

ISSN 2619-2551 (en línea)
ISSN 0123-4226 (impreso)

REVISTA

U.D.C.A

ACTUALIDAD & DIVULGACIÓN CIENTÍFICA

39
años

Revista Científica- Enero-Junio 2022-Volumen 25 No.1 - D.L.

Bogotá D.C. Colombia



PUBLICACIÓN OFICIAL DE LA UNIVERSIDAD
DE CIENCIAS APLICADAS Y AMBIENTALES U.D.C.A,
INSTITUCIÓN CON ACREDITACIÓN DE ALTA CALIDAD

ENFOQUE Y ALCANCE

La Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica es una publicación seriada, multidisciplinar*, arbitrada, de acceso abierto vía diamante y de producción continua, dirigida a investigadores. Tiene como finalidad evaluar, publicar y difundir la producción científica, principalmente, de la región iberoamericana y de las otras regiones tropicales y subtropicales.

Para facilitar el acceso y la apropiación, se aceptan manuscritos en idiomas español, inglés y portugués. La mayoría de los documentos que publica pertenecen a artículos científicos; sin embargo, también edita artículos de reflexión, de revisión, reporte de casos y notas técnicas.

La revista es editada, sin interrupción, desde 1998 y se encuentra indizada en Scopus, Chemical Abstracts, CAB Abstracts, Índice Bibliográfico Nacional Publindex clasificada en “B” Convocatoria No. 910 de 2021, SciELO Colombia, Reseñada en Latindex e incluida en la base de datos Periódica UNAM, México, en el Directory of Open Access Journals-DOAJ y en la Red Iberoamericana de Innovación y Conocimiento Científico-REDIB.

La gratuidad para el autor y el lector obedece a la financiación de la revista por parte de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A y a la colaboración desinteresada de los evaluadores externos.

*Temas abordados: Ciencias Agrarias, Ciencias Naturales y Ciencias Sociales.

FOCUS AND SCOPE

The “Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica”, is a serial, multidisciplinary*, peer-reviewed, diamond open-access and continuously produced publication, aimed at researchers. Its purpose and project is to evaluate, publish and disseminate scientific production, mainly from the Ibero-American region, but also from the others tