac{aW^b}{A} \quad (1)$$

The points of temperature measurement were located 39 m from the exhaust fans at the height of the birds (0.30m) and also near the ceiling ridge (4.3m). The values were registered using eight dataloggers of relative humidity and temperature (HOBO model HO8) with resolution of $0.5^\circ\text{C} \pm 1\%$, measured at 15 minute intervals. The temperature at the roof was measured with an ICEL infrared thermometer model TD95, with resolution of 1°C and accuracy of $\pm 2\%$. Data of the atmospheric environment (temperature, velocity and direction of the wind) were obtained with a data acquisition system installed on a meteorological station 1.5m of the ground and in the same direction of the broiler house (east-west).

Computational modeling: The fluid flows are governed by partial differential equations which represent conservation laws for the mass, momentum, and energy. The CFD was used to solve the Navier – Stokes and energy equations for the computation of velocity, temperature and pressure by the finite volumes technique (Löhner, 2008). Due to the complexity of the geometry, the ANSYS ICEM CFD software was chosen to build a hexagonal computational mesh, which allows for better results with fewer errors than a tetrahedral mesh (Lee *et al.* 2007).

The physical behavior that characterizes non-isothermal fluid flow is described by means of the equations of continuity, momentum, energy and mass and simplified as follows (Ahmadi & Hashemabadi, 2008; Kim *et al.* 2008):

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho U) = 0 \quad (2)$$

$$\frac{\partial (\rho U)}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho U U) = \nabla p + [\mu_\tau (\nabla U + \nabla U^T)] \quad (3)$$

$$\frac{\partial (C_p T)}{\partial t} + \nabla \cdot (-k \nabla T + \rho C_p T U) = -\frac{dm}{dt} h_{fg} \quad (4)$$

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} + \vec{V} \cdot \nabla C_i = \nabla \cdot (D \nabla C_i) + \frac{dm}{dt} \quad (5)$$

The turbulent flow was modeled using the k-ε standard model, which evaluates the turbulent viscosity (μ_τ) from

the relation between turbulent kinetic energy (k) and the dissipation of the turbulent kinetic energy (ϵ).

The term $(-\frac{dm}{dt} h_{fg})$ in the equation of energy conservation (4) refers to a negative energy that is defined as the latent heat of vaporization at constant temperature multiplied by the mist flow generated by the spray. Thus, this term is coupled to the equation of energy and species conservation (5).

To the simulation process was employed the ANSYS CFX® under the following conditions: (a) the simulation was initially at steady state followed by transient analysis; (b) incompressible flow; and (c) turbulent flow. A maximal solution residue less than 10^{-4} was adapted as convergence criteria to mass, energy and momentum.

Boundary conditions. The measured experimental values in a broiler house with positive pressure tunnel ventilation and internal misting was modeled considering the following boundary conditions: to the inlet the gradient of static pressure (0 Pa) and air temperature (26°C); outlet air velocity of 9.95 m s^{-1} ; ceiling average temperature (55°C); constant heat flux of 48.7 W m^{-2} to the floor surface.

Validation of the simulation process: The results obtained by the CFD simulation were verified and compared with the corresponding data obtained experimentally in the field for the case of tunnel ventilation with negative pressure. Inside of the poultry house were located eight (8) dataloggers of relative humidity and temperature in different places, at high of level of birds (0.20m), and the experimental data was collected during eight (8) days. A total sample of 35 experimental measurements was taken and compared with the CFD results. The model fit between measured values and the numerical result by the CFD simulation was evaluated by calculating the normalized mean square error (NMSE)

where values of NMSE less than 0.25 are accepted as good indicators of fit according to ASTM (2002).

$$NMSE = \frac{(\overline{C_p - C_o})^2}{(C_{pm} \cdot C_{om})} \tag{6}$$

where:

$$(\overline{C_p - C_o})^2 = \frac{\sum_i (C_{pi} - C_{oi})^2}{N} \tag{7}$$

$$C_{pm} = \frac{1}{N} \sum_i C_{pi} \tag{8}$$

$$C_{om} = \frac{1}{N} \sum_i C_{oi} \tag{9}$$

The values of C_{pi} and C_{oi} are predicted and measured values, respectively. N is the total number of data.

RESULTS AND DISCUSSION

The computational mesh for the barn internal air volume was generated using the software ANSYS ICEM CFD. A mesh test was constructed using a quadratic mesh consisting of 127325 nodes and 151218 elements, called mesh 1. It was compared with a second mesh consisting of 152219 nodes and 189004, called mesh 2, and a third mesh consisting of 157219 nodes and 196994, called mesh 3. It was observed that mesh 2 and mesh 3 showed no significant statistical difference ($p < 0.05$) concerning temperature as function of space and time (Figure 2I and 2II) which makes the mesh 2 the best choice.

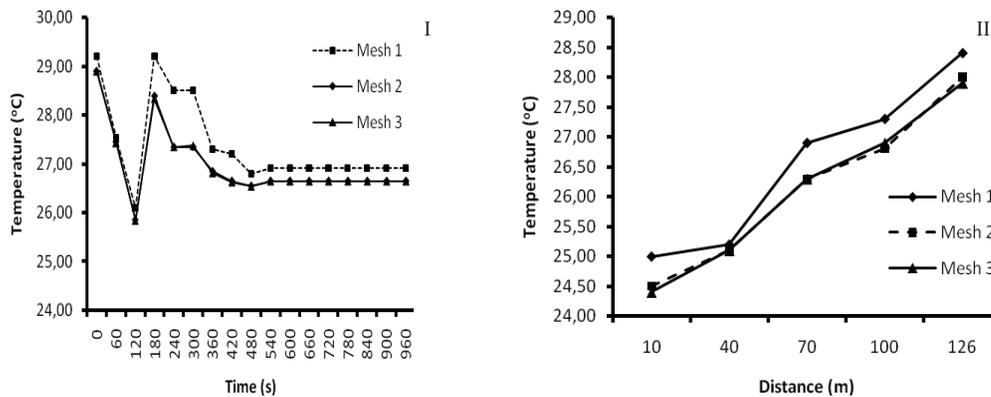


Figure 2. Test for meshes for temporal (I) and spatial (II) distribution.

Table 1. Experimental data compared with theoretical values found to negative pressure ventilation.

Data	Height of the birds (0.30m)		Height of the ceiling (4.3m)	
	Experimental (°C)	Proposed model (°C)	Experimental (°C)	Proposed model (°C)
Average	26.49	26.76	27.74	28.25
NMSE	0.0041		0.0057	

For the experimental case where the broiler house work with misting and negative pressure ventilation was used to compare the results of with simulated values of temperature at the level of the birds (0.30m) and near the ceiling (4.3m). The results indicate that there is no statistical difference (Table 1) as the NMSE values were < 0.25, which indicates that the simulation is capable of accurately predicting temperature under the conditions tested.

Temperature distribution at the birds height level shows a similar behavior to that encountered by Norton *et al.* (2007). Growing temperature gradients were verified with the proximity to the exhaust fans, with temperatures greater than 30°C, which causes thermal discomfort of adult broilers (6 to 7 weeks of age). The ideal temperature of comfort for broilers at the age of slaughter has been reported to be between 25 and 29°C.

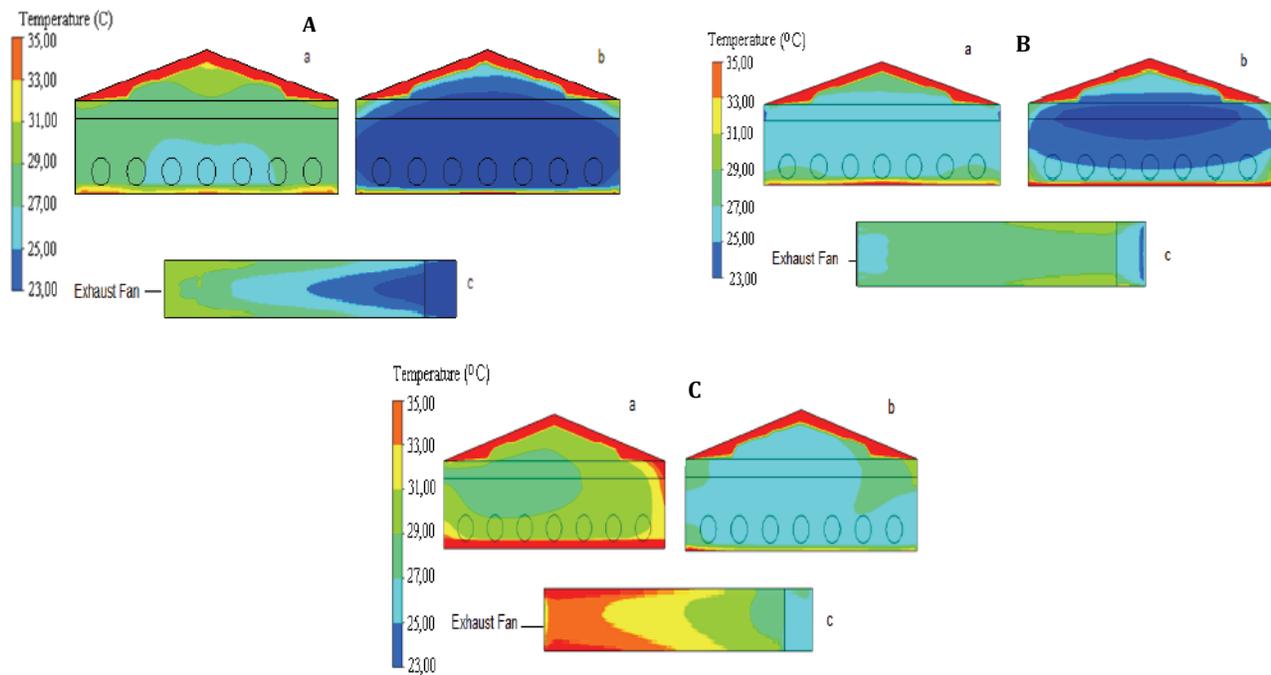


Figure 3. Simulated temperature distribution under different operating conditions: negative pressure ventilation and misting (A); positive pressure ventilation and misting (B); negative pressure ventilation without misting (C) in the central plane (a), lateral entrances (b) and the plane at the height of the birds (c).

Figures 3A, B and C present the generated CFD models for air temperature distribution with and without the effect of misting and operating with negative and positive pressure, inside the broiler house at the height of the birds (0.30m) and 39 meters from the exhaust fans, where data was collected.

When there are critical operational conditions, such as internal temperatures greater than 29°C, ventilation systems of negative or positive pressure have been used in combination with adiabatic evaporative cooling systems such as internal misting as analyzed in this work. When both

systems are used simultaneously (ventilation and misting), temperatures in the range of 23 to 29°C are obtained in the big part of the structure (Figure 3A) where it was verified that these temperatures are not uniform throughout the building.

The figure 3B presents the air temperature distributions when using positive pressure ventilation and misting. This condition type is less efficient for reducing air temperature within the structure when compared with negative pressure ventilation. For ventilation with positive pressure, temperature at the bird's height varied between 25 and 33°C. The lower efficiency of positive pressure ventilation may be explained by the fact that this system generates a low intensity vertical component of velocity which prevents the convective transport of heat generated by the birds. Another consequence of the decrease in air velocity (vertical component) is thermal stratification as the hot air mass near the birds is not mixed with the upper layers where misting occurs (cold air zone).

The difference between the flow dynamics to the positive and negative ventilation cases verified by the proposed simulation, shows that heat removal efficiency is directly related to the vertical air currents. Therefore, favorable situations for the production of these currents are preferred.

Simulation of the installation performance with only the exhaust fans operating and without internal misting shows temperature at the level of the birds varying between 25 and 35°C, entering in the range of high thermal discomfort. This may be explained by the non-uniformed distribution of temperature throughout the broiler house (Figure 3C).

The distribution of air velocity inside the broiler house with misting and negative pressure ventilation on the plane at the

height of the birds shows a behavior similar to the results presented in other studies (Lee *et al.* 2007; Norton *et al.* 2007; Blanes-Vidal *et al.* 2008; Norton *et al.* 2009). In the regions near the exhaust fans, the rotational flow diminished as expected. According to figure 4, the air velocity at the height of the birds (0.3m) in the plane at the lateral entrances shows velocities between 0 and 2.0m s⁻¹, at the middle of the building between 0 and 1.0 ms⁻¹, and one meter from the exhaust fans from 2.5 to 5.0m s⁻¹. Therefore, it was verified that air velocity values were adequate for boiler chickens (air velocity less than 2.5m s⁻¹) values found in real situations.

Figure 5 shows the behavior of temperature versus time at the height of the birds, at 15, 70 and 115m from the outlets. It was observed that the steady state temperature in each sector of the poultry house reached values between 500 and 660 seconds, which matches the real operating conditions (experimental data from Figure 5). In reality, as the highest temperature and the longest time of stabilization to reach temperatures in the range of thermal comfort are located close to the exhausters, it is feasible that the temperature sensors which activate the misting cooling and the exhausters be close to the ventilation system.

Based on the obtained results, it was concluded that the proposed CFD simulation can be used to adequately characterize the temperature distribution inside broiler houses. The tested models can be used to improve the design of the structures, placement of air inlets, along with location of the exhaust fans. The evaluation of additional systems, such as misting systems, can also be undertaken with greater precision, allowing for a structure which offers optimal thermal conditions and greater animal performance.

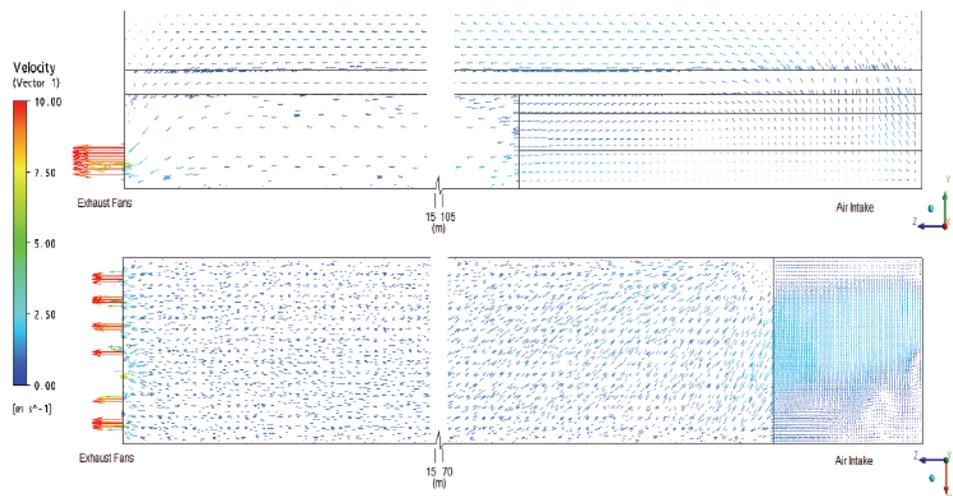


Figure 4. Airflow distribution for negative pressure: a) Transversal section of broiler house; b) 30cm above the ground.

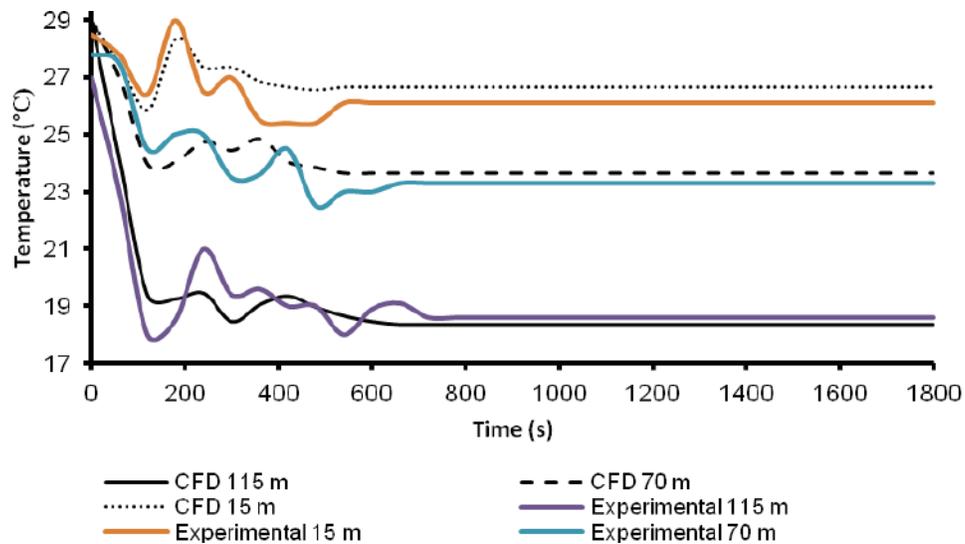


Figure 5. Modeled air temperature for negative pressure at 15, 70 and 115m from exhausters at the bird's height.

Nomenclature	
C_p	Specific heat, $\text{kJ kg}^{-1} \text{K}^{-1}$
C_{pi}	Predicted value
C_{oi}	Measured value
C_{pm}	Average of the predicted values
C_{om}	Average of the measured values
C_i	Concentration of the species i
h	Convection heat transfer coefficient, $\text{W m}^{-2} \cdot \text{K}^{-1}$
h_{fg}	Latent heat of vaporization, kJ kg^{-1}
k	Thermal Conductivity, $\text{W m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$
m_p	Mass of the droplet, kg
N	Number of measurements
Q_m	Metabolic rate, kcal h^{-1}
T	Temperature, K
U	Vector velocity
\bar{v}	Velocity component, m s^{-1}
W	Average weight of the birds, kg
dm/dt	Mist flow generated by the spray, kg s^{-1}
Greek Symbols	
ρ	Density, kg m^{-3}
μ_t	Turbulent Viscosity, Pa.s
k	Turbulent kinetic energy per unit mass, J kg^{-1}
ε	Dissipation rate of k , $\text{J kg}^{-1} \text{s}^{-1}$
Superscripts	
T	Transposition of the tensor
Constants	
a,b	Constants equal to 2.9 and 0.75

Acknowledgements: The authors would like to thank the National University of Colombia, Federal University of Viçosa, Minas Gerais State, Brazil, the Colombia Government agency COLCIENCIAS, Brazilian Government agencies FAPEMIG, the National Council of Technological and Scientific Development (CNPq - Brazil) and CAPES, for their financial support. **Conflicts of interests:** The manuscript was presented and reviewed with the participation of all the authors who declare that there is no conflict of interest that threatens the validity of the results presented.

BIBLIOGRAPHY

1. AERTS, J.M.; BERCKMANS, D. 2004. A virtual chicken for climate control design: static and dynamic simulations of heat losses. *Transact. ASAE*. 47(5):1765-1772.
2. AHMADI, A.H.; HASHEMABADI, S.H. 2008. 3D CFD simulation and experimental validation of particle-to-fluid heat transfer in a randomly packed bed of cylindrical particles. *Int. Communic. Heat Mass Transf.* 35(9):1183-1189.
3. ASTM. 2002. Guide for statistical evaluation of indoor air quality models (D5157-97). In *ASTM Standards on Indoor Air quality*, 2nd ed. Am. Soc. for Testing Materials. West Conshohocken, Pa. p.68-71.
4. AYAD, S.S. 1999. Computational study of natural ventilation. *J. Wind Eng. Industrial Aerodyn.* 82(1):49-68.

5. BJERG, B.; SVIDT, K.; ZHANG, G.; MORSING, S.; JOHNSEN, J.O. 2002. Modelling of air inlets in CFD prediction of airflow in ventilated animal houses. *Comp. Electron. Agric.* 34(1):223-235.
6. BLANES-VIDAL, V.E.; GUIJARRO, S.; BALASCH, E.A.; TORRES, G. 2008. Application of computational fluid dynamics to the prediction of airflow in a mechanically ventilated commercial poultry building. *Biosyst. Eng.* 100(1):105-116.
7. CURTIS, S.E. 1983. Environmental management in animal agriculture. AMES. The Iowa State University. 499p.
8. GEBREMEDHIN, K.G.; WU, B. 2005. Simulation of flow field of a ventilated and occupied animal space with different inlet and outlet conditions. *J. Thermal Biol.* 30(5):343-353.
9. KIM, K.J.Y.; YOON, H.J.; KWON, J.H.; HAN, J.; EEK SON, S.W.; NAM, G.A.; GIACOMELLI, E.I.; LEE, B. 2008. 3-D CFD analysis of relative humidity distribution in greenhouse with a fog cooling system and refrigerative dehumidifiers. *Biosyst. Eng.* 100(2):245-255.
10. LÖHNER, R. 2008. Applied Computational Fluid Dynamics Techniques: An Introduction Based on Finite Element Methods (2nd ed.). John Wiley & Sons (England). 538p.
11. LEE, I.B.; SADANOR, S.; SUNG S.H. 2007. Evaluation of CFD Accuracy for the Ventilation Study of a Naturally Ventilated Broiler House. *JARQ.* 41(1):53-64.
12. NORTON, T.; GRANT, R.J.; FALLON, V., SUN, D.W. 2010. Improving the representation of thermal boundary conditions of livestock during CFD modelling of the indoor environment. *Comp. Electron. Agric.* 73(1):17-36.
13. NORTON, T.; GRANT, R.J.; FALLON, V., SUN, D.W. 2009. Assessing the ventilation effectiveness of naturally ventilated livestock buildings under wind dominated conditions using computational fluid dynamics. *Biosyst. Eng.* 103(1):78-99.
14. NORTON, T.; SUN, D.W.; GRANT, R.J.; FALLON, V. 2007. Applications of computational fluid dynamics (CFD) in the modeling and design of ventilation systems in the agricultural industry. A review. *Biores. Techn.* 98(12):2386-2414.
15. SCHAUBERGER, G.; PIRINGER, M.; PETZ, E. 2000. Steady state balance model to calculate the indoor climate of livestock buildings, demonstrated for finishing pigs. *Int. J. Biometeorol.* 43(4):154-162.
16. SUN, H.H.; KEENER, R.; STOWELL, R.; MICHEL JR, F.C. 2002. Two-dimensional computational fluid dynamics (CFD) modeling of air and ammonia distribution in a High-RiseTM Hog Building (HRHB). *Trans. ASAE.* 45(5):1559-1568.
17. WU, B.; GEBREMEDHIN, K.G. 2001. CFD Development and Simulation of Flow Fields in Ventilated Spaces with Multiple Occupants. *Transact. ASAE.* 44(6):1839-1850.

Received: 17 May 2012

Accepted: 11 March 2013

EFECTO DEL FOTOPERIODO Y DEL ALIMENTO SOBRE LA PRODUCTIVIDAD DE DOS CLADÓCEROS NATIVOS (*Moina* sp. y *Diaphanosoma* sp.) DE LA ORINOQUIA COLOMBIANA

EFFECT OF THE PHOTOPERIOD AND FOOD ON PRODUCTIVITY OF TWO NATIVE CLADOCERANS (*Moina* sp. and *Diaphanosoma* sp.) OF THE COLOMBIAN ORINOQUIA

Marcela Muñoz¹, Víctor Mauricio Medina², Pablo Emilio Cruz-Casallas³

¹ Bióloga Marina, e-mail: marce8407@gmail.com; ² Médico Veterinario Zootecnista, M.Sc. en Ciencias Animales; e-mail: mauriciomedina77@gmail.com; ³ Médico Veterinario Zootecnista, M.Sc. en Ciencias en Producción Animal, Ph.D. en Medicina Veterinaria, área Reproducción Animal, pecruzcasallas@unillanos.edu.co Grupo de Investigación sobre Reproducción y Toxicología de Organismos Acuáticos - GRITOX, Instituto de Acuicultura - Universidad de los Llanos, km 12 vía Puerto López, Villavicencio, Meta – Colombia.

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 167 - 174, 2013

RESUMEN

Los cladóceros, se consideran una opción para la larvicultura de peces, debido a su tamaño pequeño, rápido desarrollo, alta tasa de multiplicación, facilidad de cultivo, alto contenido de enzimas digestivas y facilidad de manipular su valor nutricional; sin embargo, no existen tecnologías para su cultivo masivo, que permitan reducir costos, por concepto de alimento en la producción de larvas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del fotoperiodo y tipo de alimento sobre el crecimiento de *Moina* sp. y *Diaphanosoma* sp., cultivados en recipientes de 3L, a una densidad de 10 ind.L⁻¹. Se evaluaron tres periodos de luz: 0, 12 y 24 h y tres tipo de alimento: suspensión de algas (*Chlorella vulgaris* - 1 x 10⁵ cel.mL⁻¹); suspensión de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae* - 1 x 10⁵ cel.mL⁻¹) y mezcla (50:50) de las dos. La densidad de la población, se determinó cada tres días, a partir de una muestra de 500mL, utilizando la cámara Bogorov y estereoscopio (50X). Se calculó la tasa específica de crecimiento (k), rendimiento (r), tiempo de duplicación (TD), densidad máxima y densidad final del cultivo. *Moina* sp. mostró los mejores resultados, cuando se cultivó con fotoperiodo de 12 horas de luz y se alimentó con la mezcla de microalga y levadura, mientras que *Diaphanosoma* sp. creció con 0 y 12 horas de luz, independientemente del tipo de alimento utilizado; no obstante, la mayor tasa de crecimiento se observó con la mezcla de microalga y levadura.

Palabras clave: *Chlorella vulgaris*, crecimiento, fotoperiodo, *Saccharomyces cerevisiae*.

SUMMARY

Cladocerans have become an option for fishfarmers due to their small size, rapid development, high multiplication rate, ease of cultivation, high content of digestive enzymes and easy handling of their nutritional value. However, no technologies for mass cultivation to reduce food costs in larvae production are available. The objective of the present study was to evaluate the effect of photoperiod and food type on growth of *Moina* sp. y *Diaphanosoma* sp. cultivated in flasks of 3L at a density of 10 ind.L⁻¹. Three periods of light were evaluated: 0, 12 and 24h and three types of food: algae suspension (*Chlorella vulgaris* - 1 x 10⁵ cel.mL⁻¹), yeast suspension (*Saccharomyces cerevisiae* - 1 x 10⁵ cel.mL⁻¹) and the mixture (50:50) of both. Population density was determined every three days, from a sample of 500mL using Bogorov chamber and stereoscope (50X). Specific growth rate (k), yield (r), time of duplication (TD), maximum density and final density of the culture were calculated. *Moina* sp. showed the best results, when cultured under a photoperiod of 12 hours light and fed with the microalgae and yeast mixture, whereas *Diaphanosoma* sp. grew with a photoperiod of 0 and 12 hours light, regardless of the type of food used, although the highest growth rate was attained with the microalgae and yeast mixture.

Key words: *Chlorella vulgaris*, growth, photoperiod, *Saccharomyces cerevisiae*.

INTRODUCCIÓN

En piscicultura, el suministro de alimento que satisfaga las necesidades nutricionales en las fases de larvicultura y alevinaje es primordial para garantizar la sobrevivencia de los organismos y mejorar la producción (Torretera-Blanco & Tacon, 1989). El uso de alimento vivo, fitoplancton y zooplancton, para el levante de larvas y de alevinos de peces, se ha convertido, en las últimas décadas, en una opción para los piscicultores, por constituir una adecuada fuente de nutrientes, con alto contenido de proteína, de carbohidratos y de ácidos grasos y poseer enzimas necesarias para el desarrollo y el crecimiento de las larvas, como proteinasas, peptidasa, amilasas, lipasas y celulasas (Sipaúba-Tavares & Rocha, 2003); sin embargo, la piscicultura ha tenido que enfrentar los altos costos que genera el uso de alimento vivo, principalmente, por los cistos de *Artemia salina* importados, que son los más utilizados para esta práctica (Velu & Munuswamy, 2003), debido a que no existen tecnologías de cultivo que permitan obtener masivamente poblaciones de especies nativas y, de esta forma, poder reducir los costos de su producción (Prieto *et al.* 2006).

Entre el zooplancton, los cladóceros han adquirido gran popularidad, debido a su tamaño pequeño, rápido desarrollo, alta tasa de multiplicación, facilidad de cultivo, alto contenido de enzimas digestivas y facilidad de manipular su valor nutricional (Dodson & Frey, 2001; Prieto, 2001); sin embargo, aún faltan estudios sobre la biología de diferentes especies de cladóceros con potencial, para ser utilizados como alimento vivo. Según Sipaúba-Tavares & Rocha (2003), con relación al plancton de agua dulce es preciso llevar a cabo estudios sobre su comportamiento reproductivo y las condiciones ambientales, para establecer sistemas eficientes de producción, a gran escala.

En el cultivo de los cladóceros y del zooplancton, en general, existen diversos factores que influyen sobre la reproducción y el desarrollo, afectando su producción; dentro de estos factores, se encuentran la calidad y la cantidad de alimento suministrado, el fotoperiodo, la temperatura y los agentes contaminantes, entre otros (Rodríguez-Estrada *et al.* 2003; Prieto & Atencio, 2008). Entre estos factores, el fotoperiodo es una variable que ha sido muy poco estudiada, aunque tiene gran importancia, debido a que la luz juega un papel importante en la síntesis de carotenoides de los huevos y es necesaria para la madurez sexual de los organismos (Torretera-Blanco & Tacon, 1989); además, los ciclos diarios de luz y de oscuridad tienen una fuerte influencia sobre el comportamiento de los cladóceros, pues puede afectar directa o indirectamente patrones de locomoción, de alimentación, de reproducción y de muda (Starkweather, 1976).

Entre los trabajos realizados recientemente, se encuentra el

de Martínez-Jerónimo (2012), quien estudió los efectos de dos temperaturas (20 y 25°C) y de dos fotoperiodos (12:12 and 16:8, luz:oscuridad) sobre el crecimiento de *Daphnia magna* y observó que la mejor tasa de crecimiento (0,182) ocurre cuando los organismos se cultivan a 25°C, con fotoperiodo de 12 h de luz y 12 de oscuridad.

También en *D. magna*, se estudiaron las estrategias reproductivas bajo la influencia de diferentes condiciones de alimentación, de fotoperiodo y de presencia de solventes y se encontró, como resultado, que un fotoperiodo corto altera la proporción de sexos en la población, al aumentar la producción de machos (Zhang & Baer, 2000). Korpelainen (1986) evaluó el efecto de la temperatura y del fotoperiodo sobre los parámetros de vida de *D. magna*, y observó que el fotoperiodo tiene influencia significativa sobre la sobrevivencia y la producción de machos.

Con relación al alimento, se han llevado a cabo varias investigaciones en cladóceros, enfocadas a la búsqueda de un alimento que permita su crecimiento satisfactorio y una adecuada composición bioquímica. La principal fuente de alimento de estos organismos son microalgas; sin embargo, por ser filtradores no selectivos, se pueden alimentar de diferentes sustancias, como levaduras, que se han convertido en una opción en la producción de zooplancton, al mostrar buenos resultados en su crecimiento (Santos *et al.* 2006; Prieto & Atencio, 2008; Ocampo *et al.* 2010). Prieto *et al.* (2006) llevaron a cabo un estudio en *Moina* sp. alimentándola con *Ankistrodesmus* sp. y *Ankistrodesmus* sp. más *Saccharomyces cerevisiae* y encontraron mejores resultados en el crecimiento del cladóceros cuando lo alimentaron con la mezcla de microalga y de levadura.

Peña-Aguado *et al.* (2005), igualmente, evaluaron el crecimiento de *Ceriodaphnia dubia* y *Moina macropopa*, alimentados con *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus acutus* y *S. cerevisiae* en diferentes combinaciones, y obtuvieron los mejores resultados, cuando fueron alimentados con la mezcla de las dos microalgas. También en *Moina macropopa*, Jiménez *et al.* (2003) estudiaron el efecto de diferentes fuentes de alimento, como *Scenedesmus abundans*, *S. cerevisiae* y alimento para protozoos de camarones marinos Z-plus; ellos hallaron la mayor densidad con este último alimento.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del fotoperiodo y del tipo de alimento sobre el crecimiento de dos especies de cladóceros nativos de la Orinoquia colombiana.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación, se llevó a cabo en el Laboratorio de Aguas y Alimento Vivo del Instituto de Acuicultura de la Universidad de los Llanos (IALL), localizado a 12km de Villavicencio, ca-

pital del departamento del Meta. El laboratorio, se encuentra ubicado a una altura de 418 msnm, con temperatura promedio de 25°C, precipitación pluvial anual de 4050 mm y humedad relativa del 75%.

Como material biológico, se utilizaron cladóceros del género *Moina* y *Diaphanosoma*, capturados de los estanques de la estación piscícola del Instituto de Acuicultura (IALL) de la Universidad de los Llanos (UNILLANOS) y luego llevados al laboratorio y sometidos a un periodo de aclimatación de un mes, al cabo, del cual, se inició la realización de los experimentos.

Se realizaron dos experimentos: en el primero, se evaluaron variables productivas bajo el efecto de diferentes fuentes de fotoperiodo y, en el segundo, bajo el efecto de diferentes fuentes de alimento. En ambos, los ejemplares se aislaron aleatoriamente y se alojaron a una densidad de siembra de 10 ind.L⁻¹, en frascos de vidrio de 3L de capacidad con agua madurada, que se preparó dejando agua corriente en tanques con oxígeno durante una semana y se mantuvieron con aireación constante.

En el experimento 1, los organismos fueron alimentados con una suspensión algal de *Ch. vulgaris*, a una concentración de 1 x 10⁵ cel/mL. y fueron sometidos a tres regímenes diferentes de fotoperiodos, bajo una misma intensidad lumínica, proporcionada con lámparas fluorescentes comerciales de 75 watts (Phillips, Holanda), así: T1=0h de luz; T2=12h de luz y T3=24h de luz, de tal forma que se pudiera evaluar el crecimiento, bajo un régimen de luz permanente, de ausencia total de luz y con presencia y ausencia de luz en proporción 50:50. El encendido y el apagado de las lámparas, se controló con temporizadores digitales programables (Electric Line, USA). En el experimento 2, se utilizó el fotoperiodo más eficiente para cada especie, de acuerdo con los resultados encontrados en el experimento 1 y los organismos fueron sometidos a tres diferentes fuentes de alimento, así: T1=Suspensión de algas (*C. vulgaris*), a una concentración de 1 x 10⁵ cel.mL⁻¹; T2=Suspensión de levaduras (*S. cerevisiae*), a una concentración de 1 x 10⁵ cel.mL⁻¹ y T3=Mezcla de *C. vulgaris* y *S. cerevisiae*, en una proporción 50:50, para ambos casos, bajo las mismas concentraciones anteriores. La densidad del alimento, se determinó mediante recuento celular en cámara de Neubauer (Boeco Bright-line, Alemania), bajo un microscopio óptico (400X - Nikon E200, Japón).

En ambos experimentos, se midieron los parámetros físico-químicos iniciales del agua, con un pHmetro (Hanna, Italia), para temperatura (Experimento 1: 24,9°C, Experimento 2: 25,5°C) y pH (Experimento 1: 6,5 Experimento 2: 5,8), una sonda multiparamétrica (YSI Professional Plus, USA), para conductividad (3,51 μS/cm, en Experimento 1 y 2) y un

Kit para amonio (0,00 mg/L, en Experimento 1 y 2) (Hach, USA). Durante los ensayos, se midió cada tres días temperatura y pH.

En todos los tratamientos, se realizaron el mismo número de replicas (6), las cuales, fueron asignadas aleatoriamente a las unidades experimentales de cada tratamiento. Para el conteo de organismos, se utilizó una muestra de 500 mL y se efectuó el recuento en una cámara Bogorov (Aquatic Eco-Systems INC, USA), bajo estereoscopio (50X - Nikon SMZ80, Japón), cada tres días, durante 21 días de cultivo. Una vez a la semana, se llevó a cabo recambio de agua del 80%.

Como variables para evaluar el crecimiento poblacional, en cada tratamiento, se determinó: tasa específica de crecimiento $k=(\ln Nt_1-\ln Nt_0)/t$, rendimiento $r=(Nt_1-Nt_0)/t$, tiempo de duplicación $TD=\ln 2/k$, densidad máxima (mayor número de individuos durante todo el periodo de cultivo), densidad final del cultivo (individuos.mL⁻¹); en los casos anteriores, Nt_1 =número final de individuos expresados en mL, Nt_0 =número inicial de individuos expresados en mL y t =tiempo en días (Prieto *et al.* 2006).

Para el análisis estadístico, se empleó un diseño de clasificación experimental, donde los tratamientos se asignaron aleatoriamente. Los datos obtenidos fueron procesados, a través de estadística descriptiva y expresados como media ± error estándar de la media. Posteriormente, los datos fueron sometidos a pruebas de homogeneidad de varianza (Bartlett) y de normalidad (Kolmogorov-Smirnov). Debido a que los datos no cumplieron con los supuestos para los análisis de varianza, aún después de ser transformados, se procedió a analizar los datos, mediante estadística no paramétrica (Díaz-Cadauid, 1999). Por lo tanto, se realizó una prueba de Kruskal-Wallis, con el fin de determinar las diferencias entre los tratamientos y una prueba de Duncan, cuando se encontraron diferencias significativas. El análisis estadístico, se llevó a cabo mediante el programa GraphPad Prism versión 5.00, con un nivel de significancia de $p<0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el experimento 1, se encontraron diferencias significativas en *Moina* sp. ($p<0,05$), entre T2 (12h de luz) y T1 (0h de luz) y T3 (24h de luz). En los dos últimos tratamientos, se observó una disminución en la densidad de la población, la cual, llegó hasta $0,6 \pm 0,6$ Ind.L⁻¹, en ambos casos, mientras que en T2, la densidad máxima y final de cultivo fue de $349,2 \pm 75,0$ Ind.L⁻¹. En *Diaphanosoma* sp., por su parte, se encontraron diferencias significativas ($p<0,05$), entre T1 y T3. La densidad máxima y final para T1 y T2 fue de $262,0 \pm 122,1$ y $151,4 \pm 101,9$ Ind.L⁻¹, respectivamente. En T3, la densidad final de cultivo fue de $0,0 \pm 0,0$ Ind.L⁻¹.

El ciclo circadiano es un factor fundamental en el desarrollo de los cladóceros, el cual, ha sido poco estudiado y es muy escasa la información que se encuentra publicada con relación a los efectos del fotoperiodo sobre el comportamiento de estos organismos, bajo condiciones de cultivo. Uno de los primeros trabajos realizados en el área fue el de Starkweather (1976), quien reportó que periodos continuos de luz o de oscuridad pueden afectar el comportamiento de los cladóceros al influir directa o indirectamente sobre los patrones de locomoción, de alimentación, de reproducción y de muda. Este hecho se ve reflejado en los resultados observados en el presente estudio, principalmente con *Moina* sp., que no mostró crecimiento alguno cuando se cultivó bajo fotoperiodos de 0 o de 24 horas de luz, al igual que en *Diaphanosoma* sp., que tampoco creció bajo un régimen de luz continua.

En ambos casos, el incremento en la concentración de la microalga que crece más rápido al estar mayor tiempo expuesta a la luz (Sipaúba-Tavares & Rocha, 2003), pudo haber afectado, directamente, la sobrevivencia de estos organismos, al obstruir su aparato filtrador y deteriorar la calidad del agua (Ovie & Ovie, 2008). El aumento en la concentración de la microalga durante el ensayo, se pudo observar fácilmente por la coloración verde oscura que tomaron los tratamientos, bajo el fotoperiodo de luz continua. En estudios anteriores, se ha encontrado que densidades superiores a $1,5 \times 10^6$ cel.mL⁻¹ de *Scenedesmus acuminatus* inhiben el crecimiento de *Moina micrura* (Ovie & Egborge, 2002) y de *D. excisum* (Ovie & Ovie, 2008).

Con relación a la observación de que *Diaphanosoma* sp. haya crecido bajo la ausencia de luz, se puede explicar como un fenómeno de adaptación de la especie, que también se ha observado en el ambiente natural; Liu & Hu (2001) encontraron en un estudio realizado en China, una especie de *Diaphanosoma* que tendía a permanecer durante el día en las capas profundas de la columna de agua, posiblemente, para evitar la predación por peces u otros organismos invertebrados.

A pesar que en este caso los organismos no estaban expuestos a predadores, la cepa utilizada en los experimentos provenía de estanques de piscicultura, donde son susceptibles a la predación, lo que, posiblemente, haya provocado su adaptación a sobrevivir, bajo condiciones de baja luminosidad. Por este motivo, es necesario llevar a cabo estudios en el ambiente natural sobre la biología de los organismos que se quieren cultivar, para conocer cuáles son sus hábitos bajo estas condiciones, con el fin de simularlas en el laboratorio y obtener mejores resultados en su producción.

Las variables productivas de *Moina* sp. y *Diaphanosoma* sp., bajo diferentes regímenes de fotoperiodo, se pueden observar en la tabla 1. En *Moina* sp., el tratamiento que mostró mejores resultados fue el T2 (12h de luz), mientras que los valores de tasa específica y rendimiento obtenidos con T1 (0h de luz) y T3 (24h de luz) fueron negativos. No se reportaron valores de tiempo de duplicación para T1 (0h de luz) y T3 (24h de luz), debido a que no hubo crecimiento de la población.

En *Diaphanosoma* sp. no fue posible obtener la tasa específica de crecimiento de T3 (24h de luz), debido a que la densidad final en este tratamiento fue de 0; lo mismo ocurrió con el tiempo de duplicación, el cual, se calcula a partir de la tasa específica de crecimiento. Aunque no se encontraron diferencias significativas en el crecimiento de *Diaphanosoma* sp., entre el T1 (0h de luz) y el T2 (12h de luz), en el T1 (0h de luz), se obtuvo una mayor tasa de crecimiento, un mayor rendimiento y una menor tasa de duplicación en relación al T2.

Al comparar las mejores tasas de crecimiento obtenidas en el presente ensayo, en *Moina* sp., con 12 horas de luz (0,169) y en *Diaphanosoma* sp., con 0 horas de luz (0,155), estas estuvieron por debajo de las observadas por Martínez-Jerónimo (2012) en *D. magna*, quien también obtuvo la mejor tasa de crecimiento (0,182), cuando cultivó este cladóceros con un fotoperiodo de 12 horas de luz.

Tabla 1. Variables productivas de *Moina* sp. y *Diaphanosoma* sp., cultivadas durante un periodo de 21 días, bajo diferentes regímenes de fotoperiodo.

VARIABLES PRODUCTIVAS	Moina sp.			Diaphanosoma sp.		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3
K (día ⁻¹)	-0,134	0,169	-0,134	0,155	0,129	*
R (Ind.L ⁻¹ .día ⁻¹)	-0,448	16,152	-0,448	12	6,733	-0,476
TD (días)	*	4,101	*	4,472	5,373	*

K: tasa de crecimiento instantánea, R: rendimiento, TD: tiempo de duplicación, T1: 0 horas de luz, T2: 12 horas de luz, T3: 24 horas de luz.

Los valores promedios de pH y de temperatura para cada tratamiento en el cultivo de *Moina* sp. y *Diaphanosoma* sp., en el experimento 1, no mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$). En el cultivo de *Moina* sp., los valores de pH en los diferentes tratamientos se encontraron entre 4,4 y 6,1 y en el de *Diaphanosoma* sp., entre 4,6 y 6,2. La temperatura, por su parte, osciló entre 27,3°C y 28,6°C, en los tratamientos del cultivo de *Moina* sp. y, entre 27,1 y 28,7°C, en los tratamientos del cultivo de *Diaphanosoma* sp.

A diferencia del fotoperiodo, la alimentación es un factor que ha sido muy estudiado en los cladóceros, debido a que estos organismos son filtradores no selectivos (Santos *et al.* 2006; Prieto & Atencio, 2008; Ocampo *et al.* 2010), característica que permite alimentarlos con diversos productos, con el fin de mejorar su producción.

En el experimento 2, se utilizó un fotoperiodo de 12 horas de luz, para el cultivo de *Moina* sp. y, de 0 horas de luz, para el de *Diaphanosoma* sp., los cuales, corresponden a aquellos en los que se observaron los mejores valores de las variables productivas evaluadas en el experimento 1. A pesar de no observarse diferencias significativas entre el fotoperiodo de 0 h de luz y el de 12 h de luz en *Diaphanosoma* sp., se advirtió una tendencia a presentar mayor tasa de crecimiento y de rendimiento, con el primer régimen de fotoperiodo.

En *Moina* sp., se observó mortalidad del 100%, en el T1 (*C. vulgaris*) y la densidad poblacional fue diferente ($P < 0,05$), entre T1 (*C. vulgaris*), comparada con T2 (*S. cerevisiae*) y T3 (*C. vulgaris* y *S. cerevisiae*). La densidad máxima y final alcanzada en T2 (*S. cerevisiae*) y T3 fue de $63,3 \pm 15,3$ y $344,0 \pm 197,0$ Ind.L⁻¹, respectivamente.

En *Diaphanosoma* sp. no se observaron diferencias significativas ($P > 0,05$) en las densidades, entre los diferentes tra-

tamientos. La densidad máxima y final en T1 (*C. vulgaris*) y T2 (*S. cerevisiae*) fue de $54,3 \pm 25,0$ y $91,7 \pm 23,8$ Ind.L⁻¹, respectivamente, mientras que en T3 (*C. vulgaris* y *S. cerevisiae*), la máxima densidad se alcanzó en el día 18, con $251,7 \pm 80,2$ Ind.L⁻¹, para luego disminuir hacia el final del experimento ($233,0 \pm 73,6$ Ind.L⁻¹).

Las variables productivas de *Moina* sp. y *Diaphanosoma* sp., bajo los tres diferentes tipos de alimento, se observan en la tabla 2. En T1 (*C. vulgaris*) de *Moina* sp., no fue posible obtener la tasa de crecimiento específica ni el tiempo de duplicación, debido a que su densidad final fue 0. A pesar de no encontrarse diferencias significativas entre T2 (*S. cerevisiae*) y T3 (*C. vulgaris* y *S. cerevisiae*), se observó una tendencia a presentar mayor tasa de crecimiento, mayor rendimiento y menor tiempo de duplicación en T3 (*C. vulgaris* y *S. cerevisiae*), comparado con T2 (*S. cerevisiae*). En *Diaphanosoma* sp., a pesar de no existir diferencias significativas en las densidades entre tratamientos, se observó una tendencia a presentar mayor tasa de crecimiento específica, mayor rendimiento y menor tiempo de duplicación con T3 (*C. vulgaris* y *S. cerevisiae*), seguida de T2 y T1.

Trabajos realizados anteriormente por otros investigadores, coinciden en que una dieta basada solamente en levadura es pobre nutricionalmente para el desarrollo de los cladóceros y que estos organismos pueden ser útiles como suplemento nutricional, mas no como única fuente de alimento (Peña-Aguado *et al.* 2005).

Prieto *et al.* (2006), por ejemplo, encontraron mejores resultados en *Moina* sp., con una dieta basada en una mezcla de *Ankistrodesmus* sp. y *S. cerevisiae* que alimentándolo solamente con microalga; ellos registraron, con el primer tipo de alimento, una tasa de crecimiento de 0,325, un rendimiento de 1100 ind.L⁻¹.d⁻¹ y un tiempo de duplicación de 1,94 días,

Tabla 2. Variables productivas de *Moina* sp. y *Diaphanosoma* sp., cultivadas durante un periodo de 21 días, bajo diferentes tipos de alimentación.

VARIABLES PRODUCTIVAS	Moina sp.			Diaphanosoma sp.		
	T1	T2	T3	T1	T2	T3
K (día ⁻¹)	*	0,088	0,168	0,081	0,106	0,150
R (Ind.L ⁻¹ .día ⁻¹)	-0,476	2,548	15,905	2,110	3,890	10,619
TD (días)	*	7,877	4,126	8,557	6,539	4,621

K: tasa de crecimiento instantánea, R: rendimiento, TD: tiempo de duplicación, T1: *Chlorella vulgaris*, T2: *Saccharomyces cerevisiae*, T3: *Chlorella vulgaris* + *Saccharomyces cerevisiae*.

mientras que alimentados con microalga, la tasa de crecimiento fue de 0,267, el rendimiento de 500 ind.L⁻¹.d⁻¹ y el tiempo de duplicación de 2,6 días.

Estos resultados estuvieron por encima a los hallados en el presente trabajo, en el que la mayor tasa de crecimiento en *Moina* sp. fue de 0,168 y en *Diaphanosoma* sp. de 0,150. Jiménez *et al.* (2003), por su parte, observaron crecimiento en *Moina* sp., de 5571,42 ± 1037,56 ind.L⁻¹, alimentada sólo con levadura; sin embargo, su crecimiento fue menor que cuando se alimentó únicamente con microalga (7936,50 ± 953,27 ind.L⁻¹). En este caso, las densidades halladas por estos investigadores fueron muy superiores a las encontradas en el presente estudio, debido a que la densidad inicial de cultivo empleadas por ellos fue mayor (1000 ind.L⁻¹).

Otro estudio realizado con levaduras es el de Ocampo *et al.* (2010), quienes usaron una densidad inicial de 25 ind.L⁻¹, para cultivar *D. magna*, alimentándola con levadura enriquecida con ácidos grasos y obtuvieron una máxima densidad de 826 ind.L⁻¹, una tasa de crecimiento de 0,258 y un tiempo de duplicación de 2,69 días.

Sin embargo, también se han realizado trabajos con diferentes fuentes de alimento, en los que se ha encontrado buenos resultados, como el llevado a cabo por Prieto (2001), quien evaluó dos especies de microalgas (*Ankistrodesmus* sp. y *Chlorella* sp.) por separado y en mezcla y observó mejores resultados con la mezcla de las microalgas, debido a que tenían un tamaño diferente, lo que disminuía la competencia entre neonatos y adultos. Es probable que lo mismo haya sucedido en el presente ensayo, pues a pesar de haber poca diferencia en el tamaño de la célula, entre la microalga (8 μm) y la levadura (5 μm), esto pudo haber permitido la disponibilidad de partículas de diferentes tamaños para neonatos y adultos, lo cual, Prieto *et al.* (2006) también concluyeron al alimentar a *Moina* sp., con una mezcla de *Ankistrodesmus* sp. y *S. cerevisiae*.

En general, los resultados obtenidos en este trabajo estuvieron por debajo de los observados por otros investigadores; las máximas densidades halladas no superaron los 344,0 ind.L⁻¹, en *Moina* sp. y los 251,7 ind.L⁻¹, en *Diaphanosoma* sp., cuando se alimentaron con la mezcla, mientras que Romero *et al.* (2010) obtuvieron densidades máximas en *Moina* sp., alimentada con *Chlorella* sp., de 9000 ind.L⁻¹, y en el trabajo de Sarma *et al.* (2003) encontraron en *Moina macropopa*, una densidad de 18000 ind.L⁻¹ y, en *Daphnia pulex*, de 3000 ind.L⁻¹, alimentadas con *Ch. vulgaris*.

No obstante, las investigaciones anteriores emplearon densidades iniciales de cultivo superiores a los 200 ind.L⁻¹, muy superior a la dispuesta en el presente trabajo (10 ind.L⁻¹), lo que corrobora lo que se ha encontrado en otros estudios, en

los que se ha observado que bajas densidades generan una falla en la iniciación del cultivo en masa de *M. mongólica* y que la mínima densidad requerida para iniciar un cultivo de esta especie es de 150 ind.L⁻¹ (Wang *et al.* 2009), por lo que es muy probable que las bajas densidades y tasa de crecimiento, se deban a que la densidad de siembra fue muy baja para una adecuada iniciación del cultivo; sin embargo, las tasas de crecimiento del presente estudio fueron similares a las halladas en *M. macropopa*, en el trabajo realizado por Nandini *et al.* (2004), quienes obtuvieron una tasa de 0,19, cuando la cultivaron en aguas residuales y de 0,15, cuando la cultivaron sólo en microalga (*Ch. vulgaris*).

Los valores promedios de pH y de temperatura para cada tratamiento en el cultivo de *Moina* sp. y *Diaphanosoma* sp., en el experimento 2, no mostraron diferencias significativas (P<0,05). En el cultivo de *Moina* sp., los valores de pH en los diferentes tratamientos, se encontraron entre 4,2 y 5,7 y en el de *Diaphanosoma* sp., entre 5,4 y 5,7. La temperatura, por su parte, osciló entre 27,4°C y 27,6°C, en los tratamientos del cultivo de *Moina* sp. y, entre 26,5 y 26,8°C, en los tratamientos del cultivo de *Diaphanosoma* sp.

A pesar que en el primer ensayo las dos especies de cladóceros mostraron crecimiento alimentadas sólo con microalga y que otros estudios, como el de Rodríguez-Estrada *et al.* (2003) reportan buen crecimiento en *M. micrura*, alimentada con *Scenedesmus incrustatus* (k=0,75) y con *Ankistrodesmus falcatus* (k=0,6), en el segundo experimento del presente ensayo no se observó crecimiento alguno de *Moina* sp., alimentada con la microalga.

Esto se puede explicar por los efectos del pH en el cultivo de *Moina* sp., en este tratamiento, los cuales, estuvieron un poco por debajo a los niveles que se manejaron en el primer ensayo y esta pequeña diferencia, aunque no significativa estadísticamente, biológicamente sí pudo tener influencia sobre la sobrevivencia de los organismos. Según Rottmann *et al.* (2003), los valores de pH óptimos para el buen desarrollo de *Moina* son entre 7 y 8, de lo contrario, el incremento de las formas no ionizadas de amonio, que son altamente tóxicas, pueden inhibir la producción del zooplancton.

A pesar que los cladóceros pudieron crecer en tratamientos que presentaron un pH por debajo de 6,2, las tasas de crecimiento fueron inferiores a las reportadas por otros autores en diferentes especies de cladóceros. Lo anterior, posiblemente, por la acidez del medio en el que se encontraban, que pudo generar una situación de estrés y, al reducirse un el pH, se pudo afectar, severamente, la sobrevivencia de los organismos en el tratamiento de microalga, sumado al efecto adverso que genera el exceso de alimento.

Es por esta razón, que se hace indispensable profundizar en

estudios sobre las diferentes variables ambientales que pueden tener efecto sobre el desarrollo de las especies de cladóceros que se quieren cultivar, para de esta forma poder tener mayor control sobre su producción.

En conclusión, *Moina* sp. crece mejor cultivada con un fotoperiodo de 12 horas de luz y alimentada con una mezcla de microalga y levadura, mientras que *Diaphanosoma* sp. crece igualmente con un fotoperiodo de 0 o de 12 horas de luz y presenta igual crecimiento con las diferentes fuentes de alimento; sin embargo, existe una tendencia a presentar mayor crecimiento con un fotoperiodo de 0 horas de luz, alimentada con la mezcla de microalga y levadura.

También es necesario realizar nuevos estudios, donde se involucren otras variables ambientales, que pueden afectar el crecimiento de las especies nativas de la Orinoquia, para de esta forma poder tener un control más preciso sobre el cultivo de estos organismos e implementar su producción a gran escala.

Agradecimientos: Los autores agradecen a la Profesional en Acuicultura Angélica María Otero Paternina, por su colaboración en los montajes del ensayo y al estudiante de Ingeniería Pecuaría Wilson Cáceres, por su apoyo en la parte experimental, durante todo el ensayo. **Financiación:** El presente trabajo fue realizado en el marco del convenio 190 de 2010, suscrito entre el Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación Francisco José de Caldas (COLCIENCIAS) y la Universidad de los Llanos. **Conflictos de intereses:** El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de interés que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

- DÍAZ-CADAVID, A. 1999. Diseño estadístico de experimentos. Editorial Universidad de Antioquia (Colombia). 347p.
- DODSON, S.I.; FREY, D.G. 2001. Cladocera and other Brachiopoda. In: Thorp, J.H.; Covich, A.P. (eds.) Ecology and classification of North American freshwater invertebrates. 2nd ed. Acad. Press (USA). p.849-913.
- JIMÉNEZ, D.; ROSAS, J.; VELÁSQUEZ, A.; MILLÁN, J.; CABRERA, T. 2003. Crecimiento poblacional y algunos aspectos biológicos del cladocero *Moina macrocopa* (Straus, 1820) (Branchiopoda, Anomopoda), alimentado con tres dietas en tres salinidades diferentes. CIENCIA (Venezuela). 11(1):22-30.
- KORPELAINEN, H. 1986. The effects of temperature and photoperiod on life history parameters of *Daphnia magna* (Crustacea: Cladocera). Freshwater Biol. (Inglaterra). 16(5):615-620.
- LIU, Z.; HU, Y. 2001. Vertical Distribution of the Dominant Planktonic Crustaceans in a Mesotrophic Reservoir, Xujiahe Reservoir (Central China). Limnologica (Alemania). 31:171-178.
- MARTÍNEZ-JERÓNIMO, F. 2012. Description of the individual growth of *Daphnia magna* (Crustacea: Cladocera) through the von Bertalanffy growth equation. Effect of photoperiod and temperature. Limnology (Japón). 13:1-7.
- NANDINI, S.; AGUILERA-LARA, D.; SARMA, S.S.S.; RAMÍREZ-GARCÍA, P. 2004. The ability of selected cladoceran species to utilize domestic wastewaters in Mexico City. J. Environm. Managem. (USA). 71:59-65.
- OCAMPO, L.E.; BOTERO, M.C.; RESTREPO, L.F. 2010. Evaluación del crecimiento de un cultivo de *Daphnia magna* alimentado con *Saccharomyces cerevisiae* y un enriquecimiento con avena soya. Rev. Col. Cienc. Pec. 23:78-85.
- OVIE, S.I.; OVIE, S.O. 2008. Population Growth of the Freshwater Cladoceran, *Diaphanosoma excisum*, Fed Different Densities of the Alga, *Scenedesmus acuminatus*. The Israeli J. Aquacult. Bamidgeh 60(2):107-112.
- OVIE, S.I.; EGBORGE, A.B.M. 2002. The effect of different algal densities of *Scenedesmus acuminatus* on the population growth of *Moina micrura* Kurz (Crustacea: Anomopoda, Moinidae). Hydrobiologia (Bélgica). 477:41-45.
- PEÑA-AGUADO, F.; NANDINI, S.; SARMA, S.S.S. 2005. Differences in population growth of rotifers and cladocerans raised on algal diets supplemented with yeast. Limnologica. 35:298-303.
- PRIETO, M.; ATENCIO, V. 2008. Zooplancton en la larvicultura de peces neotropicales. Rev. MVZ Córdoba (Colombia). 13(2):1415-1425.
- PRIETO, M.; DE LA CRUZ, L.; MORALES, M. 2006. Cultivo experimental del cladóceros *Moina* sp. alimentado con *Ankistrodesmus* sp. y *Saccharomyces cerevisiae*. Rev. MVZ Córdoba. 11(1):705-714.

14. PRIETO, M. 2001. Aspectos reproductivos del cladóce-ro *Moinodaphnia* sp. en condiciones de laboratorio. Rev. MVZ Córdoba. 6(2):102-110.
15. RODRÍGUEZ-ESTRADA, J.; VILLASEÑOR-CÓRDOBA, R.; MARTÍNEZ-JERÓNIMO, F. 2003. Efecto de la temperatura y tipo de alimento en el cultivo de *Moina micrura* (Kurz, 1874) (Anomopoda: Moinidae) en condiciones de laboratorio. Hidrobiológica. (México). 13(3):239-246.
16. ROMERO, T.J.; MANSO, B.; LÓPEZ, R.; MARTÍNEZ, F.; MORENO, M. 2010. Producción de *Moina* sp. alimentada con *Chlorella* spp. cultivada con riles orgánicos de la industria pesquera cubana. REDVET (España). 11(12): 1-20.
17. ROTTMANN, R.W.; SCOTT-GRAVES, J.; CRAIG-WATSON; YANONG R.P.E. 2003. Culture Techniques of *Moina* : The Ideal *Daphnia* for Feeding Freshwater Fish Fry. Circular 1054, Department of Fisheries and Aquatic Sciences, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. 7p.
18. SANTOS, M.A.P.F.; MELÃO, M.G.G.; LOMBARDI, A.T. 2006. Life history characteristics and production of *Ceriodaphnia silvestrii* Daday (Crustacea, Cladocera) under different experimental conditions. Acta Limnol. Bras. 18(2):199-212.
19. SARMA, S.S.S.; MANGAS-RAMIREZ, E.; NANDINI, S. 2003. Effect of ammonia toxicity on the competition among three species of cladocerans (Crustacea:Cladocera). Ecotoxicol. Environm. Safety (USA). 55:227-235.
20. SIPAÚBA-TAVARES, L.H.; ROCHA, O. 2003. Produção de Plâncton (Fitoplâncton e Zooplâncton) para alimentação de Organismos Aquáticos. RiMa editora (Brasil). 106p.
21. STARKWEATHER, P.L. 1976. Influences of light regime on postembryonic development in two strains of *Daphnia pulex*. Limnol. Oceanography (USA). 21(6):830-837.
22. TORRENTERA-BLANCO, L.; TACON, A.G.J. 1989. La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura. AQUILA- Apoyo a las Actividades Regionales de Acuicultura para América Latina y el Caribe. Project Reports No. 12. 90p.
23. VELU, C.S.; MUNISWAMY, N. 2003. Nutritional evaluation of decapsulated cysts of fairy shrimp (*Streptocephalus dichotomus*) for ornamental fish larval rearing. Aquacult. Res. (Inglaterra). 34:967-974.
24. WANG, Y.; XIE, N.; WANG, W. 2009. Effects of algal concentration and initial density on the population growth of *Diaphanosoma celebensis* Stingelin (Crustacea, Cladocera). Chinese J. Oceanol. Limnol. 27(3):480-486.
25. ZHANG, L.; BAER, K.N. 2000. The influence of feeding, photoperiod and selected solvents on the reproductive strategies of the water flea, *Daphnia magna*. Environm. Poll. (USA). 110:425-430.

Recibido: Mayo 18 de 2012

Aceptado: Enero 29 de 2013

DIAGNÓSTICO SOBRE EL DECOMISO DE FAUNA SILVESTRE EN EL DEPARTAMENTO DEL CHOCÓ (PACÍFICO NORTE COLOMBIANO)

DIAGNOSIS ON ILLEGAL SEIZURE OF WILDLIFE IN THE DEPARTMENT OF CHOCÓ (COLOMBIAN NORTHERN PACIFIC)

Jeferson Asprilla-Perea¹, Jorge Eliecer Serna-Agudelo², Yacira Palacios-Asprilla³

¹Magister en Manejo y Conservación de Recursos Naturales, profesor Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Tecnológica del Chocó "Diego Luís Córdoba". Dirección: Cr. 13a N. 18-150 Quibdó, Chocó, Colombia. E-mail: jasprilla@gmail.com; ²Estudiante Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Tecnológica del Chocó "Diego Luís Córdoba". E-mail: jorgeserna123@gmail.com; ³Estudiante Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Tecnológica del Chocó "Diego Luís Córdoba". E-mail: jharykiset@yahoo.es

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 175 - 184, 2013

RESUMEN

El departamento del Chocó (Pacífico norte colombiano) figura dentro de los ocho lugares registrados como los principales sitios de origen de la fauna silvestre decomisada en Colombia; sin embargo, para la región no se cuenta con estadísticas claras sobre las especies con mayor frecuencia de decomiso, ni con evaluaciones sobre el proceso y la disposición de los ejemplares posterior al mismo, elementos que podrían ser fundamentales para el diseño de estrategias de conservación del recurso. Por lo anterior, en el presente estudio, se identificó la fauna silvestre decomisada en el departamento del Chocó, durante 2005 a 2010, para lo cual, se revisaron las bases de datos oficiales de autoridades ambientales y se entrevistaron a funcionarios de las mismas. A nivel de resultados, se obtuvo que las aves y los mamíferos son los grupos taxonómicos más decomisados, ya que cerca del 80% de individuos aprehendidos pertenecen a estos taxones. La especie más incautada fue *Trachemys callirostris callirostris* (tortuga Icoatea), con el 22,2% (161 individuos), del total de individuos. El municipio de Quibdó es la zona geográfica del departamento donde se registró el mayor número de individuos y de especies decomisadas. No se identificaron rutas establecidas para el tráfico de fauna silvestre. En cuanto a conservación, se estableció que la mayor parte de las especies decomisadas (80,6%), se clasifican en alguna categoría de amenaza, según los criterios establecidos por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza

(UICN), siendo los peces, las aves y los mamíferos los vertebrados más críticos en esta materia.

Palabras clave: Especies faunísticas decomisadas, autoridades ambientales, conservación.

SUMMARY

Chocó department belongs to the eight places with the major illegal wildlife commercial trade and wildlife confiscation registered in Colombia. Nevertheless, there is no clear statistic about species frequently involved; a serious assessment about wildlife decommissions (processes and management) have not been carried out. This information could be used as tool to support implementation of resource management or as conservation strategy. This study describes seized wildlife in the department of Chocó during six years (2005-2010), based on an intensive revision from official databases of environmental authorities and interviews with officials. The results showed that 80% of the seized wildlife is composed of birds and mammals. *Trachemys callirostris callirostris* (turtle Icoatea) was the most seized species (161 individuals corresponding to 22.2% of illegal wildlife seized). The municipality of Quibdó is the geographical area of Chocó department where the highest number of individuals and species were confiscated. No established routes for illegal wildlife trafficking were found. In terms of conservation the majority of confiscated species (80.6%) are in a category of threat according to crite-

ria established by the International Union for Conservation of Nature (IUCN) Red List of threatened species. Fish, bird and mammal species seized in Chocó department are under the highest threatened level by the IUCN criteria.

Key words: Illegal wildlife seizure, environmental authorities, conservation.

INTRODUCCIÓN

El territorio de Colombia contiene más del 10% de la biodiversidad mundial faunística (Mayr Maldonado, 1999). Se estima que en el país existen aproximadamente 45.000 especies de plantas vasculares, 1.875 de aves, 733 de anfibios, 520 de reptiles y 447 de mamíferos (Rodríguez-Mahecha *et al.* 2006). Entre el patrimonio natural de Colombia, la diversidad de fauna silvestre constituye uno de los componentes de mayor significado. A nivel global, esta riqueza sitúa a Colombia, en el primer lugar, en número de especies de aves, en el segundo, respecto a anfibios y, en el tercero, con primates, reptiles y mariposas (Rangel, 2004).

Dentro del territorio nacional, la fauna de vertebrados del Chocó Biogeográfico se encuentra representada por 132 especies de mamíferos, 578 de aves, 139 de reptiles, 92 de anfibios (Rangel, 2004).

Esta enorme riqueza de fauna silvestre constituye un recurso determinante en la dinámica natural de los ecosistemas, al igual que para la subsistencia de las comunidades humanas de las áreas rurales del neotrópico; sin embargo, es importante señalar que las actividades extractivas no planificadas de un elevado número de animales y de manera regular constituyen un gran riesgo para la conservación de las especies (Baptiste *et al.* 2002; Bennett & Robinson, 2000; Redford, 1992; Robinson & Redford, 1991).

Por lo anterior y debido a que la protección de dicha biodiversidad está a cargo del Estado, el cual, por mandato constitucional tiene el deber de garantizar la sostenibilidad de la diversidad biológica del país, ha establecido diferentes acciones educativas, normativas y de planificación en pro de la conservación del patrimonio diverso colombiano.

A nivel normativo, se han diseñado medidas preventivas y sancionatorias, entre las que se encuentra el decomiso, concebido como una estrategia importante para contribuir a la conservación de las especies removidas de sus hábitats naturales, reduciendo el tráfico ilegal (Ley 99 de 1993, Ley 1333 de 2009, Resolución 2064 de 2010 del Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial); no obstante, y pese a que el departamento del Chocó figura entre los ocho lugares registrados como el principal sitio de origen de la fauna silvestre decomisada en Colombia (Contraloría Gene-

ral de la República, 2005), aun no se cuenta con estadísticas claras para la región sobre las especies con mayor frecuencia de decomiso, ni con evaluaciones sobre el proceso de tráfico y disposición de los ejemplares posterior al mismo, elementos que son fundamentales para el diseño de estrategias de conservación del recurso faunístico y para el fortalecimiento de las acciones adelantadas por las autoridades ambientales, en el cumplimiento de sus funciones de vigilancia y de control, ya que según Baptiste *et al.* (2002), el total de los decomisos puede estar entre el 1 y el 10% de la fauna silvestre comercializada.

En el presente estudio evaluamos diferentes aspectos relacionados con la fauna silvestre decomisada en el departamento del Chocó, como un aporte de conocimientos para la identificación de posibles especies en riesgo por su tenencia ilegal, con la finalidad de proveer elementos que ayuden a las autoridades ambientales en el cumplimiento de sus actividades de vigilancia y control sobre este recurso.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área comprendida en el análisis. El área de influencia del proyecto fue el departamento del Chocó (Colombia), para lo cual, se revisaron las bases de datos de decomiso de fauna silvestre de la Corporación Autónoma Regional para el Desarrollo Sostenible del Chocó "CODECHOCO" y del Instituto Colombiano de Desarrollo Rural "INCODER". Debido a la disponibilidad de datos por parte de las autoridades ambientales, se estableció un rango temporal de seis años de evaluación para el análisis (2005 – 2010).

Con los datos obtenidos, se conformó una lista sobre la composición taxonómica de especies de fauna silvestre decomisada; igualmente, se analizaron el número de especies e individuos decomisados por año, datos que son presentados gráficamente y en tablas, para facilitar su comprensión.

Diferencias estadísticamente significativas entre el número de individuos registrados por año para las diez especies principales de fauna silvestre decomisada en el Chocó fueron evaluadas, a través de un Análisis de Varianza de una vía. Este mismo procedimiento, se realizó para detectar diferencias estadísticamente significativas entre el número de individuos decomisados por año en cada uno de los ocho municipios del departamento del Chocó, donde se documentó la mayor cantidad de incautaciones. Los datos fueron analizados usando el paquete estadístico STATGRAPHICS Centurion XV.

Debido a que los datos de decomisos reportados para el bocachico, *Prochilodus magdalenae* corresponden a una temporalidad diferente a los obtenidos para las otras especies de vertebrados analizadas y a que es un taxón cuyo aprovechamiento extractivo, con fines comerciales, es aceptado por

las autoridades ambientales, el análisis de sus decomisos se llevó a cabo de manera independiente.

Evaluación del estado de conservación. Una vez determinada la composición taxonómica de las principales especies de fauna silvestre decomisada por parte de autoridades ambientales en el departamento del Chocó, se efectuó una revisión bibliográfica para la determinación del estado de amenaza para las poblaciones colombianas, de cada una de las especies identificadas. Este proceso, se realizó de acuerdo a las categorías establecidas por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza "UICN" (Castaño-Mora, 2002; Mojica *et al.* 2002; Resolución 0572 de 2005 del Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición taxonómica de especies decomisadas (2005 – 2010). Se registró un total de 724 individuos de fauna silvestre decomisados durante los seis años de evaluación. Dichos individuos pertenecen a cuatro clases (peces, reptiles, aves y mamíferos), 25 órdenes, 51 familias, 69 géneros y 72 especies (Tabla 1).

La clase aves presenta el mayor número de órdenes, familias, géneros y especies decomisadas (48%, 39,2%, 43,5% y 45,8%, respectivamente), mientras que la clase peces fue la menos representada (Tabla 1). Estos resultados son concordantes con lo reportado por Baptiste *et al.* (2002), en sus investigaciones sobre el tráfico de fauna silvestre en Colombia, quienes mencionan que las exportaciones ilegales de animales silvestres en el país se concentran en las aves, en 79,83%.

Pese a lo anterior, los resultados del presente estudio difieren con los obtenidos por Cruz-Antía *et al.* (2010), para el municipio de Puerto Carreño, en el departamento del Vichada, donde se reporta que durante el 2008 y el 2009, los mamíferos

fueron el grupo taxonómico con mayor porcentaje de especies decomisadas, con el 58% del total registrado (11 especies), mientras que las aves estuvieron representadas solamente en un 26% (5 especies) y los reptiles, con el 16% (3 especies).

Comportamiento del decomiso de *P. magdalenae* (bocachico) entre los años 2004 - 2007. Los registros de decomiso del bocachico, durante los años de evaluación, muestran un total de 88 toneladas incautadas de este pez, lo cual, corresponde a 338.461 individuos de la especie, que equivalen a 6.769 arrobas (entendiéndose en el concepto tradicional de la región, una arroba como 50 individuos, aproximadamente).

La dinámica de decomisos muestra que para el 2004 y 2005, se registraron los mayores valores en términos de toneladas de bocachico incautado, ya que del 74% (65 toneladas), del total aprehendido, un 26%, se decomisó entre el 2005 y el 2007.

Es preciso señalar que pese a la importancia socio-económica del bocachico para el Chocó, la información suministrada por el Instituto Colombiano para el Desarrollo Rural (INCODER, 2010) no permitió identificar las causas asociadas a esta considerable disminución en decomisos de esta especie, entre el 2006 y el 2007.

Principales especies de fauna silvestre decomisada. La especie que presentó el mayor porcentaje de decomiso durante el 2005 y 2010 fue *Trachemys callirostris callirostris* (tortuga Icoatea), con el 22,2% (equivalentes a 161 individuos), del total registrado (724), seguido de *Serinus canaria* (canario) y *Melopsittacus undulatus* (perico australiano), con 6,5% y 5,7%, respectivamente (Tabla 2).

Es pertinente anotar que las especies *S. canaria* y *M. undulatus* son exóticas en el departamento del Chocó, por tanto, su presencia, en la mayoría de los casos, obedece al tráfico ilegal. Este hecho, se puede verificar al revisar en las actas

Tabla 1. Número de individuos de fauna silvestre (por grupos taxonómicos) decomisada en el departamento del Chocó (2005 – 2010).

Clase	Orden	%	Familia	%	Género	%	Especie	Porcentaje (%)
Peces	2	8,0	2	3,9	2	2,9	2	2,8
Reptiles	3	12,0	11	21,6	13	18,8	13	18,1
Aves	12	48,0	20	39,2	30	43,5	33	45,8
Mamíferos	8	32,0	18	35,3	24	34,8	24	33,3
Total	25	100	51	100	69	100	72	100

Fuente: Elaboración propia con datos suministrados por CODECHOCO, 2010.

Tabla 2. Porcentaje de especies de fauna silvestre decomisada en el departamento del Chocó (2005 – 2010) y su categoría de amenaza, según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN).

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	NÚMERO TOTAL DE INDIVIDUOS (2005 - 2010)	PORCENTAJE	AMENAZA (UICN)
<i>Trachemys callirostris callirostris</i>	Tortuga icotea	161	22,2	VU
<i>Serinus canaria</i>	Canario	47	6,5	LC
<i>Melopsittacus undulatus</i>	Perico australiano	41	5,7	LC
<i>Amazona ochrocephala</i>	Loro frentiamarillo	31	4,3	LC
<i>Bradypus variegatus</i>	Perezoso	31	4,3	LC
<i>Kinosternon dunni</i>	Tortuga tapa culo	30	4,1	VU
<i>Potos flavus</i>	Cuzumbo	28	3,9	LC
<i>Amazona farinosa</i>	Loro real	25	3,5	LC
<i>Boa constrictor</i>	Boa	23	3,2	
<i>Cuniculus paca</i>	Guagua	23	3,2	LC
<i>Brotogeris jugularis</i>	Perico real	20	2,8	LC
<i>Saguinus leucopus</i>	Mico titi	20	2,8	EN
<i>Bubo virginianus</i>	Buho real	16	2,2	LC
<i>Ateles geoffroyi rufiventris</i>	Mico marimonda	14	1,9	EN
<i>Cacatua sp</i>	Cacatua	14	1,9	
<i>Amazona autumnalis</i>	Loro frentirojo	13	1,8	LC
<i>Choloepus hoffmanni</i>	Perezoso de dos uñas	13	1,8	LC
<i>Iguana iguana</i>	Iguana	12	1,7	
<i>Pionus menstruus</i>	Loro cabeciazul	12	1,7	LC
<i>Cebus capucinus</i>	Mono cariblanco	9	1,2	LC
<i>Ara ararauna</i>	Guacamaya	8	1,1	LC
<i>Dasyprocta punctata</i>	Guatin	8	1,1	LC
<i>Pseudoscops clamator</i>	Buho	8	1,1	LC
<i>Columba sp</i>	Palomas	7	1,0	
<i>Penelope ortonii</i>	Pava de monte	6	0,8	EN
<i>Porphyrio martinica</i>	Chilaco	6	0,8	LC
<i>Sciurus granatensis</i>	Ardilla coliroja	6	0,8	LC
<i>Didelphis marsupialis</i>	Chucha	5	0,7	LC
<i>Chelonoidis carbonaria</i>	Tortuga morro	5	0,7	
<i>Mimus gilvus</i>	Sinsonte	5	0,7	LC
<i>Tamandua tetradactyla</i>	Oso hormiguero	5	0,7	LC
<i>Chironius carinatus</i>	Culebra cazadora	4	0,6	
<i>Crax rubra</i>	Paujil	4	0,6	VU
<i>Dasyopus novemcinctus</i>	Armadillo	4	0,6	LC
<i>Eremophila alpestris peregrina</i>	Alondra	4	0,6	LC
<i>Megascops choliba</i>	Currucutú	4	0,6	LC
<i>Ramphastos swainsonii</i>	Tucan	4	0,6	LC
<i>Caiman crocodilus fuscus</i>	Babilla	3	0,4	

Continuación tabla 2

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	NÚMERO TOTAL DE INDIVIDUOS (2005 - 2010)	PORCENTAJE	AMENAZA (UICN)
<i>Leopardus pardalis</i>	Tigrillo	3	0,4	LC
<i>Psarocolius cassini</i>	Mochileros	3	0,4	EN
<i>Aotus lemurinus</i>	Marteja	2	0,3	VU
<i>Ara severa</i>	Cotorra	2	0,3	
<i>Coendou bicolor</i>	Eriso ó poerco	2	0,3	LC
<i>Galictis vittata</i>	Grisón	2	0,3	LC
<i>Gallinula chloropus</i>	Polla de agua	2	0,3	LC
<i>Podocnemys sp</i>	Tortuga charra	2	0,3	EN
<i>Proechimys semispinosus</i>	Ratón espina	2	0,3	LC
<i>Pseudemys sp</i>	Tortuga	2	0,3	
<i>Aburria aburri</i>	Pava negra	1	0,1	NT
<i>Alouatta seniculus</i>	Mono aullador	1	0,1	LC
<i>Anthus sp</i>	Ave chilin	1	0,1	
<i>Arremon aurantirostris</i>	Pajaro pinzón	1	0,1	LC
<i>Buteo magnirostris magnirostris</i>	Gavilán	1	0,1	LC
<i>Chelydra serpentina</i>	Tortuga bache	1	0,1	LC
<i>Chironectes minimus</i>	Chucha de agua	1	0,1	LC
<i>Chloroceryle sp</i>	Martin pescador	1	0,1	LC
<i>Chordeiles acutipennis</i>	Chota cabras	1	0,1	LC
<i>Epicrates cenchria</i>	Boa arcoíris	1	0,1	
<i>Fregata magnificens</i>	Tijereta	1	0,1	LC
<i>Icterus gálbula</i>	Turpial	1	0,1	LC
<i>Leptophis ahaetulla chocoensis</i>	Culebra	1	0,1	
<i>Micrurus sp</i>	Serpiente coral	1	0,1	
<i>Myrmecophaga tridactyla</i>	Oso hormiguero	1	0,1	VU
<i>Panthera onca</i>	Tigre mariposa	1	0,1	NT
<i>Pecari tajacu</i>	Zaino	1	0,1	LC
<i>Potamotrygon magdalenae</i>	Raya	1	0,1	NT
<i>Sylvilagus brasiliensis</i>	Conejo de monte	1	0,1	LC
<i>Tayassu pecari</i>	Tatabro	1	0,1	NT
<i>Thraupis episcopus</i>	Azulejo	1	0,1	LC
<i>Tigrisoma mexicanum</i>	Garza manteca	1	0,1	LC
<i>Tyto alba</i>	Lechuza	1	0,1	LC
Total fauna silvestre (no bocachico)		724	100	

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	NÚMERO TOTAL DE INDIVIDUOS (2004 - 2007)	PORCENTAJE	AMENAZA (UICN)
<i>Prochilodus magdalenae</i>	Bocachico	338.461	100	

de decomiso los datos de procedencia de los individuos, donde se valida que, generalmente, estas dos especies son procedentes de las ciudades de Cali y de Medellín. Dicha

procedencia no hace referencia a la distribución geográfica de la especie, sino a la ciudad desde donde se trasladaron los ejemplares hacia el departamento del Chocó.

Otras especies nativas con porcentaje de decomiso importante fueron: *Bradypus variegatus* (oso perezoso), *Amazonas ochrocephala* (loro frentiamarillo), *Kinosternon dunni* (tortuga tapaculo), *Potos flavus* (cusumbo, perrito de monte) y *Amazonas farinosa* (Loro real), con 4,3%, 4,3%, 4,1%, 3,9% y 3,5%, respectivamente (Tabla 2).

Se estableció que no existen diferencias estadísticamente significativas entre el número de individuos registrados por año para las diez principales especies decomisadas ($F=1,89$; $P=0,07$; $\alpha=0,05$), incluyendo *T. c. callirostris* (tortuga icotea), la cual, presentó el número de decomisos más elevado.

Los altos valores de decomiso reportados para la tortuga icotea en el periodo evaluado, es relacionado en este trabajo, con el planteamiento de Thorbjarnarson *et al.* (2000), quienes afirman que las tortugas, por ser una fuente de proteínas de fácil captura y de almacenamiento, han sido un importante elemento en la alimentación del hombre por milenios y los habitantes de zonas rurales, en diferentes partes del mundo, dependen en diferente grado de ellas y de sus productos, para cubrir sus necesidades básicas.

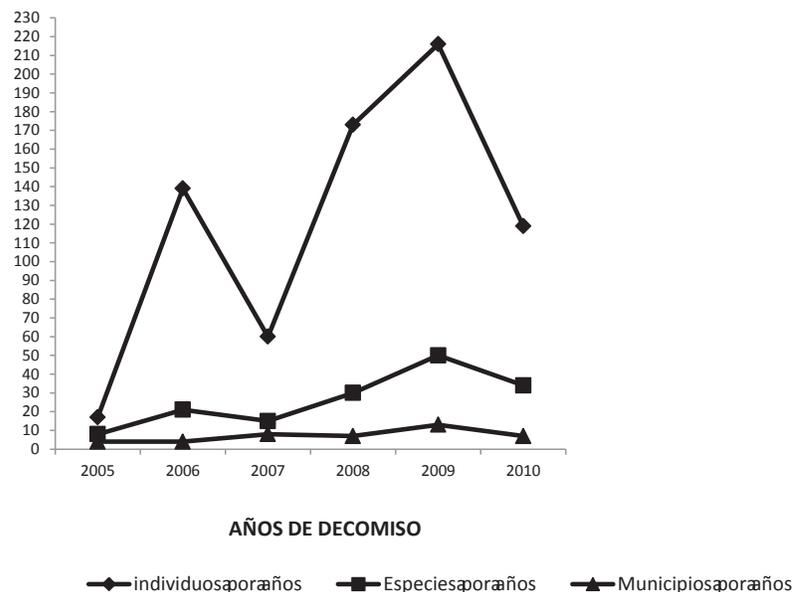
Número de individuos y especies de fauna silvestre decomisada por año. Se identificó que el 2009 presentó el mayor valor, con 216 individuos, los cuales, equivalen al 29,8% de la

totalidad de ejemplares decomisados, durante los seis años de evaluación. De la misma manera, se observó que para el 2005, el número de decomisos fue solamente de 17 (el 2,3% del total decomisado) (Figura 1).

En cuanto a número de especies decomisadas por año, el 2009 presentó el mayor valor, con el 69,4% del total registrado (50 especies), mientras que el 2005 fue el menor, representado con el 11,1% (Figura 1).

Debido a que no se dispuso de datos sobre el número de operativos adelantados por las autoridades competentes por año en cada municipio, no podemos establecer una relación directa entre el número de operativos y el número de decomisos; sin embargo, asumimos que las diferencias en valores en cuanto a número de especies e individuos, entre 2005 y 2009 están probablemente relacionadas con el número de municipios, donde se realizaron los operativos de vigilancia y de control por año, ya que cuando se hace este análisis, observamos que para el 2009 se llevaron a cabo operativos en 13 municipios, mientras que para el 2005, solamente se registran para cuatro (Figura 1).

Decomisos por municipio. En términos de la cobertura de los decomisos para el departamento, se identificó que este procedimiento fue realizado en 18 de los 30 municipios del ente territorial (60%), siendo Quibdó, con 486 individuos



Fuente: Elaboración propia con datos de CODECHOCO, 2010.

Figura 1. Número de especies e individuos de fauna silvestre decomisados por año y número de municipios, donde se desarrollaron operativos por año.

(67%), el lugar donde se desarrolló la mayor cantidad de incautaciones de fauna silvestre. En consecuencia con lo anterior, también fue esta ciudad, la localidad donde se registró el mayor número de especies decomisadas (Figura 2).

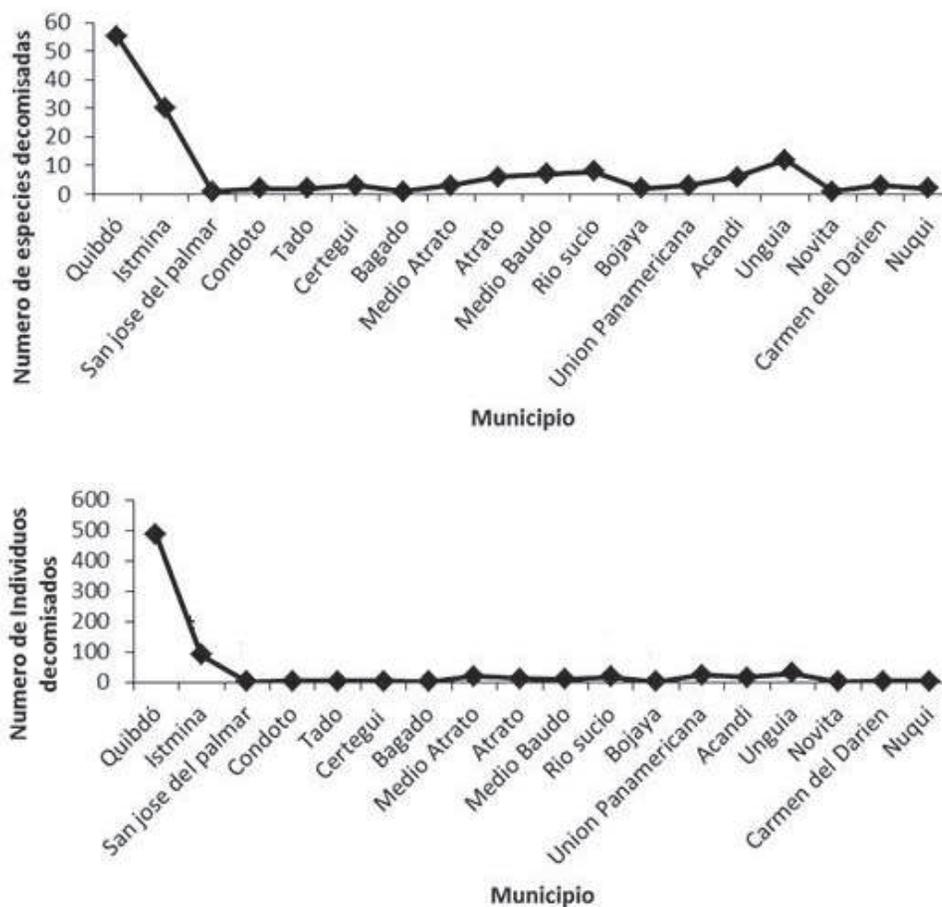
La diferencia entre el número de individuos decomisados en el municipio de Quibdó y los demás municipios del departamento del Chocó es estadísticamente significativa ($F = 10.03$; $P = 0.00$; $\alpha = 0.05$); esto, probablemente, se debe a que Quibdó es la ciudad capital del departamento y, por tanto, allí se encuentra situada la sede principal de CODECHOCO, como autoridad ambiental, que sumado a mayor presencia de las instituciones de apoyo (DAS, CTI, Policía Ambiental), permiten un mayor número de operativos para la vigilancia y el control del aprovechamiento de fauna silvestre en la región.

En cuanto al lugar de procedencia de los individuos decomisados por las autoridades ambientales en el departamento del Chocó, se identificó que el 75% (543 individuos) eran

provenientes de localidades del departamento y el 14% (102 individuos) de otras ciudades de Colombia (Cali, Medellín y Pereira). Solamente se reporta un individuo proveniente de otro país (Panamá) y el 10,9% restante son individuos cuya información del sitio de procedencia no se encuentra registrada en las bases de datos de CODECHOCO.

A nivel del departamento, se encontró que los 543 individuos decomisados son procedentes de 24 de los 30 municipios del ente territorial. En este mismo sentido, el mayor reporte de procedencia por municipios se dio para Quibdó, con 301 individuos, que equivalen al 55% del total registrado.

La relación entre el lugar de decomiso y los sitios de procedencia de los individuos, no evidencia la existencia de rutas regulares establecidas para el tráfico de fauna silvestre, desde el Chocó hacia otros lugares, pues la mayor cantidad de individuos se ha decomisado en el municipio de Quibdó y, según los datos de procedencia, han sido capturados en esta misma zona.



Fuente: Elaboración propia con datos suministrados por CODECHOCO, 2010.

Figura 2. Número de especies e individuos de fauna silvestre decomisados por municipio en el departamento del Chocó (2005 – 2010).

La finalidad del porte de los ejemplares al momento del decomiso, no se registra en las estadísticas de las autoridades ambientales, por lo cual, en este estudio no se presenta un análisis al respecto.

Destino final de los individuos decomisados. Acorde con los parámetros establecidos en los protocolos para el manejo y la disposición de animales post-decomiso, expedidos por el Ministerio de Medio Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial, hoy Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible y la Resolución 2064 de 2010, el destino final de los individuos decomisados puede ser: liberación (dura y suave), reubicación, custodia y eutanasia.

La liberación dura, se refiere al destino final donde se regresa el individuo al medio natural de manera abrupta, sin permitirle ningún período de aclimatación; esto se realiza con individuos que estén física y comportalmente sanos. Se debe hacer siempre en la zona de distribución natural propia de la especie y, en lo posible, en la misma área geográfica. La liberación suave, se realiza con los animales que presentan algún cambio en su comportamiento silvestre, como por ejemplo, algún nivel de amansamiento. Estos animales requieren de algún tiempo de adaptación y de aclimatación, para poder ser regresados a su ambiente natural.

La reubicación, se produce cuando el individuo no se puede liberar y el Centro de Atención y Valoración (CAV), que mantiene al animal, no presenta las condiciones óptimas y necesarias para su tenencia. Generalmente, los individuos son reubicados en unidades con capacidades técnicas y de manejo adecuados, para la permanencia de ejemplares de fauna silvestre (zoocriaderos). La custodia se da cuando se le permite al infractor la tenencia temporal del animal, debido al estado de amansamiento del mismo. Finalmente, la eutanasia es una alternativa que se practica a los animales que no tienen ninguna posibilidad de sobrevivir o que física o biológicamente sean una amenaza para el ecosistema o las personas. Se debe realizar bajo protocolos, que garanticen la mínima probabilidad de dolor o de sufrimiento para el individuo sacrificado.

Para el departamento del Chocó, se encontró que posterior al decomiso de fauna silvestre, el principal destino final fue la liberación (dura), pues el 58% de los animales fueron regresados al ambiente natural, el 30,1% fueron entregados en custodia a cazadores de la zona, el 9,7% se reubicaron en zoocriaderos del departamento y el 2,2% fueron sacrificados (Tabla 3). Estos resultados difieren con los obtenidos por Cruz-Antía *et al.* (2010), en investigaciones en el departamento de Vichada (Puerto Carreño), donde la mayor parte de los individuos decomisados fueron dejados al tenedor en custodia, dado a que en inmediaciones de esta localidad no se cuenta con lugares apropiados para el mantenimiento de los mismos.

En cuanto a la dinámica del destino final post-decomiso por año, se identificó que las liberaciones tuvieron mayor importancia a partir de 2007, lo cual, probablemente, se debe a los problemas de orden público que se presentaban con mayor frecuencia en años anteriores. Dichos problemas limitaban los operativos de liberación en la selva y se optaba por la entrega en custodia a tenedores de fauna silvestre, que, por lo general, son los mismos cazadores de las comunidades. Otro hecho importante a destacar es el posible factor de cambio en la definición del destino final de los individuos decomisados, que generó, en el 2007, la implementación de los Centros de Atención y Valoración de Fauna Silvestre (CAV), que pese a su poca eficiencia en el departamento, han sido usados para el mantenimiento de algunos ejemplares posterior al decomiso, razón por la cual, se observa un aumento en el porcentaje de individuos reubicados para el 2008 y 2009 y el decrecimiento en esta materia para 2010; probablemente, se debe a que para esta fecha ya se había llegado a la totalidad de individuos que estos soportaban.

Estado de conservación de las especies decomisadas. El 80,6% de las especies decomisadas en el departamento del Chocó, durante los seis años de evaluación, están ubicadas en alguna de las categorías de amenaza establecidas por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN), solamente un 19,4% (equivalentes a 14 especies), no se reporta en dichos registros (Tabla 2).

Tabla 3. Porcentaje de individuos de fauna silvestre por destino final post-decomiso en el departamento del Chocó, para cada año de evaluación (2005-2010).

Año/Destino	2005	2006	2007	2008	2009	2010	Total años de evaluación
Liberado (%)	5,9	14,4	73,4	82,1	57,9	73,9	58,0
Reubicado (%)	0,0	0,0	0,0	2,3	30,5	0	9,7
Custodia (%)	94,1	83,5	23,3	13,9	8,8	24,4	30,1
Sacrificado (%)	0	2,2	3,3	1,7	2,8	1,7	2,2
TOTAL	100	100	100	100	100	100	100

Fuente: Elaboración propia con datos de CODECHOCO, 2010.

En términos de las categorías de amenaza, se identificó que el 75,8% de las especies decomisadas se ubican en preocupación menor; el 8,6%, en vulnerable; el 8,6%, en peligro; el 6,8%, casi amenazado (Tabla 4).

Agradecimientos: Se agradece especialmente a la Corporación Autónoma Regional para el Desarrollo Sostenible del Chocó (CODECHOCO) y al Instituto Colombiano de Desarrollo Rural (INCODER), por el suministro de información que fue fundamental para la realización de este estudio. A los miembros del Grupo de Investigación en Recursos Naturales para el Desarrollo Territorial de la Universidad Tecnológica del Chocó, por su gran apoyo en el desarrollo de la investigación. **Conflictos de intereses:** El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes

declaramos que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados. **Financiación:** Este estudio fue financiado por la Universidad Tecnológica del Chocó “Diego Luís Córdoba”, a través de su Vicerrectoría de Investigación.

BIBLIOGRAFÍA

1. BAPTISTE, L.G.; POLANCO, R.; HERNÁNDEZ, S.; QUIJENO, M.P. 2002. Fauna silvestre de Colombia: Historia económica y social de un proceso de marginalización. En: Ulloa, A. (ed.). Rostros culturales de la fauna. Las relaciones entre los humanos y los animales en el contexto colombiano. Bogotá: Inst. Col. Antropol. Historia. p.295-340.

Tabla 4. Porcentaje de especies de fauna silvestre decomisada en el departamento del Chocó, por categoría de amenaza, según la clasificación de la UICN.

Categorías	Descripción	Especies por grupos taxonómicos de vertebrados					
		Peces	Reptiles	Aves	Mamíferos	Total	%
Preocupación menor (LC)	Un taxón está en la categoría de preocupación menor cuando habiendo sido evaluado, no cumple ninguno de los criterios que definen las categorías establecidas.	0	1	25	18	44	76
Casi amenazado (NT)	Un taxón está en la categoría de casi amenazado, cuando ha sido evaluado según los criterios y no satisface, actualmente, los criterios para en peligro crítico, en peligro o vulnerable, pero está cercano a satisfacer los criterios o, posiblemente, los satisfaga en un futuro cercano.	1	0	1	2	4	7
Vulnerable (VU)	Es aquella especie amenazada que no se encuentra en peligro inminente de extinción en el futuro cercano, pero podría llegar a estarlo, de continuar la reducción de sus poblaciones naturales y el deterioro de su área de distribución.	0	2	1	2	5	9
En peligro (EN)	Es aquella especie amenazada sobre la que se cierne una alta probabilidad de extinción en el estado silvestre en el futuro cercano, en virtud de que existe una tendencia a la reducción de sus poblaciones naturales y un deterioro de su área de distribución.	0	1	2	2	5	9
Total		1	4	29	24	58	100

2. BENNETT, E.; ROBINSON, J. 2000. Hunting for sustainability in tropical forests. Columbia, New York: University Press. p.499-519.
3. CASTAÑO-MORA, O.V. 2002. Libro rojo de reptiles de Colombia. Serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales-Universidad Nacional de Colombia, Ministerio del Medio Ambiente, Conservación Internacional-Colombia. Bogotá, Colombia. p.92-94.
4. CONTRALORÍA GENERAL DE LA REPÚBLICA. 2005. Comercio de bienes derivados de la vida silvestre. En: Mancera, N.J.; Reyes, O. (Eds.). Estado de los Recursos Naturales y del Ambiente 2004-2005 (Informe Anual al Congreso de la República de Colombia). Bogotá: Contraloría Delegada para el Medio Ambiente. p.111-213.
5. CRUZ, A.D.; GÓMEZ, J.R. 2010. Aproximación al uso y tráfico de fauna silvestre en Puerto Carreño, Vichada, Colombia. Revista P.U.J.B Ambiente y Desarrollo. p.10-11.
6. INCODER. 2010. Rendición de cuenta, informe de gestión Incoder 2010. Subgerencia de pesca y acuicultura. 107p
7. MAYR MALDONADO, J. 1999. Gestión ambiental para la fauna silvestre en Colombia. Rev. Acad. Colomb. Cienc. 23 (Supl.):712-715.
8. MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL. 2005. Resolución 0572 de 2005. Por el cual se modifica la Resolución No. 0584 del 26 de junio de 2002 y se adoptan otras determinaciones. 9p.
9. MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL. 2010. Resolución 2064 de 2010, por la cual se reglamentan las medidas posteriores a la aprehensión preventiva, restitución o decomiso de especímenes de especies silvestres de Fauna y Flora Terrestre y Acuática y se dictan otras disposiciones. Colombia. 86p.
10. MOJICA, J.I.; CASTELLANOS, C.; USMA, J.S.; ÁLVAREZ, R. 2002. Libro rojo de peces dulceacuícolas de Colombia. Serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales - Universidad Nacional de Colombia y Ministerio del Medio Ambiente. Bogotá, Colombia. 285p.
11. RANGEL, J.O. 2004. Colombia diversidad biótica EL Chocó Biogeográfico. Costa pacífica IV Universidad Nacional de Colombia. Ed. Guadalupe. Bogotá. 1024p.
12. REDFORD, K.H. 1992. The empty forest. Biosci. 42(6):412-422.
13. REPÚBLICA DE COLOMBIA. 1993. Ley 99 de 1993, mediante la cual se crea el Ministerio del Medio Ambiente, se reordena el Sector Público encargado de la gestión y conservación del medio ambiente y los recursos naturales renovables, se organiza el Sistema Nacional Ambiental, SINA, y se dictan otras disposiciones. Colombia. 59p.
14. REPÚBLICA DE COLOMBIA. 2009. Ley 1333 de 2009, mediante la cual se establece el procedimiento sancionatorio ambiental y se dictan otras disposiciones. Colombia. 19p.
15. ROBINSON, J.; REDFORD, K. 1991. Neotropical wildlife use and conservation. Chicago: University of Chicago Press. p.415-429.
16. RODRÍGUEZ MAHECHA, J.V.; ALBERICO, M.; TRUJILLO, F.; JORGENSEN, J. 2006. Libro Rojo de los mamíferos de Colombia. Libros rojos de las especies amenazadas de Colombia. Conservación Internacional-Colombia, Ministerio del Medio Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Bogotá, Colombia. 433p.
17. THORBJARNARSON, J.B.; LAGUEUX, C.; BOLZA, D.; KLEMENS, M.; MEYLAN, A. 2000. Human use of turtle: a worldwide perspective. In: Klemens, M.W. (ed.). Turtle conservation. Smithsonian Institution Press. Washington and London. p.33-84.

Recibido: Abril 27 de 2012

Aceptado: Noviembre. 8 de 2012

DENSIDAD, COMPOSICIÓN DE GRUPO Y DISTRIBUCIÓN VERTICAL DE PRIMATES SIMPÁTRICOS EN UN BOSQUE DE GALERÍA FRAGMENTADO, COLOSÓ, SUCRE - COLOMBIA

DENSITY, GROUP COMPOSITION AND VERTICAL DISTRIBUTION OF SYMPATRIC PRIMATES IN A GALLERY FOREST FRAGMENT, COLOSÓ, SUCRE - COLOMBIA

Jaime De La Ossa V^{1*}, Silvia Galván-Guevara², Alirio Fajardo-Patiño³

¹ Lic. Biología, Dr. Ciencias, Universidad de Sucre, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Grupo de Investigación en Biodiversidad Tropical, Colombia: Carrera 28 N° 5-267, Puerta Roja, Sede Principal, Sincelejo, Sucre, Colombia; ² Bióloga, M.Sc. Fundación George Dahl, Colombia. ³ Biólogo, M.Sc Sistemática, Fundación George Dahl, Colombia *jaimedelaossa@yahoo.com

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 185 - 192, 2013

RESUMEN

El presente trabajo determina la distribución vertical entre tres especies de primates simpátricos que habitan una porción fragmentada del arroyo Colosó, departamento de Sucre, Colombia. Dicha formación es un remanente de bosque seco tropical, que se estructura como una formación característicamente freatofita y que, debido a las fuertes presiones de deforestación existentes en la zona, se convierte en un importante refugio para la fauna silvestre local. *Alouatta seniculus seniculus* es la especie de mayor sedentarismo y utiliza los estratos superiores de la vegetación, mientras que *Cebus capucinus capucinus* y *Saguinus oedipus* forrajean en diferentes estratos del bosque, sin diferencia entre ellos ($p < 0,05$). La distancias mínimas mantenidas durante los encuentros varían según la especie: entre *A. s. seniculus* con *C. c. capucinus* es de 10 a 18m, mientras que con *S. oedipus* es de 3 y 11m. Por su parte *C. c. capucinus* con *S. oedipus* mantienen una distancia entre 30 y 58m. El tamaño del grupo determinado para *A. s. seniculus* fue de siete individuos, de 4,5 individuos para *S. oedipus* y de seis individuos para *C.c. capucinus*. La densidad total calculada fue de: 0,30 ind/ha, 0,19 ind/ha y de 0,13 ind/ha, respectivamente, para las tres especies.

Palabras clave: Densidad, composición de grupo, primates simpátricos, Colosó, Colombia.

SUMMARY

The present work determined the vertical distribution among three species of sympatric primates that inhabit fragment portions of the Colosó stream, department of Sucre,

Colombia. This formation is a remainder of a tropical dry forest that is structured like a characteristically freatofitic formation and that, due to the strong existent deforestation pressure in the area, becomes an important refuge for the local wildlife. *Alouatta seniculus seniculus* is the more sedentary species and uses the high vegetation strata, while *Cebus capucinus capucinus* and *Saguinus oedipus* forage in all strata of the forest without difference among them ($p < 0.05$). The minimum distances maintained during the encounters vary according to the species: among *A. s. seniculus* with *C. c. capucinus* is from 10 to 18m, while with *S. oedipus* it is of 3 and 11m. On the other hand *C. c. capucinus* with *S. oedipus* maintains a distance between 30 and 58m. The size of the group determined for *A. s. seniculus* was seven individuals, 4.5 individuals for *S. oedipus* and six individuals for *C. c. capucinus*. The calculated total density was of: 0.30 ind/ha, 0.19 ind/ha and of 0.13 ind/ha, respectively, for the three species.

Key words: Density, group composition, sympatric primates, Colosó, Colombia.

INTRODUCCIÓN

Se define simpatría como concordancia geográfica en la presencia de individuos, poblaciones o especies distintas (Soler *et al.* 2001). En los primates neotropicales, diversos trabajos registran la existencia de simpatría (Pozo, 2009). Varias especies de primates pueden vivir en simpatría diferenciando el uso de hábitat, recursos alimentarios, estrato arbóreo y técnicas de forrajeo (Siemers, 2000; Stevenson *et al.* 2000; Vilela, 2007).

Se tienen registros de simpatria en poblaciones de los géneros: *Ateles*, *Alouatta* y *Cebus* (Buckley, 1983), *Callithrix*, *Cebus* y *Alouatta* (Queiroz, 1991). Entre diferentes especies de un mismo género: *Alouatta seniculus* y *A. caraya* (Wallace *et al.* 1998), *Cebus apella* y *C. olivaceus* (Youlatos, 1998), *Saguinus fuscicollis* y *S. mystax* (Heymann *et al.* 2002), *S. fuscicollis* y *S. tripartitus* (Heymann *et al.* 2000); entre diferentes especies del mismo infraorden: *Ateles paniscus* y *A. seniculus* (Simmen, 1992), *Callimico goeldii*, *S. fuscicollis* y *S. labiatus* (Fleage, 1999). En el caso del *Alouatta seniculus*, de forma específica y debido a su amplia distribución geográfica, se reconoce la existencia de simpatria con otras especies de primates, que incluyen a miembros de los géneros *Callithrix*, *Saguinus*, *Saimiri*, *Aotus*, *Callicebus*, *Pithecia*, *Cacajao*, *Cebus*, *Lagothrix* y *Ateles* (Peres, 1997).

El presente artículo documenta la simpatria existente entre grupos de *Alouatta seniculus seniculus*, *Cebus capucinus capucinus* y *Saguinus oedipus* en un fragmento de bosque freatofito del arroyo Colosó, en los Montes de María, departamento de Sucre, Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio: Parte media del arroyo Colosó, departamento de Sucre, Colombia (9°27'31"N - 75°21'38"O y 9°28'26"N - 75°20'56"O), con una altura mínima de 95 m.s.n.m y máxima de 116 m.s.n.m. Se cubrió un área total de 46,58ha.

El área de estudio, se caracteriza por ser una formación típica de bosque seco tropical, que estructura bosques de galería fragmentados, con altura media de 19m (máx. 26m) y rodeados por zonas ampliamente taladas, con fines agrícolas, se les cataloga como higrotropofíticos (Cuervo *et al.* 1986), con dominancia de *Anacardium excelsum* (caracolí), a orilla del arroyo y codominancia en los bordes de *Sterculia apetala* (camajón), *Brownea* sp. (arizal) y *Albizia* sp. (guacamayo), con dominancia de *Bactris minor* (corozo), en estrato subordinado y medio. En total, se obtuvo una cobertura del 70%, mediante densiómetro esférico.

Técnicas de muestreo: Entre junio y agosto de 2010, se adelantó una prospección primatológica, mediante la realización de un transecto lineal (2.740m de longitud y 17m de ancho mínimo promedio a cada lado), con 15 repeticiones, una por día (Schaik, 1992); se obtuvo información poblacional y registro sobre uso de los estratos del bosque y distancia inter-específica de los individuos avistados, con referencia a los tres taxones de primates hallados. Durante 10 días continuos, entre la 06:00 y las 17:00 horas, se establecieron dos puntos fijos de avistamiento (Marsden, 1999), ubicados

a 1/3 del inicio y a 1/3 del final del transecto, los cuales, eran trabajados de forma alterna; se hicieron observaciones de los distintos grupos de las especies de primates registradas, para verificar la información poblacional obtenida en los transectos lineales.

Análisis de información: Previa verificación de la normalidad de los datos para uso del estrato y distancia inter-específica, se aplicó ANOVA y para discriminar entre las medias, se usó el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher (Zar, 1996).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El estudio permitió registrar la presencia de tres taxones de primates *A. s. seniculus*, *C. c. capucinus* y *S. oedipus*. Los grupos detectados por taxón y la composición de grupo, se presentan en la tabla 1; los cálculos de densidad media por grupo y densidad total por especie en la tabla 2.

El estrato arbóreo utilizado por cada una de las tres especies de primates simpátricas en este trabajo es el siguiente: *A. s. seniculus*, ocupa 17,9m (12-23); *C. c. capucinus*, 10m (3-21) y *S. oedipus*, 10,4m (3-16). Al comparar estadísticamente los datos obtenidos mediante ANOVA, se determinó que existe diferencia significativa entre grupos ($F=21.3248$, $gl=2$, $p<0,05$), discriminándose la diferencia para *A. s. seniculus*, como ocupante preferencial del dosel superior del bosque; *C. c. capucinus* y *S. oedipus* pueden estar presentes en todos los estratos, preferencialmente, se ubican en los estratos bajo y medio, sin diferencia significativa entre ellos ($p>0,05$) (Figura 1).

La distancia inter-específica mantenida entre grupos muestra diferencia significativa al aplicar ANOVA ($F=466.503$, $gl=2$, $p<0,005$). Las distancias entre grupos durante los encuentros varían según la especie: para *A. s. seniculus* con *C. c. capucinus*, de 10 a 18m; *A. s. seniculus* con *S. oedipus*, de 3 a 11m y entre *C. c. capucinus* y *S. oedipus*, mantienen de 30 a 58m. Discriminadamente, existe diferencia significativa ($p<0,005$) entre *C. c. capucinus* y *S. oedipus* (Figura 2).

Tomando como base de cálculo los pesos por categoría (Napier & Napier, 1967), se muestra en la tabla 2 el aporte de biomasa, formada por los primates detectados en la zona de estudio.

En lo referente a tamaño de grupo para *A. s. seniculus*, se obtuvo una media de 7,5 ind/grupo, valor que se encuentra dentro de lo establecido para la especie, concordante con los hallazgos para fragmentos aislados (Arroyo-Rodríguez & Dias, 2010) y similar al rango de 5,1-7,0 ind/grupo hallado para la misma zona (Ochoa *et al.* 2011). Para Colombia, en

Tabla 1. Tamaño y composición de grupo para los primates detectados en el fragmento de bosque de galería del municipio de Colosó, Sucre.

Especie	Adulto		Juvenil	Infante	Ind/grupo	Total ind/especie
	♂	♀				
<i>A. s. seniculus</i>	2	4	2	-	8	14
	1	3	1	1	6	
Proporción	20	46,7	20	13,3	-	-
Media						7,5
<i>C. c. capucinus</i>	2	3	1	-	6	6
Proporción	33,3	50,0	16,7	-	-	-
Media						6
<i>S. oedipus</i>	1	2	1	-	4	9
	2	2	1	-	5	
Proporción	33,3	44,4	22,3	-	-	-
Media						4,5

Tabla 2. Densidad media por grupo y densidad total por especie de primates para el área de estudio.

Especie	Total individuos	Densidad ind/ha	Densidad ind/km ²
<i>A. s. seniculus</i>	8	0,17	17
	6	0,13	13
Densidad total	14	0.30	30
<i>C. c. capucinus</i>	6	0,13	13
Densidad total	6	0,13	13
<i>S. oedipus</i>	4	0,08	8
	5	0,11	11
Densidad total	9	0,19	19

bosque Andino, se tiene registro promedio de 6 ind/grupo, con un recorrido de 3 a 9 individuos, lo cual, también se ajusta a lo registrado en este trabajo (Morales-Jiménez, 2002).

En general y de forma coincidente, se sabe que el tamaño del grupo puede variar entre 5 y 9,6 ind/grupo y que está definido por la oferta de hábitat (De La Ossa & Fajardo, 1996; Ochoa *et al.* 2011).

Para *C. c. capucinus*, con un sólo grupo detectado, el tamaño de la especie está por debajo del valor mínimo del registrado para el grupo, que se ubica entre 7 y 36 ind/grupo (media de 17,2) (Fedigan & Jack, 2001), lo que se podría

interpretar como reducción poblacional por efecto limitante de hábitat, causado por la fragmentación.

Por su parte *S. oedipus* presenta una densidad mayor que la de *C. c. capucinus*, y menor que la de *A. s. seniculus*, lo cual, no se ajusta a lo hallado en este trabajo, debido a que el estudio referenciado, aunque se realizó en la misma zona, existe una diferencia en tiempo de 35 años, lo que muestra un deterioro poblacional atribuible, entre otros factores, a fragmentación de ecosistemas boscosos. Tomando la información más reciente, se tiene que el tamaño del grupo es de 4,34 individuos (Savage *et al.* 2010), valor que se ajusta a los 4,5 ind/grupo, reportados en este estudio, siendo similar al valor mínimo establecido por Neyman (1977), de 3

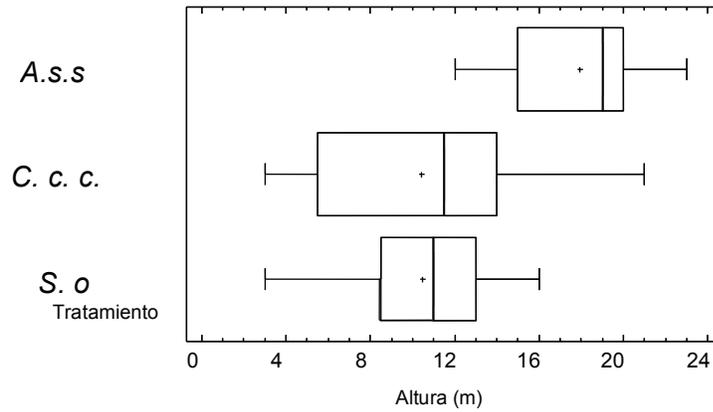


Figura 1. Uso de los diferentes estratos del bosque para las tres especies de primates simpátricas del arroyo Colosó (A.s.s = *A. s. seniculus*, C.c.c = *C. c. capucinus*, S.o = *S. oedipus*).

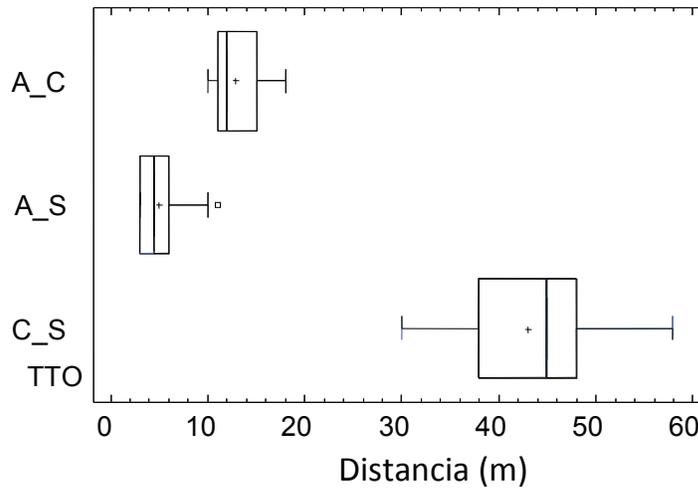


Figura 2. Comparación de las distancias entre grupos, de acuerdo con la especie (A= *A. s. seniculus*, C= *C. c. capucinus*, S= *S. oedipus*).

a 13 ind/grupo. Lo que permite evidenciar el decremento de la densidad poblacional, debido a fragmentación y reducción de conectividad entre los parches remanentes (Arroyo-Rodríguez & Mandujano, 2009; Arroyo-Rodríguez & Dias, 2010).

La fragmentación de hábitat es una de las principales amenazas para los primates y se estima que los efectos negativos de la fragmentación afectan su biología y su ecología, siendo factor de deterioro poblacional nocivo y extinción local (Arroyo-Rodríguez & Mandujano, 2009); el mantenimiento de la estructura y función de sus ecosistemas se ve seriamente afectado por la fragmentación, impactando negativamente alimentación, tamaño y estructura

poblacional, entre otros aspectos ecológicos importantes (Stoner *et al.* 2007).

La composición de grupo muestra para *A. seniculus* un valor que se asemeja a lo hallado por Kimura (1992), quien registra una relación de sexos de 1,5 machos por hembras. Igualmente, concuerda con lo establecido para un grupo típico, que posee un promedio de dos o tres hembras adultas, uno o dos machos adultos, un juvenil y un infantil, con un promedio de 7,3 a 5,3 ind/grupo (Braza *et al.* 1981).

En cuanto a la composición etaria, los valores se acercan al 73,3% de individuos adultos, establecido por Morales-Jiménez (2002), pero difieren en la proporción por estos

mismos autores, establecida de 1:1 macho:hembra. Aunque existe una pronunciada tendencia por un único macho adulto que se presenta como la cabeza de grupo, los grupos tienen generalmente dos adultos machos y el promedio de adultos machos; en poblaciones estudiadas en Venezuela, se determinó 1,65 machos/grupo (Eisenberg, 1989), valor que guarda correspondencia con lo que en este trabajo fue hallado

La composición del grupo para *C. capucinus* difiere de los valores más actualizados reportados por Fedigan & Jack (2001), quienes hallaron una proporción entre sexos de: machos adultos (17-25%), hembras adultas (27-34%), juveniles (27-41%) e infantiles (10-18%). Es notoria la ausencia de infantiles en el grupo detectado y una relativa alta proporción de adultos; igualmente, llama la atención, el nulo índice de hembras con cría, lo que refuerza el planteamiento de los efectos nocivos del aislamiento para esta especie, en el área de estudio y sus consecuencias en la reproducción.

S. oedipus, según Savage *et al.* (2010), presenta en promedio una composición de grupo de 88,3 % adultos, 8,3% juveniles y 3,4% infantiles. Lo que representa una relación maduros: inmaduros de 7,5:1 (Savage *et al.* 2010), que se ajusta a los valores obtenidos para adultos en este trabajo, pero que muestra un desbalance respecto de los individuos inmaduros, representados totalmente por juveniles, con ausencia absoluta de infantiles, tal como sucede con el grupo de *C. c. capucinus*, antes analizado.

Es notorio, al comparar, que tanto la composición de grupo como la estructura etaria para *A. seniculus*, no han sufrido cambios promedios entre los fragmentos estudiados y bosques mejor conservados de hace varias décadas (Braza *et al.* 1981; Eisenberg, 1989; Kimura, 1992). No se puede decir lo mismo para *C. capucinus* (Fedigan & Jack, 2001) y aunque la situación de *S. oedipus* es menos grave que la de *C. capucinus*, sí se muestra un deterioro de la estructura poblacional al comparar los datos de Savage *et al.* (2010) con los de Neyman (1977).

La densidad hallada para *A. seniculus* es comparativamente baja; no obstante, se ubica en el nivel mínimo del rango establecido por Stevenson (1991), que es de 10 a 118 ind/km². Concordante para la misma zona en su nivel menor, según lo establecido por Ochoa *et al.* (2011), que oscila entre 17,4 y 116 ind/km². Las diferencias en tal sentido pueden ser atribuidas a limitaciones de hábitat y comportamiento en la conformación de grupos y ocupación territorial (Braza *et al.* 1981; Fajardo-Patiño & De La Ossa, 1994; De La Ossa & Fajardo, 1996; Chapman & Balcomb, 1998; Gómez-Posada *et al.* 2007; Arroyo-Rodríguez & Mandujano, 2009; Arroyo-Rodríguez & Dias, 2010).

Las variaciones en los datos de densidad para *A. seniculus* son amplias y pueden ser de 34-55 ind/km², llegando a 150 ind/km² (Chapman & Balcomb, 1998), lo que se podría relacionar con la capacidad de adaptación de la especie a los cambios de hábitat, lo que contrasta negativamente al observar que, tanto para *C. c. capucinus* la densidad registrada es significativamente muy baja, de acuerdo con los datos disponibles para el área, como para *S. oedipus* (Fajardo-Patiño & De La Ossa, 1994).

Se debe tener en cuenta que la densidad es una variable dependiente de la disponibilidad y de la distribución de recursos, como alimento, agua y lugares seguros para el descanso (Stevenson & Quiñones, 1993), por lo tanto, es un indicador de calidad de hábitat. En este caso, la densidad de *A. seniculus* se mantiene comparativamente en su nivel mínimo, mientras que para las otras dos especies simpátricas de primates se reduce ostensiblemente, lo que indica que la constante fragmentación de hábitat está afectando seriamente las poblaciones de primates existentes en el área de estudio, lo cual, es concordante con lo indicado por Arroyo-Rodríguez & Dias (2010).

En general, el uso del estrato superior para *A. s. seniculus* está documentado (Urbani, 2003). El uso de todos los estratos con preferencial utilización del dosel arbóreo es notorio para la especie (Izawa, 1993). Concordando con Urbani (2003), la ausencia de potenciales depredadores aéreos, por ejemplo, águilas harpias (*Harpia harpyja*) y la posible presencia de potenciales depredadores terrestres, como la boa común (*Boa constrictor*), jaguarundi (*Herpailurus yaguarondi*), tigrillo (*Leopardus wiedii*), ocelotes (*Leopardus pardalis*) y tayras (*Eira barbara*) podría influenciar el uso preferencial del estrato superior del bosque, en los monos aulladores.

Los trabajos de Cuarón (1997) indican que han observado ataques a aulladores por parte de *B. constrictor*, *Panthera onca* y *L. pardalis*. Otra explicación podría estar dada por la carencia de potenciales primates competidores, en este nivel del bosque que, en otras localidades, normalmente utilizan la parte superior del dosel, tales como los monos araña (*Ateles geoffroyi*) (Urbani, 2003), que no se registra en el área de estudio, desde hace varias décadas.

El uso de los distintos estratos del bosque por *C. capucinus* está relacionado con comportamientos de forrajeo, ya que desde el piso hasta la parte alta de la canopia buscan sus presas (Rose *et al.* 2003). Por su parte, *S. oedipus* observado en todos los estratos, preferencialmente, se mueve en el nivel medio del arbolado, que ofrece mayor protección, en comparación con el piso y el dosel superior del bosque.

La distancia inter-específica mantenida entre *A. seniculus* y *S. oedipus* es cerrada; pueden cercanamente compartir lugares

de alimentación y de reposo, incluso vías de desplazamiento, sin que entre ellos existan despliegues o comportamientos agonísticos o de separación; la interferencia entre las dos especies es nula, concordando con Cuervo *et al.* (1986) y Barbosa (1988).

En cuanto a *A. seniculus* con *C. capucinus* existen registros de interacciones nulas y de interacciones agonísticas, lo que se atribuye a la disponibilidad de recursos alimenticios, espacio y flexibilidad de la dieta (Rose *et al.* 2003); no obstante, *C. capucinus* puede mantener relaciones inter-específicas e inter-específicas neutrales con otras especies de vertebrados (Rose *et al.* 2003).

El forrajeo en grupo de *C. capucinus*, se puede dar sin que haya interacciones entre los miembros del grupo o de distintos grupos; se dispersan y utilizan árboles fructificados diferentes, consumiendo en todos los estratos o secuencialmente, con clara adaptación a los ciclos de producción del bosque y siempre en grupo; muestran una estrategia flexible de forrajeo que cambia temporalmente la estructura del grupo en respuesta al tamaño del parche de alimentación; esta estrategia de forrajeo reduce las oportunidades de competencia intra-específica (Phillips, 1995). Usan la misma estrategia de forrajeo inter- e intra-específicamente, evitan la proximidad cercana mientras se alimentan, pero pueden comer simultáneamente en el mismo lugar con otros miembros de su tropa o con otras especies, si el espacio interindividual está disponible, entre 50 y 100m, para la misma especie (Phillips, 1995).

En cuanto a *C. capucinus* y *S. oedipus* es claro que ésta última especie evita la cercanía de *C. capucinus*, porque podría ser un eventual depredador, dada su mayor talla, mayor tamaño del grupo, hábito de cacería y consumo de carne. Existe evidencia de depredación hacia primates de menor talla (De Luna *et al.* 2010).

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

BIBLIOGRAFÍA

- ARROYO-RODRÍGUEZ, V.; DIAS, P.A.D. 2010. Effects of habitat fragmentation and disturbance on howler monkeys: a review. *Am. J. Primatol.* 72:1-16.
- ARROYO-RODRÍGUEZ, V.; MANDUJANO, S. 2009. Conceptualization and Measurement of Habitat Fragmentation from the Primates' Perspective. *Int. J. Primatol.* 30:497-514.
- BARBOSA, C. 1988. Observaciones sobre el comportamiento de una manada del "Mono Colorado" *Alouatta seniculus* (Linnaeus, 1766) (Mammalia: Primates) en el Arroyo Coloso, Sucre, Colombia. *Trianea.* 1:123-129.
- BRAZA, F.; ÁLVAREZ, F.; AZCARATE, T. 1981. Behavior of the red howler monkey (*Alouatta seniculus*) in the Llanos of Venezuela. *Primates.* 22(4):459-473.
- BUCKLEY, S. 1983. The feeding behavior, social behavior, and ecology of the white-faced monkey, *Cebus capucinus*, at Trujillo, Northern Honduras Central America. *Ann Arbor, University Microfilms International.* 222p.
- CHAPMAN, C.; BALCOMB, S. 1998. Population characteristics of howlers: Ecological conditions or group history. *Int. J. Primatol.* 19:385-403.
- CUARÓN, D. 1997. Conspecific aggression and predation, cost for a solitary mantled howler monkey. *Folia Primatol.* 68:100-105.
- CUERVO, A.; BARBOSA, C.; DE LA OSSA, J. 1986. Aspectos ecológicos y etológicos de primates con énfasis en *Alouatta seniculus* (Cebidae), de la región de Coloso, Serranía de San Jacinto (Sucre), costa norte de Colombia. *Caldasia.* 14:68-70.
- DE LA OSSA, V.J.; FAJARDO, P.A. 1996. Densidad del mono aullador *Alouatta seniculus* (Linnaeus, 1766) Mammalia: Primates en el arroyo Colosó, Departamento de Sucre, Colombia. *Acta Biol. Col.* (3):43-52.
- DE LUNA, G.; SANMIGUEL, R.; DI FIORE, A.; FERNANDEZ-DUQUE, E. 2010. Predation and predation attempts on red titi monkeys (*Callicebus discolor*) and equatorial sakis (*Pithecia aequatorialis*) in Amazonian Ecuador. *Folia Primatol.* 81:86-95.
- EISENBERG, F. 1989. Mammals of the Neotropics- the northern neotropics. Vol1. Panamá, Colombia, Venezuela, Guyana, Suriname, French Guiana. The University of Chicago Press. Chicago and London. 449 p.
- FAJARDO-PATIÑO, A.; DE LA OSSA, J. 1994. Censo preliminar de primates en la Reserva Forestal Protectora Serranía de Coraza – Montes de María. *Trianea.* 5:289-303.

13. FEDIGAN, M.; JACK, K. 2001. Neotropical Primates in a regenerating Costa Rican dry forest: a comparison of howler and capuchin population patterns. *Int. J. Primatol.* 22(5):689-713.
14. FLEAGE, J. 1999. *Primate adaptation and evolution.* San Diego, Academic Press. 596p.
15. GÓMEZ-POSADA, C.; MARTÍNEZ, J.; GIRALDO, P.; KATTAN, G.H. 2007. Density, habitat use, and ranging patterns of red howler monkeys in a Colombian Andean forest. *Neotrop. Primates.* 14(1):2-10.
16. HEYMANN, W.; ENCARNACIÓN, F.; CANAQUIN, J. 2002. Primates of the Rio Curaray, northern peruvian Amazon. *Int. J. Primatol.* 23(1):191-201.
17. HEYMANN, E.W.; KNOGGE, C.; TIRADO HERRERA, E.R.. 2000. Vertebrate predation by sympatric tamarins, *Saguinus mystax* and *Saguinus fuscicollis*. *Am. J. Primat.* 51:153-158.
18. IZAWA, K. 1993. Soil-eating by *Alouatta* and *Ateles*. *Int. J. Primat.* 14(2):229-242.
19. KIMURA, K. 1992. Demographic approach to the social group of wild red howler monkeys (*Alouatta seniculus*). *Field studies of New World Monkeys, La Macarena, Colombia.* 7:29-34.
20. MARSDEN, J. 1999. Estimation of parrot and hornbill densities using a point count distance sampling method. *Ibis.* 141:377-390.
21. MORALES-JIMÉNEZ, L. 2002. Densidad de los monos aulladores (*Alouatta seniculus*) en un bosque subandino, Risaralda, Colombia. *Neotrop. Primates.* 10(3):141-144.
22. NAPIER, R.; NAPIER, H. 1967. *A handbook of living primates.* Academic Press, London. 456p.
23. NEYMAN, F. 1977. Aspects of the ecology and social organization of free-ranging cotton-top tamarins (*Saguinus oedipus*) and the conservation status of the species. En: Kleiman, D.G. (ed): *The Biology and Conservation of the Callitrichidae.* Washington, DC: Smithsonian Institution Press. p.39-71.
24. OCHOA, D.F.; MARTÍNEZ, E.; DE LA OSSA, J. 2011. Densidad poblacional y estructura de grupo de *Alouatta seniculus* (Primates, Atelidae) en Colosó, Sucre, Colombia. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 14(2):101-108.
25. PERES, A. 1997. Effects of habitat quality and hunting pressure on arboreal folivore densities in Neotropical forests: a case study of howler monkeys (*Alouatta* spp.). *Folia Primatol.* 68:199-222.
26. PHILLIPS, A. 1995. Resource patch size and flexible foraging in white-faced capuchins (*Cebus capucinus*). *Int. J. Primatol.* 16(3):509-519.
27. POZO, W. 2009. Uso preferencial de hábitat en primates atélidos en el Parque Nacional Yasuní, Ecuador. *Boletín Técnico 8, Serie Zoológica.* 4-5:25-34.
28. QUEIROZ, L. 1991. Levantamento das Populações de Três Espécies de Primatas na Fazenda Sucupira, Brasília, DF. p.369-374.
29. ROSE, M.; PERRY, S.; PANGER, A.; JACK, K.; MANSON, H.; GROS-LOUIS, J. 2003. Interspecific interactions between *Cebus capucinus* and other species: Data from three Costa Rican sites. *Int. J. Primatol.* 24(4):759-796.
30. SAVAGE, A.; THOMAS, L.; LEIGHTY, A.; SOTO, H.; MEDINA, F. 2010. Novel survey method finds dramatic decline of wild cotton-top tamarin population. *Nature Communicat.* 1(7):1-30.
31. SCHAİK, C. 1992. *Estimating Population Densities of Summation Rain Forest Animals: A Brief Guide.* WCI project. 87p.
32. SIEMERS, M. 2000. Seasonal variation in food resource and forest strata use by brown capuchin monkeys (*Cebus apella*) in a disturbed forest fragment. *Folia Primatol.* 71:181-184.
33. SIMMEN, B. 1992. Competitive utilization of Bagassa fruits by sympatric Howler and Spider monkeys. *Folia Primatol.* 58:155-160.
34. SOLER, M.; CARRANZA, J.; CORDERO-RIVERA, A.; MORENO, J.; SENAR, C.; SOLER, J. 2001. Traducción al español de los términos ingleses más conflictivos utilizados en Etología, Ecología y Evolución. *Etología.* 9:43-46.
35. STEVENSON, P. 1991. Relación entre la abundancia de frutos y las estrategias alimenticias de 4 especies de primates, en la Macarena Colombia. Informe final,

Fundación para la Promoción de la Investigación y la Tecnología, Banco de la República, Bogotá. 209p.

36. STEVENSON, P.; QUIÑONES, M. 1993. Vertical stratification of four new world primates at Tinigua National Park, Colombia. *Field Studies of New World Monkeys*, La Macarena, Colombia. 8:11-18.
37. STEVENSON, R.; QUIÑONES, M.; AHUMADA, J. 2000. Influence of fruit availability on ecological overlap among four neotropical primates at Tinigua National Park, Colombia. *Biotropica*. 32 (3):533-544.
38. STONER, E.; RIBA-HERNANDEZ, P.; VULINEC, K.; LAMBERT, E. 2007. The role of mammals in creating and modifying seed shadows in tropical forests and some possible consequences of their elimination. *Biotropica*. 39:316-327.
39. URBANI, B. 2003. Utilización del estrato vertical por el mono aullador de manto (*Alouatta palliata*, Primates) en Isla Colón, Panamá. *Antropo*. 4:29-33.
40. VILELA, L. 2007. Simpatría e dieta de *Callithrix penicillata* (Hershkovitz) (Callitrichidae) e *Cebus libidinosus* (Spix) (Cebidae) em matas de galeria do Distrito Federal, Brasil. *Rev. Bras. Zool.* 24(3):601-607.
41. WALLACE, B.; PAINTER, L.; TABER, A. 1998. Primate diversity, habitat preferences, and population density estimates in Noel Kempff Mercado National Park, Santa Cruz Department, Bolivia. *Am. J. Primatol.* 46:197-211.
42. YOULATOS, D. 1998. Positional behavior of two sympatric Guianas capuchin monkeys, the brown capuchin (*Cebus apella*) and the wedge-capped capuchin (*Cebus olivaceus*). *Mammalia*. 62(3):351-365.
43. ZAR, H. 1996. *Bioestadistical analysis*. 3ed. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliff, N.J. 663p.

Recibido: Agosto 16 de 2012

Aceptado: Marzo 20 de 2013

CARACTERÍSTICAS GRANULOMÉTRICAS DE LOS FONDOS BLANDOS EN UN ÁREA DE LA BAHÍA DE TAGANGA (COLOMBIA) INFLUENCIADA POR LA INSTALACIÓN DE REFUGIOS BENTÓNICOS

GRANULOMETRIC CHARACTERISTICS OF THE SOFT BOTTOMS IN AN AREA OF THE TAGANGA BAY (COLOMBIA) INFLUENCED BY THE INSTALATION OF BENTONIC SHELTERS

Juan Carlos Rubio-Polanía¹, Carlos Alberto Trujillo-Arcila²

¹Biologo Marino, Estudiante de Maestría en Ciencias, CICESE. Calle 179 No 6-64 apto 503, Bogotá D.C, Colombia. E-mail: jucarupo2@hotmail.com; ²Biólogo Marino, grupo de Ciencias Marinas Aplicadas al Desarrollo Integrado de Zonas Costeras adscrito a la Fundación Sila Kangama. Carrera 3 No 25-81, Rodadero, Santa Marta, Colombia. ecoreef.colombia@gmail.com

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 193 - 203, 2013

RESUMEN

Los sedimentos marinos y sus características granulométricas pueden condicionar el establecimiento de las comunidades bentónicas. Con el objetivo de establecer el tipo de sedimento presente en el área de influencia de los refugios tipo casita cubana instalados en la bahía de Taganga, la Fundación Sila Kangama, durante el primer semestre de 2004, evaluó las características granulométricas y químicas de los fondos blandos presentes en el área de influencia, de tres de los 15 refugios bentónicos, ubicados a 25 m de profundidad. Se determinó la naturaleza arenosa del sedimento, el cual, fluctuó entre arenas finas, medias y gruesas, con mezcla de material fino y grueso, sometido a una energía cinética media alta, con clasificaciones de moderadas a muy malas, que están en relación con valores de asimetría negativos y distribuciones platicúrticas, que indican bimodalidad. Los porcentajes de materia orgánica calculados son atípicos (entre 9,99 y 23,66) para sedimentos arenosos y la característica bioclástica resulta de la descomposición de los restos calcáreos de origen biológico. Se observaron dos tipos de ambientes sedimentarios, de erosión en la estación uno y de flujo, en las estaciones dos y tres, lo cual, se vio reflejado en las pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis y Dunn realizadas. No se observa un efecto marcado de los refugios bentónicos sobre los sedimentos evaluados.

Palabras clave: Sedimentos, granulometría, Bahía Taganga, Caribe colombiano.

SUMMARY

The establishment of benthic communities depends on the granulometric characteristics of marine sediments. The main objective of this study was to establish the kind of sediment present in the area of influence of casita cubana shelters installed in the Taganga Bay, the Sila Kangama foundation during the first semester of 2004, evaluating the granulometric characteristics and the chemistry of soft bottom present in the area influenced by three of 15 benthic refuges installed in 25m depth in the interior of the bay. The nature of the sandy sediments, fluctuated between fine, medium and coarse, with a mixture with fine and coarse materials, under medium to high kinetic energy, with a classification ranging from moderate to poor relating to the negative asymmetry values and platykurtic distributions indicating bimodality. The percentages of organic material calculated are atypical (between 9.99 and 23.66) for sandy sediments and its bioclastic characteristics are the result of the decomposition of calcareous fragments of biological origin. Two types of sediment environments were observed, one of erosion at station one and one of water flow in stations two and three, which were reflected in the Kruskal-Wallis and Dunn nonparametric tests carried out. No marked effect was observed of the benthic refuges on the sediments evaluated.

Key words: Sediments, Granulometry, Taganga Bay, Colombian Caribbean.

INTRODUCCIÓN

Los sedimentos marinos son agregados de materiales insolubles no consolidados de origen orgánico e inorgánico, llevados a los fondos costeros y oceánicos por agentes de transporte (Ruíz & Ilin, 1979). Estos son importantes en el desarrollo de cadenas tróficas, reciclamiento de materia orgánica, equilibrio atmósfera-océano, estudios geológicos y evaluaciones de impacto ambiental (De la Lanza, 1986; Valdés *et al.* 2000). Sus características texturales pueden condicionar el establecimiento de las comunidades bentónicas (Wieser, 1969).

El análisis de tamaño de grano es una herramienta indispensable para clasificar ambientes sedimentarios (Blott & Pye, 2001), que son sustratos móviles, influenciados por procesos físicos, químicos y biológicos (Sebens, 1991). Su distribución y baja complejidad estructural facilita la disposición de hábitats artificiales, que favorecen la agregación de especies de importancia ecológica y comercial (Vegas, 1971; Vita *et al.* 2002; Delgadillo-Garzón, 2009). Tal es el caso de los refugios bentónicos, llamados casitas cubanas, ubicados en la bahía de Taganga (Figura 1), que se encuentran entre los 20 y 30m de profundidad, distribuidos en un área de 1000 m². Estas estructuras fueron dispuestas por la Fundación Sila Kangama, para realizar la evaluación del reclutamiento y mejorar el manejo de la langosta espinosa, en el área de Santa Marta (Jaimes *et al.* 2004) y son ampliamente utili-

zados en la explotación de la langosta espinosa (*Panulirus argus*, Latreille, 1804), en la cuenca del caribe (Arango *et al.* 2001).

La bahía de Taganga, ubicada al Norte de la ciudad de Santa Marta, entre Punta Venados (11°16'14" N, 74°12'16" W), Punta Colorada (11°15'44" N, 74°11'56" W) y la playa de Taganga (74°11'29" W), (Figura 2) está formada por estribaciones de la Sierra Nevada de Santa Marta y presenta una variedad de hábitats, que van desde formaciones coralinas hasta fondos sedimentarios (Agenda Caribe, 2006).

La bahía presenta litorales rocosos, escarpados por esquistos verde azulados de foliación metamórfica y batolitos, con muchas puntas y bahía. Las playas son arenosas, con abundantes cascajos de naturaleza litológica y carbonato de calcio de origen coralino. Los fondos rocosos son frecuentes en el área, debido a la presencia de las estribaciones noroccidentales de la Sierra Nevada de Santa Marta (Bartels, 1970; Bustamante *et al.* 2008).

Este trabajo, se realizó con el objetivo de contribuir y de fomentar el conocimiento de los fondos sedimentarios de la bahía de Taganga, teniendo en cuenta que es un área turística importante del caribe colombiano, que se encuentra sometida a factores estresantes de tipo antropogénico (*e.g.* descargas del emisario submarino).



Figura 1. Casita Cubana dispuesta en la bahía de Taganga.



Figura 2. Mapa de la bahía de Taganga, se muestran los tres refugios bentónicos muestreados (CC1, CC2 y CC3) (tomado y modificado de Delgadillo-Garzón, 2009).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron de manera aleatoria tres refugios bentónicos, con el fin de tener una muestra representativa del área. Cada estructura fue numerada y geoposicionada, de tal manera que la estación número uno, se encuentra ubicada a $11^{\circ}15'56,5''$ N y $74^{\circ}11'51,1''$ W; la estación dos, a $11^{\circ}15'57,9''$ N y $74^{\circ}11'51,7''$ W y, la tres, a $11^{\circ}15'57,5''$ N y $74^{\circ}11'51,0''$ W. La toma de muestras en cada estructura, se realizó sobre un transecto, de 10m con dirección Norte-Sur.

Para cada unidad muestral fueron tomadas dos réplicas: la primera destinada para el análisis granulométrico y, la segunda, para el análisis químico. El sedimento fue extraído usando equipo autónomo de buceo y una caja excavadora de $0,02\text{m}^2$ (con una máxima profundidad de perforación de 30cm), colectándose el sedimento a 5m, 2m y debajo de la estructura (0m) (Figura 3); el material extraído fue almacenado en bolsas rotuladas. Muestras de cinco centímetros

de espesor, destinadas para medir el contenido de materia orgánica, fueron almacenadas en frascos plásticos negros, los cuales, se mantuvieron congelados hasta el momento de hacer la determinación.

Para el análisis granulométrico, se tomó 100g de sedimento, previamente secados y homogenizados, que fueron tamizados durante 15 minutos, en un vibrador Retsch, haciendo pasar la muestra sobre una columna de tamices con luces de malla de 4; 2; 1,45; 0,635; 0,45; 0,35; 0,160; 0,112; 0,063 y $< 0,063\text{mm}$. A continuación, se pesó el contenido de cada tamiz y se transformó a porcentaje (Buchanan, 1984), se calcularon cinco características texturales, que son, según Bartholdy *et al.* (2007), las que mejor reflejan las tendencias de los parámetros texturales. 1) la Mediana ($Md = \varphi_{50}$), a los efectos de estimar la energía cinética media (ECM) del ambiente sedimentario; 2) El tamaño gráfico promedio o Media ($Mz = \{(\varphi_{16} + \varphi_{50} + \varphi_{84}) / 3\}$), para establecer el diámetro promedio de las partículas de la muestra; 3) La Desviación

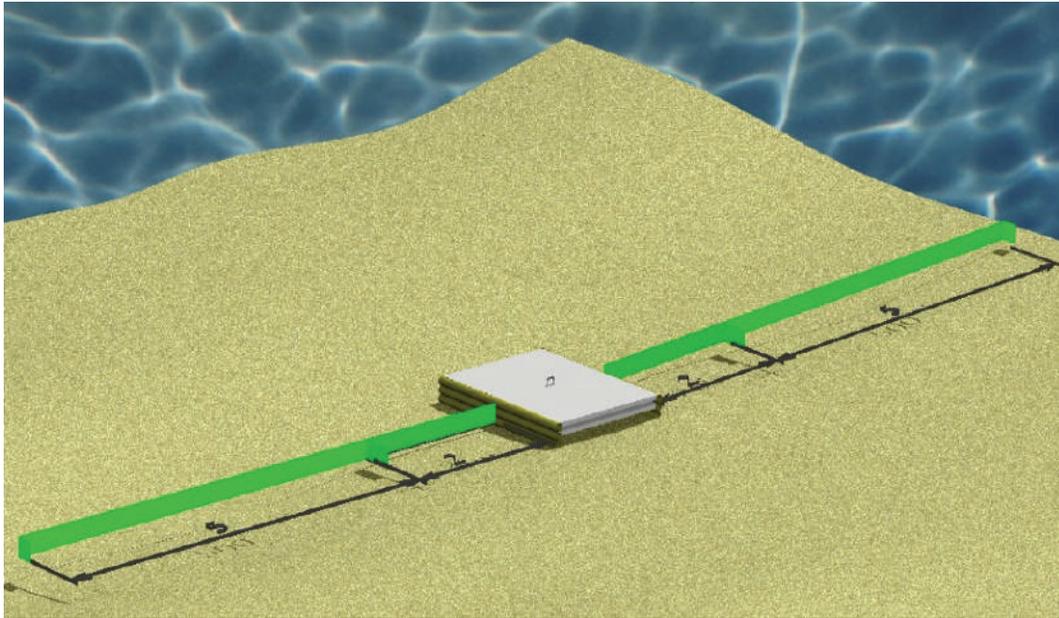


Figura 3. Diagrama de los cinco puntos de muestreo: cuatro externos y uno debajo del refugio (las distancias de muestreo están en metros). La figura rectangular gris representa el refugio bentónico.

estándar gráfica inclusiva ($\sigma_{1-} = \{(\varphi_{84} + \varphi_{16}) / 4\} + \{(\varphi_{95} - \varphi_5) / 6.6\}$), por medir la clasificación o uniformidad del sedimento; 4) Asimetría gráfica inclusiva ($Sk = \{\varphi_{16} + \varphi_{84} - 2\varphi_{50} / 2(\varphi_{84} - \varphi_{16})\} + \{\varphi_5 + \varphi_{95} - 2\varphi_{50} / 2(\varphi_{95} - \varphi_5)\}$), para observar el sesgo que presenta la curva de distribución hacia granos finos o gruesos y, 5) La cúrtosis gráfica ($Kg = \{(\varphi_{95} - \varphi_5) / 2.44(\varphi_{75} - \varphi_{25})\}$), para establecer el acercamiento al valor medio de la curva de distribución (Méndez *et al.* 1986; García *et al.* 2009). Todos los cálculos se realizaron conforme al trabajo de Folk & Ward (1957).

El porcentaje de materia orgánica, se determinó por pérdida de peso por ignición, sometiendo cada muestra por duplicado, en alícuotas de 1g de peso, a un secado de 95°C, durante 24 horas. Posteriormente, se calcinaron las muestras a 550°C, por una hora y se calculó la diferencia en peso (Páez-Osuna *et al.* 1984).

Para la determinación de carbonatos totales, se tomó una muestra de 10g de sedimento, a los cuales, se les agregó 50mL HCl 0,5N; posteriormente, la muestra fue calentada durante 5min y, luego, titulada con NaOH 0,25N, usando fenolftaleína, como indicador. Con el volumen utilizado en la titulación, se calcula la cantidad de carbonatos presentes en la muestra, que son expresados como porcentaje (Hernández, 1994).

Debido a que los datos no cumplieron los supuestos de nor-

malidad y de homogeneidad de varianza, se realizaron las pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis y de Dunn, con los paquetes estadísticos Statgraphics Centurión XVI y Bios-tat, con el fin de determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre las tres estaciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El sedimento hallado en las tres estaciones está constituido por arenas de color gris, con una elevada presencia de restos orgánicos calcáreos, provenientes de moluscos, de crustáceos y de foraminíferos. Los valores de tamaño medio de grano (Mz), ubican al sedimento analizado en el intervalo de las arenas finas, arenas medias y arenas gruesas (Tablas 1 y 2). Esta textura sedimentaria, se encuentra con regularidad en el interior de la plataforma continental (Gilluly *et al.* 1964) y es reportada por Von (1976), Gaitán-Espitia (2008) y Martínez-Ramírez *et al.* (2009), en la bahía de Taganga.

El predominio de la textura arenosa señala la presencia de una alta energía cinética media (ECM), generada por el continuo movimiento turbulento de agua, que favorece la deposición de material grueso y arrastra el material fino, impidiendo su asentamiento (Edward & Héquette, 2007; Guinez *et al.* 2010); esta situación es confirmada por los valores de mediana (Md) (Tabla 1 y 2). Estos resultados concuerdan con lo observado por Ramírez-Barón *et al.* (2010), quienes establecen la presencia de aguas turbulentas en la bahía de

Tabla 1. Rangos de los parámetros texturales calculados: mediana (Md); tamaño medio de grano o Media (Mz); desviación estándar (σ_1); cúrtosis (kg) y asimetría (Sk).

Diámetro Medio o Mediana (Md)	
Arenas muy gruesas	-1,0 ϕ a 0 ϕ
Arenas gruesas	0,01 ϕ a 1,0 ϕ
Arenas medias	1,01 ϕ a 2.0 ϕ
Arenas finas	2,01 ϕ a 3,0 ϕ
Arenas muy finas	3,01 ϕ a 4,0 ϕ
Tamaño Gráfico Promedio o Media (Mz)	
Grava	-2 ϕ a -0,99 ϕ
Arena muy gruesa	-1 ϕ a 0 ϕ
Arena gruesa	0,01 ϕ a 1,0 ϕ
Arena media	1,01 ϕ a 2,0 ϕ
Arena fina	2,01 ϕ a 3,0 ϕ
Arena muy fina	3,01 ϕ a 4,0 ϕ
Arcillas y Limos	4,0 ϕ a 14 ϕ
Desviación Estándar Gráfica Inclusiva o clasificación (σ_1)	
Muy bien Clasificado	σ_1 menor a 0,35 ϕ
Bien clasificado	0,35 ϕ a 0,50 ϕ
Moderadamente bien clasificado	0,50 ϕ a 0,71 ϕ
Moderadamente clasificado	0,71 ϕ a 1,00 ϕ
Mal clasificado	1,00 ϕ a 2,00 ϕ
Muy mal clasificado	2,00 ϕ a 4,00 ϕ
Extremadamente mal clasificado	Mayor a 4,00 ϕ
Asimetría Gráfica Inclusiva (Sk)	
Muy asimétricos hacia los tamaños finos	1,00 ϕ a 0,30 ϕ
Asimétricos hacia los tamaños finos	0,30 ϕ a 0,10 ϕ
Casi simétrico	0,10 ϕ a -0,10 ϕ
Asimétricos hacia los tamaños gruesos	-0,10 ϕ a -0,30 ϕ
Muy asimétricos hacia los tamaños gruesos	-0,30 ϕ a -1,00 ϕ
Cúrtosis Gráfica (kg)	
Muy Platicúrtica	kg menor a 0,67 ϕ
Platicúrtica	0,67 ϕ a 0.90 ϕ
Mesocúrtica	0.90 ϕ a 1,11 ϕ
Leptocúrtica	1,11 ϕ a 1,50 ϕ
Muy leptocúrtica	1,50 ϕ a 3,00 ϕ
Extremadamente leptocúrtica	Menor a 3,00 ϕ

Tabla 2. Valores de los parámetros texturales calculados, materia orgánica (M.O), carbonato de calcio (CaCO₃), tamaño medio de grano (Mz), cúrtosis gráfica (kg), desviación estándar (σ_1) y asimetría (Sk).

Refugio	Punto de Muestreo	Md	Mz	σ_1	Sk	kg	% M.O	% CaCO ₃
Refugio 1	5 m N	2,75	1,80	1,79	-0,71	0,86	12,89	99,70
	2 m N	1,95	1,58	1,84	-0,28	1,05	17,22	98,60
	0 m	2,85	2,02	1,73	-0,57	0,83	21,01	99,70
	2 m S	2,80	1,91	1,67	-0,77	0,92	16,81	99,30
	5 m S	1,89	1,50	1,74	-0,32	0,85	19,70	99,70
Refugio 2	5 m N	1,10	0,87	1,97	-0,12	0,73	15,16	99,10
	2 m N	1,40	1,23	1,78	-0,15	1,44	17,08	99,10
	0 m	1,70	1,45	1,71	-0,16	1,03	23,66	97,90
	2 m S	0,90	0,67	1,86	-0,11	0,87	8,49	97,20
	5 m S	0,35	0,58	1,61	0,19	0,86	19,58	99,30
Refugio 3	5 m N	1,50	1,22	1,94	-0,17	0,86	14,66	99,00
	2 m N	0,65	0,07	2,31	0,44	0,55	9,99	98,90
	0 m	1,00	0,96	2,08	0,00	0,68	14,38	99,10
	2 m S	1,60	0,93	2,29	-0,29	0,73	21,51	99,20
	5 m S	1,46	1,23	1,94	-0,10	0,81	17,72	98,50

Taganga, en una estación ubicada a 1,43km mar afuera de las tres estaciones.

La desviación estándar gráfica inclusiva (σ_1) fluctuó entre 1,61 ϕ y 2,31 ϕ , valores que indican una mala y muy mala clasificación de los sedimentos hallados. De acuerdo a Folk & Ward (1957), las arenas finas y medias registradas en nuestro estudio presentan una buena clasificación; sin embargo, la mezcla de partículas finas (2,01 ϕ a 3,00 ϕ) con partículas gruesas (-2,0 y 1,0 ϕ) genera un aumento en los valores de desviación estándar, siendo estos ambientes sedimentarios heterogéneos (Folk & Ward, 1957; Héquette *et al.* 2008).

De los 15 puntos de muestreo evaluados, 12 presentaron valores negativos de asimetría, que se relaciona con la mala y muy mala clasificación del sedimento (Gao *et al.* 1994; Parrado & Achab, 1999), debido a que la mezcla de material fino y grueso genera una distribución semejante a la de chi cuadrado, lo cual, se observa como un movimiento de la media y la moda al interior de la curva de distribución gráfica hacia la izquierda, haciéndola decrecer (Emeka *et al.* 2010), lo que indica, que el traslado de los granos finos presentes

en la cola de distribución se da por selección de partículas ante una energía cinética media más alta de lo normal (en términos de intensidad y duración), con turbulencia y adiciones de restos calcáreos gruesos. Estos últimos son una población subordinada al interior de la muestra, que permiten presumir que en el área se dan procesos de erosión (Figura 4) (Folk, 1966; Martins, 2003; Emeka *et al.* 2010).

Los valores de asimetría positiva observada en dos puntos de muestreo, uno ubicado en la estación dos y uno en la estación tres (Tabla 2), señalan la presencia de poblaciones dominantes gruesas con adición de material fino, con competencia de agentes de transporte y la existencia de procesos de depositación (Martins, 2003). Esto se observa en ambientes en estado de flujo, donde existen procesos de erosión y de depositación (Martins, 2003).

En los 15 puntos de muestreo, se observaron cuatro tipos de curvas de distribución, que van desde muy platicúrtica (aplana) hasta leptocúrtica (Tabla 2). Las curvas de distribución platicúrticas resultan de la presencia de muchas clases de tamaños de grano, que presentan valores similares con me-

por clasificación en los extremos, por lo que este ambiente es poco estable (Méndez *et al.* 1986; Amrouni-Bouaziz *et al.* 2007). Esta condición se observó en el 73% del total muestreado e indica la bimodalidad de los sedimentos en la curva de distribución (Figura 4); esta situación se suele presentar en sedimentos con mezcla de materiales finos y gruesos con mala clasificación (Folk & Ward, 1957).

Un punto de muestreo ubicado en la estación dos (Tabla 1 y 2) presentó leptocúrtosis, tipo de distribución, en el que la selección de partículas del centro de la curva de distribución es mejor que en los extremos (García *et al.* 2009). La acumulación en el centro de la curva es un indicador de la presencia de una ECM alta, que dura más tiempo de lo normal (Martínez, 1986).

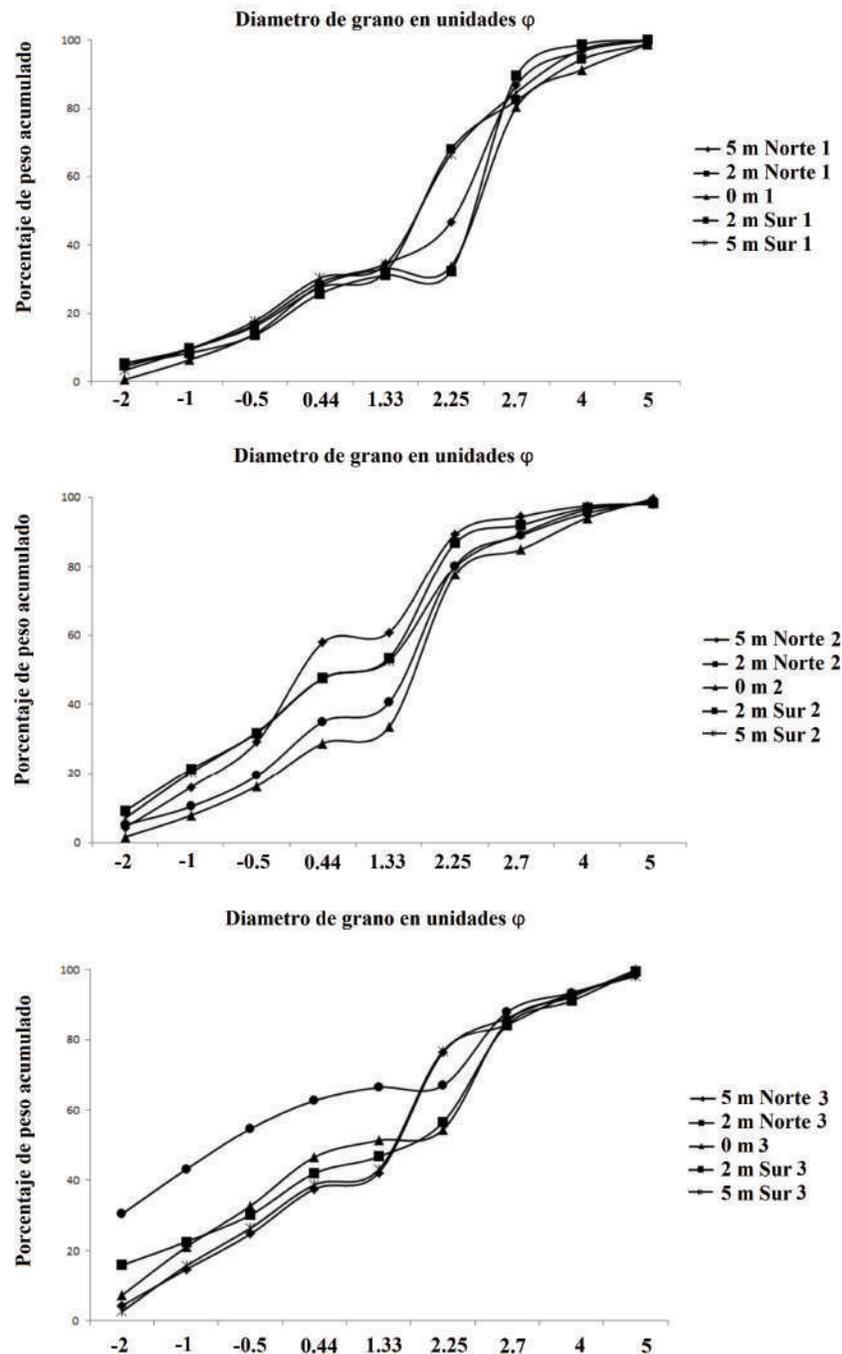


Figura 4. Curvas de porcentaje de peso acumulado vs. diámetro en unidades phi (ϕ), de las tres estaciones.

En la estación tres, se observó el único valor extremo de córtosis (Tabla 2) (muy platicúrticas), que indica que las partículas han sido transportadas en ambientes de alta ECM sin que sufran grandes modificaciones en el tamaño de grano; se observan modas subiguales (Folk & Ward, 1957).

Se percibió mesocórtosis en tres puntos de muestreo (Tabla 1 y 2); en este caso, la distribución de partículas fue muy cercana a la normal, es decir, que no hubo oscilaciones en la ECM en la región central de la curva de distribución (Fuentes, 2006).

Los porcentajes de materia orgánica calculados (Tabla 2) son atípicos en sedimentos arenosos, que presentan espacios intersticiales, que favorecen la depositación de agua que oxida el material orgánico y el estado libre de las bacterias, encargadas de los procesos diagénicos (INVEMAR, 2003; De la Lanza, 1986). Esto indica, que en el área existen otras fuentes de material orgánico, además de la producción primaria y el material erosionado y lixiviado no degradado, en la columna de agua (Ruíz & Ilin, 1979).

En áreas perturbadas, como el golfo de Vizcaya, Martínez & Adarraga (2001) reportan 2,37% de materia orgánica en arenas gruesas y 1,82%, en arenas finas y Vita *et al.* (2002) calcularon un máximo de 8%, para un área expuesta a la influencia de jaulas de explotación de acuicultura, siendo los valores reportados por ambas investigaciones más bajos que los calculados para la bahía de Taganga; esto puede ser el resultado de la suma de factores como: 1) la disminución de permeabilidad, debida a la mezcla de arenas y de gravas, que afecta la penetración de agua en espacios intersticiales (Visher, 1969), que resulta de un ambiente reductor, donde se preserva la materia orgánica (evidenciado en el color gris) (Lamas, 2006); 2) aportes provenientes del emisario submarino, que pueden ser transportados al interior de la bahía, durante el segundo semestre del año, cuando se produce un transporte de las masas de agua hacia el interior de la bahía (Capitanía de Puerto, 1995; Agenda Caribe, 2006) y 3) a la actividad de organismos asociados a los refugios bentónicos (Fabi *et al.* 2002), debido a que estos refugios concentran crustáceos, moluscos, anélidos, esponjas, equinodermos y especies ícticas (Arango *et al.* 2001; Delgadillo-Garzón, 2009), factores responsables del elevado porcentaje de materia orgánica.

El porcentaje de carbonato de calcio fluctuó entre los 97,20% y 99,70%, lo que establece la naturaleza bioclástica del sedimento analizado (Tabla 3). Vegas (1971) y Arche (1992) establecen que las arenas de los márgenes continentales están constituidas, principalmente, por cuarzos procedentes de la erosión continental y de detritos calcáreos provenientes de valvas de moluscos, caparzones de crustáceos y de equinodermos, de escamas, de huesos de peces y de restos coralinos.

Dichos restos, pertenecientes a la tanatocenosis, fueron reportados en la bahía de Taganga en la isobata de 16m, a profundidades entre los 25 y 30m y a 70m de la línea costa (Von, 1976; Díaz, 1990; Martínez-Ramírez *et al.* 2009) y se mantuvieron presentes, de manera abundante y generalizada, en los sedimentos analizados; los mismos fueron los responsables del elevado porcentaje de carbonato de calcio hallado en las muestras (Salazar *et al.* 2003) y una clara evidencia de la sedimentación organógena presente en la bahía (Hernández *et al.* 2002).

La prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis indicó diferencias estadísticamente significativas entre las estaciones ($H = 6,17$ $p < 0 = 0,009$), mientras que la prueba a posteriori de Dunn, demostró que las estaciones dos y tres no presentan diferencias estadísticamente significativas, con un valor Q de 0,0, mientras que entre la estación uno y las estaciones dos y tres se presenta diferencias estadísticamente significativas (con un valor de Q calculado fue de 2,65), siendo esta diferencia un reflejo de la presencia de una ECM más elevada en las estaciones dos y tres, sumado al estado de flujo que presentan estas dos estaciones.

Según Fabi *et al.* (2002) y Vita *et al.* (2002), las estructuras artificiales generan efectos sobre la dinámica sedimentaria, donde se disponen (*e.g.* aumento en el contenido de materia orgánica, distribución del sedimento o cambios en el tamaño de grano); sin embargo, esto no se observó un efecto marcado de los refugios sobre la disposición y la distribución de los fondos sedimentarios circundantes, debido a que solamente en las estaciones uno y dos fue evidente la disminución en la ECM debajo de los refugios, sumado a valores más altos de materia orgánica y el aumento de la ECM desde el refugio hacia los puntos de muestreo, ubicados en el sur. Por lo tanto, resulta necesario realizar investigaciones tendientes a evaluar la cantidad y la tasa de enriquecimiento orgánico, así como las características texturales de toda la bahía y una evaluación amplia del total de refugios dispuestos, tanto en la bahía de Taganga, como en el área de Pozos Colorados.

Agradecimientos. Los autores agradecen a Jagannath, Rubén Darío Rubio Ospina, Yolanda Polanía Serrano, Juan Pablo Valencia Vera, Óscar Delgadillo, Johanna Medellín, Lina Ceballos, Claudia Catalina Barón, Bibiana Molina, Arinta Jauregui, Paulo César Tigreros Benavides, Ana Uribe, Rafael Barragán y Camila Di marco. **Conflicto de intereses:** Los autores del presente escrito declaran que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados. **Financiación:** Esta investigación fue financiada por la Fundación Sila Kangama y el Fondo para la Acción Ambiental, dentro del proyecto "Variabilidad del asentamiento post larval e implementación de refugios artificiales para el manejo de la langosta espinosa *Panulirus argus* en la región de Santa Marta" y recibió el apoyo de la Universidad Jorge Tadeo Lozano.

BIBLIOGRAFÍA

1. AGENDA CARIBE. 2006. <http://agendacaribe.blogspot.mx/2006/09/grave-amenaza-la-vida-y-al-medio.html> (con acceso 27/10/2011).
2. ARCHE, A. 1992. Sedimentología. Vol.1. Madrid, España. 258p.
3. AMROUNI-BOUAZIZ, O.; SOUISSI, R.; BARUSSEAU, J.P.; ABDELJAOUED, S.; PAUC, H.; CERTAIN, R. 2007. Grain-size and morphodynamical state of the bay-of-Mahdia shoreface (Tunisia). Contribution to the assessment of coastal sensitivity. *Geo-Eco-marina* (Rumania). 13:5-19.
4. ARANGO, L.; MANRIQUE, M.; JAIMES, J. 2001. Reclutamiento de juveniles de la langosta *Panulirus argus* con refugios artificiales en el Caribe colombiano. *Rev. Invest. Marinas* (Cuba). 22(3):221-228.
5. BARTELS, G. 1970. Geomorphologische Höhenstufen der Sierra Nevada de Santa Marta (Kolumbien). *Gies-sener Geogr. Schr.* (Alemania) 21:1-56.
6. BARTHOLDY, J.; CHRISTIANSEN, C.; PEDERSEN, J. 2007. Comparing spatial grain-size trends inferred from textural parameters using percentile statistical parameters and those based on the log-hyperbolic method. *Sediment. Geology*. (Países Bajos). 202:436-452.
7. BLOTT, S.J.; PYE, K. 2001. Gradstat: A grain size distribution and statistics package for the analysis of unconsolidated sediments, *Earth Surf. Process. Landf* (Inglaterra). 26:1237-1248.
8. BUCHANAN, J. 1984. Sediment Analysis. En: Holme, N. y McIntyre A. *Methods for the Study of Marine Benthos*. Ed. Blackwell Scientific Publication. (Reino Unido). p.41-63.
9. BUSTAMANTE, C.; CARDONA, A.; SALDARRIAGA, M.; GARCÍA-CASCO, A.; VALENCIA, V.; WEBER, M. 2008. Metamorfosis de los esquistos verdes y anfibolitas pertenecientes a los esquistos de Santa Marta, Sierra Nevada de Santa Marta (Colombia): ¿registro de la colisión entre el arco Caribe y la margen suramericana?. *Bol. Ciencias Tierra* (Colombia). 25:7-25.
10. CAPITANÍA DE PUERTO. 1995. Informe para la implementación de una planta de tratamiento en la bahía de Taganga. Informe técnico, Capitanía de Puerto, Santa Marta. 15p.
11. DE LA LANZA, G. 1986. Materia orgánica en los sedimentos del sistema lagunar Huizache y Caimanero: importancia, comportamiento y significado en modelos de predicción. *An. Inst. Mar y Limnol. Univ. Nal. Aunton. México* (México). 13(1):251-286.
12. DELGADILLO-GARZÓN, O. 2009. Nota: Peces y macroinvertebrados móviles de hábitats artificiales en la bahía de Taganga, Caribe Colombiano. *Bol. Invest. Mar. Cost.* (Colombia). 38(1):197-204.
13. DÍAZ, J. 1990. Estudio ecológico integrado de la zona costera de Santa Marta y Parque Nacional Natural Tayrona. Programa de ecosistemas marinos INVE-MAR. (Colombia). 54p.
14. EDWARD, J.; HÉQUETTE, A. 2007. The grain-size characterization of coastal sand from the Somme estuary to Belgium: Sediment sorting processes and mixing in a tide- and storm-dominated setting. *Sediment. Geology*. 202:369-382.
15. EMEKA, N.C.; ANTIA, V.; UKPONG, A.; AMAH, E.; NTEKIM, E. 2010. A Study on the Sedimentology of Tidal Rivers: Calabar and Great Kwa, S. E. Nigeria. *Eur. J. Sci. Res.* (Seychelles). 47(3):370-386.
16. FABI, G.; LUCCARINI, F.; PANFILI, M.; SOLUSTRI, C.; SPAGNOLO, A. 2002. Effects of an artificial reef on the surrounding soft-bottom community (central Adriatic Sea). *J. Marine Sci.* (Dinamarca). 59(1):343-349.
17. FOLK, R. 1966. A review of grain-size parameters. *Sedimentology*. (Inglaterra). 6:73-93.
18. FOLK, R.; WARD, W. 1957. Brazos River Bar- a study in the significance of grain size parameters. *J. Sediment. Petrology*. (Estados Unidos). 27:3-27.
19. FUENTES, M. 2006. Algunas características sedimentológicas del puerto pesquero internacional de Güiria y sus alrededores, estado de Sucre, Venezuela. *Saber. Univ. De Oriente*. (Venezuela). 1(2):197-206.
20. GAITÁN-ESPITIA, J. 2008. Estructura de la comunidad del Phylum Echinodermata en aguas someras de la bahía de Taganga, Caribe colombiano. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* (Colombia). 11(1):85-93.
21. GAO, S.; COLLINS, M.; LANCKNEUS, J.; DE MOOR, G.; VAN LANCKER, V. 1994. Grain size trends associated with transport patterns an example from the

- Belgican continental shelf. Mar. Geol. (Países Bajos) 121:171-185.
22. GARCÍA, C.; CASTILLO, R.; GARCÍA, R. 2009. Variación granulométrica y mineralógica en profundidad de los sedimentos retenidos por diques, estudio de cauces torrenciales semiáridos del sureste peninsular. *Nimbus*. (España). 23-24.
 23. GILLILY, J.; WATERS, A.; WOODFORD, A. 1964. Principios de Geología. Aguilar, S.A. 693 p.
 24. GUÍNEZ, M.; VALES, J.; SIFFEDINE, A. 2010. Variabilidad espacial y temporal de la materia orgánica sedimentaria, asociada a la Zona de Mínimo Oxígeno (ZMO), en un ambiente costero del norte de la corriente de Humboldt, bahía de Mejillones, Chile. *Lat. Am. J. Aquat. Res (Chile)*. 38(2):242-253.
 25. HERNÁNDEZ, C.; MARTIN, R.; LUQUE, A. 2002. Rasgos sedimentológicos de los fondos marinos de Maspalomas (Gran Canaria). *Vegueta*. (España). 6:191-200.
 26. HERNÁNDEZ, C. 1994. Manual de métodos de análisis de laboratorio de ecología marina. 13p.
 27. HÉQUETTE, A.; HEMDANE, Y.; ANTHONY, J. 2008. Sediment transport under wave and current combined flows on a tide-dominated shoreface, Northern coast of France. *Marine Geology*. (Países Bajos). 249: 226-242.
 28. INVEVAR. 2003. Informe del estado de los ambientes marinos y costeros de Colombia. serie de publicaciones periódicas; No.8, Santa Marta. (Colombia). 178p.
 29. JAIMES, J.; PINZÓN, Y.; TRUJILLO, C. 2004. Explorando alternativas de pesca responsable con la langosta espinosa en Santa Marta. Fundación Sila Kangama, Santa Marta. 80p.
 30. LAMAS, N. 2006. Taller color de los sedimentos. Como y porqué. The color of sediments. How and why. Enseñanza de las Ciencias de la Tierra. (España). 14(1):26-28.
 31. MARTÍNEZ, J. 1986. Metodologías granulométricas seguimiento de playas. Univ. Politécnica de Las Palmas. Las Palmas. (España). p.1-58.
 32. MARTÍNEZ, J.; ADARRAGA, I. 2001. Distribución batimétrica de comunidades macrobentónicas de sustrato blando en la plataforma continental de Guipúzcoa (golfo de Vizcaya). *Bol. Inst. Esp. Oceanogr*. (España). 17(1 y 2):33-48.
 33. MARTÍNEZ-RAMÍREZ, O.; GRIJALBA-BENDECK, M.; TRUJILLO-ARCILA, C.; ACERO, A. 2009. Primer registro de *Liopropoma carnabi* (Perciformes, Serranidae) para el Caribe colombiano. *Bol. Invest. Mar. Cost.* (Colombia). 38(1):205-209.
 34. MARTINS, L. 2003. Recent sediments and grain-size analysis. *Gravel*. (Brasil). 1:90-105.
 35. MÉNDEZ, M.; SOLIS-WEISS, V.; CARRANZA-EDWARDS, A. 1986. La importancia de la granulometría en la distribución de organismos bentónicos. Estudio de playas del estado de Veracruz, México. *An. Inst. Mar. y Limnol.* (México). 13(3):45-56.
 36. PÁEZ-OSUNA, F.; FONG-LEE, M.; FERNÁNDEZ-PÉREZ, H. 1984. Comparación de tres técnicas para analizar materia orgánica en sedimentos. *An. Inst. Cienc. Mar y Limnol.* 11(1):257-264.
 37. PARRADO, J.M.; ACHAB, M. 1999. Grain-size trends associated with sediment transport patterns in Cadiz Bay (southwest Iberian Peninsula). *Bol. Inst. Esp. Oceanogr*. (España). 15(1-4):269-282.
 38. RAMÍREZ-BARÓN, J.; FRANCO-HERRERA, A.; GARCÍA-HOYOS, L.; LÓPEZ, D. 2010. La comunidad fitoplanctónica durante eventos de surgencia y no surgencia, en la zona costera del departamento del Magdalena, Caribe colombiano. *Bol. Invest. Mar. Cost.* (Colombia). 39(2):233-263.
 39. RÚÍZ, B.; ILIN, A. 1979. Materia orgánica en los sedimentos de los golfos de Paria y Cariaco, Venezuela. *Bol. Inst. Univ. Oriente*. (Venezuela). 18(1 y 2):37-52.
 40. SALAZAR, J.; ROSAS, J.; RODRÍGUEZ, J. 2003. Condiciones sedimentológicas de la laguna la restinga, isla de Margarita, Venezuela. *Interciencia*. (Venezuela). 28(1):44-50.
 41. SEBENS, K. 1991. Habitat structure and community dynamics in marine benthic systems. En: Bell, S.; Mc Coy, E.; Mushinsky, H.R. *Habitat structure: the physical arrangement of objects in space*. Chapman and Hall, London. U.K. 438p.
 42. WIESER, W. 1969. The effect of grain size on the distribution of small invertebrates inhabiting the beaches

- of puget sond. *Limnology and Oceanography*. (Estados Unidos) 4:181-194.
43. VALDÉS, J.; LÓPEZ, L.; LO MÓNACO, S.; ORTLIEB, L. 2000. Condiciones paleoambientales de sedimentación y preservación de materia orgánica en bahía Mejillones del Sur (23° S), Chile. *Rev. Biol. Mar. Oceanog.* (Chile). 35(2):169-180.
44. VEGAS, M. 1971. Introducción a la ecología del bentos marino. Editorial Eva V. Chesneau. Washington, D.C. Estados Unidos. 97p.
45. VISHNER, G. 1969. Grain size distribution and depositional processes. *J. Sediment. Petrology*. (Estados Unidos). 39(3):1074-1106.
46. VITA, R.; MARÍN, J.; MADRID, J.; JIMÉNEZ-BRINQUIS, B.; CÉSAR, A.; MARÍN-GUIRAO, L. 2002. Impacto ambiental de la acuicultura en el bentos marino: experimentos de exclusión-inclusión. *Bol. Inst. Esp. Oceanog.* (España). 18(1-4):75-86.
47. VON, R. 1976. Contribución al conocimiento del género *Voluta* LINNÉ, 1758 (*Prochobranchia*) en la costa del Caribe de Colombia. *Mitt. Inst. Colombo-Alemán Invest. Cient.* (Colombia) 8: 83-104.

Recibido: Noviembre 30 de 2011

Aceptado: Marzo 15 de 2013

MACROINVERTEBRADOS BENTÓNICOS Y CALIDAD DEL AGUA EN UN TRAMO DEL RÍO BOGOTÁ. CAJICÁ-COLOMBIA

BENTHIC MACROINVERTEBRATES AND WATER QUALITY IN A STRETCH OF THE RIVER BOGOTA. CAJICA-COLOMBIA

Diego Fernando Ramírez¹, Grace Margarita Talero², Raúl Hernando López³

^{1,2} Biólogos. Asistentes de Investigación. ¹ dframireza@gmail.com; ² margarita.talmar@gmail.com; ³ Biólogo Marino, Dr. rer. nat. Profesor Asociado. Universidad Militar Nueva Granada. Campus Nueva Granada Km 2 vía Cajicá-Zipacquirá. Cundinamarca, Colombia. raul.lopez@unimilitar.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 205 - 214, 2013

RESUMEN

Entre febrero y septiembre de 2011, se tomaron muestras de sustrato blando en aguas someras, en tres sectores de un tramo rural del río Bogotá, ubicado en el área de Cajicá (Cundinamarca). Dada la importancia del río para la Sabana de Bogotá, el objetivo fue evaluar la calidad del agua, con base en algunas variables abióticas, los macroinvertebrados bentónicos y los índices BMWP/Col. y ASPT. No se observaron diferencias importantes entre los tres sectores de muestreo, pero sí variaciones cronológicas, asociadas a la influencia de las lluvias, intensificadas por un episodio moderado de La Niña. De este modo, las precipitaciones y el perfil limnológico, se relacionaron con la abundancia y la composición taxonómica de los invertebrados. Un sustrato arenoso-limoso favoreció la abundancia de Tubificidae (72,12%) y Chironomidae (23,43%), por su adaptabilidad a cargas orgánicas y de detritus altas y concentraciones bajas de O₂. Estos taxa, junto con Physidae, Glossiphoniidae y Tipulidae, principalmente, indicaron contaminación moderada en los tres sectores (BMWP/Col. A=48, B= 48, C= 43) y eutrofización, como consecuencia del impacto humano (aguas residuales y actividades agropecuarias), que afectan las aguas del río y su biota.

Palabras clave: Río Bogotá, BMWP/Col., contaminación, sedimentos, bentos.

SUMMARY

From February to September 2011, in shallow waters in three sections of a rural stretch of the Bogota River, located at Cajica (Cundinamarca), some soft substrate

samples were taken. Given the importance of the river to the savannah of Bogota, the objective was to evaluate the water quality, based on some environmental variables, the benthic macroinvertebrates and the BMWP/col. and ASPT indexes. No significant differences were observed among the three sampling sections, but chronological variations related to the influence of rainfall, enhanced by a moderate La Niña episode were detected. Thus, precipitations and the limnological profile were associated with the abundance, biomass and taxonomic composition of the invertebrates. A sandy-loam substrate favored the density and biomass of Tubificidae (72.12%, 0.15g/m²) and Chironomidae (23.43%, 0.23g/m²), due to their adaptability to high concentration of organic matter and detritus and low O₂ values. These taxa and mainly Physidae, Glossiphoniidae, and Tipulidae indicated moderate pollution in the three sections (BMWP/Col. A= 48, B= 48, C= 43) and eutrophication, as a result of human impact (wastewater and domestic discharges, and farming activities), affecting the river and its biota.

Key words: Bogotá River, BMWP/Col., pollution, sediments, benthos.

INTRODUCCIÓN

Los sistemas lóticos, fluviales o de aguas corrientes (arroyos, quebradas y ríos), se diferencian de otros ecosistemas acuáticos por el continuo y rápido caudal de sus aguas, que afectan los flujos de energía y de materia orgánica, la generación de biodiversidad, las sucesiones ecológicas y el mantenimiento de los equilibrios ecológicos (Wetzel, 2001; Roldán & Ramírez, 2008).

Los macroinvertebrados ($\geq 500\mu\text{m}$) acuáticos son principalmente bentónicos, *i.e.*, que habitan en o sobre el fondo, donde participan en la recirculación de nutrientes y en la degradación de materia orgánica (Riss *et al.* 2002; Roldán, 2003). En los sistemas lóticos, su distribución longitudinal es muy importante (Jones, 2011), pues se han observado cambios, incluso altitudinales de biodiversidad asociados al clima y a la topografía de las cuencas (Jacobsen, 2003; Goitia & Bustamante, 2009).

El río Bogotá recoge las aguas de una cuenca de 6000 km^2 y es uno de los sistemas lóticos más relevantes para el desarrollo de la Sabana de Bogotá, aunque debido a las actividades agrícolas, mineras, industriales y ganaderas, su calidad se ha deteriorado severamente (CAR-Cundinamarca, 2006). Muy pocos trabajos de la calidad del agua se han efectuado en el área de estudio (*e.g.*, Sierra *et al.* 2002; Gaviria *et al.* 2004), a diferencia de otras regiones de Colombia, donde se han empleado macroinvertebrados acuáticos (*e.g.*, Lozano, 2005; García *et al.* 2007; Liévano & Ospina, 2007; Bustamante *et al.* 2008; Walteros & Paiba, 2010; Marín *et al.* 2011; Montoya *et al.* 2011).

Uno de los índices empleados para el diagnóstico de los cuerpos de agua es el BMWP (Biological Monitoring Working Party), adaptado para Colombia (BMWP/Col.), que se basa en algunas familias de macroinvertebrados acuáticos. El índice se da por la suma total de la puntuación de cada familia (1-10) y define clases, calidad, puntaje y categorías, así: I= buena, $>150/101-130$, muy limpia; II= II aceptable, 61-100, ligeramente contaminada, III= dudosa, 36-60, moderadamente contaminada; IV= crítica, 16-35, muy contaminada; V= muy crítica, <15 , fuertemente contaminada (Roldán, 1996; 2003).

El índice ASPT (Average Score Per Taxon= Puntaje promedio por Taxon= 1-10), se obtiene al dividir el BMWP, por el número de taxa incluidos en el cálculo (Armitage *et al.* 1983; Walley & Hawkes, 1997).

El propósito de este trabajo fue valorar la calidad del agua aplicando estos dos índices, con base en algunas variables físico-químicas y su influencia sobre la comunidad de macroinvertebrados bentónicos, en un tramo de la cuenca alta del río Bogotá.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudió el tramo del río Bogotá limítrofe con el Campus de la Universidad Militar Nueva Granda (Campus-UMNG), ubicado a 2558 msnm en la salida rural norte del municipio de Cajicá (Cundinamarca), con clima frío (promedio 13°C), semiseco, característico de la cuenca alta del río Bogotá, afectada por descargas de residuos de pesticidas, agroquímicos y aguas

negras. Las precipitaciones ($<1000\text{mm}$) tienen un régimen bimodal (máx. abril-mayo y septiembre-noviembre; mín. diciembre-marzo y julio-agosto), influenciado por los eventos El Niño y La Niña (CAR-Cundinamarca, 2006).

Los sectores de muestreo, se ubicaron en un meandro del río influenciado por cultivos de flores y un campo de golf y se designaron como: A: $4^\circ56'33.78''\text{N}-74^\circ00'27.10''\text{O}$, B: $4^\circ56'25.02''\text{N}-74^\circ00'17.50''\text{O}$ y C: $4^\circ57'33.78''\text{N}-74^\circ00'28.10''\text{O}$ (Figura 1).

Abarcando periodos de diferente intensidad pluviométrica, en cada sector se hicieron muestreos de sustrato blando, original y tres réplicas, en aguas someras (10-20cm) cerca de la orilla, con una red Surber de $25 \times 25\text{cm}$, con malla de $250\mu\text{m}$, la cual, se ubicó contracorriente. En todos los casos, se removieron los primeros 5-10cm de sustrato, mediante una pala graduada (cm), se depositaron en bolsas de polietileno y se fijaron con alcohol al 70% (Oyague, 2009). La continuidad de los muestreos no fue posible, pues no siempre se pudo acceder a los lugares evaluados, debido a la influencia de un evento La Niña, con precipitaciones fuertes e inundaciones más intensas en la cordillera occidental y la Sabana de Bogotá (120% por encima del promedio) (IDEAM, 2011). Entonces, solamente se consideraron las fechas: 08 de febrero, 29 de marzo, 11 de julio, 01 y 29 de agosto, y 26 de septiembre de 2011.

En cada sector, se emplearon sondas Schott®, para las mediciones en la superficie de temperatura ($^\circ\text{C}$), pH (unidades de pH), conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$) y O_2 disuelto (mg/L); además, un fotómetro Visocolor Macherey-Nagel®, para estimar las concentraciones de NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+ , PO_4^{3-} y Fe^{2+} (mg/L). La dureza total (mg/L), se valoró con un juego de campo Visocolor® y la transparencia (cm) con un disco Secchi.

Las muestras de sustrato se secaron hasta peso constante, en un horno a 105°C ; luego, se pasaron por tamices de 250, 53 y $45\mu\text{m}$, para tipificarlos, según la escala de Wentworth (Wetzel, 2001). El mismo procedimiento de secado, se aplicó a las muestras de 50mL de agua, tomadas en cada fecha y sector, para estimar los sólidos disueltos, suspendidos y totales (mg/L), filtrando el agua con papel de fibra de vidrio ($1,5\mu\text{m}$) (Roldán & Ramírez, 2008). En todos los casos, se empleó una balanza analítica OHAUS-Explorer®.

Los macroinvertebrados, se separaron del sedimento con un tamiz de $60\mu\text{m}$, para su cuantificación e identificación (Merrit & Cummins, 1984; Roldán, 1996, 2003; Liévano & Ospina, 2007; Mugnai *et al.* 2010), bajo un estereoscopio y un microscopio Carl Zeiss Stemi DV4 y Axiostar Plus, respectivamente.

En la evaluación del cuadro limnológico general, en relación

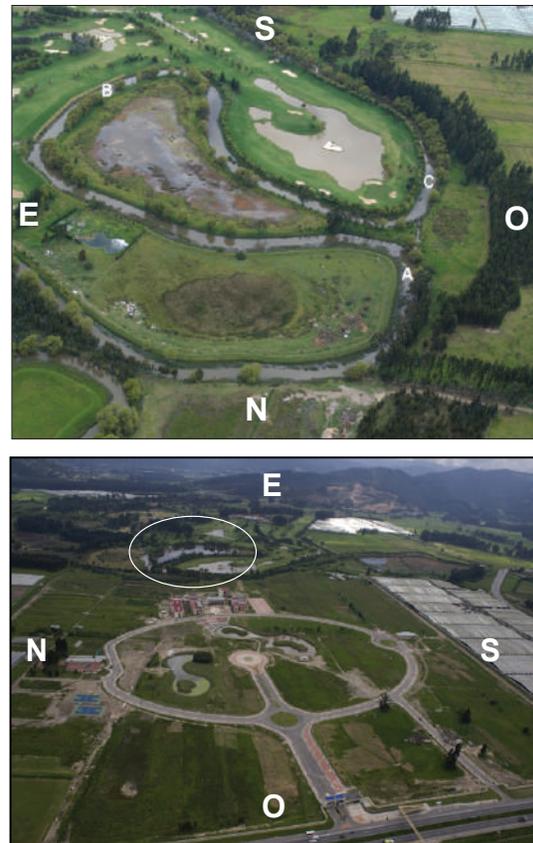
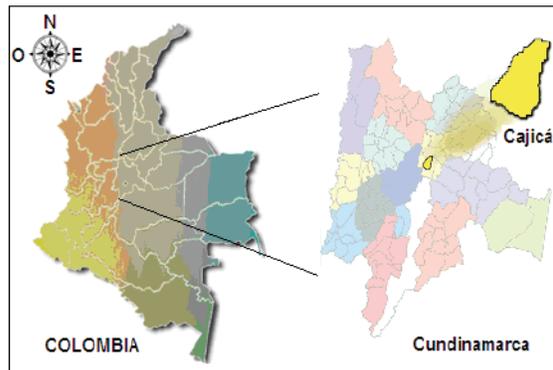


Figura 1. Localización del área (modificado de www.cajica-cundinamarca.gov.co) y los sectores de estudio (A, B, C), en el Campus-UMNG y el río Bogotá (Cajicá, Cundinamarca).

con los invertebrados bentónicos, se utilizaron los índices BMWP-Col. (Datos de un solo individuo no se incluyeron en el cálculo) (Roldán, 1996, 2003) y ASPT (Armitage *et al.* 1983; Walley & Hawkes, 1997) y un Análisis de Correspondencia Canónica (ACC). Los valores de precipitación fueron suministrados por la estación meteorológica del Campus-UMNG y la estación hidrometeorológica ALCO de la Corporación Autónoma Regional (CAR)-Cundinamarca (sin datos para enero-febrero de 2011). El Coeficiente de Variación (CV) sirvió para verificar la dispersión de los datos con respecto al valor medio y comprobar el grado de homogeneidad.

Ya que a la fecha no se encuentran definidos los criterios de calidad para el uso de las aguas en Colombia (Decreto 3930 de 2010, Capítulo V, Artículo 20), cuando fue el caso se tuvieron en cuenta los límites establecidos en el Decreto 1594 de 1984 (MINAMBIENTE, 2011).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comunidad de macroinvertebrados acuáticos-Índices BMWP-Col. y ASPT: Se capturaron 9559 individuos distribuidos en

tres phyla, seis clases, 10 órdenes y 17 familias; la mayoría perteneció a las familias Tubificidae (Annelida) (72,12%) y Chironomidae (Diptera) (23,43%). En los tres sectores, los índices BMWP/Col. (A= 48, B= 48, C=43) y ASPT (4 en los tres) (Tabla 1) revelaron una contaminación moderada del agua (dudosa=Clase III) (Roldán, 2003), durante el periodo evaluado. En este diagnóstico, posiblemente, influyeron los aportes de aguas residuales aguas arriba y la concentración de sedimentos, productos químicos y materia orgánica, dados por las actividades agropecuarias e industriales en cercanías al río (Gaviria *et al.* 2004; CAR-Cundinamarca, 2006).

Tubificidae y Chironomidae, así como Physidae, Glossiphoniidae y Tipulidae, también halladas en este estudio, son indicadoras de aguas mesotróficas a eutróficas, contaminadas a muy contaminadas por alto impacto antrópico, por su mayor abundancia y porque su presencia está favorecida por su tolerancia a poco O₂ y disponibilidad alta de detritus orgánico, que limitan la cantidad de familias en los cuerpos de agua (Roldán, 1996, 2003; Liévano & Ospina, 2007). Esto complementa la calificación de aguas moderadamente contaminadas e, incluso, eutrofizadas del tramo del río Bogotá.

Tabla 1. Ubicación taxonómica y abundancia de macroinvertebrados, BMWP/Col. (Roldán, 2003) y ASPT (Walley & Hawkes, 1997) en el tramo del río Bogotá evaluado. *No considerada. **Sin valor de indicación (Roldán, 2003). ***Ausente.

Phylum	Clase	Orden	Familia (Abreviatura)	08.Feb.11				29.Mar.11				11.Jul.11				01.Ago.11				29.Ago.11				26.Sep.11				Total	%	BMWP/Col.			
				A	B	C	BMWP-Col.	A	B	C	BMWP-Col.	A	B	C	BMWP-Col.	A	B	C	BMWP-Col.	A	B	C	BMWP-Col.	A	B	C							
Annelida	Oligoqueta	Haplotaxida	Tubificidae (Tub)	88	121	158	1	73	972	1267	1	85	654	540	1	2	10	19	1	426	140	829	1	266	738	506	1	6899	72,17	1	1	1	
	Hirudinea	Glossiphoniiformes	Glossiphoniidae (Glos)							1	3	2	2	7	3					6	10	3	3	3	1	3	4	41	0,43	3	3	3	
Mollusca	Bivalvia	Veneroida	Sphaeriidae (Sph)					24	1	4		3	2	9	4					5	2	2	4	1	1	9	4	71	0,74	4	4	4	
	Gastropoda	Basommatophora	Physidae (Phy)	1			3	1		2	3	3	17	26	3	3	11	3		19	5	1	3	13	8	3	3	125	1,31	3	3	3	
Arthropoda	Insecta	Diptera	Planorbidae (Pla)													2	4		5									11	0,12	5	5	***	
			Tipulidae (Tip)	1	1	6	3									3	5	3										22	0,23	3	3	3	
		Collembola	Chironomidae (Chi)	15	24	30	2	251	656	96	2	46	46	228	2	1	1	13	2	198	103	27	2	152	5	348	2	2250	23,54	2	2	2	
			Isotomidae (Iso)**	4		4																						8	0,08				
		Coleoptera	Staphylinidae (Sta)*	1																								1	0,01				
			Lampyridae (Lam)*	1																								1	0,01				
		Hemiptera	Dytiscidae (Dyt)	2	9	6	9									9	2	9										46	0,48	9	9	9	
			Halipidae (Hal)		3	7	4									1		4										19	0,20	4	4	4	
			Corixidae (Cor)	1				5			3	7					2		7					1			7	7	33	0,35	7	7	7
			Saldidae (Sal)*		1																							1	0,01				
		Odonata	Vellidae (Vel)*											1														1	0,01				
			Lestidae (Les)*									1																1	0,01				
		Crustacea	Amphipoda	Hyalellidae (Hya)									15	11	33	7	1	6	4	7	21	11	7	7	28	1			159	1,66	7	7	7
		Total individuos				113	160	211		330	1652	1370		155	733	843		21	24	54		675	271	866		464	745	872		9559	100		
BMWP-Col. total				29				20				20				41				20				27				48			48	43	
ASPT				4				3				3				5				3				4				4			4	4	4

Se puede mencionar la semejanza taxonómica y en número de familias (11-19) con varias quebradas y ríos de otras regiones de Colombia (e.g., Caicedo & Palacio, 1998; Lozano, 2005; García *et al.* 2007; Arango *et al.* 2008; Walteros & Paiba,

2010) y, en otros casos, mayor riqueza de familias (23-72) (e.g., Sánchez, 2005; Liévano & Ospina, 2007; Arango *et al.* 2008; Bustamante *et al.* 2008; Castellanos & Serrato, 2008; Montoya, 2008; Walteros & Paiba, 2010; Marín *et al.* 2011;

Tabla 2. Algunos sistemas lóticos colombianos en que se han efectuado investigaciones sobre macroinvertebrados bentónicos.

Departamento	Nombre	Tipo	Sustrato	Red/otros	Familias	BMWP/Col.	Autores
Antioquia	La Mosca	quebrada	arenoso, pedregoso, fango	Surber	16	no	Caicedo & Palacio (1998)
	La Cristalina		rocoso	D-net	27	si	Arango <i>et al.</i> (2008)
	La Risaralda				19		
	Los Andes	quebrada	sin especificación	Pantalla, triangular, deriva, manual	52	si	Montoya (2008)
	La Popala	quebrada	grava, arena, hojarasca	Surber	23	BMWP	Milán <i>et al.</i> (2011)
	Negro	río	pedras, gravas, cantos rodados, macrófitas, perifiton	D-net, pantalla, surber, manual, draga Ekman	31	si	Montoya <i>et al.</i> (2011)
Las Cimarronas	quebrada	sin especificación	pantalla, triangular, manual	62			
Bogotá	Juan Amarillo	río	sin especificación	Surber	20	si	Lozano (2005)
Caldas	La Mula	quebrada	sustratos rocosos, orillas con vegetación, sedimento fino, macrófitas, detritus	D-net, Surber	18	si	Walteros & Paiba (2010)
	El Diamante				24		
	Chinchiná				24		
Cundinamarca	Bahamón	río	sin especificación	No especifica	30	BMWP	Liévano & Ospina (2007)
Norte de Santander	El Mortiño	río	sin especificación	Surber	30	no	Castellanos & Serrato (2008)
	Pamplonita		pedregoso, arenoso, vegetación circundante	Pantalla, D-net	72	BMWP	Sánchez (2005)
Quindío	Quindío	río	rocas, arena, vegetación ribereña, troncos, hojarasca	D-net, pinzas entomológicas	38	si	Bustamante <i>et al.</i> (2008)
	Villa Paola		quebrada	sin especificación	D-net, manual	11	no
	Doña Juana	13					
	La Florida	rocoso, vegetal		manual	26	Marín <i>et al.</i> (2011)	

Milán *et al.* 2011; Montoya *et al.* 2011; García *et al.* 2012) (Tabla 2).

También existen grandes diferencias entre esas investigaciones y los resultados de este estudio, los cuales, indudablemente se relacionan con las diferentes metodologías, duración y frecuencia de los muestreos, número de sectores considerados, hábitats, tipo de sustrato y las características de cada sistema fluvial.

Aspectos físicos y químicos (Tabla 3). Las diferencias en los promedios de la mayoría de variables abióticas fueron mínimas, dada la cercanía entre los puntos, como lo soportan los CV. Las lluvias abundaron en abril-mayo de 2011, por encima de los promedios anuales de los últimos veinte años, debido al episodio moderado de La Niña 2011 (IDEAM, 2011); fueron mínimas entre junio y octubre, para

aumentar los últimos meses, conforme al régimen bimodal en el área de estudio (CAR-Cundinamarca, 2006). Estas variaciones cronológicas debieron incidir en las variables consideradas, pues las lluvias acrecientan las escorrentías, el caudal de los cuerpos lóticos y alteran la composición físico-química del agua (Wetzel, 2001); cuando son más fuertes (periodos de altas) aumentan el arrastre de sedimentos (Gaviria *et al.* 2004; CAR-Cundinamarca, 2006) y la deriva de macroinvertebrados (Rodríguez *et al.* 2007), que se restringe en periodos de bajas con la disminución de sólidos disueltos, conductividad y turbidez (García *et al.* 2007). De hecho, en el presente estudio las abundancias se incrementaron con la pluviosidad.

La transparencia (cm) varió entre 13 (septiembre) y 44 (abril), en lo que intervienen el detritus orgánico y los sólidos de procesos erosivos (APHA *et al.* 2005). Los promedios de

Tabla 3. Datos abióticos en los sectores de estudio del río Bogotá. Pre= precipitaciones, Tra= transparencia, SS= sólidos suspendidos, SD= sólidos disueltos, ST= sólidos totales, Con= conductividad, Tem= temperatura, DT= dureza total.

Sector A															
Fecha	Pre. mm	Tra. cm	SS mg/L	SD mg/L	ST mg/L	Con. μScm^{-1}	Tem. °C	pH	O ₂ mg/L	NH ₄ ⁺ mg/L	NO ₂ ⁻ mg/L	NO ₃ ⁻ mg/L	PO ₄ ³⁻ mg/L	Fe ²⁺ mg/L	DT mg/L
08.Feb.11	0,0	23,9	0,0	0,0	0,0	291,0	17,1	6,5	1,0	0,5	0,1	4,0	0,4	0,0	1,3
29.Marz.11	46,3	16,8	580,0	347,5	927,5	695,0	17,8	6,6	1,5	1,8	0,1	4,0	3,4	0,4	1,3
11.Jul.11	11,9	44,0	560,0	109,0	669,0	218,0	16,0	6,4	6,8	1,4	0,0	4,0	0,6	0,5	2,2
01.Ago.11	20,0	13,0	80,0	97,0	177,0	194,0	15,9	6,4	7,8	1,4	0,1	0,4	0,6	0,9	2,0
29.Ago.11	0,0	26,0	60,0	126,5	186,5	253,0	17,0	6,1	5,7	0,5	0,3	5,0	0,6	0,1	2,2
26.Sep.11	1,4	34,0	100,0	236,0	336,0	472,0	17,6	5,7	5,3	0,4	0,0	1,0	0,3	0,4	2,4
Promedio	13,3	26,3	230,0	152,7	382,7	353,8	16,9	6,3	4,7	1,0	0,1	3,1	1,0	0,4	1,9
CV	1,4	0,4	1,2	0,8	0,9	0,5	0,0	0,1	0,6	0,6	0,9	0,6	1,2	0,9	0,3
Sector B															
08.Feb.11	0,0	34,3	0,0	0,0	0,0	360,0	17,7	6,8	0,5	1,0	0,1	4,0	1,1	0,0	2,2
29.Marz.11	46,3	21,7	140,0	340,0	480,0	680,0	17,9	6,6	1,8	3,1	0,1	4,0	4,4	0,4	3,0
11.Jul.11	11,9	35,3	480,0	109,5	589,5	219,0	16,9	6,6	7,1	0,5	0,1	4,0	0,7	0,4	1,4
01.Ago.11	20,0	13,5	40,0	97,0	137,0	194,0	16,0	6,2	7,8	1,4	0,1	0,4	0,7	0,5	1,8
29.Ago.11	0,0	30,0	100,0	109,0	209,0	218,0	16,8	5,2	5,6	0,7	0,2	4,0	0,7	0,4	2,2
26.Sep.11	1,4	28,0	140,0	174,5	314,5	349,0	18,1	6,8	7,4	0,4	0,0	1,0	0,4	0,3	2,8
Promedio	13,5	27,1	150,0	138,3	288,3	336,7	17,2	6,4	5,0	1,2	0,1	2,9	1,3	0,3	2,2
CV	1,4	0,3	1,1	0,8	0,8	0,5	0,0	0,1	0,6	0,9	0,4	0,6	1,1	0,5	0,3
Sector C															
08.Feb.11	0,0	34,0	0,0	0,0	0,0	325,0	18,8	6,7	0,9	0,1	0,1	4,0	2,6	0,0	1,8
29.Marz.11	46,3	27,9	140,0	359,0	499,0	718,0	17,9	7,0	1,9	0,5	0,0	4,0	4,4	0,4	2,5
11.Jul.11	11,9	32,8	420,0	117,0	537,0	234,0	15,8	6,3	6,2	0,5	0,0	9,0	0,6	0,3	2,0
01.Ago.11	20,0	14,0	80,0	99,5	179,5	199,0	15,2	6,7	7,2	5,0	0,4	4,0	1,4	0,6	2,1
29.Ago.11	0,0	32,0	60,0	139,0	199,0	278,0	16,7	6,2	6,1	1,9	0,2	5,0	0,7	0,2	2,2
26.Sep.11	1,4	38,0	80,0	156,0	236,0	312,0	17,7	6,4	6,1	0,4	0,0	1,4	0,7	0,7	2,6
Promedio	13,3	29,8	130,0	145,1	275,1	344,3	17,0	6,6	4,8	1,4	0,1	4,6	1,7	0,4	2,2
CV	1,4	0,3	1,1	0,8	0,7	0,5	0,1	0,04	0,6	1,3	1,2	0,5	0,9	0,7	0,1

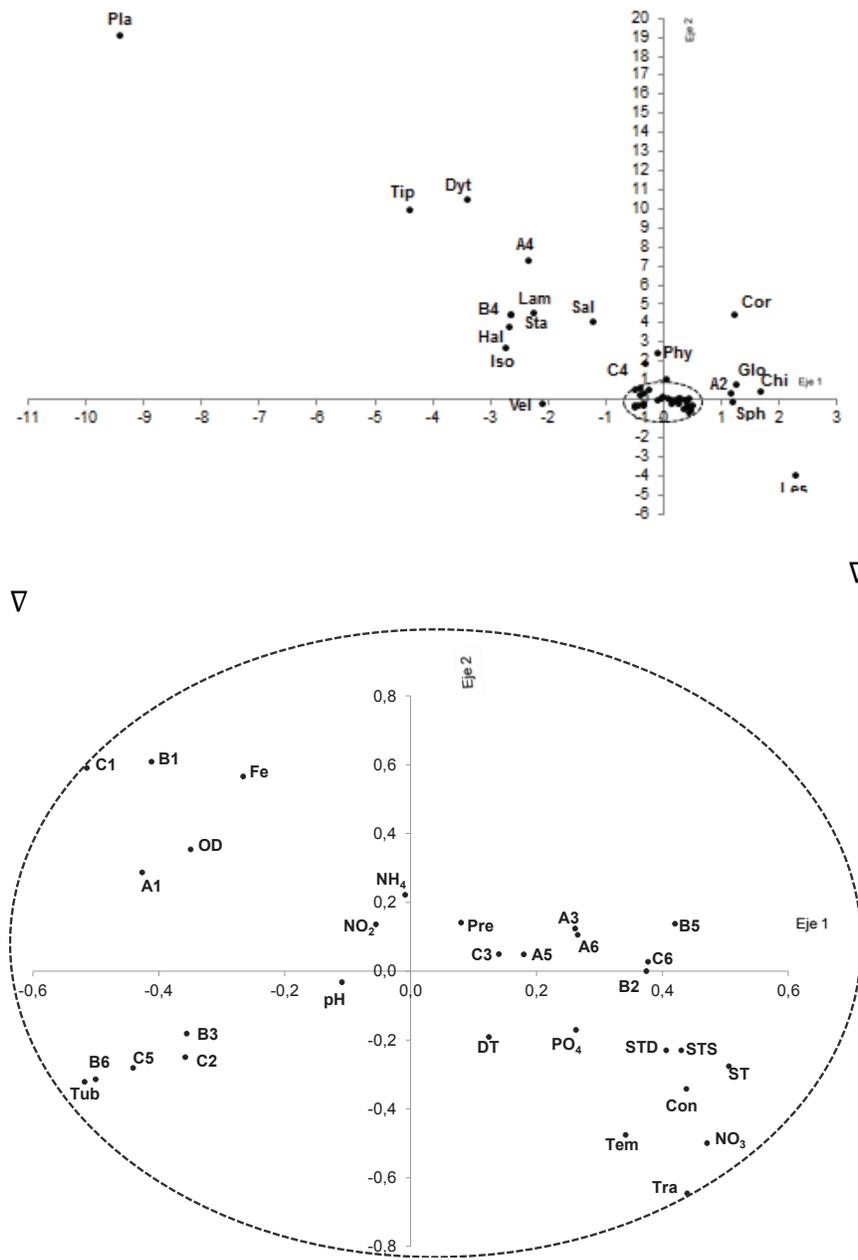


Figura 2. ACC entre los tres sectores (ABC) y las fechas de muestreo (1= 08.Feb. 2= 29.Mar. 3= 11.Jul. 4= 01.Ago. 5= 29.Ago. 6= 26.Sep.11), las variables abióticas y las familias de macroinvertebrados bentónicos.

sólidos totales (A= 382,7; B= 288,3; C= 275,1) excedieron la concentración en aguas de la región Andina (10-200mg/L) (Roldán & Ramírez, 2008), pero los de conductividad (A= 353,8; B= 33,7; C= 344,3) revelaron aguas normales ($50-350\mu\text{Scm}^{-1}$) (APHA *et al.* 2005). Estos procesos también se reflejaron en el O_2 disuelto, que disminuyó con las lluvias copiosas de marzo, lo que aumenta los procesos de descomposición y el consumo de O_2 (Riss *et al.* 2002).

Según la norma, el límite para la conservación de la biota acuática es de 4mg/L (MINAMBIENTE, 2011), inferior a los promedios en los tres sectores.

Las concentraciones de NH_4^+ (0,1 y 5,0mg/l) estarían ligadas a la actividad agrícola en la cuenca alta del río Bogotá y se consideran críticas, pues $>0,5\text{mg/L}$ puede ser mortal para la biota acuática (Wetzel, 2001). La normatividad en Colombia

(MINAMBIENTE, 2011) no da un límite para el NH_4^+ . Los registros más altos en el sector C, se explican por los desagües piscícolas y de fertilizantes agrícolas, como se ha observado en otros sistemas lóticos colombianos (e.g., Ramírez *et al.* 2004; Sánchez, 2005; García *et al.* 2007; Rodríguez *et al.* 2007; Bustamante *et al.* 2008; Walteros & Paiba, 2010). En los tres sectores, el NO_2^- promedió 0,1 mg/L, por debajo de los límites legales (1,0mg/L) (MINAMBIENTE, 2011), aunque los valores más altos también se registraron en el sector C. Los promedios de NO_3^- fueron más altos que los de otros tramos del río Bogotá (2,7mg/L) (Roldán & Ramírez, 2008), pero este es el compuesto nitrogenado menos tóxico (APHA *et al.* 2005).

Los promedios de PO_4^{3-} superaron 0,15mg/L, lo que indica contaminación alta, relacionada con químicos agrícolas ingresados al agua por escorrentía e inundaciones e implica eutrofización (enriquecimiento excesivo de nutrientes), de los sistemas acuáticos (Caicedo & Palacio, 1998).

Los promedios de pH (A: 6,3; B: 6,4; C: 6,6), se acercaron a los rangos de la mayoría de quebradas y ríos andinos (6,5-7,5) y a las normas del uso del agua: 5,0-9,0 labores domésticas, 6,5-8,5 consumo humano, 4,5-9,0 actividades

agropecuarias y sostenimiento de la flora y fauna asociadas (Roldán & Ramírez, 2008). Las aguas fueron moderadamente duras (mg/L) (A: 1,9; B: 2,2; C: 1,8) , lo que refleja las características del suelo y la naturaleza geológica de las cuencas (Wetzel, 2001; Roldán & Ramírez, 2008), mientras que el Fe^{2+} no sobrepasó 0,90mg/L, concentraciones muy bajas comparadas con los ríos Magdalena y Cauca (5-6mg/L), donde la carga de sedimentos es muy alta (Roldán & Ramírez, 2008), como en la cuenca alta del río Bogotá (Gaviria *et al.* 2004).

Perfiles limnológicos similares al obtenido en el área de estudio, reportaron Sierra *et al.* (2002), para el mismo tramo del río Bogotá y Gaviria *et al.* (2004), para el sector de Checua, también ubicado en la cuenca alta del río Bogotá.

Correlación entre variables: El ACC detectó diferencias entre sectores, pues solamente se agruparon los tres el 08.Feb.11 y el 01.Ago.11 y, parcialmente, el 11.Jul.11 (A y C) y el 29.Ago.11 (A y B), con mayores asociaciones positivas de las dos últimas fechas con las precipitaciones y negativas con la transparencia, sólidos en general, conductividad, temperatura, dureza total, NO_3^- y PO_4^{3-} (Figura 2). Las diferencias según la época de muestreo, se atribuyeron

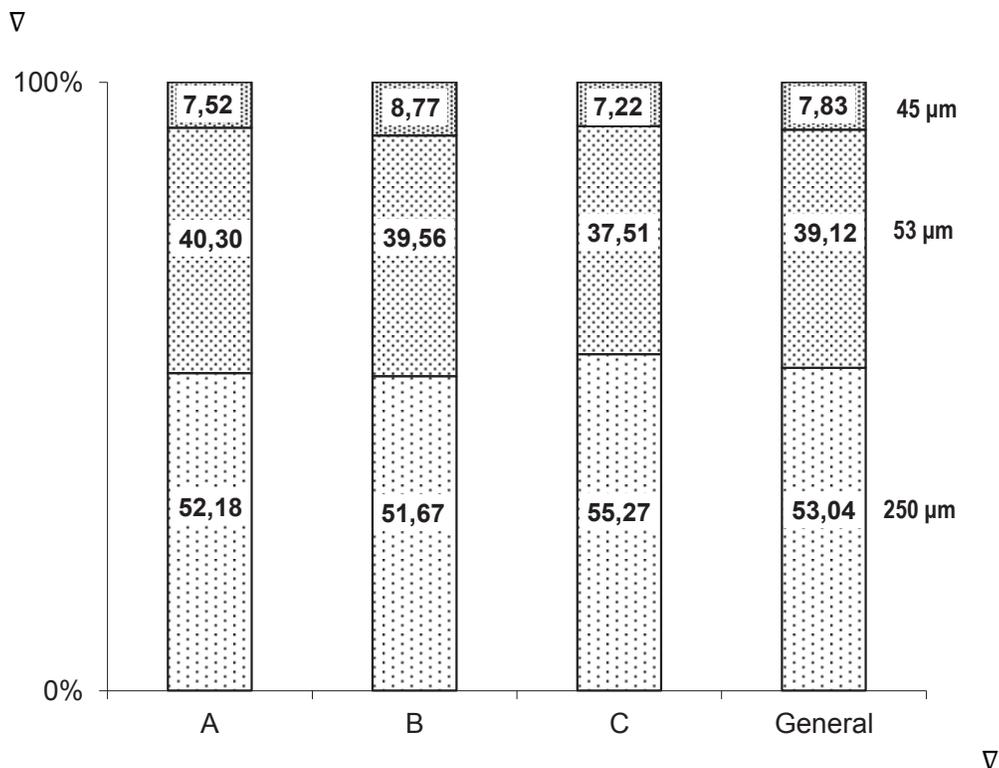


Figura 3. Composición porcentual del sustrato en los tres sectores y en general en el tramo del río Bogotá evaluado, según la escala de Wentworth (Wetzel, 2001).

a la influencia de las lluvias, que incluye procesos de mineralización (Riss *et al.* 2002) y a las entradas temporales de material alóctono, *i.e.*, vertimientos de aguas negras y con remanentes de actividades agropecuarias, comunes en la cuenca alta del río Bogotá (Sierra *et al.* 2002; CAR-Cundinamarca, 2006).

El ACC también reveló el 01.Ago.11 mayor asociación entre los tres sectores y ocho de las 17 familias identificadas, correspondiente con los valores más altos del BMWP/Col. (41) y ASPT (5), *i.e.*, el mayor grado de contaminación dentro de las fechas consideradas.

Análisis del sustrato: Se encontró homogeneidad del sustrato entre los tres sectores, donde primaron la arena fina (53,0%) y el limo (39,1%) (Figura 3), lo que obedece a su remoción constante de rocas areniscas y arcillosas en la cuenca alta del río Bogotá, lo que ocasiona una carga sedimentaria alta por la explotación minera y los arados constantes en los alrededores del río; la minería también genera impactos ecológicos, como el desplazamiento masivo y lento del suelo, al absorber gran cantidad de agua (CAR-Cundinamarca, 2006). Hay similitud con los ríos Cauca (Ramírez *et al.* 2004), Atrato y León (Álvarez & Bernal, 2007), donde predominan las arenas medias, finas y gruesas.

Conflictos de intereses. El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados. Financiación. Este estudio fue financiado por la Vicerrectoría de Investigaciones y el Laboratorio de Hidrobiología de la Universidad Militar Nueva Granada.

BIBLIOGRAFÍA

1. ÁLVAREZ, A.; BERNAL, G. 2007. Estimación del campo de transporte neto de sedimentos en el fondo de bahía Colombia con base en análisis de tendencia del tamaño de grano. Escuela de Geociencias y Medio Ambiente, Universidad Nacional de Colombia (Medellín). *Avances Rec. Hidr.* 16:41-50.
2. APHA, AWWA y WPCF. 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) and Water Environment Federation (WEF) (Washington). 1325p.
3. ARANGO, M.C.; ÁLVAREZ, L.F.; ARANGO, G.A.; TORRES, O.E.; MONSALVE, A. DE J. 2008. Las quebradas la Cristalina y la Risaralda, San Luis, Antioquia. *Rev. EIA.* 9:121-141.
4. ARMITAGE, P.D.; MOSS, D.; WRIGHT, J.F.; FURSE, M.T. 1983. The performance of a new biological water quality score based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running-water sites. *Wat. Res.* 17:333-347.
5. BUSTAMANTE, C.A.; MONSALVE, E.; GARCÍA, P.L. 2008. Análisis de la calidad del agua en la cuenca media del río Quindío con base en índices físicos, químicos y biológicos. *Rev. Invest. U. Quindío.* 18:22-31.
6. CAICEDO, O.; PALACIO, J. 1998. Los macroinvertebrados bentónicos y la contaminación orgánica en la quebrada la Mosca (Guarne Antioquia, Colombia). *Act. Biol.* 20(69):61-73.
7. CAR-Cundinamarca. 2006. Plan de ordenación y manejo de la cuenca hidrográfica del río Bogotá. Resumen ejecutivo. Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca (CAR) (Bogotá, D. C.). 104p.
8. CASTELLANOS, P.M.; SERRATO, C. 2008. Diversidad de macroinvertebrados acuáticos en un nacimiento de río en el páramo de Santurbán, Norte de Santander. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 32(122):79-86.
9. GARCÍA, C.; ROMÁN, C.; VANEGAS, J.; ARCILA, D. 2007. Análisis fisicoquímico y biológico comparado en dos quebradas de alta montaña neotropical. *Rev. Invest. U. Quindío.* 17:57-80.
10. GARCÍA, J.; CARMONA, J.C.; MONTOYA, Y. 2012. Caracterización de la calidad del agua de la parte alta de la microcuenca de la quebrada La Cimarronas, El Carmen de Viboral (Antioquia), utilizando macroinvertebrados acuáticos. *Inv. Biodiv. y Des.* 31(1):5-18.
11. GAVIRIA, S.; HERNÁNDEZ, O.; VARGAS, O. 2004. Relación entre procesos de erosión y geoquímica de sedimentos y suelos de Checua, cuenca alta del río Bogotá. *Rev. Acad. Col. Cienc.* 28(109):497-508.
12. GOITIA, E.; BUSTAMANTE, M. 2009. Patrones espaciales de los macroinvertebrados bentónicos en la región de Yungas de Cochabamba (Bolivia). *Rev. Bol. Ecol. y Cos. Amb.* 26:25-43.
13. IDEAM. 2011. Boletín informativo sobre el Monitoreo del Fenómeno de "LA NIÑA", Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM). 32:1-6.

14. JACOBSEN, D. 2003. Altitudinal changes in diversity of macroinvertebrates from small streams in the Ecuadorian Andes. *Arch. Hydrobiol.* 158(2):145-167.
15. JONES, N.E. 2011. Benthic sampling in natural and regulated rivers. *Sampling methodologies for Ontario's flowing waters.* Ontario Ministry of Natural Resources, Aquatic Research and Development Section, River and Stream Ecology Lab, Aquatic Research Series 2011-05, Ontario. 16p.
16. LIÉVANO, A.; OSPINA, R. 2007. Guía ilustrada de los macroinvertebrados acuáticos del río Bahamón. Bogotá D.C. Universidad El Bosque e Instituto Alexander Von Humbolt. Bogotá, D. C. 130p.
17. LOZANO, L.O. 2005. La bioindicación de la calidad del agua: Importancia de los macroinvertebrados en la cuenca alta del Río Juan Amarillo, Cerros Orientales de Bogotá. *Umb. Cient.* 7:5-11.
18. MARÍN, N.C.; CORREDOR, N.V.; BUSTAMANTE, C.A. 2011. Aspectos ecológicos de comunidades bénticas de un sistema fluvial andino, Armenia-Quindío, Colombia. *Rev. Invest. Univ. Quindío.* (22):58-69.
19. MERRIT, R.; CUMMINS, K. 1984. An introduction to the aquatic insects of North America. Kendall/Hall Publishing Company (Dubuque, Iowa). 722p.
20. MILÁN, W.Y.; CAICEDO, V.O.; AGUIRRE N.J. 2011. Quebrada La Popala: un análisis de calidad del agua desde algunas variables fisicoquímicas. *Gest. y Amb.* 14(1):85-94.
21. MINAMBIENTE. 2011. Guía metodológica de trámites para el control de los vertimientos en los cuerpos de agua superficiales, al suelo asociado a un acuífero y al medio marino, en función de los trámites y procedimientos requeridos para la obtención de los permisos de vertimientos. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible (MINAMBIENTE). Dirección Gestión Integral del Recurso Hídrico. Bogotá, D. C. 54p.
22. MIGNAI, R.; NESSIMIAN, J.; FERNANDEZ, D. 2010. Manual de identificação de Macroinvertebrados aquáticos do Estado do Rio de Janeiro. Technical Books Ed. (Rio de Janeiro). 176p.
23. MONTOYA, Y.M. 2008. Caracterización de la biodiversidad acuática y de la calidad de las aguas de la quebrada Los Andes, El Carmen de Viboral, Antioquia. *Inv., Biodiv. Des.* 27(1):85-91.
24. MONTOYA, Y.; ACOSTA, Y.; ZULUAGA, E. 2011. Evolución de la calidad del agua en el río Negro y sus principales tributarios empleando como indicadores los índices ICA, el BMWP/COL y el ASPT. *Caldasía.* 33(1):193-210.
25. OYAGÜE, E. 2009. Discusión sobre el número de unidades muestrales y tamaño de unidad muestral para la estimación de valores de densidad de macroinvertebrados bentónicos en ambientes lóticos. *Ecol. Apl.* 8(1-2):61-70.
26. RAMÍREZ, C.; GARCÍA, J.; RAMÍREZ, O.; BOCANEGRA, R. 2004. Caracterización de los materiales del lecho del río Cauca. Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle. *Ing. Rec. Nat. Amb.* 1(1):10-17.
27. RISS, W.; OSPINA, R.; GUTIÉRREZ, J. 2002. Establecimiento de valores de bioindicación para los macroinvertebrados acuáticos de la Sabana de Bogotá. *Caldasía.* 24(1):135-156.
28. RODRÍGUEZ, J.; OSPINA, R.; GUTIÉRREZ, J.; OVALLE, H. 2007. Densidad y biomasa de macroinvertebrados acuáticos derivantes en una quebrada tropical de montaña (Bogotá, Colombia). *Caldasía.* 29(2):397-412.
29. ROLDÁN, G. 1996. Guía para el estudio de los macroinvertebrados acuáticos del departamento de Antioquia. FEN Colombia. COLCIENCIAS-IDEA (Medellín). 217p.
30. ROLDÁN, G. 2003. Bioindicación de la calidad del agua en Colombia. propuesta para el uso del método BMWP/Col. Ed. Universidad de Antioquia (Medellín). 170p.
31. ROLDÁN, G.; RAMÍREZ, J. 2008. Fundamentos de limnología neotropical. Ed. Universidad de Antioquia (Medellín). 440p.
32. SÁNCHEZ, M. 2005. El índice biológico BMWP (Biological Monitoring Working Party Score), modificado y adaptado al cauce principal del río Pamplonita Norte de Santander. *Bistua.* (2):54-67.
33. SIERRA, J.; JAIME, A.; MORA, A. 2002. Monitoreo de parámetros físico-químicos, en la cuenca alta del río Bogotá. *Rev. Cienc. Ing. Neogran.* 12:23-30.

-
34. WALLEY, W. J.; HAWKES H. A. 1997. A Computer based development of the biological monitoring working party score system incorporating abundance rating, site type and indicator value. *Wat. Res.* 31(2):201-210.
35. WALTEROS, J.M.; PAIBA, J.E. 2010. Estudio preliminar de la comunidad de macroinvertebrados acuáticos en la Reserva Forestal Torre Cuatro. *Bol. Cient. Mus. Hist. Nat.* 14(1):137-149.
36. WETZEL, R.G. 2001. *Limnology. Lake and river ecosystems.* Academic Press (San Diego). 1006p.
- Recibido: Septiembre 14 de 2012
Aceptado: Febrero 21 de 2013

EVALUACIÓN COMPARATIVA DEL RENDIMIENTO EN LA OBTENCIÓN DE ALCALOIDES TOTALES PARA LOS FRUTOS VERDES Y ROJOS DE *Solanum pseudocapsicum* L.

COMPARATIVE EVALUATION OF TOTAL ALKALOIDS YIELD FOR GREEN AND RED FRUITS OF *Solanum pseudocapsicum* L.

Luis F. Mejía¹; Rigoberto Gómez²

¹Químico Industrial, Departamento de Química, Universidad de Los Andes, Carrera 1 N° 18 A 12, Bogotá, Colombia, lmejia@uniandes.edu.co; ²Químico, Departamento de Química, Universidad de Los Andes, Carrera 1 N° 18 A 12, Bogotá, Colombia, rgomez@uniandes.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 215 - 222, 2013

RESUMEN

La especie vegetal *Solanum pseudocapsicum* L. (Solanaceae), conocida comúnmente como "mirto", es una potencial fuente de estructuras funcionalizadas, que pueden ser empleadas en la obtención de fármacos esteroidales. En Colombia, no se han reportado estudios fitoquímicos de esta especie vegetal, que crece de forma silvestre en algunas regiones de nuestra geografía y, más aún, queda mucho por estudiar en cuanto al contenido de metabolitos secundarios, provenientes de esta planta. Tomando como base un método de extracción de carácter exploratorio, anteriormente evaluado para el género *Solanum*, se extrajeron de los frutos verdes y rojos de *S. pseudocapsicum* L. glicoalcaloides totales. Con el método utilizado, se obtuvo un rendimiento de 7,94g y 2,48g de glicoalcaloides totales por kg de fruto fresco para los frutos verdes y para los frutos rojos, respectivamente. El rendimiento obtenido es mayor al reportado en la India por Vijayan y colaboradores para esta especie vegetal. El precipitado obtenido de los frutos verdes fue hidrolizado y se pudo llegar a proponer la O-metilsolanocapsina, estructura dihidroderivada de la solanocapsina, como uno de los compuestos presentes.

Palabras clave: Mirto; glicoalcaloides; solanocapsina.

SUMMARY

The species *Solanum pseudocapsicum* L. known commonly in Colombia, as "mirto" is a potential source of highly

functionalized structures that could be used as precursors of steroidal medicines. To the best of our knowledge phytochemical studies on this species have not yet been reported. Based on a previously described extraction method total glycoalkaloids from green and red fruits of *S. pseudocapsicum* L. were extracted. This method showed to be useful and 7.94g and 2.48g of glycoalkaloids per kg of fresh fruit in green and red fruits, respectively, were obtained. After hydrolysis of the initial precipitate, O-methyl solanocapsine, a structure derived from solanocapsine has been proposed as one of the components present in the extracts.

Key words: Myrthe; glycoalkaloids; solanocapsine.

INTRODUCCIÓN

Uno de los procesos químicos de mayor relevancia en la industria farmacéutica es la obtención de medicamentos con estructuras esteroidales, como hormonas sexuales y corticosteroides, que cumplen funciones de vital importancia en procesos metabólicos del hombre y los animales. Algunos de estos derivados son utilizados en tratamientos de desórdenes hormonales, metabólicos o como anticonceptivos orales, además se ha estudiado ampliamente la actividad de estas sustancias, como agentes anti-inflamatorios, diuréticos, anti-oxidantes, anti-virales, anti-microbianos y anti-tumorales (Usubillaga *et al.* 1997; Vijayan *et al.* 2002; 2004; Aliero *et al.* 2006; Dongre *et al.* 2007; Lien *et al.* 2012). Por tal motivo, se realizan constantes

esfuerzos para descubrir nuevas fuentes de obtención de estructuras esteroideas básicas. Las especies del género *Solanum* son un recurso natural rico en alcaloides esteroideas, flavonoides y sus glicosidos, de los cuales, se ha sabido que poseen variada actividad biológica (Cornelius *et al.* 2010). A pesar que la literatura también reporta un amplio rango de variación en el contenido de glicoalcaloides de diferentes especies del género *Solanum*, muy pocos estudios reportan datos cuantitativos del contenido total de glicoalcaloides (Sanchez-Mata *et al.* 2010). La especie vegetal *Solanum pseudocapsicum* L. (Solanaceae), llamada popularmente en diferentes regiones de Colombia como "Mirto", "Grano de Oro", "Tomáticos" o "Espanta Pulgas" (Pérez-Arbeláez, 1996), se cultiva en viveros como planta ornamental o crece de forma silvestre en algunas regiones de Colombia. De acuerdo con Aliero *et al.* (2005) es un recurso útil y susceptible de ser usado en la obtención de estructuras esteroideas, que pueden ser modificadas químicamente para obtener fármacos o medicamentos y, según Jeyasankar *et al.* (2012), para la obtención de extractos que han mostrado cierta actividad biológica en larvas de insectos, lo cual, los hace potencialmente útiles en el control de plagas en agricultura, como plaguicidas naturales que, probablemente llegarían a reemplazar los pesticidas sintéticos, siendo un método netamente natural, no causaría ningún tipo de contaminación y sería completamente amigable con el medio ambiente.

La planta es un pequeño arbusto bien ramificado de tallos rectos y leñosos, con hojas alternas, sin estípulas, lanceoladas, con base atenuada. Las flores son pequeñas con cáliz persistente y solitarias, con segmentos agudos de pétalos blancos y estambres amarillos insertos en el tubo de la corola, nacen opuestas a las hojas. La planta se destaca por sus frutos en forma de baya globosa, con exocarpio liso de un color rojizo brillante o naranja rojizo de tonalidad más clara (García, 1975; Aliero *et al.* 2005). La morfología anatómica de las hojas, los tallos y los frutos maduros de esta especie vegetal, ha sido también investigada por métodos histológicos (Sanghvi *et al.* 2011).

Los alcaloides presentes en diferentes partes del arbusto de *S. pseudocapsicum* L. están representados, principalmente, por la solanocapsina, molécula esteroidea hexacíclica, con dos átomos de nitrógeno, uno de ellos extracíclico (Bruneton, 2001). Estudios realizados sobre plantas medicinales de la India han reportado en esta especie vegetal la presencia de una mezcla de esteroisómeros del 3-amino-16,23-dihidroxi-22,26-epimino colestano íntimamente asociados con la solanocapsina (Chakravarty *et al.* 1984; Dongre *et al.* 2007); en Sur África, se identificaron 41 compuestos volátiles, entre los que se destacan ácidos grasos, terpenoides y aldehídos, que fueron obtenidos por hidrodestilación (Aliero *et al.* 2007) y otros 25 tipos de compuestos diferentes, entre los que

predominan hidrocarburos, alcoholes y derivados de ácidos carboxílicos, entre otros (Aliero *et al.* 2005). De otra parte, usando como disolvente una mezcla 1:1 metanol-agua y empleando un equipo Soxhlet, se extrajeron alcaloides totales en los frutos verdes de *S. pseudocapsicum*, con un rendimiento de 0,533% (Vijayan *et al.* 2002) y 0,023%, en frutos maduros (Vijayan *et al.* 2004). Varios alcaloides esteroideas, entre los que se incluyen solanocapsina, solacasina, solacapina, episolacapina, isosolacapina y O-metil-isosolanocapsina, han sido aislados de hojas, de frutos maduros, de tallos y de raíces de esta especie vegetal (Vijayan *et al.* 2004; Aliero *et al.* 2007; Dongre *et al.* 2007).

El presente estudio se realizó con el objetivo de determinar los alcaloides totales de la pulpa y de las semillas de los frutos verdes y rojos de *S. pseudocapsicum* L., iniciando así, a nivel exploratorio, las caracterizaciones de los metabolitos secundarios de esta especie vegetal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los alcaloides totales de la pulpa y de las semillas de los frutos verdes y rojos de *S. pseudocapsicum* L., se extrajeron teniendo como base un método de extracción, evaluado anteriormente con otras especies vegetales del género *Solanum* (Moreira *et al.* 1980), los cuales, fueron caracterizados mediante pruebas fitoquímicas clásicas, como Dragendorff y Wagner, específicas para alcaloides; los ensayos de Liebermann-Burchard y Salkowski, para soportar la presencia de estructuras esteroideas glicosídicas; la reacción de Felhing, para glucósidos (Bilbao, 1997) y, finalmente, la reacción de espuma, para saponinas y sapogeninas (Domínguez, 1979).

Los espectros UV-VIS de los precipitados fueron disueltos en etanol anhidro y registrado en un espectrofotómetro Marca Thermo Spectronic Modelo Genesys 2. Los espectros IR preparados en pastillas de KBr fueron obtenidos en un espectrofotómetro con transformada de Fourier Thermo-Nicolet Modelo NEXUS FT-IR. Los perfiles cromatográficos y los espectros de masas, se registraron con un cromatógrafo de gases, acoplado a detector selectivo de masas SHIMADZU Modelo GC-MS QP2010 S, con muestreador e inyector automático AOC 20i y fueron ensayados 4 tipos de columnas capilares diferentes: HP-5 (Crosslinked 5% PH ME Siloxano) 30m x 0,32 I.D. x 0,25 μ m df.; SHR5XLB SHIMADZU 30m x 0,25mm I.D. x 0,25 μ m df.; HP-20M (Carbowax 20M) 25m x 0,2mm I.D. x 0,2 μ m df., y HP-1701 (14% CNPRPH ME Siloxano) 30m x 0,32mm I.D. x 0.25 μ m df., para encontrar experimentalmente la mejor elución de los compuestos.

Material Vegetal: Se colectaron aleatoriamente frutos globosos sanos de *S. pseudocapsicum* L. de color verde y de color rojo, en tamaños aproximadamente iguales de diferentes arbustos

y fueron caracterizados, siguiendo la metodología AOAC 7.003/84,930.15/90, adaptado para % de sustancias volátiles y la metodología AOAC 7.009/84,942.05/90, adaptado para % de cenizas (Bernal, 1998). El lugar de recolección fue el departamento de Cundinamarca (Colombia), inmediaciones de la laguna de Fúquene, hacia el municipio de Susa, a una altura comprendida entre 2300 y 2400 msnm., ubicado en las coordenadas 5°27' de latitud norte y 73°49' de longitud oeste, con una temperatura media anual cercana a los 14°C, piso térmico frío. Un espécimen del material vegetal recolectado fue taxonómicamente identificado, autenticado y certificado en el Herbario Nacional Colombiano de la Universidad Nacional de Bogotá, quedando una muestra testigo, bajo el código 509380.

Preparación del material vegetal: Se retiraron las impurezas de los frutos lavándolos con suficiente agua potable; luego, fueron separadas manualmente las semillas de la pulpa, para enseguida secarlos en horno de convección con circulación de aire constante, a una temperatura de 50°C, por un periodo de 96 horas. Posteriormente, se redujo el tamaño de partícula en un molino eléctrico, cuidando de no someter el material vegetal a sobrecalentamiento que pudiera degradar los compuestos y, a continuación, se tamizó a través de una malla No. 18. Así se obtuvieron muestras homogéneas, finamente divididas en tamaños de partícula $\leq 1,0\text{mm}$, las cuales, se conservaron en recipientes de polipropileno cerrados, al abrigo de la humedad y la luz.

Extracción: 25g de cada material vegetal preparado fue desengrasado durante 6h en equipo Soxhlet, usando como disolvente éter etílico (160mL); seguidamente, los compuestos polares fueron extraídos por reflujo continuo durante 20h, con una solución etanólica de ácido acético al 10% (150mL), produciendo extractos etanólicos crudos (EEC) que, al ser concentrados, permitieron obtener una pasta semisólida en un evaporador rotatorio, a una presión de 26mbar. Se redisolvió en 150mL de una solución acuosa de ácido acético al 10%, calentando a 70°C, durante 30min; después de filtrar al vacío, los líquidos obtenidos se calentaron de nuevo a 70°C y, posteriormente, con una solución de hidróxido de amonio al 28%, se indujo la precipitación de los glicoalcaloides totales a pH 9,0 - 9,2, obteniendo una masa sólida de color ligeramente amarillo; ésta fue filtrada

con una membrana de 0,45 μm , se secó y se pesó, para ser comparado con el porcentaje descrito en la literatura, para esta especie vegetal (Vijayan *et al.* 2004; 2002).

Precipitados obtenidos: Cada uno de los precipitados obtenidos de los extractos de las fracciones vegetales de pulpa y de semillas: pulpa de fruto rojo seco molido (PFRSM), semilla de fruto rojo seco molido (SFRSM), pulpa de fruto verde seco molido (PFVSM) y semilla de fruto verde seco molido (SFVSM) fueron evaluados cualitativamente con ensayos químicos clásicos específicos para alcaloides esteroidales y, posteriormente, fueron analizados mediante técnicas físicas e instrumentales, como espectrofotometría ultravioleta visible (UV-VIS) e infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR).

A la mezcla de glicoalcaloides obtenidos de las semillas del fruto verde se les realizó una hidrólisis por reflujo continuo a 70°C, con una solución de HCl al 7% en etanol, durante 4h, precipitando lentamente con hidróxido de amonio concentrado, extrayendo luego con porciones de 5mL de diclorometano, separando las fases por centrifugación a 2000rpm y recuperando la fase medianamente polar. A la mezcla de alcaloides obtenida, se le aplicó un perfil de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Los resultados experimentales de cuantificación gravimétrica permitieron comparar el contenido total de alcaloides del fruto rojo contra el fruto verde y contrastar el rendimiento contra el reportado en la literatura (Vijayan *et al.* 2004; 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1, se puede observar que el fruto verde presentó mayor porcentaje de residuo seco y de materia orgánica, condición que podría ser deseable para este estado vegetativo de los frutos de *Solanum pseudocapsicum* L. en el proceso de extracción de diferentes tipos de metabolitos, favorecido, además, por las condiciones bioecológicas del lugar de recolección de los frutos.

Usando método de reflujo continuo con etanol acidulado, previo tratamiento de desengrase con éter etílico en Soxhlet, se obtuvieron 12 extractos crudos: tres procedentes de

Tabla 1. Resultados del análisis próximo básico, que caracterizan los frutos recolectados.

PARÁMETRO	FRUTO ROJO	FRUTO VERDE
Sustancias Volátiles a 105°C (%)	83,91	78,55
Cenizas (%)	2,24	2,89
Residuo Seco (%)	16,09	21,45
Materia Orgánica (%)	13,85	18,56

semillas de fruto rojo, tres de semillas de fruto verde, tres de pulpas de fruto rojo y tres de pulpas de fruto verde de *S. pseudocapsicum* L., a los cuales, se le practicaron las pruebas de reconocimiento fitoquímicas cualitativas de Dragendorff, Wagner, Lieberman Burchard, Salkowski, la prueba de la espuma y la reacción de Fehling. Estas pruebas evidenciaron la presencia de glicoalcaloides esteroidales. De los extractos mencionados anteriormente, se obtuvieron precipitados que se caracterizaron cualitativamente y como se puede observar en la tabla 2, el análisis gravimétrico muestra que la mayor cantidad de glicoalcaloides totales en base seca se obtuvo, principalmente del fruto verde, donde se logró establecer que el rendimiento de alcaloides totales obtenido en el fruto fresco fue de 0,794%, para frutos verdes y 0,248%, para los frutos rojos, es decir, que de los frutos verdes se obtuvieron 7,94g de glicoalcaloides totales por kg, de fruto fresco y 2,48g de glicoalcaloides totales por kg de fruto fresco, en el fruto rojo. Comparando entonces el resultado obtenido entre las fracciones vegetales es en las semillas de fruto verde, donde se halló la mayor concentración de alcaloides totales, que puede ser un indicativo que, en el estado vegetativo de los frutos rojos, se da una transformación o degradación de estos compuestos endógenos a otros metabolitos secundarios, que sería interesante estudiar. De otra parte, el resultado obtenido experimentalmente es mayor al reportado en la literatura para esta especie vegetal (Vijayan *et al.* 2004; 2002), que podría suponer una variación intraespecífica en esta especie vegetal. El método de extracción propuesto por Moreira (Moreira *et al.* 1980) había presentado ventajas significativas respecto al rendimiento de alcaloides totales obtenido, contra otros solventes y técnicas por él ensayadas en otras especies vegetales, siendo la extracción con etanol acidulado la principal diferencia frente al método usado por Vijayan *et al.* 2002).

Las bandas de máxima absorción observadas en el UV-VIS, para cada uno de los precipitados obtenidos, disueltos en metanol fueron respectivamente:

- PSFVSM: 210, 243, 285 y 312nm
- PSFRSM: 204, 285 y 318nm
- PFVSM: 204, 234, 285 y 315nm
- PFRSM: 204, 228, 285 y 318nm

Tabla 2. Resultados del rendimiento de glicoalcaloides totales obtenido para los extractos etanólicos crudos de cada fracción vegetal evaluada.

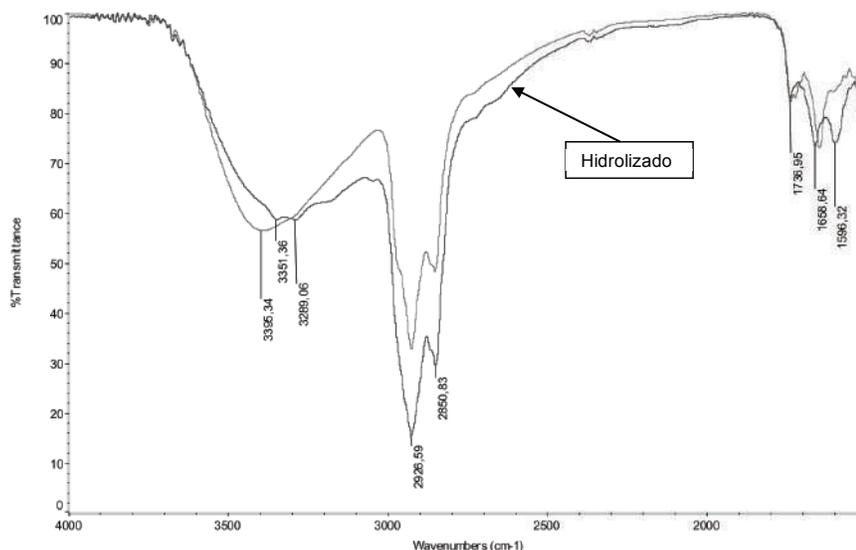
Estado del Fruto	GLICOALCALOIDES TOTALES (%)		
	Fracción Vegetal		SEMILLA + PULPA
	SEMILLA	PULPA	
FRUTO ROJO	1,28 ± 0,13	0,52 ± 0,19	1,79 ± 0,08
FRUTO VERDE	3,23 ± 0,11	1,05 ± 0,23	4,28 ± 0,27

Las bandas de absorción exhibidas en el UV-VIS hacia 204nm, 210nm, cercanas a 245nm y 310nm, así como la resolución de bandas típicas en el infrarrojo hacia 3400cm^{-1} , 1600cm^{-1} de grupos (C=N) y 1660cm^{-1} y sumado a las pruebas fitoquímicas cualitativas, es evidencia típica de alcaloides esteroidales en los extractos obtenidos (Chakravarty *et al.* 1984; Domínguez, 1979).

El precipitado proveniente de los EEC de las semillas de fruto verde fue el que mostró mayor contenido de glicoalcaloides totales, por ello fue hidrolizado y posteriormente analizado con diferentes pruebas fitoquímicas cualitativas específicas y análisis instrumentales, como espectroscopía UV-VIS, FT-IR y cromatografía de gases, acoplada a espectrometría de masas GC-MS (Aliero *et al.* 2005;. 2006; Badami *et al.* 2005; Cipollini & Levey 1997; Coelho *et al.* 1988; Eltayer *et al.* 1997; Jain & Sharma, 1977; Laurila *et al.* 1999; Weissenberg, 2001).

Las pruebas fitoquímicas cualitativas realizadas revelaron claramente la presencia de compuestos esteroidales en el precipitado obtenido de la hidrólisis, que dieron verdaderamente positivas las pruebas de Liebermann Burchard y Salkowski y para compuestos alcaloídicos, los ensayos de Dragendorff y Wagner (Bilbao, 1997). Se deja en evidencia la presencia de núcleos espiroestánicos o furoestánicos, al dar positiva la prueba de la formación de espuma (Domínguez, 1979), se descarta la presencia de grupos glucosídicos al revelar una respuesta negativa el ensayo de Fehling, lo que indica que la hidrólisis fue exitosa y total. Al analizar por espectroscopía UV-VIS una fracción del compuesto hidrolizado disuelto en etanol, mostró definitivamente absorciones máximas en 207 y 258nm; con base en lo anterior, se puede concluir que las absorciones mostradas del compuesto hidrolizado soportan la presencia de compuestos alcaloídicos esteroidales (Chakravarty *et al.* 1984; Domínguez, 1979).

El espectro de infrarrojo del producto hidrolizado, superpuesto con el espectro IR del precipitado de partida (Gráfica 1), pone de manifiesto que después del proceso de hidrólisis se observan bandas de mejor resolución hacia

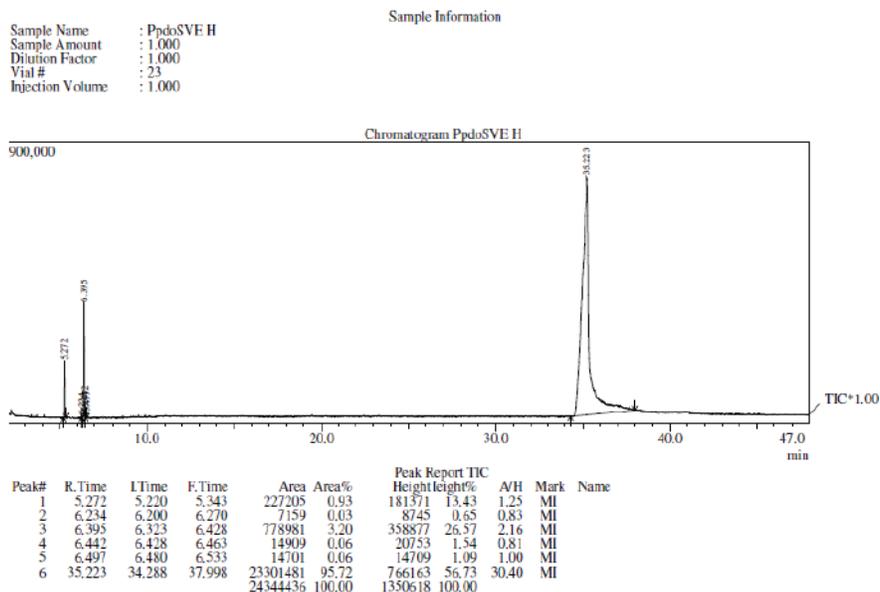


Gráfica 1. Espectro FT-IR comparativo entre el precipitado obtenido del extracto etanólico crudo de las semillas del fruto verde seco y molido y su fracción hidrolizada.

3400cm⁻¹, 1600cm⁻¹ de grupos (C=N) y 1660cm⁻¹, típicas de un alcaloide esteroidal obtenido de extractos alcohólicos de *S. pseudocapsicum* (Mitscher *et al.* 1976; Coll *et al.* 1984).

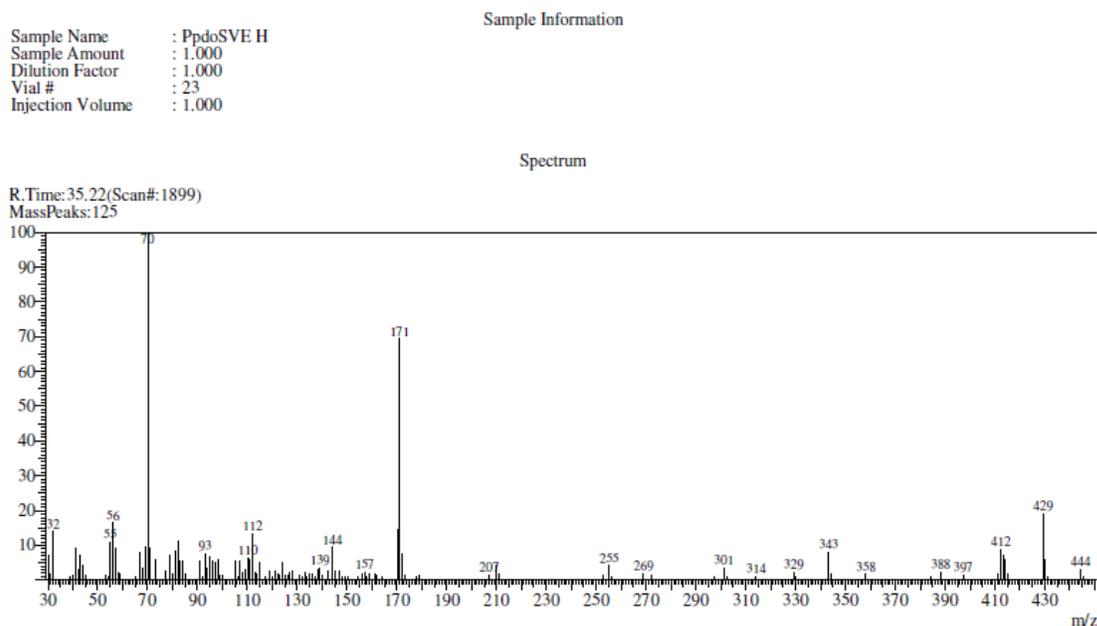
No se obtuvieron resultados satisfactorios ensayando las columnas capilares: HP-5; SHR5XLB y HP-20M, ya que no mostraron elución de compuestos que proporcionaran información representativa que confirmaran la presencia de estructuras esteroidales. El mejor resultado cromatográfico (Gráfica 2), se obtuvo para el precipitado hidrolizado de las

semillas verdes usando la columna capilar HP-1701 (14% CNPRPH Me Siloxano) 30m x 0,32mm I.D. x 0,25µm df., en las siguientes condiciones: temperatura del inyector 27°C, relación split 10:1, gas de arrastre helio, control de flujo velocidad lineal 46,5cm/s, flujo en la columna 1,5mL/min, temperatura inicial en el horno 150°C, velocidad de calentamiento 15°C/min, temperatura final 270°C durante 40 min, temperatura de la Interfase 270°C, temperatura de la fuente de iones 240°C, voltaje de ionización: 70V, corriente de emisión: 35µA, voltaje del detector: 0,89kV.



Gráfica 2. Perfil cromatográfico del precipitado hidrolizado, obtenido de las semillas del fruto verde seco y molido.

El espectro de masas de la señal que aparece para el tiempo de retención (Tr) de 35,22min (Gráfica 3) mostró que varios de los posibles fragmentos de la muestra hidrolizada, entre ellos m/z 70, m/z 112, m/z 171, m/z 144, m/z 255, m/z 301, m/z 314 y m/z 329, coinciden con señales típicas m/z de núcleos esteroidales. Con base en las estructuras amino



Gráfica 3. Espectro de masas obtenido en el tiempo de retención 35,22 min. del precipitado hidrolizado, obtenido de las semillas del fruto verde seco y molido.

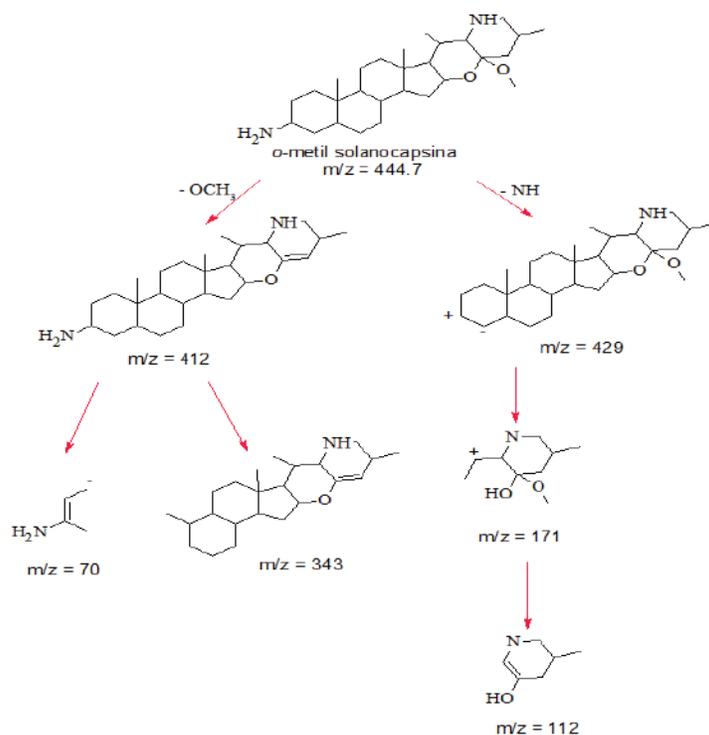


Figura 1. Fragmentos MS-IE propuestos para el tiempo de retención 35,22min.

espirosolanas, estudiadas por Chakravarty *et. al* (1984), se propone para el perfil de masas, obtenido en Tr 35,22 min, el rompimiento, mostrado en la figura 1, que corresponde a la estructura de la solanocapsina, posiblemente la O-metil solanocapsina, donde el grupo metil esta unido por un oxígeno al carbono 22 y es similar a la estructura reportada por Dongre *et al.* (2007); así mismo, Coll *et al.* (1984) reportan, para esta estructura, los fragmentos m/z 171, m/z 112 y m/z 70, derivados del rompimiento de los anillos E/F de la estructura esteroideal, similar a los fragmentos observados por Mitscher (Mitscher *et al.* 1976), en su orden m/z 444, m/z 429, m/z 412, m/z 343, m/z 171, m/z 144, m/z 139, m/z 112, m/z 111, m/z 82, m/z 70 y m/z 56, coherente con los fragmentos de masa obtenidos en este trabajo, para el precipitado hidrolizado de la semilla del fruto verde.

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

Financiación: Este estudio se desarrolló con el apoyo logístico del Departamento de Química de la Universidad de Los Andes y la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A.

BIBLIOGRAFÍA

- ALIERO, A.A.; ASEKUN, O.T.; GRIERSON, D.S.; AFOLAYAN, A.J. 2007. Volatile components from the roots of *Solanum pseudocapsicum*. J. Med. Food (Estados Unidos). 10(3):557-558.
- ALIERO, A.A.; ASEKUN, O.T.; GRIERSON, D.S.; AFOLAYAN, A.J. 2006. Chemical composition of the hexane extract from the leaves of *Solanum pseudocapsicum*. Asian J. Plant. Sci. 5(6):1054-1056.
- ALIERO, A.A.; GRIERSON, D.S.; AFOLAYAN, A.J. 2005. Chemical and nutrient characterization of *Solanum pseudocapsicum* berries. Afr. J. Biotechnol. (Kenia). 4(11):1300-1303.
- BADAMI, S.; PRAKASH, O.; DONGRE, S.H.; SURESH, B. 2005. In vitro antioxidant properties of *Solanum pseudocapsicum* leaf extracts. India J. Pharmacol. (India). 37(4):251-252.
- BERNAL, I. 1998. Análisis de alimentos. Ed. Guadalupe. (Colombia). 313p.
- BILBAO, M. 1997. Análisis fitoquímico preliminar: química de productos naturales. Ed. Oficina Publicaciones U. del Quindío (Colombia). 187p.
- BRUNETON, J. 2001. Plantas tóxicas: vegetales peligrosos para el hombre y los animales. Ed. Acribia. (España). 472p.
- CHAKRAVARTY, A.K.; DAS, B.; ALI, E.; PAKRASHI, S.C. 1984. Studies on indian medicinal plants. Part 77. Structure and stereochemistry of some new steroidal alkaloids from and *Solanum giganteum* by nuclear magnetic resonance spectroscopy. J. Chemical Soc., Perkin Trans. 1 (Reino Unido). 1:467-474.
- CIPOLLINI, M.L.; LEVEY, D. 1997. Antifungal activity of *Solanum* fruit glycoalkaloids: implications for frugivory and seed dispersal. Ecology (Estados Unidos). 98(3):799-809.
- COELHO, R.M.; DE SOUZA, M.C.; SARRAGIOTTO, M.H. 1988. Steroidal alkaloid glycosides from *Solanum orbignianum*. Phytochem. (Paises Bajos). 49(3):893-897.
- COLL, F.; BASTERECHEA, M.; KUTSCHABSKY, L.; MOLA, D.L.; SCHREIBER, K.; ADAM, G. 1984. Aculeamine, a solanocapsine-type steroidal alkaloid from *Solanum aculeatum*. Phytochem. 23(4):883-885.
- CORNELIUS, M.T.F.; DE CARVALHO, M.G.; DA SILVA, T.M.S.; ALVES, C.C.F.; SISTON, A.P.N.; ALVES, K.Z.; SANT'ANNA, C.M.R.; NETO, M.B.; EBERLIN, M.N.; BRAZ-FILHO, R. 2010. Other chemical constituents isolated from *Solanum crinitum* Lam. (Solanaceae). J. Braz. Chem. Soc. 21(12):2211-2219.
- DONGRE, S.H.; BADAMI, S.H.; ASHOK, G.; RAVI, S.; KOTTANI, R. 2007. In vitro cytotoxic properties of O-methyl solanocapsine isolated from *Solanum pseudocapsicum* leaves. Indian J. Pharmacol. 39(4):208-209.
- DOMÍNGUEZ, X. 1979. Métodos de investigación fitoquímica. Ed. Limusa (Méjico). 281p.
- ELTAYER, E.A.; AL-ANSARI, A.S.; RODDICK, J.G. 1997. Changes in the steroidal alkaloid solasodine during development of *Solanum nigrum* and *Solanum incanum*. Phytochem. 46(3):489-494.

16. GARCÍA, H. 1975. Flora medicinal de Colombia: botánica médica. Ed. Imprenta Nacional (Colombia). 107p.
17. JAIN, S.C.; SHARMA G.L. 1977. Studies on *Solanum jasminoides* for solasodine. *Planta Medica* (Alemania). 32:234-235.
18. JEYASANKAR, A.; PREMALATHA, S.; RANI, S.J. 2012. Bio-efficacy of *Solanum pseudocapsicum* L. (solanaceae) against black cutworm, *Agrotis ipsilon* Hufnagel (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Biol. Sci. (Pakistan)*. 12(3):174-179.
19. LAURILA, J.; LAAKSO, I.; VÄÄNÄNEN, T.; KURONEN, P.; HUOPALAHTI, R.; PEHU, E. 1999. Determination of solanidine and tomatidine type glycoalkaloid aglycons by gas chromatography/mass spectrometry. *J. Agr. Food Chem. (Estados Unidos)*. 47:2738-2742.
20. LIEN, E.; LIEN, L.; WANG, R.; WANG, J. 2012. Phytochemical analysis of medicinal plants with kidney protective activities. *Chin. J. Integr. Med. (China)*. 18(10):790-800.
21. MITSCHER, L.A.; JUVARCAR, J.V.; BEAL, J.I. 1976. Solacasine, a new steroidal alkaloid from *Solanum pseudocapsicum* possessing antimicrobial activity. *Cell. Molecular Life Sci., Experientia, Specialia*. (Holanda). 32(4):415-416.
22. MOREIRA, E.A.; CECY, C.; NAKASHIMA, T.; CAVAZZANI, J.R.; GOMES, O.; KRAMBECK, R. 1980. Trabalho realizado do nucleo de pesquisa de produtos naturais do departamento de farmacia do setor de ciências da saúde da UFPR. VI Simposio de Plantas Mediciniais do Brasil (Fortaleza, Brasil). p.114-126.
23. PÉREZ-ARBELÁEZ, E. 1996. Plantas útiles de Colombia. Ed. Fondo FEN (Colombia). p.709.
24. SANCHEZ-MATA, M.C.; YOKOYAMA, W.E.; HONG, Y.J.; PROHENS, J. 2010. α -Solasonine and α -Solamargine contents of gboma (*Solanum macrocarpon* L.) and scarlet (*Solanum aethiopicum* L.) eggplants. *J. Agric. Food Chem.* 58:5502-5508.
25. SANGHVI, G.V.; KOYANI, R.D.; PATIL, V.S.; RAJPUT, K.S. 2011. Morpho-anatomy of *Solanum pseudocapsicum*. *Rev. Bras. Farmacogn.* 21(1):11-15.
26. USUBILLAGA, A.; AZIZ, I.; TETTAMANZI, M.C.; WAIBEL, R.; ACHENBACH, H. 1997. Steroidal alkaloids from *Solanum sycophanta*. *Phytochem.* 44(3):537-543.
27. VIJAYAN, P.; VIJAYARAJ, P.; SETTY, P.H.C.; HARIHARPURA, R.C.; GODAVARTHI, A.; BADAMI, S.; ARUMUGAM, D.S.; BHOJRAJ, S. 2004. The cytotoxic activity of the total alkaloids isolated from different parts of *Solanum pseudocapsicum*. *Biol. Pharmac. B. (Japón)*. 27(4):528-530.
28. VIJAYAN, P.; VINOD KUMAR, S.; DHANARAJ, S.A.; BADAMI, S.; SURESH, B. 2002. In vitro cytotoxic and anti-tumor properties of the total alkaloid fraction of unripe fruits of *Solanum pseudocapsicum*. *Pharmaceutical Biology (Reino Unido)*. 40(6):456-460.
29. WEISSENBERG, M. 2001. Isolation of solasodine and other steroidal alkaloids and sapogenins by direct hydrolysis-extraction of *Solanum* plants or glycosides therefrom. *Phytochem.* 58:501-508.

Recibido: Septiembre 27 de 2012

Aceptado: Marzo 13 de 2013

PRE-FACTIBILIDAD TÉCNICA EN LA GENERACIÓN DE ENERGÍA EÓLICA PARA PLANTAS CONVENCIONALES DE POTABILIZACIÓN DE AGUA: UN CASO REGIONAL COLOMBIANO

TECHNICAL PRE-FEASIBILITY IN THE WIND ENERGY GENERATION FOR CONVENTIONAL WATER PURIFICATION PLANTS: A COLOMBIAN REGIONAL CASE

Carlos Alfonso Zafra¹, Luis Hernando Castillo², Santiago Andrés Rico³

¹ Ph.D. Ingeniería Ambiental, Profesor Asociado, Grupo de Investigación GIIAID, Ingeniería Ambiental, Facultad del Medio Ambiente y Recursos Naturales, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Avda. Circunvalar Venado de Oro, Bogotá D.C., Colombia. Email: czafra@udistrital.edu.co; ² Ingeniero Ambiental, Grupo de Investigación GIIAID, Ingeniería Ambiental, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Avda. Circunvalar Venado de Oro, Bogotá D.C., Colombia. Email: luiscastillo_m@ingenieros.com; ³ Ingeniero Ambiental, Grupo de Investigación GIIAID, Ingeniería Ambiental, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Avda. Circunvalar Venado de Oro, Bogotá D.C., Colombia. Email: santiagorico@ingenieros.com

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 223 - 233, 2013

RESUMEN

Se presenta una metodología para analizar la pre-factibilidad técnica del aprovechamiento de la energía eólica, para el suministro eléctrico en plantas potabilizadoras de agua (PTAP), a través del tratamiento estadístico de registros climatológicos, el cálculo de la oferta energética y el dimensionamiento del aerogenerador. Adicionalmente, se muestra un nomograma para el cálculo de las anteriores variables, a partir de los registros de seis PTAP de la Sabana de Bogotá (Colombia): Principal, El Sosiego, Sibaté, Pablo VI, El Dorado y Yomasa. Las dos últimas PTAP, se tomaron como casos principales de estudio. Los resultados mostraron, para las PTAP El Dorado y Yomasa, a partir de sus caudales (337,2 y 12,1L/s) y consumos energéticos máximos (37.322 y 3.571kWh), que las condiciones climatológicas presentes a las alturas de diseño (50 y 10m) ofertaron una potencia eólica específica de 245,3 y 67,6W/m², respectivamente. Por otro lado, se observó la existencia de una relación lineal entre el caudal tratado y la energía consumida por las seis PTAP en estudio ($R^2 = 0,99$). Finalmente, al aplicar el nomograma de diseño eólico a las PTAP El Dorado y Yomasa, se evidenció un error medio de 0,54% y 1,25% en el cálculo de la energía consumida y la potencia eólica, respectivamente.

Palabras clave: Planta de tratamiento, potabilización de agua, caudal, energía eólica, aerogenerador.

SUMMARY

A methodology to analyze the technical pre-feasibility of the use of wind energy for electricity supply in water purification plants (WPP), through the statistical treatment of weather records, the calculation of the energy supply and the sizing of the wind turbine is presented. Additionally, a nomogram for calculation of the above variables from the records of six WPP of the Sabana de Bogotá (Colombia): Principal, El Sosiego, Sibaté, Pablo VI, El Dorado and Yomasa is exhibited. The last two WPP were taken as main study cases. The results showed for the WPP El Dorado and Yomasa from its maximum flow (337.2 y 12.1L/s) and energy consumption (37,322 and 3,571kWh) that the weather conditions present at the heights of design (50 and 10m) offer a specific wind power of 245.3 and 67.6W/m², respectively. On the other hand, the existence of a linear relationship between the flow treated and the energy consumed by the six WPP in study ($R^2 = 0.99$) was noted. Finally, the application of wind design nomogram to WPP El Dorado and Yomasa presented an average error of 0.54% and 1.25% in the calculation of the energy consumed and wind power, respectively.

Key words: Treatment plant, water purification, flow rate, wind energy, wind turbine.

INTRODUCCIÓN

La escasez y los inconvenientes en la adquisición de información eólica en Colombia, los altos consumos energéticos y las consecuencias ambientales de la producción energética hacen necesario desarrollar investigaciones, que tengan por objeto evaluar el potencial del recurso para determinadas aplicaciones, asociadas con los sistemas de saneamiento básico. Por otro lado, agua y energía son dos de los temas más importantes en las agendas de desarrollo del entorno nacional e internacional. Asimismo, estos recursos se encuentran recíprocamente ligados: la producción de energía requiere de grandes volúmenes de agua, mientras que la potabilización y la distribución del agua es igualmente dependiente del fácil acceso y bajo costo de la energía (Mathioulakis *et al.* 2007).

A nivel mundial, la energía eólica cuenta con una capacidad instalada, que alcanzó 254.000MW (WWEA, 2012); por ejemplo, en España, esta energía cubre el 16% de la demanda nacional de energía eléctrica (Espejo & García, 2012). Por otro lado, Kalogirou (2005) argumentó que la energía eólica mundial podría proporcionar una cantidad de energía eléctrica igual a la demanda mundial de electricidad. En el caso específico de las plantas de potabilización de agua (PTAP), los consumos de energía eléctrica son elevados, principalmente, en lo relacionado con el control de los procesos de tratamiento (Qingfen & Hui, 2011), implicando mayores costos, que son asumidos por las empresas prestadoras del servicio de agua potable y, por lo tanto, por los beneficiarios del sistema (Eltawil *et al.* 2009).

Como ejemplo de lo anterior, en España la PTAP de desalación de agua marina de Blanes en Girona posee un elevado consumo energético (90.000kWh), para tratar un caudal medio de 203L/s (Mujeriego, 2005). Igualmente, la PTAP Egüillor en Navarra, que requiere de un consumo promedio de 39.011kWh, para tratar un caudal de 502L/s (MCP, 2009). El caso colombiano no es la excepción; por ejemplo, en la Sabana de Bogotá, la PTAP El Dorado, operada por la Empresa de Acueducto y Alcantarillado de Bogotá (E.A.A.B.), posee un elevado consumo de energía (33.158kWh), para tratar un caudal promedio de 301L/s (DAPD, 2004); asimismo, la PTAP "Principal" del municipio de Madrid (Cundinamarca), que posee un consumo energético de 11.500kWh, para tratar un caudal promedio de 61,1L/s.

A partir de la perspectiva anterior, es preciso adelantar investigaciones que pretendan desarrollar metodologías para evaluar, desde el punto de vista técnico, la capacidad eólica de las áreas de influencia de las PTAP, para reducir los costos de tratamiento del agua y generar proyectos de producción más limpia. El desarrollo de este tipo de proyectos implica el conocimiento de la capacidad eólico-energética en las posi-

bles zonas de actuación; sin embargo, el escaso número de estaciones climatológicas, la interrupción de las lecturas en los registros, los fallos en los instrumentos de medida, los errores asociados a cambios en las condiciones de medición y los errores de transcripción hacen necesaria la definición de metodologías adecuadas para la obtención de series continuas de datos climatológicos (Barrera *et al.* 2006).

Se han generado diversos métodos para la realización de estudios eólicos a partir del análisis de los registros existentes, como es el caso de la distribución de Weibull, basada en el análisis de los registros horarios de la velocidad del viento (Amar & Elamouri, 2011; Fyrippis *et al.* 2010); los modelos de regresión lineal, apoyados en la obtención de registros diarios y mensuales de la velocidad del viento (Tavares *et al.* 2011); los estudios fundamentados en el análisis de perfiles logarítmicos del viento, donde los registros son recolectados de torres anemométricas, para determinar la rapidez a diversas alturas (Roballo & Fisch, 2008) y los métodos de análisis tendencial, como lo son los modelos autorregresivos, integrados y de promedios móviles (ARIMA), que hacen una estimación predictiva en la generación de registros históricos (Kavasseri & Seetharaman, 2009).

En los últimos años, varias PTAP, a nivel mundial, han optado por la energía eólica como fuente energética auto sostenible (Koschikowski & Heijman, 2008; Park *et al.* 2011; Dehmas *et al.* 2011); por ejemplo, en España, las PTAP que se localizan cerca al mar e incorporan procesos de desalinización frecuentemente utilizan el potencial eólico, para satisfacer sus necesidades energéticas (Palomar & Losada, 2011). Por otra parte, en países latinoamericanos, como México, se evalúa la posibilidad de utilizar este tipo de energía, para realizar el tratamiento del agua. El objetivo es reducir los costos asociados con la generación de energía termo-eléctrica y, por lo tanto, los costos de la potabilización del agua (Huacuz, 2005).

El objetivo principal del presente trabajo fue formular una metodología para el análisis de pre-factibilidad técnica en la generación de energía eólica para plantas convencionales de potabilización de agua (PTAP). Se pretendió identificar las variables climatológicas que afectan el cálculo de la potencia eólica específica y la relación entre el caudal tratado por la PTAP y el dimensionamiento preliminar de aerogeneradores. Adicionalmente, se desarrolló un nomograma para el dimensionamiento preliminar del aerogenerador a partir del caudal tratado por la PTAP.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área de investigación: Las PTAP utilizadas, como casos principales de estudio, El Dorado y Yomasa, hacen parte del sistema de abastecimiento sur, de la ciudad de

Bogotá D.C. (Colombia) y son operadas por la Empresa de Acueducto y Alcantarillado de Bogotá (E.A.A.B.) (Figura 1) y tienen una capacidad máxima de tratamiento de diseño de 1.600 y 40L/s, respectivamente; sin embargo, actualmente, sus condiciones de operación alcanzan un caudal máximo de 337,2 y 12,1L/s, respectivamente, es decir, por lectura directa en la PTAP.

La PTAP El Dorado, se encuentra localizada en la zona rural de Bogotá D.C., en el barrio Uval (Localidad de Usme), con un uso de suelo no urbano urbanizable y abastece a más de 300.000 habitantes (DAPD, 2004). Dentro de las instalaciones de la PTAP, se realizan procesos de aireación, de coagulación, de floculación, de sedimentación, de filtración,

de desinfección y de estabilización de pH (DAPD, 2004), es decir, corresponde a un sistema convencional de potabilización. Por otro lado, la PTAP Yomasa, se encuentra en el límite de la zona urbana de Bogotá D.C., en la localidad de Usme, con un uso de suelo urbano no urbanizable y abastece a cerca de 10.000 habitantes (DAPD, 2004). Igualmente, sus procesos de tratamiento corresponden a un sistema convencional de potabilización.

El desarrollo eólico de la investigación, se fundamentó en los registros históricos durante ocho años de velocidad del viento y de temperatura, a 10 y 2m sobre la superficie (*i.e.*, diarios), respectivamente y registros mensuales de dirección del viento, a 10m sobre la superficie de siete estaciones



Figura 1. Localización de las PTAP y las estaciones climatológicas utilizadas para el desarrollo metodológico.

meteorológicas de referencia: San Cristóbal, Tunal, Usme, Vitelma, Doña Juana, Cazucá e Ita Valsalice (Figura 1). De igual manera, se recopilaron los registros máximos y medios mensuales durante ocho años del caudal tratado y el consumo energético de seis PTAP, localizadas en la sabana de Bogotá, para el desarrollo del nomograma de diseño eólico

(Tabla 1 y Figura 1). A continuación, se presenta el desarrollo de la metodología propuesta (Figura 2) y el nomograma para el análisis de pre-factibilidad técnica en la generación de energía eólica para PTAP, con sistemas convencionales de tratamiento.

Tabla 1. PTAP utilizadas para el desarrollo metodológico.

Caudal medio (L/s)	Consumos de energía (kWh)	PTAP	Proceso ^a						
			1	2	3	4	5	6	7
61,1	11.500	Principal		X	X	X	X	X	
10,1	2.220	Sosiego		X	X	X	X	X	
301	33.158	El Dorado	X	X	X	X	X	X	X
9,2	2.511	Yomasa	X	X	X	X	X	X	X
8,2	2.825	Pablo VI	X	X	X	X	X	X	
25,9	4.735	Sibaté ESP		X	X	X	X	X	

^a: 1: aireación; 2: coagulación; 3: floculación; 4: sedimentación; 5: filtración; 6: desinfección; 7: estabilización de pH

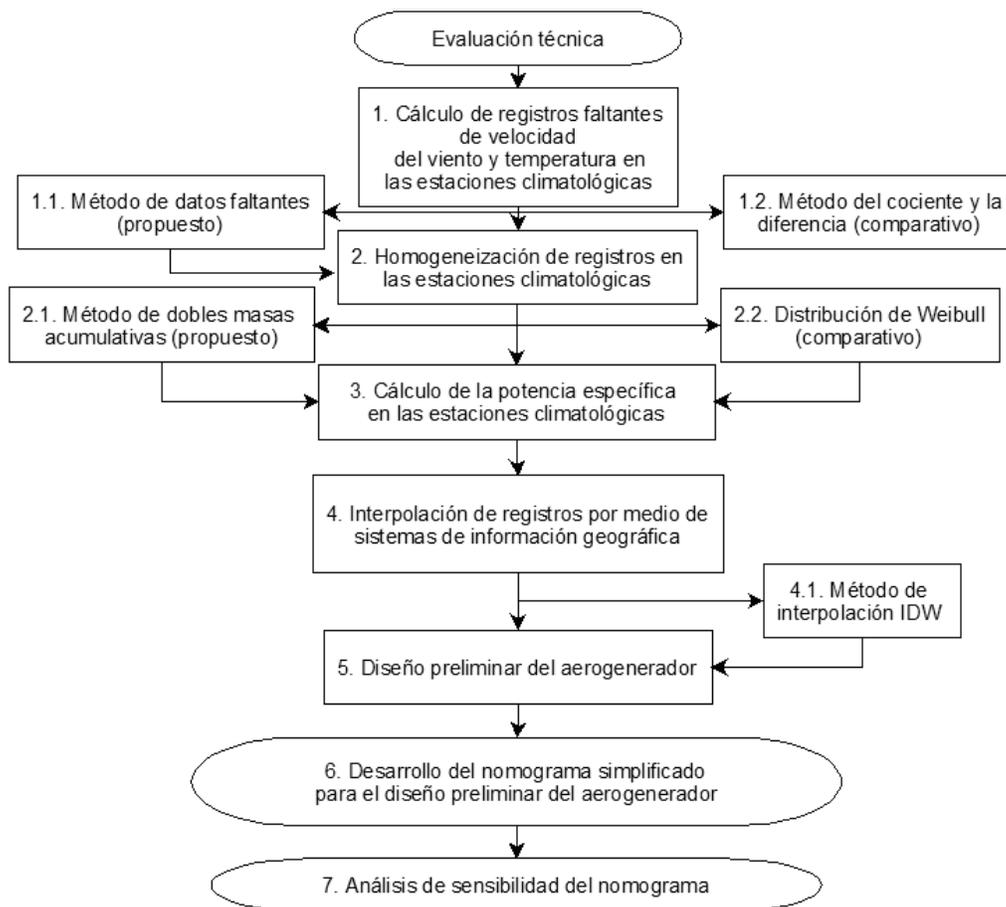


Figura 2. Estructura general de la metodología propuesta.

Desarrollo metodológico: Para el cálculo de la potencia eólica específica, es decir, para los registros discontinuos y heterogéneos de velocidad del viento y temperatura de las estaciones climatológicas, se procedió a eliminar los datos extremos, basados en el criterio de la desviación estándar: se eliminaron los valores que se encontraron fuera del rango de la media, más o menos dos veces la desviación estándar (Holder, 1985). Posteriormente, la información diaria obtenida se agregó en promedios mensuales. Los registros faltantes se completaron, a partir del método de regresión múltiple entre estaciones y se utilizó el método de dobles masas acumulativas, para verificar la homogeneidad de los datos utilizados (Holder, 1985).

Los registros mensuales resultantes de velocidad y los obtenidos de la dirección del viento de las estaciones climatológicas (*i.e.*, serie de datos), se analizaron a través de sus componentes vectorial y escalar aplicando el programa WRPLOT, diseñado por la Agencia de Protección Ambiental de EE.UU. (*i.e.*, diseño de rosa de vientos); a partir de lo anterior, se obtuvo la dirección predominante del viento (Cheremisinoff, 2002; Lima *et al.* 2012). Por otro lado, se obtuvieron los perfiles logarítmicos de velocidad del viento con los registros mensuales sobre cada estación climatológica y para diferentes alturas, con respecto de la superficie del suelo: 10, 20, 30, 40 y 50m, a partir de lo expuesto por Tavares *et al.* (2011). En este sentido, los valores de rugosidad fueron los correspondientes a terrenos abiertos con pastoreo intensivo ($Z_0 = 0,03$) y cerrados de centros poblados ($Z_0 = 1$) (IDEAM, 2006). Finalmente, se realizaron correcciones de los perfiles logarítmicos del viento, por medio del factor de potencia eólica K_E (Ecuación 1); este factor disminuyó las fluctuaciones generadas en la estimación del potencial eólico específico. Lo anterior, debido a que la potencia dependió del cubo de la velocidad haciéndola sensible a cambios en la rapidez del viento.

$$K_E = \frac{\frac{1}{N} \sum_{n=1}^N V_n^3}{\left[\frac{1}{N} \sum_{n=1}^N V_n \right]^3} \quad (\text{Ecuación 1}) \text{ (Lysen, 1983)}$$

Donde K_E , representó el factor de potencia eólica, adimensional; N, la cantidad total de meses presentes en la serie de datos y V_n , la velocidad media mensual en m/s.

Por otra parte, se empleó la expresión del gradiente térmico vertical (Ecuación 2), para determinar la temperatura a diferentes alturas con respecto de la superficie del suelo: 10, 20, 30, 40 y 50m.

$$T_Z = T_{z_0} - \frac{0,65}{100} \cdot Z \quad (\text{Ecuación 2}) \quad (\text{García \& Castejón, 1986})$$

Donde T_z , representó la temperatura promedio mensual a una altura determinada en °C; T_{z_0} , la temperatura promedio

mensual a la altura de referencia en °C (*i.e.*, a 2m) y Z, la diferencia de altura en metros. A partir de lo anterior, se calculó la tensión de vapor del aire "e", como una función de la temperatura (Ecuación 3); variable utilizada para la corrección de la densidad del aire.

$$e = \exp \left[-\frac{6763,6}{T} \right] - 4,9283 \cdot \ln(T) + 54,23 \quad (\text{Ecuación 3}) \quad (\text{Sozzi et al. 1998})$$

Posteriormente, se determinó la presión atmosférica para las diferentes alturas en evaluación (Ecuación 4):

$$P_s = P_{00} \cdot \left(\frac{P_{00}}{850} \right)^{\frac{z}{H_{850}}} \quad (\text{Ecuación 4}) \text{ (Dudhia et al. 2005)}$$

Donde P_s , representó la presión atmosférica en hPa; P_{00} , la presión atmosférica a nivel del mar en hPa; H_{850} , la altura geopotencial a 850 hPa de presión (*i.e.*, 1480 m.s.n.m.) y z, la altura geopotencial con respecto al nivel medio del mar en metros (*i.e.*, a condiciones locales). Seguidamente, se calculó la densidad del aire teniendo en cuenta un ajuste a la constante universal de los gases ideales (Ecuación 5), a partir de la tensión de vapor del aire (Dudhia *et al.* 2005).

$$R^* = R \cdot \left(1 + \frac{3}{8} \cdot \frac{e}{P_s} \right) \quad (\text{Ecuación 5}) \text{ (García \& Castejón, 1986)}$$

Donde R^* , representó la constante universal de los gases ideales en J/kg°K; R, la constante universal de los gases ideales: 286 J/kg°K; y e y P_s , la tensión de vapor y la presión atmosférica en Pa, respectivamente. A partir de lo anterior, se determinó la densidad del aire mensual en kg/m³ (ρ_h), para las diferentes alturas en evaluación (Ecuación 6):

$$\rho_h = \frac{P_s}{R \cdot T_z} \quad (\text{Ecuación 6}) \text{ (García \& Castejón, 1986)}$$

Posteriormente, se determinó la densidad de potencia o el potencial eólico específico, a partir de los registros mensuales de densidad del aire y velocidad del viento, obtenido en cada una de las estaciones climatológicas y para las diferentes alturas de investigación (Ecuación 7):

$$\left(\frac{P_e}{A} \right) = \frac{1}{2} \cdot K_E \cdot \rho_h \cdot \bar{V}^3 \quad (\text{Ecuación 7}) \text{ (Lysen, 1983)}$$

Donde el término P_e/A , representó la densidad de potencia o potencia eólica específica en W/m²; K_E , el factor de corrección de la potencia eólica específica, adimensional; ρ_h , la densidad del aire en kg/m³; \bar{V} , la velocidad del viento en m/s; P_e , la potencia eólica en W y A, el área de barrido perpendicular a la dirección del viento en m².

A partir de los resultados obtenidos en cada una de las estaciones climatológicas de referencia, se interpolaron con el

programa ArcGIS los registros de potencia eólica específica, para obtener las magnitudes correspondientes en cada PTAP de estudio (*i.e.*, método del inverso de las distancias al cuadrado, IDW). El método IDW asumió que cada punto de interés (*i.e.*, PTAP en estudio) tuvo una influencia en su vecindad que disminuyó con la distancia (González & Bosque, 2008), es decir, el método dio más peso a los puntos más cercanos a la PTAP en estudio, que aquellos que estuvieron más alejados.

Diseño preliminar del aerogenerador: El diseño del aerogenerador, se fundamentó en la determinación del área de barrido (Ecuación 7). Como se pudo observar, el área de barrido del aerogenerador, se determinó como la relación entre la potencia eólica (P_e ; en W) y la densidad de potencia (P_e/A ; en W/m^2). Adicionalmente, en el cálculo del área de barrido, se incluyó la conversión de la potencia eólica a potencia eléctrica, teniendo en cuenta las pérdidas por conversión mecánica, Ley de Betz (Solano, 2008) y las pérdidas por conversión eléctrica (Le Gourières, 1982) (Ecuación 8):

$$P_{\text{eléctrica}} = \eta \cdot P_{\text{mecánica}} = \eta \cdot C_p \cdot P_e \quad (\text{Ecuación 8})$$

(Hernández, 2005)

Donde $P_{\text{eléctrica}}$ representó la potencia eléctrica en kW; $P_{\text{mecánica}}$ la potencia mecánica en kW; η , la eficiencia de los equipos transformadores de energía eléctrica, equivalente a 0,85 (*i.e.*, por registro en la PTAP); C_p , representó el límite de Betz, equivalente a 0,59 y P_e , la potencia eólica en kW.

Las prestaciones energéticas de cada PTAP, se definieron a partir de sus consumos mensuales de energía (*i.e.*, $P_{\text{eléctrica}}$; Ecuación 8). La potencia eléctrica instalada en cada PTAP correspondió al valor máximo mensual de consumo energético. A partir de lo anterior, se determinó la potencia eléctrica de diseño con respecto al número de aerogeneradores implementados.

Se realizó el cálculo del número de palas del aerogenerador, donde λ , correspondió al cociente entre la velocidad de punta de la pala (*i.e.*, velocidad tangencial en el movimiento circular uniforme de las palas; Ecuación 9) y la velocidad del viento.

$$V_{pp} = (w \cdot \pi \cdot \phi) / 60 \quad (\text{Ecuación 9}) \quad (\text{Hernández, 2005})$$

Donde V_{pp} , representó la velocidad de punta de la pala en m/s y ω , la velocidad angular en revoluciones por minuto (RPM) del alternador seleccionado, obtenida, en este caso, del catálogo del fabricante ALXION (2010). La relación entre λ y el número de palas, se determinó, a partir de lo sugerido por Le Gourières (1982): para un valor de λ de 1, 2, 3, 4, 5-8 y mayor de 8, le correspondió un número de palas entre 6-20, 4-12, 3-8, 3-5, 2-4 y 1-2, respectivamente.

Por último, se asumió un coeficiente de simultaneidad de 1,0, es decir, se asumió una oferta o potencia mínima de suministro de energía del aerogenerador, capaz de alimentar continuamente el sistema eléctrico, a su máxima capacidad (Le Gourières, 1982). Finalmente, para obtener la potencia eléctrica de diseño ($P_{\text{eléctrica}}$; Ecuación 8), se adicionó un 10% a la potencia eléctrica demandada por el sistema; este incremento, se debió a los requerimientos energéticos de las líneas de conducción eléctrica (Le Gourières, 1982).

Desarrollo del nomograma para el dimensionamiento preliminar del aerogenerador en PTAP: El nomograma de diseño preliminar del aerogenerador, se desarrolló en cinco cuadrantes, a partir de los datos obtenidos para las seis PTAP de investigación (Tabla 1 y Figura 3). Las curvas al interior del primer cuadrante, se obtuvieron a partir de la ecuación, para el cálculo de la potencia eólica específica (Ecuación 7). Se desarrollaron tres curvas dependiendo de la densidad del aire: 0,90, 1,0 y 1,23 kg/m^3 (Figura 3, cuadrante 1). Seguidamente, en el segundo cuadrante, se evaluó el área de barrido (*i.e.*, diámetro), a partir del cálculo de la longitud de pala del aerogenerador (Ecuación 7). Se desarrollaron cinco curvas, para diámetros de barrido entre 8-25m (Figura 3, cuadrante 2).

Por otro lado, al evaluar la relación entre el caudal y la energía consumida para las seis PTAP de investigación, se observó que la tendencia lineal fue la que mejores resultados produjo bajo condiciones medias ($R^2 = 0,99$) (Figura 3, cuadrante 3). El modelo lineal obtenido fue el siguiente:

$$PC = 104,06 \cdot Q + 2277,7 \quad (\text{Ecuación 10})$$

Donde PC, representó la energía consumida en kWh y Q, el caudal tratado por la PTAP en L/s. Finalmente, en el cuarto y quinto cuadrante, se realizó el cálculo del número de palas del aerogenerador; donde λ , correspondió el cociente entre la velocidad de punta de la pala y la velocidad del viento (Ecuación 9).

Como se puede observar, el nomograma de diseño fue desarrollado con dos parámetros de entrada para su aplicación: (i) velocidad del viento (Figura 3, cuadrante 1) y (ii) caudal tratado por la PTAP (Figura 3, cuadrante 3). Adicionalmente, se incluyeron al interior del nomograma dos líneas guía, para facilitar su aplicación, a partir de los dos parámetros de entrada mencionados anteriormente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ejemplo de aplicación de la metodología propuesta: PTAP El Dorado y Yomasa: El potencial eólico específico o densidad de potencia, se determinó a partir de los registros de velocidad del viento, es decir, continuos y homogéneos (Ecuación 7).

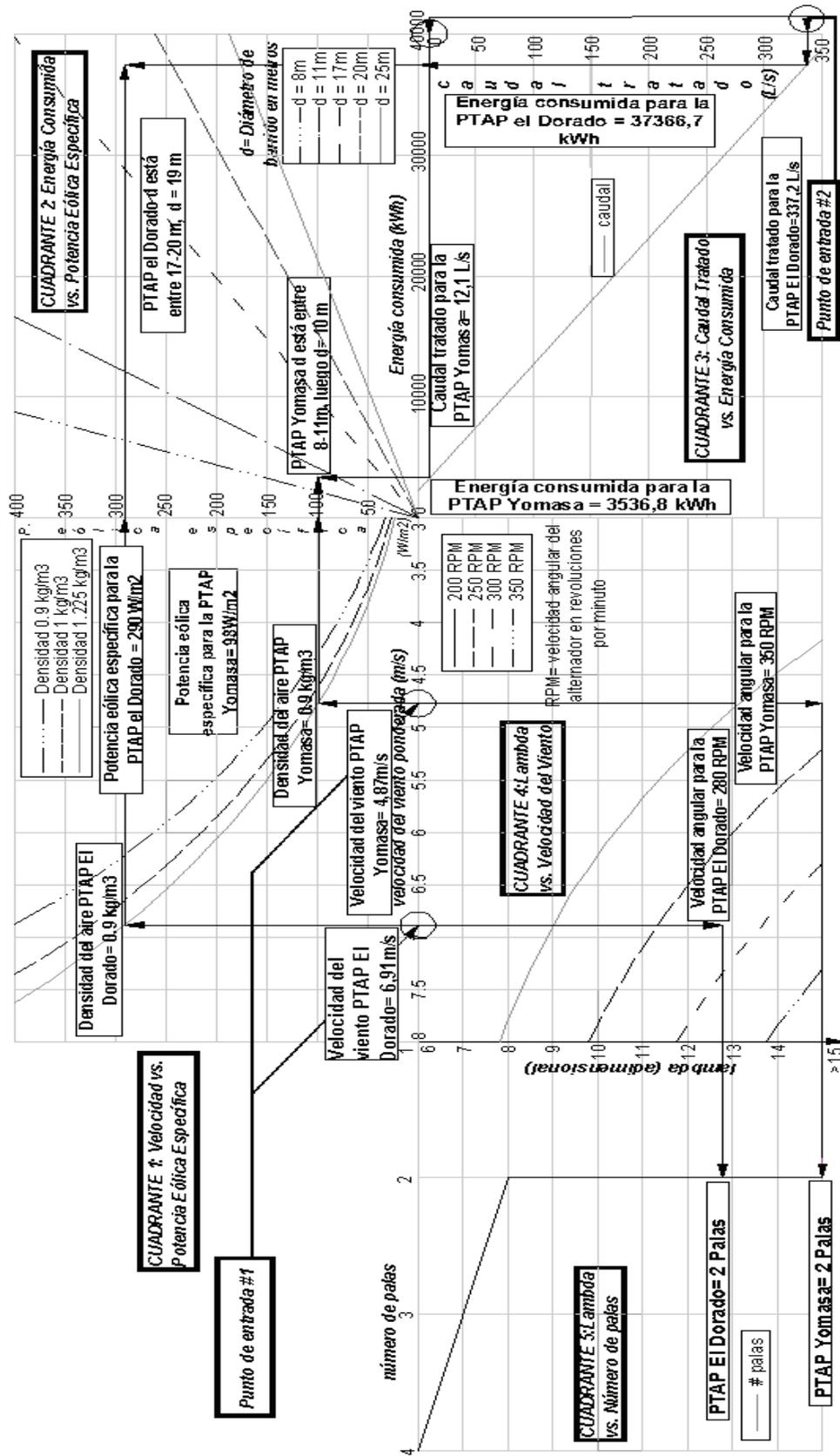


Figura 3. Nomograma para la selección de dimensiones preliminares del aerogenerador en una PTAP. Ejemplo de aplicación.

ción 7 y Tabla 2). Como es sabido, los registros de presión atmosférica, de temperatura y de tensión de vapor para la determinación de la densidad de potencia fueron corregidas por elevación y por variaciones climáticas (ecuaciones 2, 3, 4, 5 y 6).

Diseño preliminar del aerogenerador: En el diseño preliminar del sistema eólico para cada PTAP, se consideró el uso de dos aerogeneradores, en otras palabras, se tuvo en cuenta probables labores de mantenimiento y alternancia en el uso durante su operación. La altura de diseño de los aerogeneradores, se determinó a partir de los consumos energéticos

máximos de las PTAP El Dorado (37.322 kWh) y Yomasa (3.571 kWh) (Tabla 2).

Igualmente, se consideraron principios de proporcionalidad de la estructura eólica: la relación entre la longitud de la pala y la altura de la torre (Hernández, 2005). Así que la altura de diseño determinada para los aerogeneradores en las PTAP El Dorado y Yomasa fue de 50 y 10 m, respectivamente (Tabla 2). La determinación del área de barrido incluyó la conversión de la potencia eólica a potencia eléctrica teniendo en cuenta las pérdidas por conversión mecánica, Ley de Betz (Solano, 2008) y las pérdidas por conversión eléctrica (Le

Tabla 2. Parámetros de diseño para el sistema eólico de las PTAP El Dorado y Yomasa.

Parámetro	PTAP El Dorado	PTAP Yomasa
<i>Prestaciones energéticas</i>		
Energía máxima requerida (kWh)	37.322	3.571
Número de aerogeneradores	2	2
Energía requerida para el diseño del aerogenerador (kWh)	18.661	1.786
Potencia eléctrica demandada (kW)	25,9	2,5
Factor de uso simultaneo	1	1
Energía mínima (kWh)	18.661	1.786
<i>Diseño eólico</i>		
Altura de diseño (m)	50	10
Dirección predominante del viento	Sur	Sur
Velocidad del viento (m/s)	6,9	4,9
Densidad del aire (kg/m ³)	0,9	0,9
Potencia eólica específica (W/m ²)	245	68
<i>Diseño del aerogenerador</i>		
Altura de diseño (m)	50	10
Diámetro de barrido (m)	17	10
Área del rotor (m ²)	227	79
Área de barrido (m ²)	454	157
Número de palas	2	2
Tipo de alternador/velocidad angular (RPM)	800 STK6M ^a /280	800 STK4M ^a /350
Potencia eólica (kW)	56	5,3
Potencia mecánica (kW)	33	3,1
Potencia eléctrica (kW)	28	2,7
Potencia del aerogenerador (kW)	43	4,1
Caudal máximo de tratamiento (L/s)	337,2	12,1

^a: alternadores marca ALXION

Gouirières, 1982). Finalmente, para los dos casos en estudio, los aerogeneradores requirieron de dos palas (Tabla 2).

Ejemplo de aplicación del nomograma para el dimensionamiento preliminar del aerogenerador en una PTAP: El nomograma fue aplicado a los dos casos principales de estudio: PTAP El Dorado y PTAP Yomasa. Como es sabido, el nomograma de diseño fue desarrollado con dos parámetros de entrada para su aplicación: (i) velocidad del viento (Figura 3, cuadrante 1: velocidad versus potencia eólica específica) y (ii) caudal tratado por la PTAP (Figura 3, cuadrante 3: Caudal tratado versus energía consumida). Los datos de entrada para el uso del nomograma provinieron del análisis eólico de la zona de interés. Por lo tanto, la velocidad predominante del viento para las PTAP El Dorado y Yomasa fue de 6,91m/s (altura: 50m) y 4,87m/s (altura: 10m), respectivamente. Adicionalmente, como dato de partida, se determinó el caudal máximo tratado por cada PTAP, durante el mes de máximo consumo energético: 337,2L/s, para la PTAP El Dorado y 12,1L/s, para la PTAP Yomasa (Figura 3, cuadrante 3).

Los resultados obtenidos por la aplicación del nomograma fueron comparados con los del desarrollo metodológico propuesto, con respecto del máximo consumo energético de las PTAP El Dorado y Yomasa. Los resultados mostraron que al utilizar el nomograma de diseño eólico se presentaron diferencias para las PTAP El Dorado y Yomasa, de 0,12% y 0,96%, respectivamente, en el cálculo del consumo energético (kWh) (Figura 3, cuadrante 3: caudal tratado versus energía consumida).

La anterior variación, probablemente se debió, a la diferencia en la tecnología empleada para el control de los procesos de tratamiento, es decir, en las PTAP de la Sabana de Bogotá, a medida que aumenta el caudal tratado, se incrementa la tecnología para el control de los procesos y, por lo tanto, se incrementa el consumo energético de la PTAP, generando un menor error en la estimación, a través de la aplicación del nomograma de diseño desarrollado.

Finalmente, al aplicar el nomograma de diseño, se generó un error de 2,49% y 0% en el cálculo de la potencia eólica para la PTAP El Dorado (57,1kW) y Yomasa (5,3kW), respectivamente (Figura 3, cuadrante 2: Energía consumida versus potencia eólica específica). Como se puede observar, existió una relación positiva entre el error y la potencia eólica determinada para cada PTAP, es decir, a medida que aumenta el consumo energético y, por lo tanto, la potencia eólica requerida por la PTAP, aumenta el error en el pronóstico, mediante el empleo del nomograma de diseño desarrollado.

Los resultados muestran que la generación de energía eólica para las PTAP en estudio es técnicamente factible. El diseño eólico muestra para las PTAP El Dorado y Yomasa, a

partir de sus máximos caudales (337,2 y 12,1L/s) y consumos energéticos (37.322 y 3.571kWh), que las condiciones climatológicas presentes a las alturas de diseño (50 y 10m) ofertaron una potencia eólica específica de 245,3 y 67,6W/m², respectivamente.

Por otro lado, se observa la existencia de una relación lineal entre el caudal tratado y la energía consumida por las seis PTAP en estudio de la Sabana de Bogotá ($R^2 = 0,99$). La anterior relación permitirá realizar el pronóstico de la energía consumida para nuevos proyectos de potabilización de agua. Es importante resaltar, que las técnicas de tratamiento implementadas por las PTAP en estudio corresponden a sistemas convencionales de potabilización de agua. Adicionalmente, el uso del nomograma de diseño eólico en la PTAP El Dorado y Yomasa presenta un error medio de 0,54% y 1,25% en el cálculo de la energía consumida y la potencia eólica, respectivamente, en comparación con la metodología propuesta.

Finalmente, la metodología propuesta permite profundizar en el diseño de sistemas eólicos para una PTAP en nuestra región y puede ser utilizada como una guía de selección del equipamiento requerido para la generación de energía eléctrica con este recurso.

Agradecimientos: Los autores desean agradecer el apoyo brindado por la Empresa de Acueducto y Alcantarillado de Bogotá, la Secretaría Distrital de Ambiente de Bogotá, la Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca, el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales, la Superintendencia de Servicios Públicos, la Empresa de Servicios Públicos de Sopó y la Empresa de Servicios Públicos Domiciliarios de Sibabé. **Conflictos de intereses:** El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados. **Financiación:** Este estudio fue financiado por el Grupo de Investigación en Ingeniería Ambiental de la Universidad Distrital F.J.C (GIIAUD).

BIBLIOGRAFÍA

1. ALXION. 2010. Technical Characteristics STK Wind Turbine Alternators. Ed. ALXION (France). 1p. Disponible desde internet en: <http://www.alxion.com/products/stk-alternators> (con acceso 02/11/2010).
2. AMAR, F.B.; ELAMOUIRI, M. 2011. A new theoretical model for modeling the wind speed frequency distribution (Tunisia). *Renew. Energ. (USA)*. 1(4):306-313.
3. BARRERA, A.; LLASAT, M.C.; BARRIENTOS, M. 2006. Estimation of extreme flash flood evolution in Barce-

- Iona County from 1351 to 2005. *Nat. Hazards Earth Syst. Sci.* (Germany). 6(4):505-518.
4. CHEREMISINOFF, N. 2002. Handbook of air pollution prevention and control. Ed. Butterworth-Heinemann (USA). 562p.
 5. DAPD. 2004. Plan de ordenamiento territorial de la localidad de Usme. Ed. Departamento Administrativo de Planeación Distrital de Bogotá (Colombia). 103p.
 6. DEHMAS, D.A.; KHERBA, N.; HACENE, F.B.; MERZOÛK, N.K.; MERZOÛK, M.; MAHMOUDI, H.; GOOSEN, M.F.A. 2011. On the use of wind energy to power reverse osmosis desalination plant: A case study from Ténès (Algeria). *Renew Sust. Energ. Rev.* (USA). 15(2):956-963.
 7. DUDHIA, J.; GILL, D.; MANNING, K.; WANG, W.; BRUYERE, C. 2005. Mesoscale Modeling System Tutorial Class Notes and User Guide: MM5 Modeling System Version 3. Ed. National Center for Atmospheric Research (USA). 117p. Disponible desde internet en: <http://www.mmm.ucar.edu/mm5/documents/tutorial-v3-notes.html> (con acceso el 15/11/2010).
 8. ELTAWIL, M.A.; ZHENGMIN, Z.; YUAN, L.A. 2009. Review of renewable energy technologies integrated with desalination systems. *Renew Sust. Energ. Rev.* 13(9):2245-2262.
 9. ESPEJO, C.; GARCÍA, R. 2012. La energía eólica en la producción de electricidad en España. *Rev. Geogr. Norte Gd.* (Chile). 51(1):115-136.
 10. FYRIPPIS, I.; AXAPOULOS, P.J.; PANAYIOTOU, G. 2010. Wind energy potential assessment in Naxos Island, Greece. *Appl. Energ.* (Sweden). 87(2):577-586.
 11. GARCÍA, C.; CASTEJÓN, F. 1986. Problemas de meteorología: estática y termodinámica de la atmósfera. Ed. Instituto Nacional de Meteorología de España (España). 242p.
 12. GONZÁLEZ, D.; BOSQUE, J. 2008. Generación de un mapa de vientos en un SIG. *Bol. Asoc. Geóg. Españoles* (España). 47(1):51-77.
 13. HERNÁNDEZ, J. 2005. Diseño de un aerogenerador de baja potencia. Ed. Universidad Politécnica de Cataluña (España). 74p.
 14. HOLDER, R.L. 1985. Multiple regression in Hydrology. Ed. Galliard Ltd. (United Kingdom). 143p.
 15. HUACUZ, J.M. 2005. The road to green power in Mexico- reflections on the prospects for the large-scale and sustainable implementation of renewable energy. *Energ. Policy* (United Kingdom). 33(16):2087-2099.
 16. IDEAM. 2006. Atlas de viento y energía eólica de Colombia. Ed. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (Colombia). 169p.
 17. KALOGIROU, S.A. 2005. Seawater desalination using renewable energy sources. *Progr. Energy Combustion Sci.* (USA). 31(3):242-281.
 18. KAVASSERI, R.G.; SEETHARAMAN, K. 2009. Day-ahead wind speed forecasting using f-ARIMA models. *Renew. Energ.* 34(5):1388-1393.
 19. KOSCHIKOWSKI, J.; HEIJMAN, B. 2008. Renewable energy drives desalination processes in remote or arid regions. *Membr. Techn.* (United Kingdom). 8:8-9.
 20. LE GOURIÈRES, D. 1982. Energía eólica: Teoría, concepción y cálculo práctico de las Instalaciones. Ed. Masson S.A. (España). 284p.
 21. LIMA, F.J.L.; CAVALCANTI, E.P.; POUZA, E.P.; SILVA, E.M. 2012. Evaluation of the wind power in the state of Paraíba using the mesoscale atmospheric model brazilian developments on the regional atmospheric modelling system (brams). *Renew. Energ.* In Press. Doi:10.5402/2012/847356.
 22. LYSEN, E. 1983. Introduction to Wind Energy: Basic and Advanced Introduction to Wind Energy with Emphasis on Water Pumping Windmills. Ed. Consultancy Services Wind Energy Developing Countries (The Netherlands). 310p.
 23. MATHIOULAKIS, E.; BELESSIOTIS, V.; DELYANNIS, E. 2007. Desalination by using alternative energy: Review and state of the art. *Desalination* (United Kingdom). 203(1-3):346-365.
 24. MCP. 2009. Informe de gestión. Ed. Mancomunidad de la Comarca de Pamplona (España). 4p. Disponible desde internet en: http://www.mcp.es/memoria2009/themed/mcp10/files/pdfs/estaciones-de-tratamiento-de-agua-potable_es.pdf (con acceso el 02/11/2010).
 25. MUJERIEGO, R. 2005. La reutilización planificada del agua para regadío. Ed. Universidad Politécnica de Cataluña (España). 20p. Disponible desde internet

- en: <http://www.geoscopio.com/empresas/fenacore2/XI%20CONGRESO%20PALMA/Ponencia%20%20R%20Mujeriego.pdf> (con acceso el 02/11/2010).
26. PALOMAR, P.; LOSADA, I.J. 2011. Desalination in Spain: Recent developments and recommendations. *Desalination*. 255(1-3):97-106.
27. PARK, G.L.; SCHÄFER, A.I.; RICHARDS, B.S. 2011. The effect of wind speed fluctuations on the performance of a wind-powered membrane system for brackish water desalination. *J. Membr. Sci. (USA)*. 370(1-2):34-44.
28. QINGFEN, M.A.; HUI, L. 2011. Wind energy technologies integrated with desalination systems: Review and state-of-the-art. *Desalination* (277(1-3):274-280.
29. ROBALLO, S.T.; FISCH, G. 2008. Escoamento atmosférico no Centro de Lançamento de Alcântara (CLA): parte I - aspectos observacionais. *Rev. Bras. Meteorol.* 23(4):501-509.
30. SOLANO, L.L. 2008. Análisis de un parque eólico: Influencia en la tensión de la regulación de la potencia reactiva de sus aerogeneradores. Ed. Universidad Carlos III de Madrid (España). 183p.
31. SOZZI, R.; FAVARON, M.; GEORGIADIS, T. 1998. Method for the estimation of surface roughness and similarity function of the wind speed vertical profile. *J. Appl. Meteorol. (USA)*. 37(5):461-469.
32. TAVARES, M.A.; DA SILVA, E.M.; BRAVO, J.M. 2011. Estimativa dos recursos eólicos no litoral cearense usando a teoria da regressão linear. *Rev. Bras. Meteorol.* 26(3):349-366.
33. WORLD WIND ENERGY ASSOCIATION WWEA. 2012. 2012 half year report. Ed. The World Wind Energy Association (Germany). 8p. Disponible desde internet en: http://www.wwindea.org/webimages/Half-year_report_2012.pdf (con acceso 29/10/2012).

Recibido: Mayo 4 de 2012

Aceptado: Enero 22 de 2013

COMPOSICIÓN BOTÁNICA Y NUTRICIONAL DE LA DIETA DE *Dinomys branickii* (RODENTIA: DINOMYIDAE) EN LOS ANDES CENTRALES DE COLOMBIA

BOTANICAL AND NUTRITIONAL COMPOSITION OF THE DIET OF *Dinomys branickii* (RODENTIA: DINOMYIDAE) IN CENTRAL ANDES OF COLOMBIA

José Luis González¹, Karin Osbahr²

¹ Joven Investigador U.D.C.A Grupo de Investigación en Fauna Silvestre. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A. Dirección para correspondencia: Calle 222 No. 55-37 Bogotá – D.C. E-mail: josgonzalez@udca.edu.co; ² Líder Grupo de Investigación en Fauna Silvestre. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A. Dirección para correspondencia: Calle 222 No. 55-37 Bogotá – D.C. E-mail: kosbahr@udca.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 235 - 244, 2013

RESUMEN

El conocimiento de la nutrición de animales reúne aspectos ecológicos y de manejo de una especie. El objetivo principal de este trabajo fue determinar la composición botánica, el contenido nutricional expresado en base seca de la dieta y la preferencia de la Guagua loba o Pacarana, (*Dinomys branickii*) respecto al consumo de diferentes plantas en hábitat natural. En una localidad de la cordillera Central, se colectaron heces y material vegetal, identificado como recurso alimentario de la especie. Se obtuvieron fragmentos vegetales de las heces, mediante técnicas microhistológicas, lo que permitió identificar los diferentes tejidos epidérmicos. Los registros fotográficos permitieron comparar las cutículas del material vegetal con las de las heces. Se identificaron ocho familias, 10 géneros y 10 especies de plantas y las diferentes partes vegetativas (hoja, tallo, peciolo, rizoma e infrutescencia), en la dieta de la especie. El análisis del contenido nutricional de las plantas mostró valores altos en fibra, bajos en grasa con una importante concentración de cenizas. La Guagua loba es selectiva en el consumo de plantas y emplea una táctica de polifagia aprovechando, especialmente, plantas de los géneros *Anthurium*, *Cyclanthus* y *Xanthosoma saggitifolium*.

Palabras clave: Microhistología, recurso alimentario, pacarana, guagua loba, Andes, Colombia.

SUMMARY

The knowledge about wildlife nutrition meets ecological and management aspects of a particular species. The main ob-

jective of this study was to determine the botanical composition and nutritional content expressed on a dry basis of the diet and the preference on different plant species consumed by the Pacarana (*Dinomys branickii*) in natural habitats. In Central Andes of Colombia, we collected feces and different food sources previously identified. We obtained plant fragments from feces using the microhistological technique, and identified different epidermal tissues. We compared photos of cuticles of plant material with the feces and identified eight families, 10 genera and 10 species of plants with different vegetative parts (leaf, stem, petiole, rhizome and infrutescence). The analysis of plant nutritional contents showed high fiber and low fat with a high ash concentration. The species is selective against these resources and its strategy to select the diet is polyphagia including especially plants of the genus *Anthurium*, *Cyclanthus* and *Xanthosoma saggitifolium*.

Key words: Microhistology, food resource, Pacarana, Andes, Colombia.

INTRODUCCIÓN

La Guagua loba o Pacarana (*Dinomys branickii*) es el segundo roedor neotropical de mayor tamaño, cuya distribución geográfica abarca la cordillera de los Andes, desde Venezuela hasta Bolivia. En Colombia, se encuentra en los pisos térmicos medio y frío en las tres cordilleras, entre 1800 y 3400msnm, donde habita zonas con pendientes pronunciadas y suelos rocosos (Saavedra-Rodríguez *et al.* 2012b).

La Guagua loba es una especie gregaria, esencialmente her-

bívora, con un ciego desarrollado, que le permite digerir alimentos ricos en fibra y con hábitos selectivos, de acuerdo al contenido nutricional de la dieta (Osbahr & Restrepo, 2001). Collins & Eisenberg (1972), Woods (1984) y White & Alberico (1992) sostienen que es herbívoro o fitófago estricto, que incluye en su dieta frutos de palmas, de hojas y de tallos; en Venezuela, Boher & Marín (1988) registran el consumo de rizomas de plantas de la familia Araceae y Heliconiaceae; Osbahr (1998; 1999) reportó 15 géneros diferentes de plantas consumidas por *D. branickii* en su hábitat natural y Saavedra-Rodríguez *et al.* (2012b) realizaron el estudio de la dieta, a partir de la presencia de marcas de dientes en restos de plantas e identificaron 18 especies de plantas, consumidas por la especie.

La función ecológica de la Guagua loba puede consistir en la dispersión de semillas, como *Ficus* sp., de las que solamente consume la pulpa sin digerir las semillas. En muchos casos, las semillas pueden quedar enredadas en su pelo y caer eventualmente al suelo, para germinar lejos de sus árboles parentales (Osbahr, 1998). *D. branickii* se caracteriza por ser oportunista y consumidora de hojas, de tallos, de raíces y de frutos de diferentes plantas, modificando, de esta manera, el hábitat y, posiblemente, controlando el crecimiento excesivo de algunas plantas, como el chusque (*Chusquea* sp.), por lo que desempeña una función importante en la dinámica de sucesión de los bosques andinos (Osbahr, 1998; Saavedra-Rodríguez *et al.* 2012a).

El conocimiento de los hábitos alimentarios de animales silvestres permite obtener datos importantes de la composición botánica de la dieta y determinar su aporte nutricional. A la vez, la determinación bromatológica de las especies vegetales consumidas por una especie constituye una herramienta para definir las características de los hábitats idóneos para la sobrevivencia de las poblaciones (Mandujano, 1994; Vaughan, 2005). Además, la evaluación nutricional de los recursos que una especie consume en su hábitat natural provee una guía general para la formulación de dietas a poblaciones mantenidas en cautiverio, mejorando la calidad del recurso alimenticio ofrecido (Mautz *et al.* 1976).

El estudio de la dieta de animales, se hace con la técnica microhistológica, que se fundamenta en la identificación de estructuras, como células epidérmicas propiamente dichas, estomas, aparatos estomáticos, pelos, tricomas y glándulas (Catán *et al.* 2007). Estas estructuras se recuperan de heces, debido a que son pequeños fragmentos que no sufren cambios durante la digestión (Osbahr, 1999), permitiendo la identificación y la cuantificación de forrajes (Castellaro *et al.* 2007). Cuartas & García (1996) aclaran que la mayor ventaja de esta técnica es que no es necesario el sacrificio de animales y no interfiere en su comportamiento.

El objetivo de este trabajo fue aportar información sobre la composición botánica de la dieta, las preferencias alimentarias hacia las diferentes partes vegetativas de las plantas y la composición nutricional del recurso alimentario consumido por *D. branickii*, en una zona boscosa de los Andes Centrales de Colombia. Los resultados contribuyen al desarrollo del plan de manejo elaborado para esta especie focal en el Sistema Regional de Áreas Protegidas del Eje Cafetero (SIRAP-EC) (Saavedra-Rodríguez *et al.* 2012a).

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio, se llevó a cabo entre agosto de 2009 y diciembre de 2010, en una localidad dentro del Distrito de Manejo Integrado de Suelos (DMS) Campoalegre, ubicada en la cuenca media del río San Eugenio (vereda La Paloma, sitios extremos Mina El Chaquiro: 4°49'02.1"N – 75°32'52.6"O y Garaje: 4°50'50"N - 75°34'30"O), a 7km del municipio de Santa Rosa de Cabal, departamento de Risaralda, en el flanco occidental de la cordillera Central de Colombia, entre 1800 y 2600 msnm, en la zona amortiguadora del Parque Nacional Natural Los Nevados. El DMS tiene 20420ha, conformado por bosque continuo, parches de bosque secundario y matrices de plantaciones forestales, potreros y zona agrícola. La precipitación media anual es de 980mm con comportamiento bimodal, con periodos menos lluviosos en diciembre – enero y julio – agosto (CARDER, 2009). Según el sistema de clasificación de Holdridge (1967), el área corresponde a la zona natural de vida bosque muy húmedo montano bajo (bmh-mb).

En la zona de estudio, se colectaron, siguiendo un muestreo preferencial (Knapp, 1984), las plantas referenciadas en trabajos anteriores por Osbahr (1998; 1999) y confrontadas por Saavedra-Rodríguez *et al.* (2012b). La colecta se complementó con plantas que presentaron señales de forrajeo, por parte de *D. branickii*. Posterior a la identificación taxonómica, se incluyó el material de referencia con el número del colector en la colección biológica (Registro 053 IAvH), de la U.D.C.A. De cada una de las plantas, se colectó, adicionalmente, una muestra (1kg) de material fresco, incluyendo todas y cada una de las partes vegetativas, para ser utilizadas en los análisis microhistológicos y bromatológicos.

Con la ayuda de un habitante de la zona, se identificaron indicios (comederos y madrigueras) de la presencia de Guagua loba y se realizó la búsqueda de letrinas, en un perímetro de 50m alrededor de los indicios. Para cada letrina, se contó el total de cagarrutas encontradas y se conservaron en bolsas de cierre hermético (Ziploc®), para transportarlas refrigeradas con bolsas de friogel (Calier®) de 150g, desde el área de estudio hasta el laboratorio de la Unidad de Investigación en Fauna Silvestre de la U.D.C.A.

Los fragmentos de hoja, de tallo, de pecíolo, de rizoma e infrutescencias de las especies vegetales colectadas y su recuperación en heces, se obtuvieron mediante la digestión química, utilizando la técnica descrita por Storr (1961) y modificada por Osbahr (1999). Se pesó el total de cada muestra y se extrajeron, previa homogenización en el caso de las heces, cinco gramos de cada una, para el análisis microhistológico y para la cuantificación de la dieta y de la oferta. Cada muestra, se montó en láminas portaobjetos y se identificaron al microscopio (40x) las células epidérmicas, estomas, aparatos estomáticos, pelos, tricomas y glándulas (Catán *et al.* 2007). Para cada estructura vegetal, se obtuvo un registro fotográfico, utilizando una cámara fotográfica digital. Finalmente, se compararon las microfotografías de los fragmentos vegetales recuperados en heces con las microfotografías de las láminas patrón obtenidas para cada especie vegetal colectada.

Para la cuantificación de los fragmentos vegetales, se siguió lo propuesto por Sparks & Malechek (1968) y Holechek *et al.* (1982). Se montaron cinco láminas por cada muestra vegetal y de heces, observando 20 campos microscópicos por lámina, para un total de 100 campos visualizados por muestra. La observación sistemática, se realizó mediante un recorrido en líneas verticales paralelas de arriba hacia abajo, observando cada campo microscópico por separado.

La identificación de las especies vegetales presentes en las heces, se realizó registrando en todos los campos fragmentos vegetales conocidos y verificados con respecto a las láminas patrón de cada especie vegetal. Igualmente, se cuantificaron los fragmentos vegetales desconocidos, obteniendo la totalidad de los fragmentos presentes en las heces. Siguiendo a Cortés *et al.* (2003), se asumió que el número de fragmentos de plantas en las heces fue la misma que la ingerida y que todas las plantas fueron igualmente digeridas. Se utilizó la frecuencia de aparición (FA) equivalente al número de fragmentos (i) por especie vegetal, dividido por la sumatoria del total de fragmentos, multiplicado por 100 para realizar cálculos posteriores. Se asumió selectividad hacia determinada especie vegetal cuando FA es mayor en la dieta y evasión cuando FA es mayor en la oferta.

Para el análisis proximal de las especies vegetales consumidas por *D. branickii*, se secó cada una en un horno a 63°C, registrando pesos diarios hasta obtener un peso constante (Hinnant & Kothmann, 1998). La proteína total (PT), se determinó utilizando el método de digestión de Kjendahl; el extracto etéreo (EE), se obtuvo mediante destilación tipo Soxhlet con éter de petróleo (McDonald *et al.* 2006) y para la determinación de la fibra detergente neutra (FDN), se utilizó el método de Van Soest. La energía bruta (EB), se determinó en bomba calorimétrica. El contenido total de cenizas (C), se halló por incineración a 550°C. El porcentaje de humedad,

se determinó secando la muestra durante 48 horas a 63°C en un crisol hasta obtener un peso constante (Cuesta *et al.* 2000). Los datos obtenidos, se ajustaron en base seca (BS) (Herrera-Enciso *et al.* 1970).

Con el fin de evaluar preferencia o evasión de *D. branickii* sobre ítems alimentarios identificados, en el análisis microhistológico se ingresaron los datos al programa Havistat versión 1.0 (Montenegro & Acosta, 2008), para calcular el Índice de Ivlev (1961) (I_i), cuyo rango varía entre -1 a 1 donde $I_i > 0$ = preferencia; $I_i < 0$ = evasión. El intervalo de confianza de Byers (Int. Byers,) cuyo rango va de -1 a 1 < se aplicó, con el fin de confirmar los resultados del Índice de Ivlev y de establecer el uso de uno o más recursos (uso esperado < intervalo1 indica que prefiere; uso esperado > intervalo2 que evita e intervalo1 < uso esperado < intervalo2 que evade) (Byers *et al.* 1984).

El porcentaje de cada especie vegetal en las muestras fecales, se determinó ajustando el porcentaje con el que una especie vegetal contribuyó al componente total de partes de planta (Schuette *et al.* 1998). Debido a que la digestibilidad de una materia prima o de un alimento representa la cantidad absorbida reportada en relación a la cantidad ingerida y puede ser estimada por diferencia en la fracción eliminada en las heces (De la Noüe *et al.* 1980), se realizó el cálculo del coeficiente de digestibilidad calculada aparente (CDA) del material, según el procedimiento reconocido para conejos (Villamide *et al.* 1998), con base en la siguiente ecuación:

$$CDA = [(CN - EN) \div CN] \times 100$$

Donde, CN = consumo del material y EN = excreción del material.

Para establecer si existen diferencias significativas en los aportes de las plantas a la dieta evaluada, se realizó una prueba no paramétrica de Mann-Whitney U, para lo cual, se utilizó el paquete estadístico Statgraphics Plus 5.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el estudio, se colectaron en total 21 especies pertenecientes a 14 familias y 19 géneros diferentes de plantas de consumo potencial por la Guagua loba. Del listado inicial, ocho familias, diez géneros y diez especies pudieron ser verificados mediante la técnica microhistológica. A lo largo de los recorridos, se observaron señales de forrajeo en los tallos de las plantas *Anthurim* sp₁, *Bambusa* sp. *Xanthosoma sagittifolium*, *Hedychium heliotropa*. c.f, y las hojas de *Chamaedorea pinnatifrons*. Igualmente, en repetidas ocasiones, se identificaron rizomas roídos de *Gunnera pilosa*. Durante el estudio, se encontraron tres especies de los géneros *Bambusa*, *Hedychium* y *Xanthosoma* no reportadas a la fecha,

pero que se encuentran incluidas en la dieta de *D. branickii*. Las plantas de la familia Araceae constituyen uno de los recursos alimentarios más importantes para la Guagua loba en su hábitat natural, entre ellas tres especies del género *Anthurium* y una del género *Xanthosoma* (Tabla 1). En total, se identificaron 71 fragmentos vegetales diferentes, que presentaron variación de formas, de tamaño y de estructu-

ras evidenciando las variaciones morfológicas de los tejidos epidérmicos entre las especies de plantas y entre las hojas, pecíolos, tallos, rizomas, e infrutescencias examinadas.

La recolección de heces en la localidad de estudio permitió la obtención de tres muestras (A, B y C; Tabla 2). Saavedra-Rodríguez *et al.* (2012a) reportan que la Guagua loba esta-

Tabla 1. Plantas colectadas como recurso alimentario potencial de la dieta de la Guagua loba (*Dinomys branickii*) en el DMS Campoalegre, Risaralda, Colombia. *Especies vegetales confirmadas en este y otros estudios (Saavedra-Rodríguez *et al.* 2012a, 2012b; Osbahr, 1999). El nombre común de las plantas es el dado por los pobladores de zonas andinas de Colombia.

Nº DE COLECTOR	FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE	NOMBRE COMÚN	ESTE ESTUDIO	Saavedra <i>et al.</i>	Osbahr
JAM 016	Apiaceae	<i>Myrrhiden-dron</i>	<i>penneli</i>	Arracachuela		*	*
JAM 002	Araceae	<i>Anthurium</i>	sp ₁ .	Bejuco de árbol	*	*	*
JAM 004	Araceae	<i>Anthurium</i>	sp ₂ .	Corazón	*	*	*
JAM 009	Araceae	<i>Anthurium</i>	sp ₃	Anturio de huevitos	*	*	*
JAM 005	Araceae	<i>Xanthosoma</i>	<i>saggitifolium</i>	Rascadera	*		
JAM 010	Arecaceae	<i>Genoma</i>	sp.	Palma		*	
JAM 012	Arecaceae	<i>Chamaedo-rea</i>	<i>pinnatifrons</i>	Bodenillo	*		
JAM 003	Cyclanthaceae	<i>Cyclanthus</i>	sp.	Cestillo	*	*	*
JAM 020	Dryopterida-seae	<i>Dryopteris</i>	sp.	Helecho		*	*
JAM 015	Graminaceae	<i>Axonopus</i>	<i>scoparius</i>	Pasto Imperial			
JAM 013	Gunneraceae	<i>Gunnera</i>	<i>pilosa.</i>	Mata de Pantano	*	*	
JAM 018	Heliconiaceae	<i>Heliconia</i>	<i>burleana.</i>	Platanillo		*	*
JAM 022	Marattiaceae	<i>Marattia</i>	sp.	Helecho			
JAM 007	Piperaceae	<i>Piper</i>	<i>potomorphe</i>	Cordoncillo			
JAM 014	Poaceae	<i>Bambusa</i>	sp.	Bejuco Biche	*		*
JAM 017	Poaceae	Indetermi-nada	Indeterminada				
JAM 019	Poaceae	<i>Gynerium</i>	sp.	Cañabrava			
JAM 021	Poaceae	<i>Panicum</i>	Indeterminada	Chusque			
JAM 001	Polypodiaceae	<i>Pteridium</i>	sp.	Helecho		*	
JAM 008	Solanaceae	Indetermi-nada	Indeterminada		*	*	
JAM 006	Zingiberaceae	<i>Hedychium</i>	<i>heliotropa c.f</i>	Fruto rojo	*		

blece letrinas ubicadas entre 25 y 60m de distancia de las madrigueras y las zonas de forrajeo se establecen de 10 a 150m, las cuales, se ubican en terrenos rocosos, con pendiente abrupta, en parches de bosque de vegetación abundante y cercanos a zonas ribereñas, lo que permite afirmar que la zona donde se realizó la recolección de heces es utilizada por *D. branickii* para forrajear y para resguardo en refugios. Osbahr (2010) realizó una estimación de la tasa de defecación en la especie y registró un promedio de cagarru-

tas/individuo/día en hembras, de 14,6 y el promedio de cagarrutas/individuo/día en machos, de 11,8. Comparando lo mencionado anteriormente con el número de cagarrutas por muestra que se encontraron en la localidad (Tabla 2), se deduce que las muestras A y B proceden de un solo individuo, ya que la especie no necesariamente forma grupos familiares si no también se les puede ver solitarios o en parejas (Woods, 1984). Los grupos familiares que conforma *D. branickii* están compuestos por dos a cinco individuos (Boher & Marín,

Tabla 2. Muestras de heces de Guagua loba (*Dinomys branickii*) colectadas en el DMS Campoalegre, Santa Rosa de Cabal, Risaralda, Andes Centrales de Colombia.

MUESTRA	Nº DE CAGARRUTAS	PESO DE LA MUESTRA (g)	LUGAR DE COLECTA
A	10	46	Media montaña, alta pendiente cercana a plantaciones forestales
B	14	98	Alta pendiente, zona rocosa cercana a fuentes de agua
C	25	230	Media montaña, vegetación de bosque densa, baja pendiente cercana a troncos caídos

1988; Saavedra-Rodríguez *et al.* 2012b) y el promedio de cagarrutas/letrina/día de un grupo de cinco individuos es de 59,7 (Osbahr, 2010); por lo tanto, se deduce que la muestra C es procedente de un grupo de más de tres individuos.

En las heces, se identificaron y se cuantificaron en total 415 (48,15%) fragmentos vegetales conocidos y 447 (51,85%) desconocidos. Los fragmentos no identificados podrían corresponder a 11 especies vegetales colectadas, pero no verificadas en este estudio (Tabla 1), que podrían presentar una posible mayor digestibilidad; esto explicaría la sub o sobreestimación en la cuantificación de fragmentos vegetales (Catán *et al.* 2007). De hecho, *D. branickii* forrajea tallos y hojas jóvenes, por lo que el estado fenológico de las plantas, en el momento de la ingesta, afecta igualmente la digestibilidad y la presencia de fragmentos vegetales identificables en las heces; por lo tanto, al no contar con un factor de corrección especie-específico que compense, se asume que la parcialidad en los análisis microhistológicos de las heces asociada a la digestión diferencial de los forrajes es igual (Leslie *et al.* 1983).

De acuerdo a los resultados obtenidos, *D. branickii* selecciona o evade el recurso alimentario disponible, lo cual, se manifiesta al comparar la frecuencia de aparición (FA) del total de fragmentos vegetales en la oferta de la muestra recuperada en heces. Para *Anthurium* sp₁, *Cyclanthus* sp., *Xanthosoma saggitifolium*, *Gunnera pilosa* y *Bambusa* sp. FA es mayor en la dieta que en la oferta (Figura 1a), por lo

que se considera que la especie es selectiva frente a estos recursos, a la vez, que desde la escala ecológica, su estrategia para seleccionar la dieta obedece a una táctica de polifagia (Sherry, 1990). De hecho, los fragmentos vegetales recuperados en heces registraron diferentes estructuras vegetativas consumidas por *D. branickii*, donde el 42,8% corresponde a las hojas y el 35,7% a los tallos, mientras que los rizomas, infrutescencias y peciolo, ocupan el 7,1%.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el consumo de tallos y rizoma ($p \leq 0,05$ test de U – Mann - Withney), es decir, *D. branickii* utiliza de manera diferencial las plantas evaluadas, consumiendo únicamente el tallo de *Anthurium* sp₁, *H. heliotropa* c.f. y *Bambusa* sp., las hojas de la especie de la familia Solanaceae, *Anthurium* sp₃, y *C. pinnatifrons*, y el rizoma de *G. pilosa*. En cambio *Cyclanthus* sp., *Anthurium* sp₂ y *X. saggitifolium*, se caracterizaron por el consumo mixto de más de una estructura de la planta (Figura 1b); sin embargo, el cálculo del índice Ivlev (*Ii*) junto con el intervalo de confianza de Byers (Int Byers *i*) indica una clara preferencia hacia el peciolo de *Anthurium* sp₂, el tallo de *Bambusa* sp y *Cyclanthus* sp., el rizoma de *G. pilosa* y la hoja e infrutescencia de *X. saggitifolium* (Tabla 3).

Debido a que el estudio se limitó al análisis de las plantas que pudieron ser verificadas en las heces, el conocimiento parcial de la dieta permite afirmar que la Guagua loba consume alimentos altos en fibra, bajos en grasa con una

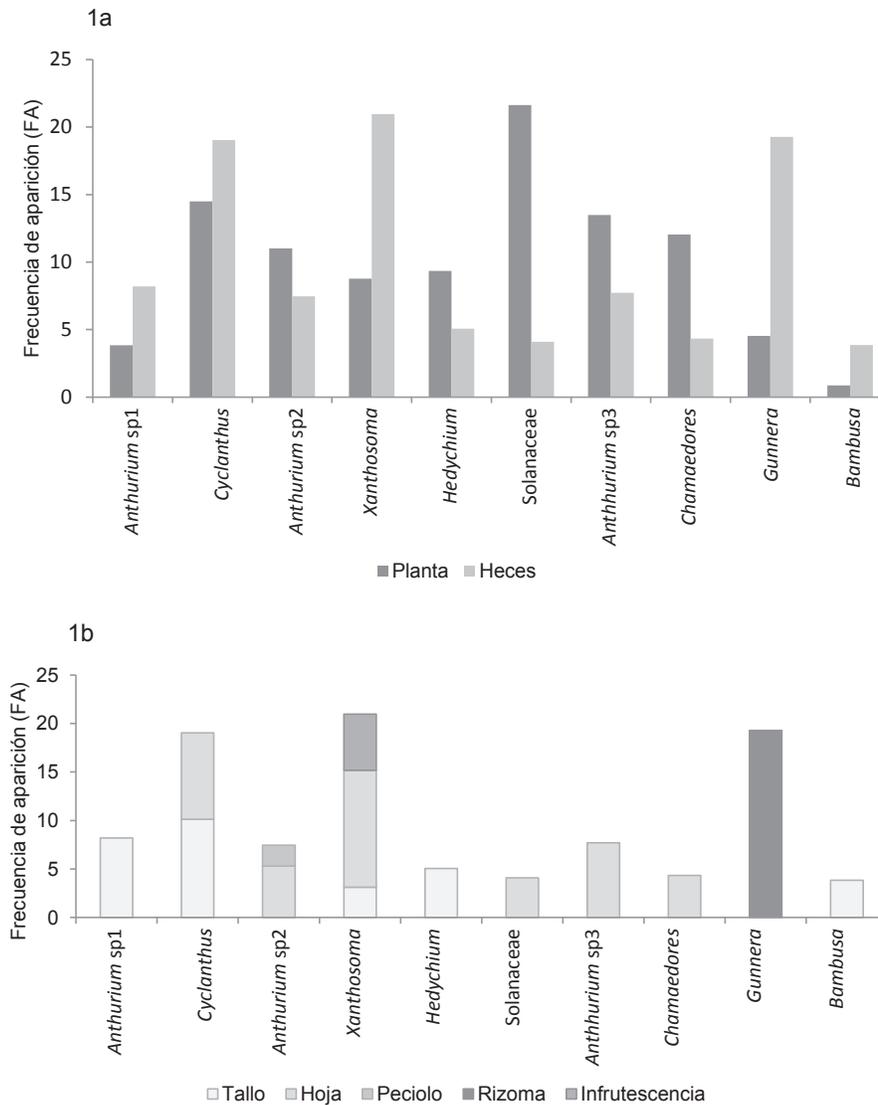


Figura 1. Preferencias alimentarias de *D. branickii* con base en los fragmentos recuperados en heces. (1a) Selectividad observada en relación a la oferta del recurso. (1b) Uso diferencial del recurso alimentario. T = Tallo, H = Hoja, P = Peciolo, R = Rizoma, IN = Infrutescencia.

importante concentración de cenizas (Tabla 3). El porcentaje promedio de nutrientes en base seca presentes en los diferentes alimentos consumidos con un coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) de $88,48 \pm 12,86$ equivale a proteína total (PT) $11,36 \pm 4,8$; grasa (EE) $3,16 \pm 2,0$; fibra detergente neutra (FDN) $60,7 \pm 14$; cenizas (C) $15,3 \pm 6,0$ y energía bruta (EB) $3,876 \text{ kcal/g} \pm 0,29$. En general, los tallos contienen niveles superiores al 38,8% de FDN, donde sobresalen *Bambusa* sp. y *H. heliotropa* c.f., con valores porcentuales mayores al 80%. El consumo de componentes fibrosos es una fuente de energía, debido a que *D. branickii* es un herbívoro de fermentación cecal (Osbaahr & Restrepo, 2001), por lo que está en capacidad de degradar la fibra

de los alimentos, produciendo ácidos grasos volátiles. Los tallos también le permiten a la especie roer, sujetar y tomar el alimento acorde con sus características físicas, morfológicas y comportamentales (Osbaahr, 1998). Mejía et al. (2009) reportan que el Género *Bambusa* contiene lignanos, componentes de la fibra que exhiben un número de características importantes que están en investigación, pero al parecer tienen actividad antibacteriana, antifúngica y antiviral. Existe la posibilidad de que *D. branickii* obtenga estas sustancias, a partir de los tallos que consume de esta especie vegetal. A su vez, los tallos de *Anthurium* sp₁ y de *X. saggitifolium* contienen los máximos niveles de cenizas (> 25%), esenciales para la formación de huesos, de enzimas,

Tabla 3. Contenido nutricional en base seca del recurso alimentario aprovechado por *D. branickii*. *li* = Índice de preferencia Ivlev; *Int Byers i* = Intervalo de confianza; CDA = Coeficiente de digestibilidad aparente; MS = Materia seca; PT = Proteína total; EE = Extracto etéreo; C = Cenizas; FDN = Fibra digestible neutra; EB = Energía bruta; SD = Sin determinar.

*** Prefiere, ** Evita, * Indiferente

NOMBRE CIENTÍFICO	ES-TRUCTURA COMSU-MIDA	li	Int Byers i	CDA	%MS	%PT	%EE	%C	%FDN	EB kcal/g	
<i>Anthurium sp.</i> ₁	Tallo	0,8	0,04**	0,15 - 0,38	91,15	6,36	12	2,9	25	55,9	3,735
<i>Anthurium sp.</i> ₂	Hoja	0,1	0,11*	0,05 - 0,20	97,07	13,26	16,7	3,7	15,9	57,4	3,955
	Peciolo	0,8	0,11***	0,94 - 1,06	99,59	10,41	6,8	1,2	17,1	65,8	3,835
<i>Anthurium sp.</i> ₃	Hoja	0,1	0,13*	0,10 - 0,27	88,57	14,37	17,4	4,4	18,2	53,4	3,651
<i>Bambusa sp.</i>	Tallo	0,9	0,01***	0,04 - 0,21	95,24	13,42	6,2	0,9	9,3	82,9	4,165
<i>Chamaedorea pinnatifrons</i>	Hoja	-0,1**	0,12*	0,00 - 0,00	95,87	13,79	14,5	3,6	10,6	65,4	SD
<i>Cyclanthus sp.</i>	Hoja	0,2	0,15*	0,12 - 0,30	97,02	17,95	14,3	2,6	10,1	70,8	4,216
	Tallo	0,4	0,15***	0,21 - 0,46	80,37	14,19	7,5	1,1	12,7	64,3	3,825
<i>Gunnera pilosa</i>	Rizoma	0,9	0,05***	0,99 - 1,01	50,92	16,93	5	1,4	7,1	41,8	3,703
<i>Hedychium heliotropa c.f.</i>	Tallo	0,3	0,09*	0,07 - 0,26	78,13	13,12	5,6	1,9	9,2	86	3,973
Solanaceae	Hoja	-0,4**	0,22**	0,03 - 0,16	80,23	11,66	17,4	4	15,5	69,5	3,964
<i>Xanthosoma saggitifolium</i>	Hoja	0,5	0,09***	0,19 - 0,38	94,35	13,94	17	7,9	15,5	47,4	4,400
	Infrutescencia	0,8	0,09***	0,98 - 1,02	94,71	9,44	12	6,4	21,7	51,8	3,856
	Tallo	0,1	0,09*	0,02 - 0,18	95,61	4,91	6,7	2,4	26,5	38,8	3,233

de hormonas y de electrolitos, que ayudan al mantenimiento homeostático de los organismos (McDonald, 2006). El peciolo, se caracteriza por contenidos altos en cenizas y de fibra, mientras que las hojas son las estructuras que contienen mayor porcentaje de proteína (> 16,7%) y grasa (> 3,7%). La infrutescencia es una estructura que presenta niveles significativos de proteína y de ceniza. El rizoma de *G. pilosa* aporta niveles importantes de energía bruta (Tabla 3); por lo general, estas estructuras son ricas en almidón, lo que

ayuda a obtener energía de rápida absorción y liberación, a la vez que pueden presentar bajos contenidos de proteína, pero gran variedad de vitaminas y minerales.

Las fuentes proteicas de origen vegetal que presenten contenidos mayores al 15% de proteína indican una buena contribución a la dieta; sin embargo, el intervalo de confianza de Byers (*Int Byers i*) indica niveles bajos de uso de las hojas con elevados contenidos en proteína (Tabla 3), siendo

la excepción las hojas de *Xanthosoma*. Sarria *et al.* (1999) reportan que estas hojas aportan niveles significativos de proteína y de minerales, un adecuado balance de aminoácidos, con respecto a la lisina y un importante contenido de potasio, lo cual, explicaría la preferencia de *D. branickii* por este recurso, aunque las hojas de esta planta, a su vez, son deficientes en fósforo y en sodio y registran la presencia de factores antinutricionales, como oxalatos de calcio. El aporte fundamental de la proteína en la dieta para cumplir con los requerimientos de una especie es el contenido de aminoácidos, puesto que estos son esenciales para el funcionamiento del organismo. De tal manera que los valores obtenidos mediante el análisis bromatológico no permiten establecer con certeza si la especie prefiere determinado recurso con respecto a este nutriente en general o a la composición específica de los aminoácidos esenciales (Sedinger, 1984). En el caso de *D. branickii*, aun cuando ingiera una dieta de baja calidad nutricional, optimiza las fuentes de aminoácidos para cubrir sus necesidades, puesto que la fermentación cecal le permite aprovechar la proteína bacteriana, como una fuente importante de aminoácidos (Barboza *et al.* 2009).

Si bien la Teoría del Forrajeo Óptimo (McArthur & Pianka, 1966) enfatiza la ganancia en la tasa energética como elemento importante en la selección de la dieta, con el fin de generar un balance positivo de energía, este concepto no explica por sí solo las diferencias encontradas en los índices de preferencia por planta (Tabla 3). Estudios realizados en cautiverio indican, igualmente, que la especie es de hábitos selectivos, donde la proporción proteína/grasa en la dieta juega un papel importante (Osbahr & Restrepo, 2001), a la vez, que de acuerdo con López *et al.* (2000) es muy notable la proporción de tiempo que la especie invierte en la alimentación (31%), la cual, aunque es baja en frecuencia promedio (2,92/hora), es de duración promedio considerable (6,43 minutos). *D. branickii*, además de explorar los parches de alimentación, arregla la comida previa ingestión y la roe lentamente en vez de engullirla. Estas características propias de la historia natural de la especie sin duda alguna influyen sobre la selección de la dieta.

Los resultados obtenidos permiten inferir que los micronutrientes, los efectos asociativos de una dieta mixta y los mecanismos de asimilación y metabolización de nutrientes (Bozinovic & Martínez del Río, 1996) juegan un papel importante en las decisiones de forrajeo de la Guagua loba seleccionando su alimento, de acuerdo a la composición nutricional que le puedan ofrecer los recursos disponibles para sus procesos fisiológicos. En el caso de los herbívoros, la proteína y los carbohidratos se encuentran entre los nutrientes más importantes, puesto que sus concentraciones en las plantas son altamente variables y, en ocasiones, limitantes, dependiendo del tipo de planta, la edad y de sus condiciones de crecimiento (Bernays & Chapman, 1994). En muchos casos,

la mezcla apropiada de estos nutrientes se obtiene a través de la regulación de la cantidad ingerida de un alimento en particular o ingiriendo una mezcla de alimentos (Raubenheimer & Simpson, 2004); por lo tanto, un herbívoro oportunista, como es el caso de *D. branickii*, tiene la capacidad de alcanzar su meta de consumo alternando entre más de un alimento que, por sí solo, es nutricionalmente subóptimo, pero que en conjunto son complementarios, es decir, que al consumir diferentes especies vegetales y estructuras de las plantas obtiene una dieta equilibrada que le proporciona una capacidad amortiguadora frente a la calidad diferencial del recurso disponible en el hábitat (Behmer & Joern, 2008). La palatabilidad, definida como las características de la planta que estimulan la respuesta alimenticia selectiva y que está relacionada con los componentes químicos, tales como los contenidos de proteína, los niveles de ceniza, el contenido de humedad y la digestibilidad, puede ser considerada como otro elemento que induzca a *D. branickii* a seleccionar, con mayor preferencia, algunos componentes de la dieta (Robbins, 2001).

La aproximación obtenida en este estudio establece una selección y una evasión de algunos componentes de la dieta; no obstante, para determinar si la especie hace un uso óptimo de los recursos alimentarios evaluados, es necesario considerar en futuros estudios su distribución espacial, para así obtener una mejor aproximación al gasto energético requerido durante el desplazamiento, para encontrar los alimentos que ofrezcan los nutrientes adecuados para el desarrollo, el sostenimiento y la reproducción de las poblaciones de *D. branickii*.

Agradecimientos: A Hernando Estupiñán, por su colaboración en la identificación de las especies vegetales; a Aurora Cuesta, Margoth Arévalo y al personal de los Laboratorios de Nutrición Animal y Fitotecnia de la U.D.C.A, a los habitantes de la vereda La Paloma, por su disposición y su colaboración permanente, a Carlos A. Saavedra-Rodríguez, por su apoyo investigativo y asistencia en campo; a la Zoological Society for the Protection of Species and Populations (ZGAP), por brindarnos el apoyo económico. **Conflicto de intereses:** El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

1. BARBOZA, P.S.; PARKER, K.L.; HUME, I.D. 2009. Integrative Wildlife Nutrition. Springer Verlag Berlin Heidelberg 342p.

2. BEHMER, S.T.; JOERN, A. 2008. Coexisting generalist herbivores occupy unique nutritional feeding niches. *Proc. Natl Acad. Sci.* 105(6):1977-1982.
3. BERNAYS, E.A.; CHAPMAN, R.F. 1994. Host Plant Selection by Phytophagous Insects. Chapman & Hall, New York. p.7-9.
4. BOHER, S.; MARÍN, B. 1988. El pacarana (*Dinomys branickii*) en Venezuela. *Natura.* 84:14-18.
5. BOZINOVIC, R.H.; MARTÍNEZ DEL RÍO, C. 1996. Animals eat what they should not: why do they reject our foraging models? *Rev. Chil. Historia Natural.* 69:15-20.
6. BYERS, C.R.; STEINHORST, C.K.; KRAUSMAN, P.R. 1984. Clarification of a technique for analysis of utilization-availability data. *J. Wildlife Manag.* 48:1050-1053.
7. CASTELLARO, G.; SQUELLA, F.; ULLRICH, T.; LEÓN, F.; RAGGI, A. 2007. Algunas técnicas microhistológicas utilizadas en la determinación de la composición botánica de dietas de herbívoros. *Agr. Técn.* 67(1):86-93.
8. CATÁN, A.; DEGANOA, C.A.; WERENITZKYA, D. 2007. Evaluación de criterios de lectura microhistológica para la cuantificación de *Sphaeralcea bonariensis* (Cav.), Pl Lorentz en mezclas manuales. *Téc. Pec. México.* 45(1):77-83.
9. COLLINS, L.R.; EISENBERG, J.F. 1972. Notes on the behavior and breeding of pacaranas in captivity. *Int. Zoo Yearbook.* 12:108-114.
10. CORPORACIÓN AUTÓNOMA REGIONAL DE RISARALDA (CARDER). 2009. Sistema Departamental de Áreas Protegidas de Risaralda. 30p.
11. CORTÉS, A.; MIRANDA, E.; RAU, J.R.; JIMÉNEZ, J.E. 2003. Feeding habits of guanacos *Lama guanicoe* in the high Andes of north-central Chile. *Acta Theriologica* 48:229-237.
12. CUARTAS, P.; GARCÍA, R. 1996. Review of available techniques for determining the diet of large herbivores from their feces. *Oecologia Montana* 5:47-50.
13. CUESTA, A.P.; JIMÉNEZ, D.A.; MATEUS, G. 2000. Características nutricionales y antinutricionales de especies no leguminosas como alimentación natural de "rebusque" de oveja Africana. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 3(1):13-20.
14. DE LA NOÛE, J.; CHOUBERT, G.; PAGNIEZ, B.; BLANC, J.M.; LUQUET, P. 1980. Digestibilité chez la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*) lors de l'adaptation à un nouveau regime alimentaire. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 37:2218-2224.
15. IVLEV, V.S. 1961. Experimental ecology of the feeding of fishes. Yale University Press, New Haven. 302p.
16. HERRERA-ENCISO, H.; GALLO-CARDONA, J.T.; MANNER, J.H.; CEBALLOS-BUENO, E. 1970. Análisis químico-bromatológico de algunas materias primas colombianas empleadas en nutrición animal. Instituto Colombiano Agropecuario. 29p.
17. HINNANT, R.T.; KOTHMANN, M.M. 1998. Collecting, drying and preserving feces for chemical and micro-histological analysis. *J. Range Manag.* 41(2):168-171.
18. HOLECHEK, J.L.; VAVRA, M.; PIEPER, R.D. 1982. Botanical composition determination of range herbivore diets: A review. *J. Range Manag.* 35(3):309-315.
19. HOLDRIDGE, L.R. 1967. Life zone ecology. Trop. Sci. Center, San José, Costa Rica. 206p.
20. KNAPP, R. 1984. Sampling methods and taxon analysis in vegetation science. Ed. Springer. 388p.
21. LESLIE, D.M.; VAVRA, M.; STARKEY, E.E.; SLATER, C. 1983. Correcting for differential digestibility in microhistological analyses involving common coastal forages of the Pacific Northwest. *J. Range Manag.* 36:730-732.
22. LÓPEZ, L.; LÓPEZ, I.; MORA, J.; OSBAHR, K. 2000. Estudio Preliminar del comportamiento de *Dinomys branickii* (Peters, 1873) en cautiverio. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 3(1):28- 35.
23. McDONALD, P.; EDWARDS, R.A.; GREENHALGH, J.F.D.; MORGAN, C.A. 2006. *Nutrición Animal.* 6ª ed. 600p.
24. MANDUJANO, S. 1994. Método para evaluar el hábitat del Venado Cola Blanca en un bosque de coníferas. En: Vaughan, C.; Rodríguez, M. (eds.) *Ecología y manejo del Venado Cola Blanca en México y Costa Rica.* Ed. Universidad Nacional Autónoma de México. p.283-297.

25. MAUTZ, W.W.; SILVER, H.; HOLTER, J.B.; HAYES, H.H.; URBAN, W. 1976. Digestibility and related nutritional data for seven northern deer browse species. *J. Wildlife Manag.* 40:630-683.
26. McARTHUR, R.H.; PIANKA, E.R. 1966. On optimal use of a patchy environment. *Am. Nat.* 100:603-609.
27. MEJÍA, A.I.; GALLARDO, C.; VALLEJO, J.J.; RAMÍREZ, G.; ARBOLEDA, C.; DÚRANGO, E.S.; JARAMILLO, F.A.; CADAVID, E. 2009. Plantas del Género *Bambusa*: importancia y aplicaciones en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria. *Vitae.* 16(3):396-405.
28. MONTENEGRO, J.; ACOSTA, A. 2008. Programa innovador para evaluar uso y preferencia de hábitat. *Univ. Scient.* 13(2):208-217.
29. OSBAHR, K. 1998. Guía para la conservación de la "guagua loba o pacarana" (*Dinomys branickii*). Bernal, H.Y.; Farfán, M. (eds.) SECAB, Ciencia y tecnología No. 65 1ª edición. Convenio Andrés Bello. 43p.
30. OSBAHR, K. 1999. Identificación de plantas consumidas por *Agouti taczanowskii* y *Dinomys branickii* a partir de fragmentos vegetales recuperados en heces. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 2(2):42-49.
31. OSBAHR, K. 2010. Evaluación de la tasa de defecación y del uso de letrinas en la guagua loba (*Dinomys branickii*: Rodentia - Dinomyidae). *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 13(1):35-45.
32. OSBAHR, K.; RESTREPO, D. 2001. Determinación de calcio, hierro, proteína y otros requerimientos de nutrientes de *Dinomys branickii*. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 4(1):44-55.
33. RAUBENHEIMER, D.; SIMPSON, S.J. 2004. Organismal stoichiometry: quantifying nonindependence among food components. *Ecol.* 85:1203-1216.
34. ROBBINS, C.T. 2001. *Wildlife feeding and Nutrition.* Academic Press INC 352p.
35. SAAVEDRA-RODRÍGUEZ, C.A.; OSBAHR, K.; ROJAS, V. 2012a. Plan de conservación y manejo de la Guagua loba (*Dinomys branickii*). Sistema Regional de Áreas Protegidas Eje Cafetero. CARDER-WCS-Colombia, 60p.
36. SAAVEDRA-RODRÍGUEZ, C.A.; KATTAN, G.; OSBAHR, K.; HOYOS, J.G. 2012b. Multiscale patterns of habitat and space use by the Pacarana *Dinomys branickii*: Factors limiting its distribution and abundance. *Endang. Spec. Res.* 16:273-281.
37. SARRIA, P.; PASCAL, L.; LONDOÑO, A.; BOTERO, M. 1999. Valor nutricional de algunas forrajeras para la alimentación de monogástricos. Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. 128p.
38. SCHUETTE, J.R.; LESLIE Jr., D.M.; LOCHMILLER, R.L.; JENKS, J.A. 1998. Diets of hartebeest and roan antelope in Burkina Faso: Support of the long-faced hypothesis. *J. Mammal.* 79(2):426-436.
39. SEDINGER, J.S. 1984. Protein and amino acid composition of tundra vegetation in relation to nutritional requirements. *J. Wildlife Manag.* 48(4):1128-1136.
40. SHERRY, T.W. 1990. When are birds dietarily specialized? Distinguishing ecological from evolutionary approaches. *Studies Avian Biol.* 13:337-352.
41. SPARKS, D.R.; MALECHEK, J.C. 1968. Estimating percentage dry weight in diets using microscopic technique. *J. Wildlife Manag.* 21:264-265.
42. STORR, G.M. 1961. Microscopic analysis of faeces, a technique for ascertaining the diet of herbivorous mammals. *J. Biol. Sci.* 14:157-164.
43. VILLAMIDE, M.J.; MAERTENS, L.; DE BLAS, C.; PEREZ, J.M. 1998. Feed evaluation. En: DE BLAS & WISEMAN (eds.). *The nutrition of the rabbit.* CAB International Publication Co. Wallingford. p.89-101.
44. VAUGHAN, C. 2005. Ventajas y desventajas de las reintroducciones. *Mesoam.* 10(2):61-64.
45. WHITE, T.G.; ALBERICO, M.S. 1992. *Dinomys branickii*. *Mammalian Species* No. 410 : 1- 5. The American Society of Mammalogists, USA.
46. WOODS, C.A. 1984. Hystricognath rodents. En: Anderson, S.; Jones, J.K. (eds.) *Orders and families of recent mammals of the world.* Ed. John Wiley and Sons. (New York). p.389-446.

Recibido: Noviembre 21 de 2012

Aceptado: Abril 4 de 2013

EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS DE PASTAS DE AJONJOLÍ ARTESANAL Y TECNIFICADA

EVALUATION OF RHEOLOGICAL PROPERTIES OF ARTISAN AND TECHNIFIED SESAME PASTA

Diofanor Acevedo¹, Yesid Marrugo², Piedad Montero³

¹ Ing. Alimentos, Doctor en Ing. Alimentos, Docente Universidad de Cartagena, Programa Ingeniería de Alimentos, Cartagena Colombia. e-mail: diofanor3000@gmail.com; ² Ing. Alimentos, M.Sc. Ciencia y Tecnología de Alimentos, Docente Universidad de Cartagena, ymarrugol@unicartagena.edu.co; ³ Ing. Alimentos, M.Sc. Ciencia y Tecnología de Alimentos, Docente Universidad de Cartagena. pmonteroc@unicartagena.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 245 - 251, 2013

RESUMEN

Las pastas de ajonjolí son una suspensión coloidal compuesta, principalmente, de sólidos hidrófilos suspendidos en aceite. En este trabajo, se elaboraron dos tipos de pastas de ajonjolí: una por el método artesanal y la otra mediante una técnica tecnificada; posteriormente, se le realizaron análisis proximales y se determinaron los efectos de los procesos de elaboración en el comportamiento reológico y la estabilidad. El perfil de viscosidad obtenido para las pastas indicó un comportamiento pseudoplástico. La sinéresis de la pasta elaborada artesanalmente fue mayor, siendo de 40%, mientras que para la pasta tecnificada fue de 15%, razón por la cual, fue más estable. Por lo que se concluye, que el proceso tecnificado es más eficiente y recomendable para la elaboración de este tipo de productos.

Palabras clave: Inestabilidad, suspensión, módulos viscoelásticos, sinéresis.

SUMMARY

Sesame pastes are a colloidal suspension composed mainly of hydrophilic solids suspended in oil. In this work two types of sesame paste, one obtained by the traditional process and the other one through a technified process were produced; proximate analyzes were performed and the effects of manufacturing processes on the rheological behavior and stability was determined. The viscosity profile obtained for both samples indicated a typical behavior of pseudoplastic. The syneresis observed for the paste elaborated in the traditional manner was higher, being 40%, whereas that for tech paste was 15%, reason for the higher stability of the latter one. It is concluded that the technified process is more efficient and recommended for the development of this product type.

Key words: Instability, suspension, modules viscoelastic, syneresis.

INTRODUCCIÓN

Colombia es el tercer país productor de ajonjolí (*Sesamun indicum*) en Latinoamérica, con 2668 hectáreas cultivadas y una producción anual de 1949t (Ministerio de Agricultura, 2010). Es cultivado en los departamentos de Magdalena, Bolívar, Sucre, Córdoba y Tolima que, actualmente, no cuentan con las técnicas postcosechas apropiadas para prolongar la vida útil que permita, mayor tiempo de conservación. Asimismo, carecen de la tecnología de transformación que les brinde la posibilidad de obtener nuevos productos para comercializar (Ministerio de Agricultura, 2010). El ajonjolí tiene un alto valor nutritivo, por la gran cantidad de proteínas, lípidos e importantes minerales y vitaminas (Seed *et al.* 2004; Namiki, 2007). Es de resaltar su contenido de proteína, que oscila entre 12 a 23% y el contenido de aceite, entre 40 y 60%; la calidad de su aceite esencialmente con alto contenido de ácido linoleico (35 a 41% del aceite total) (Sayed, 2010; FAO, 2006; Kahyaoglu & Kaya, 2006; Namiki, 2007). Tradicionalmente, los pobladores de los municipios productores de ajonjolí en los Montes de María (Bolívar- Colombia), elaboran una pasta de manera artesanal, que hacen parte de su dieta básica (Ministerio de Agricultura, 2010). La pasta de ajonjolí es un tipo de suspensión coloidal compuesta, principalmente, de sólidos hidrófilos suspendidos en aceite, al ser un residuo de la extracción del mismo, por ello, presenta una gran cantidad de proteína (45-50%), de fibra cruda (5-7%) y, comúnmente, es usada como ingrediente para postres cremosos y salsas (Mohammad *et al.* 2006; Borchani *et al.* 2010; Ahmad, 2012). Durante la producción de la pasta, las semillas seleccionadas son descascaradas mecánicamente, tostadas y molidas (Cunningham *et al.* 2007; Razavi *et al.*

2007; Alpaslan, & Hayta, 2002). La inestabilidad coloidal es el principal problema que presenta la pasta durante el almacenamiento, por producir la sedimentación de las partículas sólidas, causando el rechazo del consumidor (Abu *et al.* 2002; Altay *et al.* 2005; Razavi, *et al.* 2007; Ahmad, 2012).

La reología estudia la deformación y el flujo de la materia, es importante en la formulación, procesamiento, transporte y almacenamiento de alimentos, especialmente para emulsiones y suspensiones (Steffe, 1996). Los fluidos viscoelásticos alimenticios son aquellos que presentan, conjuntamente, propiedades de flujo viscoso y sólido elástico (Arslan *et al.* 2005). Las propiedades viscoelásticas son muy útiles en el diseño y en la predicción de la estabilidad de muestras almacenadas (Deniz *et al.* 2008). Un reómetro es un equipo que se usa para medir la forma en que fluye un líquido, mezcla o suspensión, bajo la acción de fuerzas externas (Abu, 2004).

En los ensayos reológicos dinámicos, se aplica, de forma oscilatoria, una pequeña deformación sobre un fluido viscoelástico y se mide la amplitud de la respuesta del esfuerzo y del ángulo de fase (Steffe, 1996; Alpaslan & Hayta, 2002; Arslan *et al.* 2005). El módulo de almacenamiento (G') o componente elástico del producto, proporciona información sobre la estructura presente en el material y representa la energía almacenada en los cuerpos elásticos de la muestra; el módulo de pérdida (G'') representa el carácter viscoso y la energía disipada del material (Deniz *et al.* 2008; Mohammad *et al.* 2006; Liu *et al.* 2007). Se determinan mediante las ecuaciones 1 y 2:

$$G' = \left(\frac{\tau_0}{\gamma_0}\right) \cos\delta \tag{1}$$

$$G'' = \left(\frac{\tau_0}{\gamma_0}\right) \sin\delta \tag{2}$$

Donde τ_0 y γ_0 son, respectivamente, las amplitudes de las ondas del esfuerzo y de la deformación y δ es el ángulo de desfase. La razón de G'' sobre G' se ha definido como la tangente de pérdida ($\tan\delta$) ecuación (3) y describe los efectos de los componentes viscosos y elásticos en el comportamiento viscoelástico (Deniz *et al.* 2008).

$$\tan\delta = \frac{G''}{G'} \tag{3}$$

Expresando las funciones armónicas (1) y (2) en forma compleja, se llega a la ecuación (4).

$$\frac{\tau_*}{\gamma_*} = G^* = G' + iG'' \tag{4}$$

Donde i es una raíz imaginaria o compleja, producto de la combinación de las funciones seno y coseno, G^* es el mó-

dulo complejo o dinámico, en el comportamiento viscoelástico. En el caso de un sólido elástico, la onda está en fase $\delta=0^\circ$, y $G^*=G'$, $G''=0$. En un fluido viscoso ideal $\delta=90^\circ$ y $G''=G^*$, $G'=0$. Por consiguiente, el ángulo de desfase en los fluidos viscoelásticos varía entre 0 y 90° (Obiajunwa *et al.* 2005; Steffe, 1996; Liu *et al.* 2007). Cuando un fluido presenta comportamiento pseudoplástico, los valores de $G' > G''$, lo cual, indica que las propiedades elásticas dominan sobre las viscosas (Deniz *et al.* 2008). Considerando lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar los efectos de los procesos de elaboración artesanal y tecnificado, en el comportamiento reológico y estabilidad de las pastas de ajonjolí.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon semillas de ajonjolí (*S. indicum*), recolectadas con un tiempo de maduración de 80 a 130 días, en el Municipio de Córdoba-Bolívar (Colombia). Estudios previos indican que la composición de este tipo de semillas está representada por un contenido de proteínas del 8-17%, entre 50-60%, aceite; un 3,2-3,4%, de fibra cruda; un 18-20%, carbohidratos y sólidos solubles; un 5,7-5,8%, cenizas y entre un 5,1- 6,1%, de humedad; a su vez, son muy ricas en minerales, tales como calcio, fósforo y vitamina E (Sayed, 2010; Borchani *et al.* 2010; Namiki, 2007; Obiajunwa *et al.* 2005; Seed *et al.* 2004).

Las pruebas experimentales, se realizaron en las plantas pilotos del programa ingeniería de alimentos y en los laboratorios del grupo de investigación NUSCA, de la Universidad de Cartagena.

Elaboración artesanal de la pasta untable: Para este proceso, se tomaron 1000g de semillas de ajonjolí enteras húmedas y descortezadas, que se limpiaron y se tostaron en una estufa convencional (Hakee Ltda), a 130°C , durante 35 min, hasta que se obtuvo un color café claro. Posteriormente, se pasaron por un molino manual para granos (Corona, Instruments Ltda), hasta obtener la harina. Se le agregó 20% de agua mezclada con 10g de sal y se homogenizó manualmente, durante 10min, hasta que se consiguió la consistencia deseada. La pasta terminada fue envasada en recipientes de vidrio cerrados herméticamente (FAO, 2006; Mohammad *et al.* 2006; Cunningham *et al.* 2007).

Elaboración tecnológica de la pasta untable: Se utilizaron 1000g de semillas de ajonjolí y se les realizó la adecuación y la limpieza para eliminar impurezas; después, se sumergieron en 6L de agua ($T = 18 \pm 2^\circ\text{C}$), durante 12 horas. Las semillas remojadas fueron exprimidas y sumergidas durante cinco minutos, en 8L de solución salina al 23%, para separar las cascaras mecánicamente (Alpaslan & Hayta, 2002; Elleuch *et al.* 2007). Posteriormente, las semillas descorte-

zadas y lavadas, se tostaron en un horno convencional (HE 2750-Challenger S.A), a 140°C, durante 30 min y se molieron en un molino mecánico de discos (Corona Instruments Ltda.), para granos, hasta que se obtuvo una harina fina, que se mezcló con 0,10% de sal y homogeneizada, en un homogeneizador (de alta cizalla del tipo rotor-estator: IKA Super Dispax, Labtech Ltda), por 2 min, hasta que se obtuvo un producto con consistencia cremosa. La pasta terminada fue envasada en recipientes de vidrio cerrados herméticamente. Se le aplicó un tratamiento de pasteurización a 95°C por 10 min, contados a partir de que el agua comenzó a hervir. Las pastas fueron almacenadas a una temperatura de refrigeración de 4°C (Altay *et al.* 2005; Mohammad *et al.* 2006).

Análisis proximales: Fueron realizados a las semillas y las pastas, siguiendo la metodología empleada por la AOAC (Asociación Oficial de Químicos Analíticos) (2003): el contenido de humedad, por el método N° 938,08; proteínas, por el método N° 976,05; grasa, mediante N° 933,05; fibra cruda, método N° 962,09 y, carbohidratos, por diferencias.

Medida de la sinéresis: Después de dos días de almacenamiento refrigerado a 4°C, se agitaron las pastas por 2 min, a 400rpm, en un agitador magnético y, posteriormente, se centrifugaron a 5000g a 20°C, en una centrifuga compacta (Ciedutec Ltda). La sinéresis, se calculó como la cantidad de líquido que se separa del producto, debido a la centrifugación con relación a la masa total de la pasta que fue centrifugada (Lucey, 2001; Aichinger *et al.* 2003; Acevedo *et al.* 2010).

Pruebas reológicas: Se tomaron tres muestras de 300g de las pastas. Las medidas viscoelásticas, se realizaron en un reómetro TA AR 1500® (TA Instruments Ltda.), utilizando el sensor de platos concéntricos (40mm steel plate). Previo a la medición, todas las muestras se dejaron en reposo durante 15 minutos, para permitir la relajación de las mismas (Amatayakul & Sherkat, 2006; Kristo *et al.* 2003). Para cada muestra, se efectuaron ensayos de barrido de amplitud (strain sweep); se eligió el valor de la deformación, se determinó el rango de viscoelasticidad lineal y se procedió a realizar el ba-

rrido de frecuencia (frequency sweep), en un rango entre 0,1 a 10Hz, para cada una de las muestras, a una deformación previamente determinada. La temperatura de las muestras, se mantuvo a 25±0,1°C. El proceso fue automáticamente controlado por el programa TA Universal Analysis Versión 5,2®, instalado en un ordenador PC, conectado al reómetro y el análisis de los datos reológicos, se ejecutó utilizando el software Rheology Advantage Data Analysis Version 5,7®. Los resultados de los ensayos, se expresaron en términos de (G') y (G''), en función de la frecuencia de la deformación (Deniz *et al.* 2008; Liu *et al.* 2007; Mohammad *et al.* 2006). A Las pastas colocadas en el reómetro, se les produjo un ciclo de deformación de 0,0716 a 100S⁻¹ en 60 segundos; los datos de las curvas fueron ajustados, por medio del software Bohlin Rheometer, a los modelos de Herschel-Bulkley y, el modelo de potencia, obteniendo los valores de los parámetros reológicos: índice de flujo n, el umbral de fluencia σ_0 , y el coeficiente de consistencia K (Deniz *et al.* 2008; Razavi *et al.* 2007).

Diseño experimental: En esta investigación, se estudiaron dos tratamientos: la pasta obtenida artesanalmente y la pasta con proceso tecnológico, con tres repeticiones, en un diseño experimental totalmente aleatorio. Las variables respuesta fueron: los análisis proximales (contenido de proteína, grasa, humedad, fibra, carbohidratos), la determinación de sinéresis (coeficiente de consistencia, índice de flujo) y las propiedades reológicas (módulos de almacenamiento y de pérdida), las cuales, se realizaron por triplicado; se utilizó el programa Graph PadInstats versión 3.1. Para el análisis de los datos, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) y el análisis de medias, mediante un test de Tukey-Kramer; se fijó el nivel de significancia a p < 0,05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1, se observa que la pasta artesanal presenta mayor porcentaje de humedad que la tecnificada, debido a la adición de agua en la elaboración, lo que ocasiona que tenga menor estabilidad y vida útil. La pasta tecnificada presentó

Tabla 1. Análisis proximal de las semillas de ajonjolí y de la pasta artesanal y tecnificada.

Componentes	Ajonjolí	Pasta artesanal	Pasta Tecnificada
Humedad, (%)	6,02	29,62	0,57
Proteínas, (%)	18,95	19,77	23,75
Fibras, (%)	3,98	4,41	4,58
Cenizas, (%)	0,68	5,01	5,30
Grasas, (%)	38,41	30,29	38,66
Carbohidratos, (%)	31,76	14,83	31,51

mayor porcentaje de carbohidratos, lo que puede contribuir a la estabilidad de la suspensión, resultados similares fueron obtenidos por Cunningham *et al.* (2007); Deniz *et al.* (2008) y Borchani *et al.* (2010).

La sinéresis de la pasta artesanal fue de 40% y para la pasta tecnificada fue de 15%; estas diferencias son debidas al mayor porcentaje de humedad en la pasta artesanal, lo cual, hace esta suspensión menos estable. Resultados similares fueron obtenidos para geles de productos lácteos por Aichinger *et al.* (2003) y Acevedo *et al.* (2010).

Los cambios en los módulos elásticos y de pérdidas con el aumento de la frecuencia, se muestran en las figuras 1 y 2. En todas las muestras analizadas, (G') fue mayor que (G''), aunque en la pasta artesanal las diferencias entre los módulos son menores, porque presenta un comportamiento menos elástico, debido, principalmente, al alto contenido humedad (Deniz *et al.* 2008; Mohammad *et al.* 2006; Razavi *et al.* 2007). El alto valor de (G') en la pasta tecnificada es un indicativo de la fuerte interacción de las partículas y de una estructura tipo red estable (Auty *et al.* 2005).

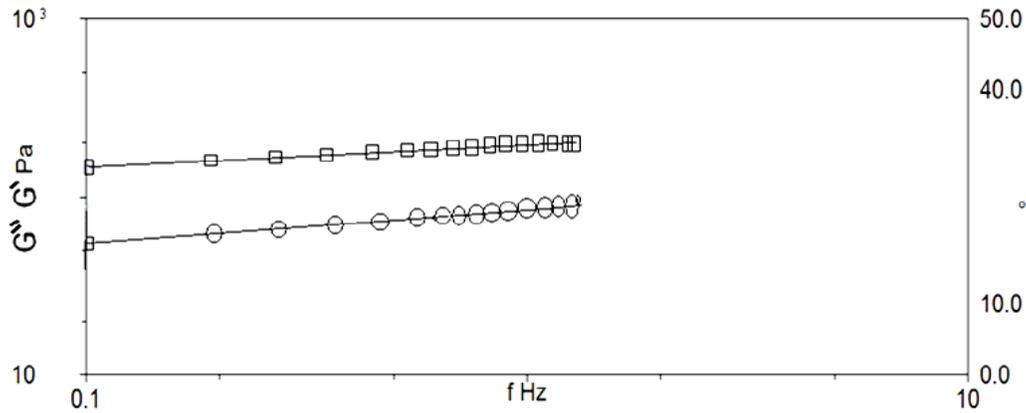


Figura 1. Valores del módulo de almacenamiento G' (\square) y del módulo de pérdida G'' (\circ) en un barrido de frecuencia entre 0,1-10Hz, para la pasta de ajonjolí artesanal.

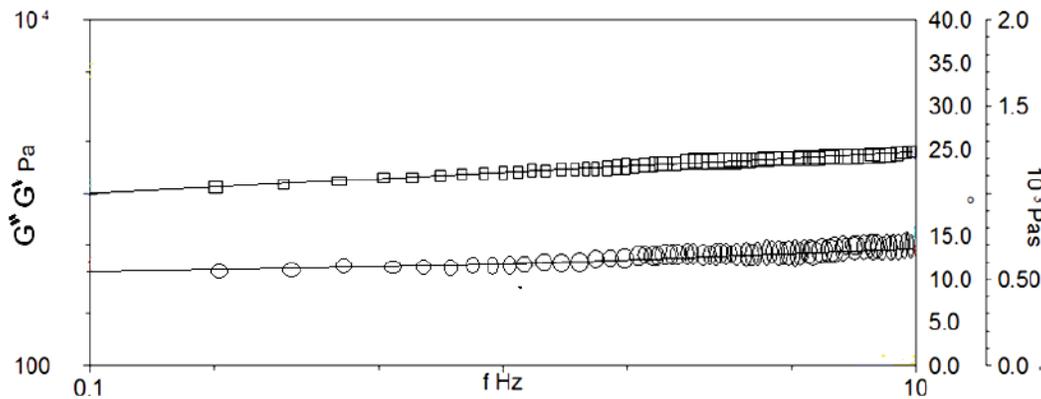


Figura 2. Valores de los módulos de almacenamiento G' (\square) y de pérdida G'' (\circ) en un barrido de frecuencia entre 0,1-10Hz, para las pasta de ajonjolí tecnificada.

La información que se obtiene, a través de estas medidas dinámicas (u oscilatorias), es la contribución a la estructura interna de la muestra de las porciones elástica (G') y viscosa (G'') (Pa), respectivamente, y la viscosidad compleja (η^*)

(Pa. s). Se espera que (G') esté relacionado a la elasticidad y la viscosidad compleja a la cohesividad (estimación de la cantidad de deformación antes de la ruptura) (Mohammad *et al.* 2006; Liu *et al.* 2007; Cunningham *et al.* 2007).

Las curvas de flujo de las pastas, se muestran en la figura 3; todas presentaron comportamiento pseudoplástico o de adelgazamiento al corte. Se probaron con los modelos de Herschel - Burkley y la ecuación de potencia y el modelo que mejor se ajustó fue la ley de potencia, porque presentó los mayores coeficientes de correlación 0,997.

Mediante mediciones reológicas rotacionales, se determinó el perfil de viscosidad compleja (η^*), lo cual, se muestra en la figura 4.

La viscosidad disminuyó al aumentar velocidad de corte, indicando un perfil típicamente pseudoplástico, lo que coinci-

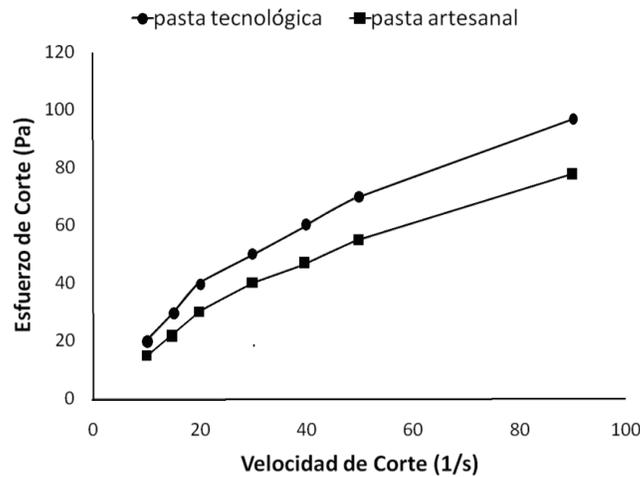


Figura 3. Esfuerzo de corte en función de la velocidad de corte para la pasta de ajonjolí artesanal y tecnológica.

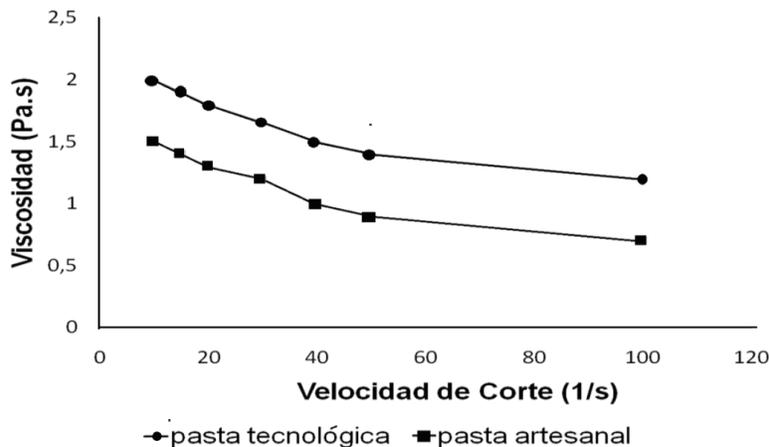


Figura 4. Viscosidad en función de la velocidad de corte para la pasta de ajonjolí artesanal y tecnológico.

de con lo descrito en la bibliografía (Steffe, 1996; Elleuch *et al.* 2007; Deniz *et al.* 2008; Acevedo *et al.* 2010).

El comportamiento reológico de la pasta de ajonjolí ha sido informado como pseudoplástico y tixotrópico (Alpaslan &

Hayta, 2002; Abu *et al.* 2002; Altay, 2005). Aunque, al igual que en el presente trabajo, no se tomó en cuenta la distribución del tamaño de partícula; no obstante, este debe ser estudiado a fondo en futuras investigaciones, ya que puede

desempeñar un papel importante en las propiedades reológicas y la estabilidad coloidal de la pasta de ajonjolí analizada.

El aumento de la velocidad de corte produce un daño irreversible en la estructura de las pastas, lo cual, ocasiona la separación en dos fases: una fase líquida y otra sólida (Mohammad *et al.* 2006; Cunningham *et al.* 2007). Las propiedades de flujo se ven afectadas significativamente por el porcentaje de agua, que produce disminución del coeficiente de consistencia, mientras aumenta el índice de comportamiento de

flujo (Deniz *et al.* 2008; Liu *et al.* 2007). El coeficiente de consistencia K y el índice de comportamiento de flujo n de las muestras, se muestran en la tabla 2.

La pasta artesanal presentó menor K y mayor n , que la pasta elaborada tecnológicamente, debido al contenido de humedad que la hace más fluida, resultados que coinciden con los reportados por Cunningham *et al.* (2007); Mohammad *et al.* (2006); Razavi *et al.* (2007); Deniz *et al.* (2008).

Tabla 2. Mediciones reológicas de flujo en el modelo de ley de potencia.

Sistema	K	N	R ²
Pasta artesanal	3,943	0,6292	0,997
Pasta tecnificada	9,133	0,3541	0,997

De los resultados anteriores, se concluye que para ambas pastas de ajonjolí, artesanal y tecnificada, el porcentaje de carbohidratos y de agua determinaron, en gran medida, su estabilidad y sus propiedades reológicas. La pasta tecnificada presentó menor sinéresis, por lo tanto, fue más estable. El perfil de viscosidad compleja (η^*) obtenida para este tipo de pastas, indica un comportamiento típicamente pseudoplástico, lo que coincide con la bibliografía referida, para distintos tipos de pastas untadas.

Agradecimientos: A la Universidad de Cartagena, por la financiación del presente trabajo. Conflicto de intereses: El artículo fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

1. ABU-JDAYIL, B. 2004. Flow properties of sweetened sesame paste. *Rev. Food Res. Techn.* (Estados Unidos). 219:265-272.
2. ABU-JDAYIL, B.; AL-MALAH, K.; ASOUD, H. 2002. Rheological characterization of milled sesame (tehinneh). *Food Hydrocoll.* (Estados Unidos). 16:55-61.
3. ACEVEDO, D.; RODRÍGUEZ, A.; FERNÁNDEZ, A. 2010. Efecto de las variables de proceso sobre la cinética de acidificación, la viabilidad y la sinéresis del suero costeño colombiano. *Rev. Inf. Tecn.* (Chile). 21(2):29-36.
4. AHMAD, KOUCHAKZADEH. 2012. Effect of centrifugation on temperature of sesame paste. *Agric. Eng. Int.: CIGR J.* 14(3):179-182.
5. AICHINGER, P.A.; MICHEL, M.; SERVAIS, C. 2003. Fermentation of a skim milk concentrate with *Streptococcus thermophilus* and chymosin: structure, viscoelasticity and syneresis of gels. *Colloids Surfaces B: Biointerfaces.* (Estados Unidos). 31:243-255.
6. ALPASLAN, M.; HAYTA, M. 2002. Rheological and sensory properties of pekmez (grape molasses) / tahin (sesame paste) blends. *J. Food Eng.* 54(1):89-93.
7. ALTAY, F.L.; AK, M. 2005. Effects of temperature, shear rate and constituents on rheological properties of tahin (sesame paste). *Rev. J. Sci. Food Agr.* (Estados Unidos). 85:105-111.
8. AMATAYAKUL, T.; SHERKAT, F. 2006. Physical characteristics of set yoghurt made with altered with altered casein to whey protein ratios and EPS producing starter cultures at 9 and 14% total solids. *Food Hydrocoll.* 20:314-324.
9. AOAC, 2003. Métodos de análisis de la asociación oficial de química analítica para determinar humedad, fibra, cenizas, grasa y proteína. Washington, U.S.A., Chapter 32, p.1-14.
10. ARSLAN, E.; YENER, M.E.; A. ESIN, A. 2005. Rheologic characteristics of tahin/pekmez (sesame paste/

- concentrated grape juice) blends. *J. Food Eng.* 69(8):167-172.
11. AITY, B.; KENNEDY, P. 2005. The relationship between rheological parameters and whey separation in milk gels. *Food Hydrocoll.* 19:101-109.
 12. BORCHANI, C.; BESBES, S.; BLECKER, Ch.; ATTIA, H. 2010. Chemical characteristics and oxidative stability of sesame seed, sesame paste, and olive oils. *J. Agr. Sci. Tech.* 12:585-596.
 13. CUNNINGHAM, S.E.; MCMINN, W.A. 2007. Modelling water absorption of pasta during soaking. *J. Food Eng. (Estados Unidos).* 82:600-607.
 14. DENIZ, C.; KAHYAOGU, T.; KAPUCU, S.; KAYA, S. 2008. Colloidal stability and rheological properties of sesame paste. *J. Food Eng.* 87(12):428-435.
 15. ELLEUCH, M.; BESBES, S. 2007. Quality characteristics of sesame seeds and by-products. *Food Chem. (Estados Unidos).* 103:641-650.
 16. FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2006. Fichas Técnicas, productos frescos y procesados de ajonjolí (*Sesamum indicum*). Disponible desde Internet en http://www.fao.org/inpho_archive/content/documents/vlibrary/AE620s/Pfrescos/ajonjolí.htm (con acceso 22/03/2012).
 17. KAHYAOGU, T.; KAYA, S. 2006. Modeling of moisture, color and texture changes in sesame seeds during the conventional roasting. *J. Food Eng.* 75(4):167-177.
 18. KRISTO, E.; BILIADERIS, C.G.; TZANETAKIS, N. 2003. Modeling of rheological, microbiological and acidification properties of fermented milk product containing a probiotic strain of *Lactobacillus paracasei*. *Int. Dairy J.* 13(7):517-528.
 19. LIU, H.; XU X.M.; GUO, SH.D. 2007. Rheological, texture and sensory properties of low-fat mayonnaise with different fat mimetics. *LWT-Food Sci. Techn.* 40:946-954.
 20. LUCEY, J.A. 2001. The relationship between rheological parameters and whey separation in rennet gels. *Food Hydrocoll.* 15:603-608.
 21. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. 2010. Anuario estadístico en Colombia. Disponible desde Internet en: <http://www.agronet.gov.co/www/htm3b/public/Anuario/anuarioEstadistico2010.pdf> (con acceso 13/08/2012).
 22. MOHAMMAD, B.; NAJAFI, H.; ALAEI, Z. 2006. Rheological properties of date syrup/sesame paste blend. *World J. Dairy & Food Sc.* 1(1):1-5.
 23. NAMIKI, M. 2007. Nutraceutical Functions of sesame: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 47:651-673.
 24. OBIAJUNWA, E.I.; ADEBIYI, F.M.; OMODE, P.E. 2005. Determination of essential minerals and trace elements in Nigerian sesame seeds, using TXRF technique. (Pakistan). *J. Nutr.* 4 (6):393-395.
 25. RAZAVI, S.; MOHAMMAD, B.; NAJAFI, H.; ALAEE, Z. 2007. The time independent rheological properties of low fat sesame paste/ date syrup blends as a function of fat substitutes and temperature. *Food Hydrocoll.* 21(3):198-202.
 26. SAYED, M. 2010. Determination of nutritional and physical properties of sesame seed (*Sesamun indicum* L.). *Biosyst. Eng. Environm.* 33:304-309.
 27. SEED, Y.; TUNDE-AKINTUNDE, B.; AKINTUNDE. O. 2004. Some physical properties of sesame. *Biosyst. Eng.* 88(1):127-129.
 28. STEFFE, J. 1996. Rheological methods in Food process engineering 2nd Ed. Freeman Press. East Lansing. (USA). p.325-331.

Recibido: Julio 30 de 2012

Aceptado: Marzo 28 de 2013

REDUCCIÓN DE LA TURBIDEZ DEL AGUA USANDO COAGULANTES NATURALES: UNA REVISIÓN

REDUCTION OF WATER TURBIDITY USING NATURAL COAGULANTS: A REVIEW

Luis Guzmán¹, Ángel Villabona², Candelaria Tejada³, Rafael García⁴

¹ Docente Universidad de Cartagena. Ingeniero de Alimentos. Especialista en Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Universidad de Cartagena, Facultad de Ingeniería. Campus de Zaragocilla-Piedra de Bolívar. Cartagena - Bolívar. Colombia. lguzmanc1@unicartagena.edu.co; ² Docente Universidad de Cartagena. Ingeniero Químico. Especialista en Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Candidato a Magister en Ingeniería Ambiental, Universidad de Cartagena Campus de Zaragocilla-Piedra de Bolívar. Cartagena - Bolívar. Colombia. angelvillabona@yahoo.es; ³ Docente Universidad de Cartagena. Ingeniero Químico. Magister en Educación Universidad del Norte, Candidata a Magister en Ingeniería Ambiental, Universidad de Cartagena Campus de Zaragocilla-Piedra de Bolívar. Cartagena - Bolívar. candelariatejada@yahoo.com; ⁴ Instructor SENA. Licenciado en Biología. Especialista en Ingeniería Ambiental y Sanitaria, Universidad de Cartagena.

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 253 - 262, 2013

RESUMEN

La coagulación es el proceso más importante en el tratamiento convencional del agua. Su aplicación incluye la remoción de especies en suspensión, mediante la adición de coagulantes químicos, cuyo uso trae desventajas asociadas a altos costos de adquisición, producción de grandes volúmenes de lodo y el hecho de que afectan el pH del agua tratada. Por lo expuesto anteriormente, se hace necesario la búsqueda de alternativas que incluyan la utilización de coagulantes de origen vegetal, entre otras. Este trabajo tuvo como propósito realizar una revisión bibliográfica acerca del uso de los coagulantes naturales de origen vegetal, utilizados en la remoción de turbidez en procesos de tratamiento de aguas y dar a conocer otros aspectos importantes, como su clasificación, su eficiencia y sus mecanismos de coagulación, empleados por cada uno de los materiales naturales estudiados. Como resultado, se encontró que todos los extractos de origen vegetal reportados son eficientes en la remoción de la turbidez del agua, producen menor cantidad de lodos y su principal mecanismo de coagulación utilizado es la adsorción y la neutralización de cargas.

Palabras clave: Coagulantes vegetales, turbidez, mecanismos de coagulación, tratamiento de agua.

SUMMARY

Coagulation is the most important process in conventional water treatment. The application includes the removal of species in suspense by means of addition of chemical coagu-

lants, which involves correlated disadvantages associated to high acquisition costs, production of large mud volumes and the fact, that they affect, significantly, the pH of the processed water. Therefore, the search of alternatives that include the utilization of coagulants of vegetal origin, between others, becomes necessary. The purpose of the present research was a literature review related to the use of natural coagulants of vegetal origin, employed in the removal of turbidity in water treatment processes and to provide important aspects on classification, efficiency and mechanisms of coagulation of each of the studied materials. As results it was found that all reported extracts of vegetal origin are efficient in the removal of the water cloud, they produce smaller quantity of mud, and that the main mechanism of coagulation is adsorption and neutralization of loads.

Key words: vegetal coagulants, turbidity, coagulation mechanisms, water treatment.

INTRODUCCIÓN

El agua denominada "potable", debe ser aceptable desde el punto de vista estético, es decir, estar exenta de turbidez, de color y de sabor perceptibles, y debe tener una temperatura razonable. Las aguas naturales raramente son de calidad satisfactoria para el consumo humano o el uso industrial y casi siempre deben ser tratadas (Kiely, 1999).

El procesamiento del agua cruda contempla un tratamiento fisicoquímico, conocido como coagulación y floculación. La coagulación, se define como la adición de sustancias

químicas y la provisión de mezcla, para que las partículas y algunos contaminantes disueltos se aglutinen en partículas más grandes que se puedan retirar mediante procesos de remoción de sólidos (Dempsey, 2006). Su aplicación incluye la remoción de especies químicas disueltas y la turbiedad del agua por adición de coagulantes químicos convencionales; además, la coagulación/floculación es un paso fundamental en el proceso de tratamiento del agua, no solamente porque remueve las partículas responsables de la turbiedad producida por las partículas suspendidas y por el material coloidal, sino porque también remueve los microorganismos que, a menudo, se adhieren a las partículas (McCarthy & Zachara 1989; Antov *et al.* 2010); sin embargo, existen desventajas asociadas al uso de estos coagulantes, como altos costos de adquisición, producción de grandes volúmenes de lodo y el hecho que afectan significativamente el pH del agua tratada (Yin, 2010; Haaroff & Cleasby 1988). También existe evidencia que relaciona a los coagulantes, a base de aluminio, con el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer en los seres humanos, debido a la presencia de aluminio residual en el agua tratada (Flaten, 2001; Miller *et al.* 1984).

El uso de coagulantes a base de plantas para el tratamiento de aguas turbias data de varios milenios (Sanghi *et al.* 2002) y, hasta ahora, los científicos medioambientales han podido identificar varios tipos de plantas, para este propósito. El empleo de materiales naturales puede minimizar o evitar la importación de los coagulantes químicos (Yin, 2010).

El objeto de esta revisión es el de dar a conocer aspectos relevantes de los coagulantes naturales, como su clasificación, su eficiencia y sus mecanismos de remoción, entre otros. Además, presentar recomendaciones y conclusiones de los principales hallazgos encontrados respecto a las ventajas del uso de los coagulantes naturales. La metodología aplicada fue de tipo cualitativo exploratoria, en donde se realizó una investigación documental, para la cual, se empleó, como técnica, la observación documental y, como instrumento, una matriz de análisis o de registro, que incluyó criterios como: coagulante natural utilizado, turbidez inicial, porcentaje de remoción de turbidez, dosis óptima de coagulante, autores y año.

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Las impurezas presentes en las fuentes de agua, se pueden clasificar según el tamaño, como:

- I. Sólidos suspendidos (mayores a 10^6m): de origen mineral (arena, arcillas, entre otros) u orgánicos (producto de la descomposición de plantas y animales). Además, microorganismos como bacterias, plancton, algas y virus. Los sólidos suspendidos son responsables de la turbidez y el color del agua (Vargas & Romero, 2006).
- II. Partículas coloidales (entre 10^6 y 10^9m): son sólidos suspendidos originados, de igual manera que los anteriores, pero con un tamaño inferior y una velocidad de sedimentación muy lenta. Son responsables de turbidez y del color (Vargas & Romero, 2006). Estas partículas están, por lo general, cargadas negativamente, debido a la presencia de grupos RCOO^- y OH^- . La carga negativa en la superficie causa repulsión entre las partículas, evitando la aglomeración y la formación de partículas más grandes que sedimentarían fácilmente.
- III. Sustancias disueltas (menores de 10^9m): son usualmente sustancias inorgánicas, como cationes y aniones y sustancias orgánicas, como ácidos, alcoholes y aldehídos, entre otros. También puede haber gases presentes (Vargas & Romero, 2006).

PRINCIPALES COAGULANTES

Coagulantes metálicos: Han sido los más utilizados para el tratamiento del agua cruda, poseen la capacidad de actuar como coagulantes y floculantes y, cuando son disueltos, forman compuestos complejos hidratados. Entre los más utilizados se hallan: sulfato de aluminio, sulfato férrico, sulfato ferroso, cloruro férrico y el aluminato de sodio (Romero, 2000).

Polielectrólitos: Son polímeros orgánicos sintéticos de gran tamaño molecular, con carga eléctrica neta; son muy eficaces en un amplio rango de pH y, debido a su alto costo, se utilizan junto con coagulantes metálicos. Se clasifican según su carga en: Catiónicos, con carga positiva: al entrar en contacto con el agua forman aniones, que permiten remover las partículas de carga negativa y son más eficaces a pH bajo; Aniónicos, que tienen carga negativa: al entrar en contacto con el agua forman cationes, que permiten remover las partículas de carga positiva y son más eficaces a pH alto y No iónicos, son neutros: al entrar en contacto forman iones positivos y negativos, pero se necesitan dosis mayores en comparación con los anteriores para obtener resultados similares.

Coagulantes Naturales: Son una fuente alternativa con gran potencial aún no explotado suficientemente; se producen de manera espontánea, debido a reacciones bioquímicas que ocurren en animales y en plantas. Por lo general, presentan una mínima o nula toxicidad y, en muchos casos, son productos alimenticios con alto contenido de carbohidratos y de proteínas solubles en agua (Lee *et al.* 1995; Ganjidoust *et al.* 1997). Algunos de ellos tienen propiedades coagulantes o floculantes que actúan de modo similar a los coagulantes sintéticos, aglomerando las partículas en suspensión que contiene el agua cruda, facilitando su sedimentación y reduciendo la turbidez inicial; en muchos lugares son utilizados

en forma empírica por nativos para aclarar el agua turbia, con muy buenos resultados (Yin, 2010).

Mecanismos de la coagulación y de la floculación: Se denomina coagulación-floculación al proceso por el cual las partículas se aglutinan en pequeñas masas, con peso específico superior al del agua, llamadas flóculos. Dicho proceso, se usa para: (a) remoción de turbiedad orgánica o inorgánica que no puede sedimentar rápidamente; (b) remoción de color verdadero y aparente; (c) eliminación de bacterias, virus y organismos patógenos susceptibles de ser separados por coagulación; (d) destrucción de algas y plancton en general y, (e) eliminación de sustancias productoras de sabor y de olor en algunos casos y de precipitados químicos suspendidos o compuestos orgánicos en otros (Arboleda, 1992).

En general, la coagulación es un proceso donde el potencial repulsivo de la doble capa eléctrica del coloide es reducido, de tal manera, que se pueden producir micro-partículas. Estas micro-partículas chocan con otras y forman estructuras más grandes (flóculos) en el proceso de floculación (Matilainen *et al.* 2010).

La remoción de turbidez y de organismos en los suministros de agua involucra la eliminación de impurezas que están cargadas negativamente a niveles de pH natural y han formado una dispersión estabilizada (Bolto, 1995). Las partículas se pueden agregar y se pueden asentar en la solución, a través de cuatro mecanismos básicos: a) compresión de la doble capa; b) coagulación por barrido; c) adsorción y neutralización de carga y, d) adsorción y unión interpartículas (Crittenden *et al.* 2005; Miller *et al.* 2008; Bolto & Gregory, 2007).

Los coagulantes poliméricos están asociados con los mecanismos (c) y (d) con estructuras de cadena larga, incrementando el número de sitios de adsorción desocupados. Parece que estos dos mecanismos proporcionan los principios básicos del funcionamiento interno de los coagulantes vegetales (Yin, 2010).

MATERIALES NATURALES VEGETALES UTILIZADOS COMO COAGULANTES

La mayoría de los extractos naturales se derivan de semillas, de hojas, de cortezas o savia, de raíces y de frutas, extraídos de árboles y de plantas (Pritchard *et al.* 2009). Los polímeros orgánicos naturales se han usado por más de 4000 años en India, en África y en China como coagulantes eficientes y como ayudantes de coagulación de aguas con alta turbidez, para uso doméstico en áreas rurales (Asrafuzzaman *et al.* 2011). En esas regiones, se han usado plantas nativas, como las semillas del árbol de Nirmali - *Strychnos potatorum*, granos tostados de maíz (*Zea mays*) o savia del cactus *Opuntia ficus indica* (Šćiban *et al.* 2005). Esos coagulantes

naturales, se pueden usar sólo o como substitutos de coagulantes y de floculantes químicos (Özacar & Sengil, 2003) y se aplican para reducir la turbidez y los microorganismos en aguas (Ghebremichael *et al.* 2005), para el ablandamiento de aguas (Muyubi & Evinson, 1995) y para el acondicionamiento de lodos (Özacar & Sengil, 2000).

Yongabi (2004) reportó haber probado la capacidad coagulante y desinfectante de la *Moringa oleifera*, *Jatropha curcas* (Piñón Mejicano), *Pleurotus tuberregium sclerotium* (Hongo) y *Hibiscus sabdariffa* (Rosa de Jamaica), comparándolas con el alumbre en muestras de aguas residuales. Šćiban *et al.* (2005) informaron acerca de "plantas recientemente ensayadas", como coagulantes: frijol mezquite (*Prosopis juliflora*) y *Cactus latifaria*, en Venezuela; en Egipto y en el norte de Sudán, varios tipos de frijoles, de alverjas, de cacahuates y de lupinos, semillas de *Cassia angustifolia* y semillas de *M. oleifera*.

Antov *et al.* (2007) estudiaron la actividad coagulante de extractos de semillas del frijol común (*Phaseolus vulgaris*), utilizando soluciones salinas como medio de extracción, a diferentes concentraciones. Reportan haber obtenido valores altos en concentración de proteína y actividades de coagulación, cercanas al 40% en el extracto crudo, cuando utilizaron 0,5 mol/L de NaCl, demostrando que la purificación de las proteínas extraídas de las semillas del frijol común tiene características de coagulantes naturales.

Fernández *et al.* (2008) evaluaron el exudado gomoso de la *Cassia siamea* (goma guar); para ello emplearon agua turbia sintética, con valores de turbidez de 10; 15; 25; 50; 75 y 100 NTU. Los niveles de turbiedad finales alcanzados estuvieron entre 2 - 4 NTU, para una dosis óptima de 50mg/L y disminuciones en el color, hasta valores de 5 UC, con aplicación de 10 - 20mg/L de la goma.

Pritchard *et al.* (2009) informan que se han adelantado estudios sobre el desempeño como coagulantes de los extractos de plantas, como el árbol de nirmali (*S. potatorum*), de tamarindo (*Tamerindous indica*), de guar (*Cyamopsis psoralioides*), de red sorella (*Hibiscus sabdariffa*), de fenugreco o alholva (*Trigonella foenum*) y de lentejas (*Lens esculenta*), usando agua cruda, con turbiedad en los rangos de 50 a 750 NTU (Schultz & Okun, 1992).

OTROS MATERIALES VEGETALES USADOS COMO COAGULANTES

Taninos: Tradicionalmente, se han usado para el curtido de pieles, pero varios de ellos también se han empleado como floculantes. Su origen natural es como metabolitos secundarios de plantas, encontrándose en cortezas, en frutos y en hojas; las cortezas de la Acacia y la *Schinopsis* constituyen el principal recurso para la industria marroquinera, las de otros

árboles no tropicales, como el *Quercus ilex*, *Q. suber* y *Q. robur*, el *Castanea* y el *Pinus* también son ricos en taninos (Beltrán *et al.* 2010). En este contexto, los taninos catiónicos pueden ser el recurso de nuevos agentes de coagulación. A escala experimental, se ha demostrado que es posible sintetizar coagulantes derivados de los taninos a partir de varias materias primas: *Acacia mearnsii*, *Sch. balansae*, *P. pinaster*, *C. sativa*, a través de un procedimiento simple, que involucra la reacción de Mannish (Beltrán *et al.* 2011).

La cationización de los taninos, se conoce como un procedimiento que confiere carácter catiónico a la matriz orgánica del tanino (Beltrán *et al.* 2011), ya que los agentes cargados positivamente pueden desestabilizar coloides aniónicos, una vez se mezclan en soluciones acuosas. La desestabilización y la sedimentación subsiguientes provocan la remoción de una amplia variedad de sustancias aniónicas, tales como colorantes, tensoactivos o materia orgánica (Beltrán *et al.* 2010).

Graham *et al.* (2008) investigaron un polímero catiónico comercial a base de taninos (TBP), con el objeto de establecer sus propiedades químicas básicas y su comportamiento como coagulante. El mecanismo de coagulación sugerido es la desestabilización de las partículas de caolín por neutralización de cargas.

Šćiban *et al.* (2009) utilizaron extractos de diferentes semillas: "Horse chestnut" (*Aesculus hypocaustanum*), roble común (*Q. robur*), roble turco (*Q. cerris*), roble rojo norteno (*Q. ruber*) y castaña europea (*C. sativa*). A cada uno de los extractos les determinaron contenido de proteínas y su actividad coagulante, encontrando que la castaña europea y el roble común son las más eficientes.

Jeon *et al.* (2009) emplearon extracto etanólico de semilla de uvas (GSE) y polifenoles derivados de las semillas, como ácido tánico y la catequina, en un esfuerzo por encontrar nuevos coagulantes orgánicos naturales (NOCs).

Yin (2010) y Özacar & Sengil (2003) estudiaron la aplicación del tanino como coagulante autónomo o como ayuda de coagulación, para el tratamiento de agua. El tanino usado en su estudio, se extrajo de la Valonia. Ellos concluyen que ese tanino combinado con el sulfato de aluminio es un excelente sustituto de los coagulantes químicos.

Trabajos con extractos de los taninos de *Sch. balansae* y *A. mearnsii*, disponibles en tres productos comerciales (Clarotan, Weibull Black y Quebracho colorado) y en tres compuestos tipo amina (cloruro de amonio, cloruro de glicidiltrimetilamonio y dietanolamina), mostraron que el producto óptimo es el Clarotan y, además, la dietanolamina (Beltrán *et al.* 2010).

Sánchez *et al.* (2010a) ensayaron cuatro tipos de agua (agua superficial, agua residual municipal, aguas residuales de industria textil y aguas residuales de lavandería) y como agente coagulante TANFLOC (extracto de mimosa modificado). El resultado obtenido fue la remoción de turbidez del agua superficial entre 50-60%, con una dosis de 2mg/L. Sánchez *et al.* (2010b) analizaron el coagulante SILVAFLOC, un producto a base de taninos, el cual, se modificó mediante proceso fisicoquímico. Ellos reportan una remoción de turbidez del 90%, con una dosis de 20mg/L.

Beltrán *et al.* (2011) reportaron un nuevo agente coagulante, a partir del extracto del tanino crudo de la *A. mearnsii*, NH_4Cl y formaldehído. Como resultados, apreciaron diferencias evidentes en la eficiencia de la remoción. Respecto de la remoción de turbidez, encontraron que a bajas dosis de coagulante (12,5-25mg/L) es posible remover la casi totalidad de la turbidez inicial de las muestras.

Cactus: El género *Opuntia* (familia Cactaceae), se caracteriza por la producción de un hidrocoloide, conocido como mucílago, el cual, forma redes moleculares que pueden retener grandes cantidades de agua (Saag *et al.* 1975). Los mucílago son sustancias poliméricas complejas de naturaleza carbohidrato, con una estructura altamente ramificada (Medina *et al.* 2000; Goycoolea & Cárdenas, 2004; Matsuhiro *et al.* 2006), que contiene proporciones variables de L-arabinosa, D-galactosa, L-ramnosa y D-xilosa, así como ácido galacturónico en diferentes proporciones (Trachtenberg & Mayer, 1981). Su estructura, se propone como dos fracciones distintas solubles en agua: una, una pectina, con propiedades gelificantes, y, la otra, un mucílago sin propiedades gelificantes (Goycoolea & Cárdenas, 2004).

Miller *et al.* (2008) estudiaron las propiedades coagulantes de *Opuntia* spp., que se evalúa por primera vez, en la eliminación de la turbidez de muestras de agua sintéticas y dieron los pasos necesarios para aclarar el mecanismo de la coagulación subyacente. Las *Opuntia* spp. redujeron la turbidez en un 98%, con respecto a un rango de turbidez inicial. Se sugiere que opera predominantemente, a través de un mecanismo de coagulación de puente.

Yan *et al.* (2008) trabajaron con *Opuntia*, evaluando la eficacia de dicho coagulante para la eliminación de turbidez en aguas superficiales (estuarios y ríos). Los valores de la turbidez inicial fueron de 499 NTU y 547 NTU. Luego del tratamiento obtuvieron remociones del 98% (estuario) y 70% (río). Se compararon los resultados con aquellos obtenidos por Zhang *et al.* (2006), quienes obtuvieron 99% como la más alta eficiencia de remoción, comparativamente similar a la obtenida, para aguas de estuario.

Fuentes *et al.* (2011) evaluaron la efectividad de un coagulante extraído del cardón *Stenocereus griseus* en la potabilización del agua. Para ello, prepararon soluciones diluidas con turbiedades entre 20 y 100 NTU. Después de aplicar las dosis del coagulante, los porcentajes de remoción de turbidez oscilaron entre 14,50 y 80,42%, antes de la simulación de la filtración y entre 69,27 y 96,46%, luego de ello, demostrando la efectividad del coagulante extraído de *St. griseus* en la potabilización de agua.

Moringa oleífera: La *M. oleifera* (Horseradish, Drumstick tree o Miracle tree) es una planta tropical no-tóxica (a bajas concentraciones), que se encuentra a lo largo de la India, de Asia, de África sub-sariana y de América Latina (Sanghi *et al.* 2002), cuyas semillas contienen un aceite comestible y una sustancia soluble en agua (Ndabigengesere *et al.* 1995); es indiscutiblemente el coagulante natural más estudiado por la comunidad científica medioambiental. Se ha informado que las comunidades rurales en los países africanos utilizan los extractos de semilla crudos para aclarar el agua turbia.

Gassenschmidt *et al.* (1995) informan que el agente coagulante es una proteína con una masa molecular de 6,5kDa, mientras Ghebremichael *et al.* (2005) sugieren que es una proteína catiónica, con una masa molecular menor de 6,5kDa. Recíprocamente, para Okuda *et al.* (2001), el componente activo no es una proteína, polisacárido o lípido, sino un polielectrolito orgánico, con un peso molecular de aproximadamente 3,0kDa. Aunque algunos grupos de investigadores parecen estar de acuerdo que el agente activo es una proteína catiónica.

El primer escrito de Ndabigengesere *et al.* (1995) elucida, comprensivamente, los mecanismos de la coagulación básicos inherentes a la *M. oleifera*. Sugiere que sus agentes activos coagulantes son las proteínas cationicas dimericas y su principal mecanismo de coagulación la adsorción y la neutralización de carga.

En muchos casos, las partículas de impurezas están cargadas negativamente y los polielectrolitos catiónicos son los coagulantes más eficaces, que predicen el uso de la *Moringa*, como agente de coagulación (Bolto & Gregory, 2007). Su capacidad coagulante, se puede reforzar más allá por la adición de cationes. En un estudio dirigido por Okuda *et al.* (2001), se establece que los cationes bivalentes (por ejemplo Ca^{2+} y Mg^{2+}) refuerzan, significativamente, el efecto coagulante de los extractos, en la cual, los cationes pueden tener adsorbido los componentes activos para formar una red estructural insoluble para capturar las partículas suspendidas de caolín.

Santos *et al.* (2009) investigaron la actividad aglutinante de la lectina extraída de diferentes tejidos de la *M. oleifera*; las

preparaciones de lectina (cMoL) mostraron actividad coagulante, similar al sulfato de aluminio. El ensayo de la actividad coagulante, se basó en el método descrito por Ghebremichael *et al.* (2005). Para ello, prepararon soluciones con alta (250–300 NTU) y media (125–150 NTU) turbidez. Afirman, que las preparaciones de lectina tienen actividad coagulante en aguas con alta y con media turbidez.

La capacidad de remoción de dos extractos de proteínas coagulantes de la *M. oleifera* obtenidos en solución salina, utilizando agua de río, induciendo la turbidez con caolín (turbidez inicial fue de 170 NTU), la compararon Sánchez *et al.* (2010b). De su estudio, se tiene que la dosis óptima está cerca a 0,5mg/L y que la turbidez final del extracto de un sólo paso es casi dos veces más alta, que la turbidez obtenida con el extracto de dos pasos.

Pritchard *et al.* (2010) adelantaron un proyecto de investigación, con el fin de observar la actuación de la *M. oleifera* comparada con el sulfato de aluminio y el sulfato férrico. Para ello, usaron un agua modelo sembrada con *E. coli* y una turbidez de 146 NTU, creada artificialmente con caolín; aguas crudas de diferentes fuentes, agua de río, con una turbidez <5 NTU; otra con turbidez de 45 NTU y agua híbrida, una mezcla de los dos tipos de agua. Los resultados mostraron que la *M. oleifera* removió el 84% de turbiedad y el 88% de *E. coli*, en el agua modelo; en el agua de río de baja turbidez (<5 NTU), los resultados mostraron una reducción de *E. coli*, del 82%, para la *M. oleifera*. En agua turbia de río de 45 NTU la remoción de turbidez fue de 76% y una reducción de *E. coli* del 93%, con *M. oleifera*.

Asrafuzzaman *et al.* (2011) estudiaron el uso de la *M. oleifera*, *Cicer arietinum* (garbanzo o chícharo) y *Dolichos lablab* (poroto o judía) como coagulantes naturales, para reducir la turbidez de agua sintética. En el caso específico de la *M. oleifera*, las dosis usadas fueron 50, 60, 70, 80, 90 y 100mg/L; la turbidez del agua utilizada, se tomó como agua de alta turbidez (100 NTU), media turbidez (48 NTU) y baja turbidez (25 NTU). La turbidez fue medida antes y después del tratamiento. Ellos concluyeron que la *M. oleifera* tiene un mejor desempeño en aguas de alta turbidez que en aguas con turbidez media o baja.

Almidón: Es un polímero de α -glucosa, en el que los monómeros se encuentran unidos por enlaces 1-4 y, ocasionalmente, se ramifican, formando un enlace adicional en posición 1-6. Es la forma principal en la que se almacena el carbohidrato en los tejidos de la mayoría de las especies vegetales superiores y se acumula en las hojas de las plantas y en tejidos no fotosintéticos, especialmente, los implicados en la reproducción, tales como semillas, frutos y tubérculos.

El almidón, además de ser consumido como tal, se puede

someter a una variedad de procedimientos de transformación que cambian sus propiedades funcionales y lo convierten en estabilizante, emulgente y gelificante.

En Colombia, se han realizado investigaciones sobre la utilización de coagulantes naturales, como el almidón de yuca y el de maíz, los cuales, han sido evaluados junto con el sulfato de aluminio B y un polielectrolito comercial, como agentes coagulantes de aguas crudas superficiales. Los resultados obtenidos mostraron un buen desempeño del almidón de maíz, comparable con el polielectrolito y mejor que el sulfato de aluminio B; por el contrario, el almidón de yuca presentó un mal desempeño en estas condiciones y fue el menos efectivo de los agentes coagulantes evaluados (Rodríguez *et al.* 2007).

Antov *et al.* (2010) utilizaron extractos del frijol común (*Ph. vulgaris*) y reportan que las semillas son una fuente potencial de coagulante. El objetivo del estudio fue la purificación parcial de los componentes activos de coagulación extraídos de la semilla del frijol común (CBS) y concluyen que el extracto purificado del CBS tiene una capacidad coagulante 22 veces mayor que la del extracto crudo.

Samanea saman: González *et al.* (2006) estudiaron el exudado gomoso de *S. saman* como coagulante natural, estableciendo su dosis óptima, mediante la prueba de jarras y determinando los parámetros de turbidez, color, pH, alcalinidad total, número más probable y conteo de heterótrofos, usando para ello, agua turbia sintética inoculada con un cultivo puro de *E. coli* y solución de coagulante en dosis de 10-500mg/L, con valores de turbidez inicial entre 10-100 NTU. La dosis óptima del coagulante resultó entre 10-25mg/L, obteniendo disminuciones significativas en los valores de turbidez (1 NTU) y color (5 UC), demostrando así la eficiencia de este coagulante natural.

Algas: El agar o agar-agar es un polisacárido que se obtiene de algas del género *Gelidium*, algas que se han utilizado en la cocina tradicional japonesa, por sus propiedades gelificantes, desde hace muchos siglos. El agar se considera formado por la mezcla de dos tipos de polisacáridos: la agarosa y la agarpectina. La agarosa y la agarpectina, se diferencian por la presencia de restos de sulfato y de piruvato, relativamente abundantes en la agarpectina y muy escasos (idealmente, ausentes) en la agarosa. Existe una gradación de tipos entre la agarosa y la agarpectina muy sulfatada. Precisamente, las algas sintetizan el agar en forma sulfatada, produciéndose la anhidrogalactosa en la eliminación enzimática del sulfato.

Prado *et al.* (2011) reportaron haber trabajado con la agarosa catiónica con diferentes grados de sustitución (DS), preparada por reacción de la agarosa comercial, con 3-clo-

ro-2-cloruro de hidroxipropiltrimetilamonio (CHPTAC) y evaluaron, por primera vez, su rendimiento floculante, empleando suspensiones de caolín, como sistemas modelo. Para esta prueba usaron cuatro agarosas cationizadas con diferentes grados de sustitución: CAG04 (DSEA=0.04), CAG19 (DSEA=0.19), CAG58 (DSEA=0.58) y CAG77 (DSEA=0.77) y se adicionaron a una agua con turbidez inicial de 100 NTU. Como resultado de la floculación, encontraron que la turbidez residual, luego de 15 min (fin de la prueba), era de 25 NTU para una dosis óptima de 2-4mg del agente floculante CAG04 y CAG19 por gramo de caolín.

En la tabla 1, se relacionan los coagulantes naturales catiónicos, aniónicos y no iónicos evaluados y considerados positivos en la reducción de turbidez. De lo anterior, se puede destacar que diferentes autores reportan a la especie *M. oleifera*, con un porcentaje de remoción, que oscila entre el 94 y el 96%, lo que la coloca en primer lugar en cuanto a desempeño como coagulante natural respecto a las otras especies evaluadas, seguida de las diferentes variedades de *opuntia*, cuyos porcentajes de remoción están en el rango del 90 - 92%. También, se destaca el excelente desempeño del Tanfloc (coagulante a base de taninos), que presenta una remoción del 100%, aumentando la dosis de coagulante y disminuyendo la turbidez inicial. La desventaja que se destaca es que no muchos investigadores han reportado el uso de esta especie. Por último, sobresale que los materiales vegetales que muestran los mejores desempeños y sobre los cuales se ha investigado ampliamente son los de carácter catiónico.

CONCLUSIONES

Algunas ventajas del uso de los coagulantes naturales, en comparación con el alumbre ($KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$), en el tratamiento del agua son:

- Bajos requerimientos en la dosis del coagulante, volumen reducido en producción de lodo, reducido aumento en la carga iónica del agua tratada y economías en el costo entre 25-30%.
- Todos los extractos, de origen vegetal, ensayados y reportados por la literatura son eficientes en la remoción de turbidez del agua, comparados con el sulfato de aluminio.
- La adición de coagulantes naturales, como ayudas de coagulación, reducen significativamente la dosis del coagulante sulfato de aluminio.
- Los lodos producidos en el tratamiento de aguas crudas reportados por la literatura son biodegradables.

Tabla 1. Productos naturales evaluados y considerados positivos para reducir la turbidez.

MATERIAL VEGETAL	TURBIDEZ INICIAL (NTU)	EFICIENCIA DE REMOCIÓN (%)	DOSIS ÓPTIMA (mg/L)	REFERENCIA
Coagulantes aniónicos Nirmali (<i>Strychnos potatorum</i>)	18 – 21; 38 – 42; 130 - 135	83 - 88	1,0 – 2,0	Babu & Chaudhuri, 2005
Coagulantes catiónicos · <i>Moringa oleifera</i>	18 – 21; 38 – 42; 130 - 135	94,0 – 99,0	100-200	
· <i>Amorpha fruticosa</i> (Falso Indigo Bush)	17,5; 30; 70	80; 70; 80	5 ; 5 ; 10	Šćiban <i>et al.</i> 2005
· <i>Ceratonia siliqua</i> (Carob)	17,5; 30; 70	100; 80; 80	20; 10; 10	
· <i>Robinia pseudoacacia</i> (Black Locust)	17,5; 30; 70	60; 60; 60	5; 10; 10	
· <i>Phaseolus vulgaris</i> (Cargamanto)	17,5; 30; 70	80; 60; 65	5; 10; 10	
· <i>Cactaceous opuntia</i>	176	90	30 - 50	Zhang <i>et al.</i> 2006
· Polímero catiónico a base de Tanino (TBP) pH entre 4,0 y 7,0	100	85	0,15 – 0,30	Graham <i>et al.</i> 2008
· <i>Acacia siamea</i> (exudado gomoso)	10 - 100	80 - 95	50	Fernández <i>et al.</i> 2008
· <i>Opuntia</i> spp.	125	90 - 92	5 – 15	Miller <i>et al.</i> 2008
· <i>Moringa oleifera</i>	125	90 - 92	15	
· <i>Aesculus hyppocastanum</i> (Castaño)	70; 35; 17,5	40 – 85	0,5	Šćiban <i>et al.</i> 2009
· <i>Castanea sativa</i> (Castaño común)	70; 35; 17,5	40 – 85	0,5	
· <i>Quercus robur</i> (Roble común)	70; 35; 17,5	40 – 85	0,5	
· <i>Quercus cerris</i> (Roble turco)	70; 35; 17,5	40 – 85	0,5	
· <i>Quercus rubra</i> (Roble rojo)	70; 35; 17,5	40 – 85	0,5	
· <i>Moringa oleifera</i>	49	96 ± 2	250	
· <i>J. curcas</i>	49	95 ± 1	50	
· <i>Schinopsis balansae</i> (Quebracho)	123	80 – 95	0,25	Beltrán <i>et al.</i> 2010
· <i>Acacia mearnsii</i> (Acacia Australiana)	200	75	12,5	Beltrán <i>et al.</i> 2011
· Tanfloc (Coagulante a base de taninos)	100	50 – 60	2	Sánchez <i>et al.</i> 2010a
· Tanfloc (Coagulante a base de taninos)	80	100	20	Sánchez <i>et al.</i> 2010b
· <i>Moringa oleifera</i>	80	95	20	
· <i>Silvafloc</i> (Coagulante a base de taninos)	80	85	20	
· <i>Phaseolus vulgaris</i> (Frijol común)	35	72.3	0,7 – 1,0	Antov <i>et al.</i> 2010
· <i>Moringa. oleifera</i>	90 - 120	86,9	50	Asrafuzzaman <i>et al.</i> 2011
· <i>Dolichos lablab</i>	90 - 120	84,5	50	
· <i>Cicer arietinum</i>	90 - 120	93,8	50	
Coagulantes no iónicos: · <i>Cyamopsis tetragonolobus</i> (Goma Guar)	49	90 ± 2	50	Pritchard <i>et al.</i> 2009

- Los almidones catiónicos son coagulantes potenciales para remover algas comparados con los coagulantes inorgánicos. Además, requieren bajas dosis.
- Los coagulantes de taninos modificados presentan un buen rendimiento como coagulantes para la remoción de turbidez y color, comparados con el sulfato de aluminio.
- Los coagulantes orgánicos naturales (NOCs) se han caracterizado, ampliamente, por su potencial alternativa a los coagulantes metálicos en el tratamiento de agua.

RECOMENDACIONES

Por lo expuesto anteriormente, se hace necesario la formulación de proyectos de investigación para la búsqueda de alternativas, que incluyan la utilización de coagulantes de origen vegetal, que sean amigables con el medio ambiente e inocuas para la salud humana al ser utilizados en la remoción de turbidez, en procesos de tratamiento de aguas superficiales.

Se propone estudios más específicos a los reportados en el presente trabajo, para lograr una identificación química completa de los coagulantes naturales, extraídos de especies nativas de cada región.

Se recomienda la identificación y la clasificación botánica de plantas nativas con potenciales propiedades aglutinantes y seguidamente en proyectos subsiguientes investigar sobre la obtención del polímero natural proveniente de cada especie y su aplicación en el proceso de clarificación de agua en aguas sintéticas.

Realizar estudios de aplicación para aguas superficiales reales con alta turbiedad utilizando los polímeros naturales identificados en cada región geográfica, como coagulante y coadyuvante en el proceso de clarificación.

Conflicto de intereses: Este manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores que en él aparecen, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de intereses que pongan en riesgo la validez de los resultados acá presentados.

BIBLIOGRAFÍA

1. ANTOV, M.G.; ŠĆIBAN, M.B.; ADAMOVIĆ, S.R.; KLAŠNJA, M.T. 2007. Investigation of isolation conditions and ion-exchange purification of protein coagulation components from common bean seed. *BI-BLID*: 1450-7188. 38:3-10.
2. ANTOV, M.G.; ŠĆIBAN, M.B.; PETROVIĆ, N.J. 2010. Protein from common bean (*Phaseolus vulgaris*) seed as a natural coagulant for potential application in water turbidity removal. *Biores. Techn.* 101:2167-2172.
3. ARBOLEDA VALENCIA, J. 1992. Teoría y Práctica de la purificación del agua. Ed. Acodal. Colombia. 72p.
4. ASRAFUZZAMAN, M.D.; FAKHURUDDIN, A.N.M.; ALAMGIR HOSSAIN, M.D. 2011. Reduction of turbidity of water using locally available natural coagulants. *Int. Scholarly Res. Network. ISRN Microbiology. Article ID 632189.* 6p.
5. BABU, R.; CHAUDHURI, M. 2005. Home water treatment by direct filtration with natural coagulant. *J. Water Health.* 3:27-30.
6. BELTRÁN-HEREDIA, J.; SÁNCHEZ-MARTÍN, J.; GÓMEZ-MUÑOZ, M.C. 2010. New coagulant agents from tannin extract: preliminary optimization studies. *Chem. Eng. J.* 162:1019-1025.
7. BELTRÁN-HEREDIA, J.; SÁNCHEZ-MARTÍN, J.; DÁVILA-ACEDO, M.A. 2011. Optimization of the synthesis of a new coagulant from a tannin extract. *J. Haz. Mat.* 186:1704-1712.
8. BOLTO, B.A. 1995. Soluble polymer in water purification. *Prog. Polym. Sci.* 20:987-1041.
9. BOLTO, B.; GREGORY, J. 2007. Organic polyelectrolytes in water treatment. *Water Res.* 41:2301-2324.
10. CRITTENDEN, J.C.; TRUSSELL, R.R.; HAND, D.W.; HOWE, K.J.; TCHOBANOGLOUS, G. 2005. *Water treatment principles and design*, 2nd ed.; John Wiley and Sons, Inc.: Hoboken, New Jersey. 578p.
11. DEMPSEY, B. 2006. Coagulant characteristics and reactions. En: Newcombe, G.; Dixon, D. (Eds.) *Interface Science in Drinking Water Treatment: Theory and Applications*. Arthur Hubbard (Series Editor), *Interface Science and Technology - Vol. 10*, Elsevier, The Netherlands, 5p.
12. FERNÁNDEZ, A.; CHÁVEZ, M.; HERRERA, F.; MAS Y RÚBI, M.; MEJIAS, D.; DÍAZ, A. 2008. Evaluación del exudado gomoso de *Acacia siamea* como coagulante en la clarificación de las aguas para consumo humano. *Rev. Tec. Ing. U. Zulia.* 31(Ed. Especial):32-40.
13. FLATEN, T.P. 2001. Aluminium as a risk factor in Alzheimer's disease, with emphasis on drinking water. *Brain Res. Bull.* 55:187-196.

14. FUENTES, L.; MENDOZA, I.; ÁNGELA, S.; LÓPEZ, M.; CASTRO, M.; URDANETA, C. 2011. Efectividad de un coagulante extraído de *Stenocereus griseus* (Haw.) Buxb. en la potabilización del agua. Rev. Téc. Ing. U. Zulia. 1(34):48-56.
15. GANJIDOUST, H.; TATSUMI, K.; YAMAGISHI, T.; GHOLIAN, R.N. 1997. Effect of syntethic and natural coagulant on ligning removal from pulp and paper waste water. Water Sci. Techn. 35:286-291.
16. GASSENSCHMIDT, U.; JANY, K.K.; TAUSCHER, B.; NIEBERGALL, H. 1995. Isolation and characterization of a flocculation protein from *Moringa oleifera* Lam, BBA. Biochem. Biophys. Acta. 1243:477-481.
17. GHEBREMICHAEL, K.A.; GUNARATNA, K.R.; HENRIKSSON, H.; BRUMER, H.; DALHAMMAR, G.A. 2005. A simple purification and activity assay of the coagulant protein from *Moringa oleifera* seed. Water Res. 39:2338-2344.
18. GOYCOOLEA, F.; CÁRDENAS, A. 2004. Pectins from *Opuntia* spp.: a short review. J. Profess. Assoc. Cactus Develop. 5:17-29.
19. GONZÁLEZ, G.; CHÁVEZ, M.; MEJÍAS, D.; MAS Y RUBÍ, M.; FERNÁNDEZ, N.; LEÓN DE PINTO, G. 2006. Use of exudated gum produced by *Samanea saman* in the potabilization of the water. Rev. Téc. Ing. U. Zulia. 29(1):14-22.
20. GRAHAM, N.; GANG, F.; FOWLER, G.; WATTS, M. 2008. Characterization and coagulation performance of a tannin-based cationic polymer: A preliminary assessment. Coll. Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects. 327(1):9-16.
21. HAAROFF, J.; CLEASBY, J. 1988. Comparing aluminum and iron coagulants for in line filtration of cold waters. J. Am. Water Works Assoc. 80:168-175.
22. JEON, J.R.; KIM, E.J.; KIM, Y.M.; MURUJESAN, K.; KIM, J.H.; CHANG, Y.S. 2009. Use of grape seed and its natural polyphenol extracts as a natural organic coagulant for removal of cationic dyes. Chemosph. 77:1090-1098.
23. KIELY, G. 1999. Ingeniería ambiental. Fundamentos, entornos, tecnologías y sistemas de gestión. Vol. II. España. McGraw-Hill. 1331p.
24. LEE, S.H.; LEE, S.O.; JANG, K.L.; LEE, T.H. 1995. Microbial flocculant from Arcuadendron SP-49. Biotechnol. Lett. 17:95-100.
25. MATSUHIRO, B.; LILLO, L.; SÁENZ, C.; URZÚA, C.; ZÁRATE, O. 2006. Chemical characterization of the mucilage from fruits of *Opuntia ficus indica*. Carbohydrate Polymer. 63:263-267.
26. McCARTHY, J.F.; ZACHARA, J.M. 1989. Subsurface transport of contaminants. Environ. Sci. Technol. 23(5):496-502.
27. MATILAINEN, A.; VEPSÄLÄINEN, M.; SILLANPÄÄ, M. 2010. Natural organic matter removal by coagulation during drinking water treatment: A review. Adv. Colloid Interface Sci. 159:189-197.
28. MEDINA-TORRES, L.; BRITO-DE LA FUENTE, E.; TORRESTIANA-SÁNCHEZ, B.; KATTHAIN, R. 2000. Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus indica*). Food Hydrocoll. 14:417-424.
29. MILLER, R.G.; KOPFLER, F.C.; KELTY, K.C.; STOBBER, J.A.; ÜLMER, N.S. 1984. The occurrence of aluminum in drinking water. J. Am. Water Workers Assoc. 76:84-91.
30. MILLER, S.M.; FUGATE, E.J.; CRAVER, V.O.; SMITH, J.A.; ZIMMERMAN, J.B. 2008. Toward understanding the efficacy and mechanism of *Opuntia* spp. as a natural coagulant for potential application in water treatment. Environ. Sci. Technol. 42:4274-4279.
31. MUZYUBI, S.A.; EVINSON, L.M. 1995 Optimizing physical parameters affecting coagulation of turbid water with *Moringa oleifera* seeds. Wat. Res. 29(12):2689-2695.
32. NDABIGENGESERE, A.; NARASIAH, K.S.; TALBOT, B.G. 1995. Active agent and mechanism of coagulation of turbid waters using *Moringa oleifera*. Wat. Res. 29(2):703-710.
33. OKUDA, T.; BAES, A.U.; NISHIJIMA, W.; OKADA, M. 2001. Isolation and characterization of coagulant extracted from *Moringa oleifera* seed by salt solution. Wat. Res. 35:405-410.
34. ÖZACAR, M.; SENGIL, I.A. 2000. Effectiveness of tannins from valonia as a coagulant aid for dewatering of sludge. Wat. Res. 34(4):1407-1412.

35. ÖZACAR, M.; SENGIL, I.A. 2003. Evaluation of tannin biopolymer as a coagulant aid for coagulation of colloidal particles. *Colloids and Surfaces A. Physicochem. Eng. Aspects.* 229:85-96.
36. PRADO, H.; MATULEWICZ, M.; BONELLI, P.; CUKIERMAN, A. 2011. Potential use of a novel modified seaweed polysaccharide as flocculating agent. *Desalin.* 281:100-104.
37. PRITCHARD, M.; MKANDAWIRE, T.; EDMONDSON, A.; O'NEILL, J.G.; KULULANGA, G. 2009. Potential of using plant extracts for purification of shallow well water in Malawi. *Phys. Chem. Earth.* 34:799-805.
38. PRITCHARD, M.; CRAVEN, T.; MKANDAWIRE, T.; EDMONDSON, A.S.; O'NEILL, J.G. 2010. A comparison between *Moringa oleifera* and chemical coagulants in the purification of drinking water – An alternative sustainable solution for developing countries. *Phys. Chem. Earth.* 35:798-805.
39. RODRÍGUEZ M., J.P.; LÚGO U., I.P.; ROJAS C., A.V.; MALAVER C., C. 2007. Evaluación del proceso de la coagulación para el diseño de una planta potabilizadora. *Umbral Científico.* 11:8-16.
40. ROMERO, J. 2000. Calidad del Agua. Escuela Colombiana de Ingeniería. p.452-468.
41. SAAG, L.; SANDERSON, G.; MOYNA, P.; RAMOS, G. 1975. Cactasea mucilage composition. *J. Sci. Food Agr.* 26:993-1000.
42. SÁNCHEZ-MARTÍN, J.; BELTRÁN-HEREDIA, J.; SOLERA-HERNÁNDEZ, C. 2010a. Surface water and wastewater treatment using a new tannin-based coagulant. *Pilot Plant Trials. J. Environ. Managem.* 91:2051-2058.
43. SÁNCHEZ-MARTÍN, J.; GONZÁLEZ-VELASCO, M.; BELTRÁN-HEREDIA, J. 2010b. Surface water treatment with tannin-based coagulant from Quebracho (*Schinus molle*). *Chem. Eng. J.* 165:851-858.
44. SANGHI, R.; BHATTACHARYA, B.; SINGH, V. 2002. *Cassia angustifolia* seed gum as an effective natural coagulant for decolourisation of dye solutions. *Green Chem.* 4:252-254.
45. SANTOS, A.F.S.; LUZ, L.A.; ARGOLLO, A.C.C.; TEIXEIRA, J.A.; PAIVA, P.M.G.; COELHO, L.C.B.B. 2009. Isolation of a seed coagulant *Moringa oleifera* lectin. *Process Biochem.* 44:504-508.
46. ŠĆIBAN, M.; KLAŠNJA, M.; STOJIMIROVIC, J. 2005. Investigation of coagulation activity of natural coagulants from seeds of different leguminose species. *Acta Periodica Technol.* 36:81-87.
47. ŠĆIBAN, M.; KLAŠNJA, M.; ANTOV, M.; ŠKRBIĆ, B. 2009. Removal of water turbidity by natural coagulants obtained from chestnut and acorn. *Biores. Techn.* 100:6639-6643.
48. SCHULTZ, C.R.; OKUN, D.A. 1992. Surface water treatment for communities in developing countries. John Wiley and Sons Inc. Intermediate Technology Publications, Grand Britain. 300p.
49. TRACHTENBERG, S.H.; MAYER, A. 1981. Calcium oxalate crystals in *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.: development and relation to mucilage cells— A Stereological analysis. *Protoplasma,* 109:271-283.
50. VARGAS CAMARENO, M.; ROMERO ESQUIVEL, L.G. 2006. Aprovechamiento de algunos materiales en el desarrollo de coagulantes y floculantes para el tratamiento de aguas en Costa Rica. *Tecn. Marcha.* 19(4):37-41.
51. YANG, Y.C.; ABDUL-TALIB, S.; PEI, L.Y.; NIZAN ISMAIL, M.S.; AISAH ABD-RAZAK, S.N.; MAHYUDDIN MOHD-MOHTAR, A. 2008. A study on cactus *Opuntia* as natural coagulant in turbid water treatment. Disponible desde Internet en: <http://ptarpp2.uitm.edu.my/suhaimiabdualib/fulltext/A%20Study%20On%20Cactus.pdf> (con acceso 12/04/2012).
52. YIN, C.Y. 2010. Emerging usage of plant-based coagulants for water and wastewater treatment. *Process Biochem.* 45:1437-1444.
53. YONGABI, K.A. 2004. Studies on the potential use of medicinal plants and macrofungi (lower plants) in water and wastewater purification. FMENV/ZERI Res. Centre. Abubakar Tafawa Balewa U. Bauchi. Nigeria. Disponible desde Internet en: <http://www.botech.kth.se/iobb/news/e-sem-05.html> (con acceso 10/04/2012).
54. ZHANG, J.; ZHANG, F.; LIU, Y.; YANG, H. 2006. A preliminary study on cactus as coagulant in water treatment. *Process Biochem.* 41:730-733.

Recibido: Agosto 14 de 2012

Aceptado: Enero 24 de 2013

EQUILIBRIO DE ADSORCIÓN DEL COLORANTE AZUL DE METILENO SOBRE CARBÓN ACTIVADO

ADSORPTION EQUILIBRIUM OF METHYLENE BLUE DYE ON ACTIVATED CARBON

Grey Castellar¹, Edgardo Angulo², Alejandra Zambrano³, Dianis Charris⁴

¹ M.Sc. Universidad Autónoma del Caribe, Grupo de Investigación en Química Ambiental, Barranquilla, Atlántico. Email: grey.castellar@uac.edu.co; ² M.Sc. Universidad del Atlántico, Grupo de Investigación en Biotecnología de Microalgas. Email: edganguelo20@gmail.com; ^{3,4} Esp. Universidad del Atlántico, Grupo de Investigación en Biotecnología de Microalgas.

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 263 - 271, 2013

RESUMEN

Los colorantes sintéticos son una clase importante de compuestos orgánicos que, con frecuencia, se encuentran en el medio ambiente, como resultado de su amplio uso industrial, convirtiéndose en agentes que, desafortunadamente, afectan la ecología. La disposición de estos colorantes a los recursos de agua se debe evitar; para tal efecto, se utilizan varias técnicas de tratamiento, siendo la adsorción una de las más empleadas. Este artículo presenta un estudio sobre la adsorción del colorante azul de metileno (AM) en disolución acuosa sobre carbón activado granular (CAG) a 25°C. Se realizaron experimentos por lote para determinar el efecto de la concentración inicial (300-1100mg dm⁻³) y del pH (4-8), sobre la capacidad de adsorción y el porcentaje de remoción. Las isothermas de equilibrio fueron analizadas a partir de las ecuaciones de Langmuir y Freundlich usando el coeficiente de correlación. Los datos experimentales muestran un ajuste satisfactorio con el modelo de isoterma de Langmuir. Los valores de capacidad máxima de adsorción de AM en monocapa obtenidos fueron de 76,3; 79,4; 80,6; 83,3 y 87mg g⁻¹ a los pH de 4, 5, 6, 7 y 8, respectivamente.

Palabras clave: Colorantes sintéticos, contaminación, carbón activado, isothermas de adsorción.

SUMMARY

Synthetic dyes are an important class of organic compounds, which unfortunately are agents affecting the ecology, often found in the environment as a result of their widespread industrial use. The disposal of these dyes into water resources should be avoided, therefore different treatment techniques are used, being adsorption one of the most employed. This paper presents a study on the adsorption of methylene blue dye (MB) in aqueous solution on granular activated carbon

(GAC) at 25°C. Batch experiments were conducted to determine the effect of the initial concentration (300-1100mg dm⁻³) and pH (4-8), on the adsorption capacity and rate of removal. The results show that the amount of MB removed increases when increasing both the initial concentration and pH. The equilibrium isotherms were analyzed based on the Langmuir and Freundlich equations using the correlation coefficient. The experimental results showed a satisfactory fit to the Langmuir isotherm. The values of maximum adsorption capacity of MB in monolayer obtained were 76.3, 79.4, 80.6, 83.3 and 87mg g⁻¹ at pH 4, 5, 6, 7 and 8 respectively.

Key words: Synthetic dyes, contamination, activated carbon, adsorption isotherms.

INTRODUCCIÓN

Los colorantes son usados ampliamente en la industria de textiles, de caucho, de papel, de plásticos y de cosméticos, con el propósito de colorear (Malik, 2003). La descarga de aguas coloreadas a los cuerpos de agua causa serios problemas al medio ambiente, como la disminución de la actividad fotosintética, debido a la interferencia en la penetración de la luz (Choy *et al.* 2004) e inhiben la reacción de los agentes oxidantes (Ramakrishna & Vlraraghavan, 1997). Es importante señalar, además, que algunos colorantes tienen efecto tóxico, cancerígeno (Wang *et al.* 2005) y mutagénico, por la tendencia a formar quelatos de iones metálicos que producen microtoxocidad, tanto para la vida acuática como humana (Suhás *et al.* 2007); por lo tanto, antes de verterlos a los cuerpos de agua se hace necesario removerlos (Díaz-Velázquez *et al.* 2007; Wachowski *et al.* 2007).

Se conocen alrededor de 100.000 colorantes comerciales y más de 700.000t métricas se producen anualmente, de las cuales, 35.000-70.000 se descargan en las aguas residuales

(Tunc *et al.* 2009; Dafale *et al.* 2008). Colombia no es ajena a esta realidad y, más aun, con la apertura de nuevos mercados de comercio en el exterior, como los Tratados de Libre Comercio, que se han firmado con varios países, que prevé a futuro un crecimiento industrial, principalmente del sector textil, por lo que se hace indispensable disminuir los impactos negativos al medio ambiente (Peña & Tobón, 2006).

Las técnicas para la eliminación de colorantes en aguas residuales se pueden dividir en tres importantes categorías: los métodos químicos, biológicos y físicos. El tratamiento químico utiliza agentes coagulantes o floculantes para eliminar el color, pero no es bueno para colorantes que son muy solubles (Shi *et al.* 2007). Por otro lado, el tratamiento biológico tiene dificultades para eliminar colorantes de efluentes de manera continua; además, se requiere de tiempos más prolongados en los procesos de decoloración-fermentación (Robinson *et al.* 2001) y, por último, los tratamientos físicos, como la filtración por membrana, la destrucción electroquímica, la irradiación, la ozonización y la adsorción, entre otros, se usan ampliamente para el tratamiento de colorantes en aguas residuales. La mayoría de estos procesos son costosos y conducen a la generación de lodos o la formación de subproductos (Hameed & El-Khaiary, 2008); sin embargo, se conoce que la adsorción es el método más eficaz, sobre todo si el adsorbente es barato y muestra una alta capacidad de adsorción para la eliminación de colorantes de las aguas residuales (Ahmad & Alrozi, 2010). Los carbones activados, por su gran porosidad, son usados ampliamente como adsorbentes en las operaciones industriales de purificación y de recuperación química, que se debe a su extensa área superficial, entre 500 y 2000m² g⁻¹, su gran volumen de poro y la presencia de grupos funcionales superficiales, en especial, grupos oxigenados (Bansal *et al.* 1988).

Esta investigación evaluó la capacidad de adsorción de un carbón activado comercial en la remoción del colorante azul de metileno (AM) en disolución acuosa, modificando el pH y la concentración inicial de las disoluciones estudiadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Caracterización del carbón activado: La caracterización física del carbón activado, se evaluó, parcialmente, mediante el análisis de textura, a partir de la isoterma de adsorción-desorción de nitrógeno, a 77 K. Para tal efecto, se utilizó un sortometro Micromeritics Gemini III 2375; la cantidad de carbón activado utilizado fue de 0,1207 g y su desgasificación tuvo lugar a 250°C. Para las isotermas, se tomaron ochenta (80) puntos de adsorción y veinte (20) de desorción; se empleó el modelo de BET para hallar el área superficial (Ahmad *et al.* 2007; Shi *et al.* 2010). En la caracterización química del carbón activado, se determinó el contenido de humedad, de material volátil y de cenizas; de igual manera, se analizó el

contenido de carbono, de hidrógeno, de azufre y de oxígeno por diferencia, según las normas ASTM.

Estudio por lote: Para el estudio por lote el carbón activado, se lavó con agua destilada y, posteriormente, se secó a 100°C, durante 12 horas. Se preparó una disolución "stock" de 3000mg dm⁻³ de AM (fórmula molecular C₁₆H₁₈N₃ClS, masa molar 319,85g mol⁻¹), disolviendo la cantidad requerida de AM en agua destilada. A partir de la disolución "stock", se prepararon diluciones de concentraciones entre los 300mg dm⁻³ hasta los 1100mg dm⁻³, ajustándole el pH a valores comprendidos entre 4,0 - 8,0 ± 0, con HCl y NaOH 0,1 M. A 1000 mg del carbón activado se le adicionaron 100cm³ de cada una de las diluciones; luego, se colocaron en un agitador horizontal, a 170rpm, por 16 horas, tiempo estimado para alcanzar la condición de equilibrio (Ahmad *et al.* 2007), a la temperatura del laboratorio 25°C ± 1°C. Finalizada la agitación, se separó el carbón activado por filtración y se analizó la concentración de AM, usando un espectrofotómetro BECKMAN DU 64 UV/VIS a 660nm.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización del carbón activado: A partir de los datos de la isoterma de adsorción-desorción de nitrógeno a 77 K fue posible calcular las propiedades de textura para el carbón activado utilizado. Para hallar el área superficial, se aplicó el método propuesto por S. Brunauer, P. Emmett y E. Teller, a través de la ecuación de BET (Brunauer *et al.* 1938):

$$\frac{p_r}{n^s (1 - p_r)} = \frac{1}{n_m c} + \frac{c-1}{n_m} p_r \quad (1)$$

donde es la razón entre la presión de equilibrio (P) y la presión de saturación del nitrógeno (P^s), n^s es la cantidad adsorbida por unidad de masa (mol g⁻¹), n_m es la cantidad necesaria para formar la monocapa y es una constante.

Al graficar $\frac{P_r}{n^s(1-P_r)}$ versus P_r , se obtiene el gráfico de BET, cuya porción lineal típicamente se extiende hasta un valor de 0,3 para P_r .

El valor de n_m se calculó a partir de los parámetros intercepto y pendiente de la recta que se ajustó a los datos experimentales. El área superficial específica (α_{BET}), se obtuvo a partir de la ecuación 2:

$$\alpha_{BET} = L n_m a_m \quad (2)$$

donde L es el valor numérico del número de Avogadro y α_m es el área transversal ocupada por una molécula de N₂ (0,16 nm²). Las propiedades fisicoquímicas, como área superficial específica, material volátil, cenizas, contenido de carbono y otras propiedades, se muestran en la tabla 1.

Aunque el área superficial del carbón activado empleado en este estudio se puede considerar aceptable, la capacidad de adsorción de los materiales no solamente se puede interpretar en términos de sus propiedades físicas, sino que también influye su química de superficie (Orfão *et al.* 2006), que juega un papel importante en su rendimiento como adsorbente (Bansal *et al.* 1988). La química de superficie depende de la presencia de heteroátomos, principalmente oxígeno (Tabla 1), que forma grupos funcionales orgánicos, como ácidos carboxílicos, lactonas, fenoles, carbonilos, quinonas, aldehídos, éteres, anhídridos e, incluso otros (Boehm, 1994), que pueden ser tanto ácidos como básicos y, dependiendo del pH del medio, afectan la extensión de la adsorción. El alto contenido de cenizas y de humedad presentes en el CAG empleado, disminuyen la cantidad realmente efectiva de adsorbente.

Tabla 1. Principales características del adsorbente.

Parámetro	Valor
Área superficial ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$) (basado en BET)	631
Contenido de cenizas (base seca) (%)	13,70
Contenido de humedad (%)	15,24
Materia volátil (%)	8,41
Análisis elemental (%)	
C	78,89
H	2,5
N	0,59
O (por diferencia)	3,25
S	1,07

Efecto de la concentración inicial de AM: El efecto de la concentración inicial del colorante en el rango de 300 a 1100 mg dm^{-3} con una dosis de adsorbente de 10 g dm^{-3} , sobre el porcentaje de remoción y la capacidad de adsorción del CAG, se muestra en la figura 1. Al aumentar la concentración inicial desde 300 mg dm^{-3} hasta 1100 mg dm^{-3} a pH 8, el porcentaje de remoción del AM disminuye desde 99,9% a 80,2%, respectivamente. Esta misma tendencia, se observa para los otros pH estudiados. El anterior comportamiento, se debe a la mayor disponibilidad de sitios activos de adsorción a bajas concentraciones, en consecuencia, gran parte de las moléculas de AM pueden ser removidas de la disolución. A medida que la concentración inicial aumenta más moléculas de AM compiten por los sitios disponibles y aun después de haber alcanzado el equilibrio, quedan moléculas en la disolución, lo que reduce el porcentaje de remoción (Ahmad & Alrozi, 2010; Baskaralingam *et al.* 2007). En lo que respecta

a la capacidad de adsorción, su valor se incrementa desde 30,5 mg g^{-1} a 87,0 mg g^{-1} , cuando aumenta la concentración inicial desde 300 mg dm^{-3} hasta 1100 mg dm^{-3} a pH 8; igual tendencia se muestra para los otros pH. La fuerza motriz de la adsorción es la diferencia de concentración entre el soluto, en el adsorbente y en el soluto, en la disolución. Un gradiente de concentración bajo causa un transporte lento, debido a una disminución del coeficiente de difusión o coeficiente de transferencia de masa; éste mejora al aumentar la concentración inicial, ocasiona un transporte más rápido y, en consecuencia, aumenta la capacidad de adsorción (Ahmad & Hameed, 2010). Por otro lado, a bajas concentraciones existe menor cantidad de colorante en disolución que a altas concentraciones. Si se emplea la misma masa de carbón, se establece una relación cada vez mayor en la medida que aumenta la concentración inicial (Castellar & García, 2011; Chatterjee *et al.* 2005; Chiou & Li, 2003).

Isotermas de adsorción: Cuando se establece una afinidad entre el carbón activado y el AM, este último es atraído hacia el sólido, mediante diferentes mecanismos, hasta que se alcance un equilibrio entre ambos. Este equilibrio se describe mediante modelos matemáticos, mejor conocidos como isotermas de adsorción, que relaciona la cantidad de AM removido y la que permanece en disolución cuando se alcanza el equilibrio, a una temperatura constante (Ho *et al.* 2002).

Varios modelos de equilibrio se han desarrollado para ajustar los datos experimentales a las isotermas de adsorción. Los modelos de Freundlich y de Langmuir son los más ampliamente utilizados y se han aplicado en el presente trabajo.

Isoterma de Freundlich: En 1906, Freundlich estudió la adsorción de un soluto sobre carbón activado y encontró una relación de tipo exponencial entre la cantidad de soluto adsorbido y la concentración en equilibrio, que se expresa, mediante la siguiente ecuación (Freundlich, 1906):

$$q = kC_e^{\frac{1}{n}} \quad (3)$$

donde q es la cantidad de soluto removido por unidad de masa de adsorbente (mg g^{-1}), C_e es la concentración de AM en el equilibrio (mg dm^{-3}), k es la constante de equilibrio ($\text{mg g}^{-1} (\text{dm}^3 \text{mg}^{-1})^{-1/n}$) y n es una constante relacionada con la afinidad entre el adsorbente y el soluto.

La ecuación 3, se puede linealizar aplicando logaritmo natural:

$$\ln q = \ln k + \frac{1}{n} \ln C_e \quad (4)$$

De forma que, representando gráficamente $\ln q$ versus $\ln C_e$ de los valores de la pendiente y la ordenada al origen, se obtienen los parámetros de la isoterma de Freundlich.

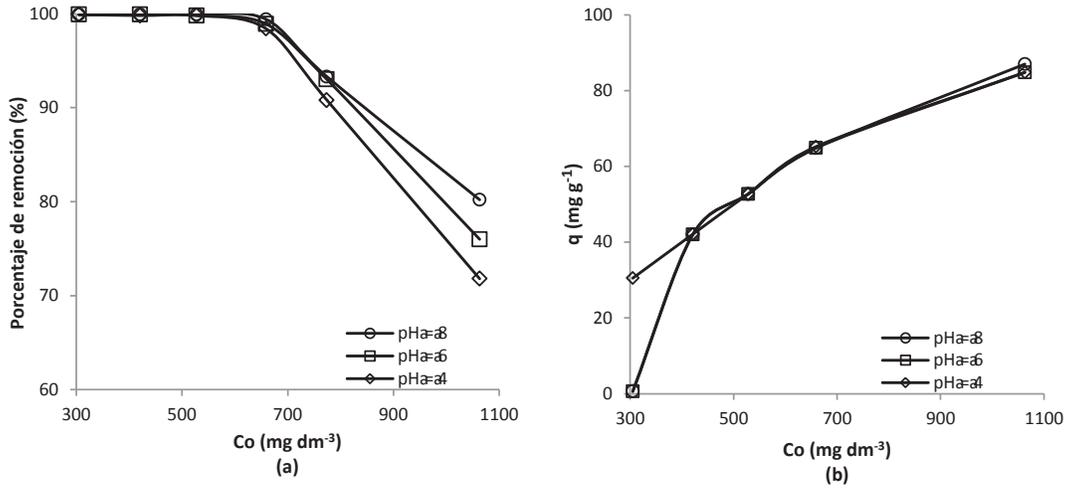


Figura 1. Efecto de la concentración inicial sobre (a) el porcentaje de remoción y (b) la capacidad de remoción.

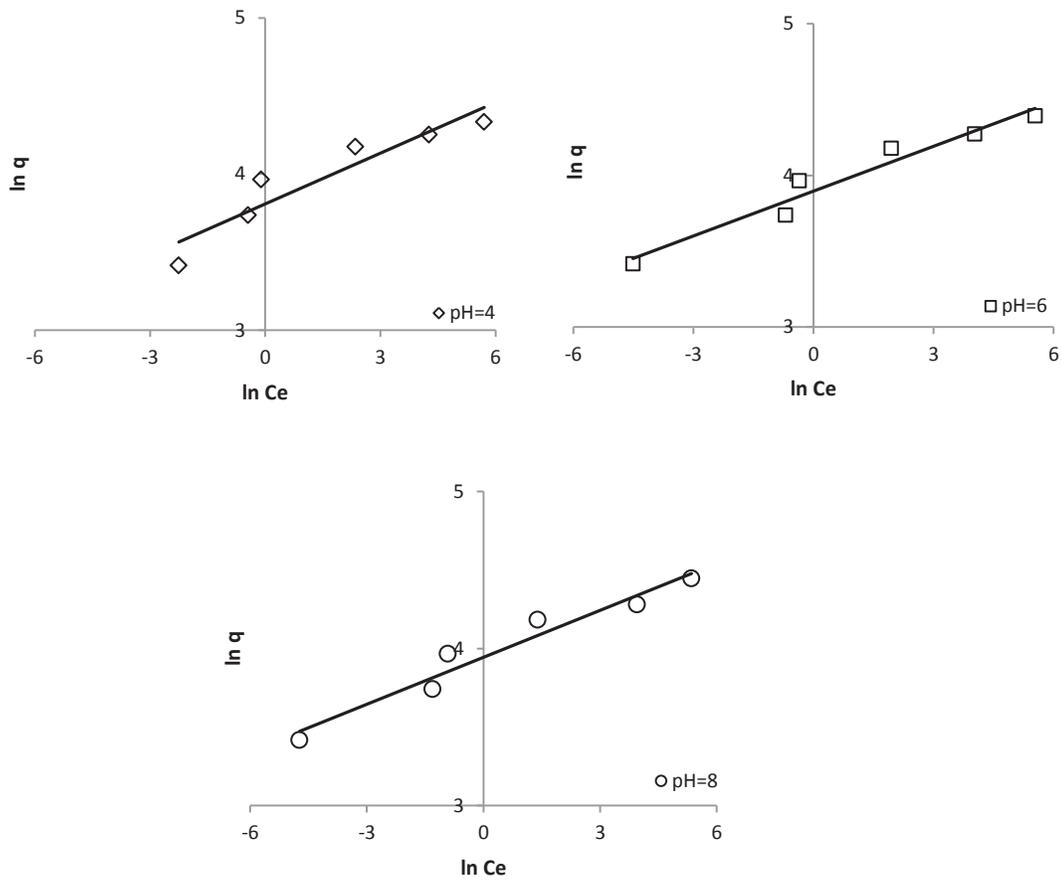


Figura 2. Comparación entre la ecuación linealizada del modelo de Freundlich y los datos experimentales a diferentes pH.

Tabla 2. Constantes de Langmuir y Freundlich.

pH	Constantes de Langmuir Coeficiente de correlación (R^2)	q_{max} ($mg\ g^{-1}$)	b ($dm^3\ mg^{-1}$)	Constantes de Freundlich Coeficiente de correlación (R^2)	K ($mgg^{-1}(dm^3\ mg^{-1})^{-1/n}$)	n
4,0	0,99	76,3	0,64	0,87	4,80	10
5,0	0,99	79,4	0,56	0,93	4,10	10
6,0	0,99	80,6	0,59	0,95	49,2	11
7,0	0,99	83,3	0,60	0,93	50,4	11
8,0	0,99	87,0	0,53	0,95	51,6	11

Este modelo supone que la superficie del adsorbente es heterogénea y que los sitios de adsorción tienen distintas afinidades; en primer lugar, se ocupan las posiciones de mayor afinidad y, posteriormente, se va ocupando el resto.

En la figura 2, se representa el ajuste de los datos experimentales a la isoterma de Freundlich y en la tabla 2, se muestran los valores obtenidos de los parámetros de este modelo. Se observa que los valores de q_{max} para todos los pH son mayores que la unidad, lo que indica que el proceso de adsorción es favorable (Wang *et al.* 2006).

Isoterma de Langmuir: El modelo de Langmuir fue originalmente desarrollado para representar la adsorción de un sistema gas-sólido con carbón activado, pero ha sido ampliamente utilizado para estudiar la adsorción de un soluto en fase líquida. En este modelo, la atracción entre las moléculas y la superficie del adsorbente se basa, fundamentalmente, en fuerzas físicas y en su aplicación se asume, por un lado, que la adsorción ocurre en sitios activos idénticos de la superficie del adsorbente con energías uniformes de adsorción y, por otro, que una vez el soluto ocupa un lugar, no puede ocurrir otra adsorción en este mismo sitio. La isoterma de Langmuir, se puede representar de la siguiente manera (Langmuir, 1916):

$$q = \left(\frac{q_{max} b C_e}{1 + b C_e} \right) \quad (5)$$

donde q_{max} y b son las constantes de Langmuir y representan la capacidad máxima de adsorción de la fase sólida ($mg\ g^{-1}$) y la constante de energía relacionada con el calor de adsorción, respectivamente ($dm^3\ mg^{-1}$). Esta ecuación, se puede escribir de forma lineal de la siguiente manera:

$$\frac{C_e}{q} = \frac{1}{b q_{max}} + \frac{C_e}{q_{max}} \quad (6)$$

En la figura 3, se muestra el ajuste de los datos experimentales a la isoterma de Langmuir y en la tabla 2 aparecen los valores de los parámetros de este modelo obtenidos. Se observa que q_{max} está en el rango de 76,3 a 87,0 $mg\ g^{-1}$ y b entre 0,64 y 0,53 $dm^3\ mg^{-1}$. De acuerdo con los resultados obtenidos, el carbón activado se podría emplear como un adsorbente efectivo y considerarse como una alternativa para la remoción de colorantes (Satish *et al.* 2011).

Para determinar el modelo de isoterma que mejor se ajustará a los datos de equilibrio experimentales, se comparó los coeficientes de correlación de ambos modelos. Los valores de R^2 para las isotermas de Langmuir y Freundlich fueron 0,99 y 0,95, respectivamente a pH 8, similar comportamiento se muestra para los otros pH estudiados. Esto indica que la isoterma de Langmuir se ajusta mejor al proceso de adsorción que la isoterma de Freundlich. Resultados similares han sido reportados para la adsorción del colorante azul de metileno sobre carbón activado, preparado a partir de residuos de madera (Hameed *et al.* 2007), de salvado de trigo deshidratado (Özner & Dursun, 2007), del tallo del algodón (Deng *et al.* 2011), de igual manera, para carbón activado comercial (Karaca *et al.* 2008; Orfão *et al.* 2006).

Se puede asumir, entonces, que en el CAG predominan los sitios activos que tienen una energía de adsorción uniforme, que estimulan la formación de monocapas de moléculas de AM, debido a las fuerzas electrostáticas (Din *et al.* 2009). Pero el ajuste satisfactorio al modelo de Freundlich sugiere que también existen sitios activos que presentan una distribución heterogénea de la energía de adsorción, que tienden a formar multicapas de moléculas de AM sobre el CAG, posiblemente, a la adsorción dimérica del AM sobre el carbón activado (Karaca *et al.* 2008).

Efecto del pH: El pH inicial de la disolución es una de las variables importantes en el proceso de adsorción porque afecta su extensión, debido a que influye en el grado de io-

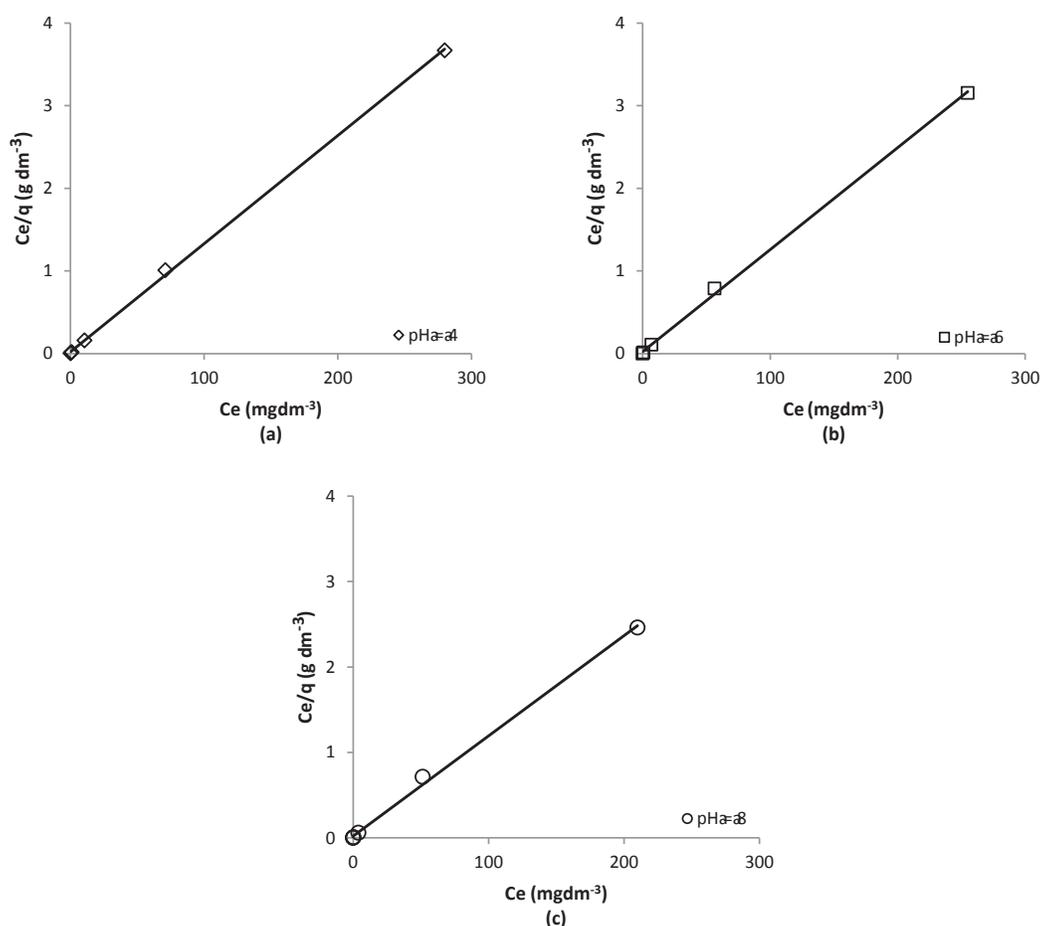


Figura 3. Comparación entre la ecuación linealizada del modelo de Langmuir y los datos experimentales a diferentes pH

nización de los compuestos ácidos y básicos (Karaca *et al.* 2008), pero además, modifica la carga de la superficie del carbón activado, aumentando o disminuyendo la capacidad de adsorción del mismo (Luo *et al.* 2006). Por lo tanto, en este estudio, se emplearon cinco diferentes pH (4, 5, 6, 7 y 8), para determinar su efecto en el equilibrio de adsorción.

La figura 4 muestra la relación entre la cantidad máxima de AM removido por unidad de masa de CAG y el pH inicial de la disolución. Como se observa, a pH 4 la capacidad de adsorción es de 76,3mg g⁻¹, mientras que, a pH 8 es de 87,0mg g⁻¹, el cual, muestra una relación directa entre el pH de la disolución y la capacidad de adsorción.

Este comportamiento, se puede explicar si se considera que en la región ácida la superficie del CAG se protona por el exceso de iones H⁺, que produce una carga neta positiva y, en consecuencia, los sitios activos del CAG generan una repulsión sobre los cationes del colorante AM, pero además, la presencia de iones H⁺ en la disolución compiten con los

cationes de AM por los sitios de unión del CAG y como resultado, se reduce el valor de la capacidad de adsorción. En la región básica, se registra la presencia de iones hidroxilos que promueven las atracciones electrostáticas con la carga positiva del colorante, mejorando, de esta manera, la capacidad de adsorción del adsorbente (Gobi *et al.* 2011).

Independiente del pH de la solución, la adsorción de AM sobre carbón activado, se favorece ampliamente, debido, en primer lugar, a las fuerzas de dispersión y a las interacciones entre los electrones π de los sitios ácidos de Lewis en el plano basal del carbón activado y los electrones libres de las moléculas de AM presentes en los anillos aromáticos y enlaces múltiples y, en segundo lugar, a los enlaces de hidrógeno (Orfão *et al.* 2006).

Este trabajo de investigación sobre la adsorción del colorante catiónico AM sobre carbón activado granular en disolución acuosa, como una función de la concentración inicial y el pH, permite concluir que cuando aumenta el pH y la

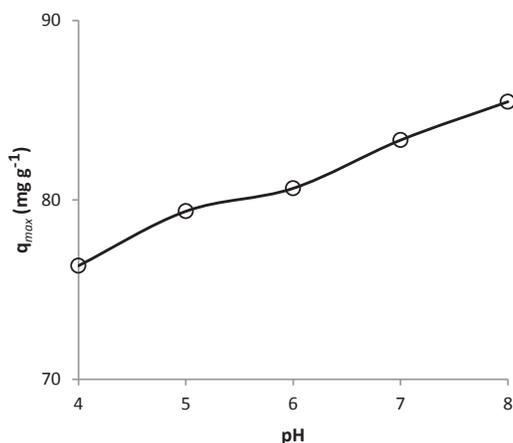


Figura 4. Efecto del pH sobre la capacidad máxima de adsorción del CAG.

concentración inicial de la disolución, mejora el proceso de adsorción. Los datos de equilibrio se ajustan significativamente al modelo de isoterma de Langmuir, que reporta una capacidad máxima de adsorción de 87,0 mg g⁻¹ y junto con los valores de mayores que la unidad, para todos los pH estudiados, muestran que el carbón activado comercial empleado favorece la adsorción del colorante AM.

Agradecimientos: Los autores de este artículo agradecen la colaboración del Grupo de Investigación en Química Ambiental de la Universidad Autónoma del Caribe y al Grupo de Investigación en Biotecnología de Microalgas de la Universidad del Atlántico. **Conflictos de intereses:** El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

- AHMAD, M.A.; ALROZI, R. 2010. Optimization of preparation conditions for mangosteen peel-based activated carbons for the removal of Remazol Brilliant Blue R using response surface methodology. *Chem. Eng. J.* 165(3):883-890.
- AHMAD, A.L.; LOH, M.M.; AZIZ, J.A. 2007. Preparation and characterization of activated carbon from oil palm wood and its evaluation on methylene blue adsorption. *Dyes Pigm.* 75(2):263-272.
- AHMAD, A.A.; HAMEED, B.H. 2010. Fixed-bed adsorption of reactive azo dye onto granular activated carbon prepared from waste. *J. Haz. Mat.* 175(1-3):298-303.
- BANSAL, R.C.; DONNET, J.B.; STOECKLI, F. 1988. *Activated Carbon*, Ed. Marcel Dekker (New York). 482p.
- BASKARALINGAM, P.; PULIKESI, M.; RAMAMURTHI, V.; SIVANESAN, S. 2007. Modified hectorites and adsorption studies of a reactive dye-technical note. *Appl. Clay Sci.* 37(1-2):207-214.
- BRIANQUER, S.; EMMETT, P.H.; TELLER, E. 1938. Adsorption of gases in multimolecular layers. *J. Am. Chem. Soc.* 60(2):309-316.
- BOEHM, H.P. 1994. Some aspects of the surface chemistry of carbon blacks and other carbons. *Carbon.* 32(5):759-769.
- CASTELLAR, G.C.; GARCÍA, A.A. 2011. Remoción de Pb²⁺ en disolución acuosa sobre carbón activado en polvo: Estudio por lote. *Prospectiva.* 9(1):59-68.
- CHATTERJEE, S.; CHATTERJEE, S.; CHATTERJEE, B.P.; DAS, A.R.; GUHA, A.K. 2005. Adsorption of a model anionic dye, eosin Y, from aqueous solution by chitosan hydrobeads. *J. Coll. Interf. Sci.* 288(1):30-35.
- CHIOU, M.S.; LI, H.Y. 2003. Adsorption behavior of reactive dye in aqueous solution on chemical cross-linked chitosan beads. *Chemosph.* 50(8):1095-1105.
- CHOY, K.K.H.; PORTER, J.F.; MCKAY, G. 2004. Intraparticle diffusion in single and multicomponent acid dye adsorption from wastewater onto carbon. *Chem. Eng. J.* 103(1-3):133-145.

12. DAFALE, N.; WATE, S.; MESHRAM, S.; NANDY, T. 2008. Kinetic study approach of remazol black-B use for the development of two-stage anoxic-oxic reactor for decolorization biodegradation of azo dyes by activated bacterial consortium. *J. Haz. Mat.* 159(1-3):319-328.
13. DENG, H.; LI, J.; LI, G.; ZHANG, G.; WANG, X. 2011. Adsorption of methylene blue on adsorbent materials produced from cotton stalk. *Chem. Eng. J.* 172(1):326-334.
14. DÍAZ-VELÁSQUEZ, J. de J.; CARBALLO-SUÁREZ, L.M.; FIGUEIREDO, J.L. 2007. Thermal treatments of activated carbon catalysts under N_2O . *Carbon.* 45(1):212-214.
15. DIN, A.T.M.; HAMEED, B.H.; AHMAD, A.L. 2009. Batch adsorption of phenol onto physicochemical-activated coconut shell. *J. Haz. Mat.* 161(2-3):1522-1529.
16. FREUNDLICH, H.M.F. 1906. Over the adsorption in solution. *J. Phys. Chem.* 57:385-471.
17. GOBI, K.; MASHITAH, M.D.; VADIVELU, V.M. 2011. Adsorptive removal of Methylene Blue using novel adsorbent from palm oil mill effluent waste activated sludge: Equilibrium, thermodynamics and kinetic studies. *Chem. Eng. J.* 171(3):1246-1252.
18. HO, Y.S.; HUANG, C.T.; HUANG, H.W. 2002. Equilibrium sorption isotherm for metals ions on tree fern. *Process Biochem.* 37(12):1421-1430.
19. HAMEED, B.H.; AHMAD, A.L.; LATIFF, K.N.A. 2007. Adsorption of basic (methylene blue) onto activated carbon prepared from rattan sawdust. *Dyes Pigments.* 75(1):143-149.
20. HAMEED, B.H.; EL-KHAIARY, M.I. 2008. Equilibrium, kinetics and mechanism of malachite green adsorption activated carbon prepared from bamboo by K_2CO_3 activation and subsequent gasification with CO_2 . *J. Haz. Mat.* 157(2-3):344-351.
21. KARACA, S.; GÜRSSES, A.; AÇIKYILDIZ, M.; EJDER, M. 2008. Adsorption of cationic dye from aqueous solutions by activated carbon. *Micropor. Mesopor. Mat.* 115(3):376-382.
22. LANGMUIR, I. 1916. The constitution and fundamental properties of solids and liquids. *J. Am. Chem. Soc.* 38:2221-2295.
23. LUO, S.L.; YUAN, L.; CHAI, L.Y.; MIN, X.B.; WANG, Y.Y.; WANG, P.; FANG, Y. 2006. Biosorption behaviors of Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} and mixture by waste activated sludge. *Transact. Nonferrous Met. Soc. China.* 16(6):1431-1435.
24. MALIK, P.K. 2003. Use of activated carbons prepared from sawdust and rice-husk for adsorption of acid dyes: a case study of Acid Yellow 36. *Dyes Pigm.* 56(3):239-249.
25. ÓRFÃO, J.J.M.; SILVA, A.I.M.; PEREIRA, J.C.V.; BARATA, S.A.; FONSECA, I.M.; FARIA, P.C.C.; PEREIRA, M.F.R. 2006. Adsorption of a reactive dye on chemically modified activated carbons-influence of pH. *Colloid Interface Sci.* 296(2):480-489.
26. ÖZNER, A.; DÜRSÜN, G. 2007. Removal of methylene blue from aqueous solution by dehydrated wheat bran carbon. *J. Haz. Mat.* 146(1-2):262-269.
27. PEÑA, S.C.; TOBÓN, P.Y. 2006. Remoción del color de lodos provenientes de la industria textil por *Aspergillus* sp. *Rev. Universidad Eafit.* 4(142):88-94.
28. RAMAKRISHNA, K.; VIRARAGHAVAN, T. 1997. Use of slag for dye removal. *Waste Manag.* 17(8):483-488.
29. ROBINSON, I.M.; MCMILLAN, G.; MARCHANT, R.; NIGAM, P. 2001. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies. *Biores. Techn.* 77(3):247-255.
30. SATISH, P.; SAMEER, R.; NASEEMA, P. 2011. Removal of methylene blue, a basic dye from aqueous solutions by adsorption using teak tree (*Tectona grandis*) bark powder. *Int. J. Environ. Sci.* 1(5):711-726.
31. SHI, Q.; ZHANG, J.; ZHANG, Ch., LI, C.; ZHANG, B.; HU, W.; XU, J.; ZHAO, R. 2010. Preparation of activated carbon from cattail and its application for dyes removal. *J. Environ. Sci.* 22(1):91-97.
32. SHI, B.Y.; LI, G.H.; WANG, D.S.; FENG, C.H.; TANG, H.X. 2007. Removal of direct dyes by coagulation: the performance of performance polymeric aluminum species. *J. Haz. Mat.* 143: 567-574.
33. SÜHAS; CARROTT, P.J.M.; RIBEIRO CARROTT, M.M.L. 2007. Lignin-from natural adsorbent to activated carbon: A review. *Biores. Techn.* 98(12):2301-2312.

34. TÜNC, Ö.; TANACI, H.; AKZU, Z. 2009. Potential use of cotton plant waste for the removal Black B reactive dye. *J. Haz. Mat.* 163(1):87-198.
35. WANG, S.; BOYJOO, Y.; CHOUJEIB, A. 2005. A comparative study of dye removal using fly ash treated by different methods. *Chemosph.* 60(10):1401-1407.
36. WANG, Y.; MU, Y.; ZHAO, Q.B.; YU, H.Q. 2006. Isotherms, kinetics and thermodynamics of dye bio-sorption by anaerobic sludge. *Separat. Purif. Techn.* 50(1):1-7.
37. WACHOWSKI, L.; SOBCZAK, J.W.; HOFMAN, M. 2007. Speciation of functional groups formed on the surface of ammoxidised carbonaceous materials by XPS method. *Appl. Surf. Sci.* 253(9):4456-4461.

Recibido: Agosto 28 de 2012

Aceptado: Marzo 11 de 2013

EVALUACIÓN DEL IMPACTO DE LA CERTIFICACIÓN BASC EN LA PRODUCTIVIDAD DE LAS EMPRESAS DE LA CIUDAD DE BARRANQUILLA

IMPACT ASSESSMENT OF BASC CERTIFICATION IN PRODUCTIVITY OF COMMERCE COMPANIES OF THE CITY OF BARRANQUILLA

Tomás José Fontalvo Herrera¹

¹ Doctor en Administración (c), Magíster en Administración de Empresas, Especialista en Gerencia de la Calidad y Finanzas y Sistemas, Ingeniero Industrial y Químico, Jefe de Departamento de Organización Industrial de la Facultad de Ciencias Económicas y del programa de Administración Industrial de la Universidad de Cartagena. e-mail: tfontalvoh@unicartagena.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 16(1): 273 - 280, 2013

RESUMEN

En este estudio, se presenta la evaluación de la productividad en las empresas de la ciudad de Barranquilla, Colombia, como resultado de su certificación en la Coalición Empresarial Anti-Contrabando (CEAC). En la metodología utilizada, se calcularon los indicadores de productividad, a las 38 empresas certificadas en BASC. Seguidamente, se aplicó la técnica Multivariable de Análisis Discriminante, para explicar la pertenencia y la discriminación de cada grupo de los indicadores de productividad evaluados, teniendo como resultado la correlación existente entre las empresas certificadas y el incremento en los índices productividad, de 2008 y 2010. De la función discriminante obtenida y los estadísticos analizados, se logró concluir que la certificación en la norma BASC incide en el mejoramiento de los indicadores Utilidad Bruta/Valor Agregado (IP1) y Utilidad Operacional/Valor agregado (IP2), en los dos periodos analizados.

Palabras clave: Evaluación, certificación, indicador, análisis discriminante.

SUMMARY

This study presents the evaluation of productivity in companies in the city of Barranquilla as a result of their certification in the Anti-Smuggling Business Coalition (EECC). The methodology used was calculating the productivity indicators of the 38 companies certified at BASC. Next, the technique Multivariate Discriminant Analysis was employed, to explain the membership of each group and the discrimination of productivity indicators evaluated, resulting in the correlation

between certified companies and increased productivity indices for 2008 and 2010. Due to the discriminant function obtained and analyzed statistics, it can be concluded that the BASC certification standard affects the improvement of the indicators Gross Profit/Value Added (IP1) and Operating Income/Value added (IP2) in the two periods analyzed.

Key words: Evaluation, certification, indicator, discriminant Analysis.

INTRODUCCIÓN

En este artículo, se relacionan los conceptos asociados con los retos del comercio internacional, la importancia de un comercio seguro, los beneficios de la seguridad en el comercio, los sistemas de gestión BASC para la seguridad en el comercio, los indicadores de productividad y la evaluación del impacto sobre la productividad, mediante el análisis discriminante (ADM), en las empresas de la ciudad de Barranquilla, Colombia.

Para analizar la evaluación de la productividad en las empresas del sector como resultado de la certificación Coalición Empresarial Anti contrabando (Business Anti-Smuggling Coalition, BASC) y la incidencia de estos índices en la productividad financiera, se utilizó una metodología para el análisis de los datos, teniendo en cuenta todas las empresas certificadas en BASC en Barranquilla, que presentaron sus estados financieros en la Superintendencia de Sociedades de año 2008 y 2010.

Los retos del comercio internacional: Para garantizar un comercio seguro, se han diseñado e implementado sistemas de gestión, como la certificación Business Anti-Smuggling Coalition (BASC), cuyo objetivo es proveer a las empresas herramientas para blindar sus procesos y sus productos de cualquier factor o fenómeno, que pueda generar no conformidades o afectar la integridad de los productos, así lo señala Ibarra (2008), quien sustenta que las empresas deben concentrar sus esfuerzos en la estandarización de sus procesos y, los gobiernos, en la coordinación de sus instituciones, para alcanzar los logros anteriormente señalados (Fariñas, 2011).

Ibarra (2007) señala que a medida que se expanden las actividades humanas también se incrementan los riesgos que generan dichas actividades en materia ambiental, sanitaria y financiera; agrega, además, que la responsabilidad fundamental recae sobre todo en los empresarios y en los gobiernos quienes deben buscar la forma de minimizar los impactos negativos que representan las transacciones comerciales.

Debido a la actual complejidad para la distribución de los productos o servicios, han ingresado gran cantidad de actores y creado nuevos niveles de intermediación, lo que aumenta el riesgo potencial de los procesos y los productos al interior de la cadena de suministro (Pfohl *et al.* 2010; Manuj & Mentzer, 2008).

La importancia de un comercio seguro: La seguridad de la compra y la venta de los productos depende de las medidas de control establecidas a lo largo de todo el entramado que representa la cadena de suministro. Al respecto, Young & Esqueda (2005) plantean que sin importar a qué actividad económica se dediquen las empresas, ellas se encuentran inmersas dentro de un sistema integral y que cada una es vulnerable a interrupciones causadas por ellas mismas o por factores externos. Por lo que, para lograr un comercio completamente seguro, se requiere vincular a todos los componentes de la cadena.

Al respecto, Sarathy (2006) sustenta que los esfuerzos en seguridad requieren de una relación colaborativa con todos los socios, a través de la cadena de suministro. Esta misma autora identifica algunos factores, objeto de medidas de seguridad, dentro de un modelo generalizado de la cadena de suministro; entre ellos, se destacan los objetivos estratégicos, las actividades, los procesos, las instalaciones de producción, las instalaciones y los medios de transporte, el flujo físico de los productos, el flujo de información, los recursos humanos y las relaciones y reglamentaciones.

Por otra parte, Díaz (2008) señala que la aplicación de medidas de seguridad requiere del despliegue de una serie de es-

trategias para poder realizar transacciones a nivel internacional, relacionadas con las medidas tomadas por las empresas para asegurar y para proteger los productos y la cadena logística, lo que exige cambios al interior de sus estructuras. En este sentido, Samiee (2007) destaca que la coordinación y las alianzas para la administración de la cadena de suministro son algunas de las estrategias más efectivas para enfrentar la competitividad de los mercados actuales.

Según Maruchek *et al.* (2011), son cuatro los factores en los que se hace necesario profundizar para lograr total seguridad en las transacciones comerciales: colaboración con los gobiernos en el desarrollo de nuevas herramientas de regulación que incentiven la seguridad; mejores metodologías para la gestión de la información de los productos durante todo su ciclo de vida desde su diseño hasta su desecho; tecnologías para el seguimiento a lo largo de la cadena de suministro y, finalmente, la construcción de relaciones amigables con los proveedores y los clientes.

Beneficios de la seguridad en el comercio: A nivel interno, las empresas pueden obtener grandes beneficios, algunos de los cuales, se traducen en un incremento de la productividad y en mejores resultados financieros. Blanchard (2006) menciona un estudio realizado por la Universidad de Stanford, en el que se dan a conocer algunos de los beneficios que presentan las empresas que han implementado Sistemas de Gestión para la seguridad en la cadena de suministros, entre ellos: mejoramiento en la seguridad del producto, mejoramiento en la gestión de inventario, mejoramiento en la visibilidad de la Cadena de Suministro, mejoramiento en la manipulación del producto, rapidez de los procesos, agilidad de solución de problemas y satisfacción del cliente.

Correa & Gómez (2010) concluyen que los sistemas de gestión en control y seguridad buscan establecer y evaluar las amenazas que enfrentan las empresas, con el fin de implementar planes que garanticen la seguridad en su cadena de suministro y en sus transacciones, tanto nacionales como internacionales y asegura que el cumplimiento de la reglamentación que establece estándares de seguridad produce también eficiencia en las operaciones de comercio y de distribución.

Lo señalado, previamente, hace que sea necesario el establecimiento de estructuras que faciliten el procesamiento de la información y el análisis de todas las actividades para la toma de decisiones, la planificación y el control de las operaciones en el comercio internacional (Pinzón *et al.* 2011).

Sistema de gestión BASC para la seguridad en el comercio: La Coalición Empresarial Anticontrabando o Business Anti-Smuggling Coalition (BASC), por sus siglas en idioma inglés, nace como una respuesta alternativa para responder a todas

aquellas amenazas a las que el comercio de productos o servicios se ve enfrentado a diario. Se crea en 1996, como una propuesta de la empresa Mattel®, con el fin de implementar actividades y procedimientos para que las empresas que desarrollan operaciones de comercio internacional no fueran objetos de acciones ilícitas de organizaciones delictivas para el transporte de armas, de drogas y para frenar la gran cantidad de robos y de cargamentos en mal estado que se estaban presentando (BASC Colombia, 2010).

El sistema de gestión BASC utiliza un enfoque basado en procesos, lo que representa para la empresa muchas utilidades y beneficios, por ejemplo, integración de los procesos para el alcance de los logros, confianza a las partes interesadas sobre resultados consistentes, transparencia en las operaciones, reducción de los costos y del tiempo, a través del uso adecuado de los recursos y la mejora de los resultados.

Según Osorio (2010), las empresas que obtienen la certificación BASC se benefician porque brinda mayor seguridad en los procesos, permitiéndoles aumentar el número de transacciones comerciales, por medio de la captación de nuevos clientes. Otra de las ventajas que presenta el Sistema de Gestión BASC es la posibilidad que la empresa se convierta en un operador económico autorizado; esta denominación se le otorga a empresas que están involucradas en la compra y venta de mercancías a nivel internacional, cualquiera que sea el papel que desempeñen (Hortal, 2008).

Asimismo, Ibáñez & Castillo (2011) aseguran que el Sistema de Gestión BASC contribuye al logro de la certificación de una empresa como Operador Económico Autorizado, dado que compromete a toda la organización para cumplir con las reglas establecidas por el programa de seguridad de la Organización Mundial de Aduanas.

El sistema de gestión BASC utiliza como estrategia la colaboración y, en este sentido, plantea que: *“La cooperación se fundamenta principalmente en un intercambio permanente de experiencias, información y capacitación, lo cual ha permitido a las partes incrementar sus conocimientos y perfeccionar sus prácticas en un esfuerzo por mantener las compañías libres de cualquier actividad ilícita y a la vez facilitar los procesos aduaneros de las mismas (World Basc Organization, 2010, 20 abril 2012)”*.

No obstante, los beneficios mencionados anteriormente, la certificación BASC implica una reestructuración de los procesos y una serie de cambios a nivel organizacional, por lo que es importante evaluar el impacto operacional y financiero de la implementación de este sistema de gestión en la productividad de las organizaciones donde se adopte.

Indicadores de productividad: Berechet & San Miguel (2006)

señalan que los indicadores de productividad permiten fijar una relación entre la cantidad de bienes y servicios producidos y la cantidad de recursos utilizados, transformándose en un factor crucial para la determinación del eficiente uso de los recursos. Otra manera de medición de la productividad es la planteada por el Banco Nacional de Comercio Exterior de México (1991), que la define como: *“Un cambio cualitativo para hacer más y mejor las cosas, utilizar con racionalidad los recursos, participar más activamente en la innovación y los avances tecnológicos y conseguir la mayor concurrencia de la población en la actividad económica y en sus frutos”*.

En este sentido, los indicadores de productividad desempeñan un papel esencial en la evaluación de la producción, porque pueden definir no solamente el estado actual de los procesos, sino que, además, son útiles para proyectar el futuro de los mismos (Miranda & Toirac, 2010).

Dentro de una organización, los indicadores de productividad se pueden medir con respecto a un factor de producción determinado, motivo por el cual, existe la posibilidad que se presente una amplia gama de indicadores referentes a diferentes áreas, aunque los más importantes, según Miranda & Toirac (2010) son los relacionados con la productividad del trabajo, la productividad del uso de los materiales y la productividad del capital. En la tabla 1, se presentan cómo se calcularon los indicadores de productividad para esta investigación.

Evaluación del impacto sobre la productividad mediante el Análisis Discriminante: El análisis discriminante es una técnica estadística que permite identificar las variables o características que diferencian a un grupo de otro; asimismo, sugiere el número de variables a tener en cuenta para poder clasificar los elementos dentro de su respectivo grupo, de manera óptima; la variable dependiente en este tipo de análisis, se toma como la pertenencia a determinado grupo; las variables independientes son las características que se supone diferencian a los elementos de cada grupo (Rodríguez & Moreno, 2011).

Avendaño & Varela (2010) afirman que la adopción de estándares puede afectar de manera positiva la competitividad y la productividad de la empresa o el sector que los implementa, ya que estos representan la estandarización de los procesos y la producción de bienes sanos; estos mismos autores utilizaron el análisis discriminante para medir el impacto de la adopción de estándares por parte de las empresas, lo cual, les permitió concluir que, tanto la competitividad como la productividad están influenciadas positivamente por la adopción de estándares. Por otro lado, el estudio desarrollado por Suárez (2000) demuestra la efectividad de la metodología planteada por el análisis discriminante para la

clasificación del nivel de rentabilidad de las empresas, debido a la facilidad que esta establece para el manejo de múltiples variables.

Vivanco *et al.* (2010) hacen uso de la metodología que proporciona el análisis discriminante para determinar los niveles de competitividad de varias empresas, de acuerdo a ciertas variables específicas, lo que demuestra la utilidad que tiene el ADM para la clasificación de empresas que presentan variables similares, las cuales, es necesario diferenciarlas.

Los autores anteriores, dan cuenta de la efectividad de la metodología del análisis discriminante para establecer la pertenencia o no de una empresa a un grupo que posee ciertas variables que determinan la competitividad, la rentabilidad y la productividad de dicho grupo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta es una investigación, en donde se aplicó un análisis cualitativo, descriptivo propositivo y cuantitativo, soportado en un Análisis Discriminante Multivariado (ADM). Para contrastar si en dos periodos distintos se puede evidenciar la incidencia de la Certificación BASC en la productividad financiera del sector analizado, para lo cual, se estudiaron los rubros e indicadores de productividad de las empresas de la ciudad de Barranquilla, presentados en la tabla 1.

Como criterio de selección de variables que mejor discriminan en el análisis de la evaluación de la productividad como resultado de la certificación BASC en los indicadores seleccionados de las empresas de la ciudad de Barranquilla, se utilizó la distancia D^2 de Mahalanobis (Vuran, 2009).

Como cualquier otra técnica estadística, la aplicación debe ir precedida de una comprobación de los supuestos asumi-

dos por el modelo. El análisis discriminante, se apoyó en los siguientes supuestos: 1) Normalidad Multivariante; 2) Igualdad de Matrices de Varianza-Covarianza; 3) Linealidad y, 4) Ausencia de multicolinealidad y singularidad.

La población estuvo conformada por 38 empresas Certificadas en BASC, en la ciudad de Barranquilla, en 2008 y 2010. Se tomaron, como fuentes, los estados financieros de la Superintendencia de Sociedades (2011), información registrada en BASC-Colombia y en la Cámara de Comercio, de las empresas seleccionadas, para calcular los indicadores de productividad de las organizaciones objeto de la investigación.

Para estudiar las variables y los indicadores seleccionados, se utilizó el análisis discriminante, por medio de software SPSS statistics 19, aplicación con la cual, se establecieron las funciones discriminantes y se estudiaron los diferentes estadísticos; esta técnica permitió la estimación, en un marco único, verificar si los indicadores financieros evaluados en el mismo contexto presentaban diferencias significativas en los dos periodos seleccionados.

Seguidamente, se procedió a verificar el cumplimiento de los supuestos requeridos para aplicar el análisis discriminante y, de esta forma, calcular y establecer la función objetivo, con el fin de determinar qué indicadores discriminaban mejor para analizar la evaluación de la productividad en las empresas, de la ciudad de Barranquilla, como resultado de la certificación BASC. También, se calculó la precisión del modelo para predecir el comportamiento futuro de los indicadores en el sector. Por último, con los estadísticos, específicamente las medias de los indicadores para el sector, se analizó y se evaluó el comportamiento de los diferentes indicadores de productividad financieros en los dos periodos 2008 y 2010.

Tabla 1. Indicadores de productividad.

Indicador	Ecuación
IP1	$\frac{\text{Utilidad Bruta}}{\text{Valor agregado (ventas - pagos a proveedores + inventarios)}} \times 100$
IP2	$\frac{\text{Utilidad Operacional}}{\text{Valor agregado (ventas - pagos a proveedores + inventarios)}} \times 100$
IP3	$\frac{\text{Utilidad Neta}}{\text{Valor agregado (ventas - pagos a proveedores + inventarios)}} \times 100$
IP4	$\frac{\text{Valor agregado (ventas - pagos a proveedores + inventarios)}}{\text{Capital Operativo (activos corrientes y fijo)}} \times 100$
IP5	$\frac{\text{Utilidad Operacional}}{\text{Capital Operativo (activos corrientes y fijo)}} \times 100$
IP6	$\frac{\text{Utilidad Neta}}{\text{Capital Operativo (activos corrientes y fijo)}} \times 100$

Tabla 2. Prueba de Shapiro & Wilk para la comprobación de la normalidad de los indicadores de productividad del año 2008 y 2010, respectivamente.

Indicador	Shapiro-Wilk, 2008			Shapiro-Wilk, 2010		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
IP1	0,799	38	0	0,396	38	0
IP2	0,937	38	0,034	0,384	38	0
IP3	0,87	38	0	0,909	38	0,005
IP4	0,811	38	0	0,74	38	0
IP5	0,972	38	0,443	0,926	38	0,015
IP6	0,963	38	0,235	0,83	38	0

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Verificación de los supuestos: En la tabla 2, se presentan los resultados de normalidad para los datos de los periodos 2008 y 2010, respectivamente, asociados a la prueba de Shapiro & Wilk. Las pruebas de normalidad para las variables por separado de los dos periodos respectivos dan como resultado que algunas no se comportan como variables normales; sin embargo, Lachenbruch (1975) ha demostrado que el análisis discriminante no es particularmente sensible a las violaciones de menor importancia de la hipótesis de normalidad. Tabachnick & Fidell (2001) hacen algunas precisiones acerca de la robustez de esta técnica en relación con el tamaño de las muestras, sugiere un tamaño de muestra mayor a 20 similares, para que el modelo sea robusto ante la violación del supuesto de multinormalidad; al utilizar en esta investigación 38 empresas, se empleó una población pertinente.

Homogeneidad de matrices de varianza-covarianza: El supuesto de igualdad de matrices de varianza-covarianza para 2008 y 2010, se comprobó con la prueba de Box, como se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Resultados de la prueba de BOX.

M de Box		188,938
F	Aprox.	8,215
	gl1	21
	gl2	20140,719
	Sig.	0

Mediante el cálculo del estadístico M de Box, cuyo Valor p-Valor 0 y los resultados obtenidos del estadístico de contraste $M = 188,938$ y un valor de $F = 8,215$ impide aceptar la hipótesis nula de igualdad de covarianzas de los grupos de discriminación, es decir, la capacidad explicativa de separación de los grupos es buena.

Asimismo, los supuestos de linealidad, multicolinealidad y singularidad no fueron revisados, dado que para la construcción del modelo de análisis discriminante, se aplicó el método paso a paso, teniendo en cuenta el criterio de tolerancia, para seleccionar las variables que son incluidas. De este modo, aquellas variables que presentan una correlación múltiple elevada con las restantes variables arrojarán una baja tolerancia y no serían consideradas de cara a la construcción de la función discriminante.

Para determinar qué variables discriminan independientemente entre los grupos de 2008 y 2010, se estimó la distancia D^2 de Mahalanobis y el Lambda Wilks para cada una de ellas, su correspondiente razón F y nivel de significancia, para rechazar la hipótesis nula.

Se consideró un nivel de significación de 0,05 para los estadísticos F, para entrar y F, para eliminar. Como se mencionó anteriormente, el criterio de selección de las variables es el de la distancia D^2 de Mahalanobis, se utilizaron todas las variables seleccionadas presentadas en la tabla 1 para el análisis de los dos periodos, constituyendo éstas las funciones discriminantes.

Con base en los resultados, se procedió a calcular las funciones discriminantes, para pronosticar, a futuro, los diferentes indicadores de productividad, seleccionados en las empresas de la ciudad de Barranquilla, como se muestra en la tabla 4 y en las ecs. (1) y (2):

$$Z_1 = IP1 *(6,371) + IP2* (-14,214) + IP3 *(28,183) + IP4*(2,617) + IP5*(1,785) + IP6*(-13,694) - (3,728) \quad (1)$$

$$Z_2 = IP1 *(6,595) + IP2* (-13,620) + IP3 *(32,493) + IP4*(2,734) + IP5*(-1,571) + IP6*(-18,571) - (3,758) \quad (2)$$

Tabla 4. Coeficientes de la función de clasificación.

Indicador	Año	
	2008	2010
IP1	6,371	6,595
IP2	-14,214	-13,62
IP3	28,183	32,493
IP4	2,617	2,734
IP5	1,785	-1,571
IP6	-13,694	-18,571
(Constante)	-3,728	-3,758

De este modo, las dos poblaciones estudiadas presentan como resultado un error Tipo I, de 18,4%; un error Tipo II, de 73,7%, para una efectividad de clasificación de 53,9%, como se muestra en la tabla 5.

Tabla 5. Resultados de la clasificación.

		Año	Grupo de pertenencia pronosticado		Total
			2008	2010	
Original	Recuento	2008	31	7	38
		2010	28	10	38
	%	2008	81,6	18,4	100
		2010	73,7	26,3	100

Tabla 6. Media de los indicadores de productividad.

Año		Media	Desv. típ.
2008	IP1	0,3608	0,28616
	IP2	0,0685	0,08490
	IP3	0,0379	0,06400
	IP4	1,5836	0,91159
	IP5	0,0955	0,09884
	IP6	0,0467	0,06737
2010	IP1	0,5046	0,95750
	IP2	0,0993	0,33484
	IP3	0,0193	0,08436
	IP4	1,4550	1,03037
	IP5	0,0572	0,10772
	IP6	0,0193	0,09219

Evaluación de La productividad en las empresas de la ciudad de Barranquilla: Cuando se revisan los estadísticos (medias) de los indicadores seleccionados de las empresas de la ciudad de Barranquilla, Utilidad Bruta/Valor Agregado (IP1), Utilidad Operacional/Valor agregado (IP2), Utilidad Neta/Valor Agregado (IP3), Valor Agregado/Capital Operativo (IP4), Utilidad Operacional/Capital Operativo (IP5) y Utilidad Neta/Capital Operativo (IP6), se observa que en el estudio de las medias los indicadores Utilidad Bruta/Valor Agregado (IP1) y Utilidad Operacional/Valor agregado (IP2) mejoraron en el transcurso del 2008 y 2010, como se muestra en la tabla 6.

De igual forma, al analizar las funciones discriminantes generadas en la tabla 4, se puede concluir que en el análisis de la evaluación de la productividad, en los indicadores (IP1), (IP2), (IP3) y (IP4) discriminan y estos mejoran de un periodo a otro, es decir, presentan diferencias significativas; sin embargo, para el caso de los demás indicadores se puede observar que no se evidencia el mismo comportamiento en los años estudiados.

En lo que respecta a las medias de los indicadores seleccionados, se puede analizar que (IP1) y (IP2) mejoraron en los años evaluados.

Ahora, teniendo en cuenta que tanto para el análisis de la función discriminante como para las medias, mejoraron los indicadores (IP1) y (IP2). Se puede inferir que la Certificación BASC incide positivamente en el mejoramiento de los indicadores de productividad señalados. Otros estudios, como los desarrollados por Fontalvo *et al.* (2011a, 2011b), han demostrado la incidencia de la certificación de otros estándares operacionales en el mejoramiento de indicadores de sectores empresariales.

De igual forma, algunos autores señalan que los sistemas de Gestión en Control y Seguridad impactan positivamente sobre factores claves en las organizaciones afectando, de algún modo, su productividad y su rentabilidad, ya que esta última no es más que un reflejo de la efectividad y del desempeño organizacional (Chacón, 2007; Valdevira *et al.* 2009). Planteamiento que en esta investigación también se pudo demostrar.

Por otra parte, el modelo presentó una baja efectividad en la clasificación, dado que en la muestra original la precisión del modelo en el 2008 fue 18,4% y en el 2010 fue el 73,7%, para un promedio total de clasificación del 53,9% de las empresas.

De los resultados y de la discusión de esta investigación, se puede concluir que existe suficiente evidencia estadística para afirmar que los indicadores (IP1) y (IP2), mejoraron para las 38 empresas estudiadas, como resultado de la Certificación Business Anti-Smuggling Coalition (BASC).

De igual forma, la investigación permitió establecer una función objetivo para las empresas evaluadas en la ciudad de Barranquilla, con lo que se puede estudiar y analizar qué indicadores discriminan mejor y así poder tomar acciones, teniendo en cuenta el cálculo y el estudio de los indicadores seleccionados a futuro.

Por otro lado, este trabajo se constituye en un referente para desarrollar otras investigaciones que evalúen no solamente variables e indicadores asociados con la productividad, sino variables internas y externas, como la eficiencia, la eficacia y la competitividad.

Se recomienda para futuros estudios incrementar el número de indicadores financieros e incorporar indicadores de competitividad y se invita a analizar el comportamiento de la certificación Business Anti-Smuggling Coalition (BASC), en otros sectores empresariales.

Conflicto de intereses: El manuscrito fue preparado y revisado por el autor, quien declara que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

1. AVENDAÑO, B.; VARELA, R. 2010. La adopción de estándares en el sector hortícola de baja california. Estudios Fronterizos. 11:171-202.
2. BANCO NACIONAL DE COMERCIO EXTERIOR DE MÉXICO. 1991. La Productividad y la Capacitación, Pilares de la Modernización. Rev. Comercio Ext. 41:20-32.
3. BASC COLOMBIA. 2010. Seguridad y protección al Comercio Internacional. Disponible desde Internet en <http://www.basccolombia.org> (con acceso 20/04/2012).
4. BERECHET, C.; SAN MIGUEL, F. 2006. Innovación y Productividad en la Economía de Navarra. Posicionamiento frente a la regiones europeas más avanzadas. Centro para la Competitividad de Navarra. Industria Gráfica S.A. 4:14-25.
5. BLANCHARD, D. 2006. Supply Chain & Logistics: Protecting the Supply Chain. Industry Week. 2:43-46.
6. CHACÓN, G. 2007. La Contabilidad de Costos, los Sistemas de Control de Gestión y la Rentabilidad Empresarial. Actual. Cont. FACES. 15:29-45.
7. CORREA, A.; GÓMEZ, R. 2010. Seguridad en la Cadena de Suministro basado en la norma ISO 28001 para el sector y sus derivados como estrategia para su competitividad. Bol. Cienc. Tierra. 28:39-50.
8. DÍAZ, A. 2008. Las nuevas medidas de seguridad y sus efectos en las exportaciones agroalimentarias. Colección de documentos CEPAL. 8:1-27.
9. FARIÑAS, J. 2011. Comercio Internacional, Empresa y Competitividad. Cuadernos Económ. ICE. 82:5-10.
10. FONTALVO, T.; MENDOZA, A.; MORELOS, J. 2011a. Evaluación del impacto de los sistemas de gestión de la calidad en la liquidez y rentabilidad de las empresas de la Zona Industrial de Mamonal (Cartagena – Colombia). Rev. Católica del Norte. 1:1-28.
11. FONTALVO, T.; MORELOS, J.; DE LA HOZ, E. 2011b. Aplicación del análisis discriminante para evaluar el

- mejoramiento de los indicadores financieros en las empresas del sector extracción de petróleo crudo y gas natural en Colombia. *Rev. Sol. Postgrado EIA*. 1:1-16.
12. HORTAL, R. 2008. La figura del operador económico autorizado. *Estrat. Financ.* 253:54-58.
 13. IBÁÑEZ, N.; CASTILLO, R. 2011. El BASC como plataforma del Operador Económico Autorizado (OEA). *E-Boletín BASC Venezuela*. 23:1-4.
 14. IBARRA, V. 2007. Hacia un comercio internacional con desarrollo sustentable. *Desafíos*. 16:11-28.
 15. IBARRA, Y. 2008. Fronteras seguras y facilitación del comercio: Análisis de economía institucional. *Gestión Política y Pública*. 17:3-33.
 16. LACHENBRÜCH, P. 1975. *Discriminant Analysis*. Ed. IMac Millan Pub Co. (New York): EE.UU. 250p.
 17. MANUJ, I.; MENTZER, J. 2008. Global supply chain risk management strategies. *Int. J. Phys. Distrib. Log. Manag.* 8:192-223.
 18. MARUCHEK, A.; GREIS, N.; MENA, C.; CAI, L. 2011. Product safety and security in the global supply chain: issues, challenges and research opportunities. *J. Op. Manag.* 29:707-720.
 19. MIRANDA, J.; TOIRAC, L. 2010. Indicadores de productividad para la industria dominicana. *Cienc. Soc.* 35 (2):235-290.
 20. OSORIO, A. 2010. Impacto de las certificaciones ISO 9000 y BASC en los despachos de exportación definitiva de las agencias de aduana peruanas 2004 – 2008. *Rev. Cienc. Empres. U. San Martín de Porres*. 1:25-38.
 21. PFOHL, H.; KÖLHER, H.; DAVID, T. 2010. State of the art in supply chain management risk research: Empirical and conceptual findings and a roadmap for the implementation in practice. *Log. Res.* 2:33-44.
 22. PINZÓN, P.; SÁNCHEZ, J.; VÉLEZ, M.; ÁLVAREZ, D. 2011. Sistemas de control para la gestión de canales de exportación independientes: un análisis exploratorio sobre su diseño y su uso. *Rev. Cont.* 14:115-146.
 23. RODRÍGUEZ, J.; MORENO, A. 2011. Fragilidad financiera de las firmas en Colombia, 2000 - 2006. (Un análisis discriminante de un modelo Minskano. Ed. U.N. 48p.
 24. SAMIEE, S. 2007. Global marketing effectiveness via alliances and electronic commerce in business-to-business Market. *Ind. Mark. Manag.* 37:3-8.
 25. SARATHY, R. 2006. Security and the global supply chain. *Transp. J.* 45:28-51.
 26. SUÁREZ, J. 2000. Los parámetros característicos de las empresas manufactureras de alta rentabilidad: una aplicación del análisis discriminante. *Rev. Esp. Financ. Contab.* 29:443-481.
 27. SUPERINTENDENCIA DE SOCIEDADES. 2011. Disponible desde Internet en: [http://sirem.supersociedades.gov.co/SIREM/\(con acceso 01/08/2011\)](http://sirem.supersociedades.gov.co/SIREM/(con%20acceso%2001/08/2011)).
 28. TABACHNICK, B.; FIDELL, L. 2001. *Using Multivariate Statistics* (Boston): EE.UU. 4ª ed. 360p.
 29. VALDEVIRA, O.; DÍAZ, E.; SANS, R. 2009. Impacto y situación de los operadores de carga terrestre de mercancías en relación a la normativa actual en materia de gestión de la seguridad en la cadena de suministro, como paso para obtener el estatus de operador seguro. *Est. Constr. Transp.* 111:65-73.
 30. VIVANCO, M.; MARTÍNEZ, F.; TADDEI, I. 2010. Análisis de competitividad de cuatro sistema-productos estatales de tilapia en México. *Est. Soc.* 18:165-207.
 31. VURAN, B. 2009. Prediction of business failure: A comparison of discriminant and logistic regression analyses. *Istanbul U. J. School Business Adm.* 38:47-65.
 32. WORLD BASC ORGANIZATION. 2010. Business for Secure Commerce: What Is BASC? Disponible desde Internet en: <http://www.wbasco.org> (con acceso 20/04/2012).
 33. YOUNG, R.; ESQUEDA, P. 2005. Vulnerabilidades de la Cadena de Suministros: Consideraciones para el caso de América Latina. *Rev. Latinoam. Adm.* 34:63-78.

Recibido: Mayo 31 de 2012

Aceptado: Diciembre 14 de 2012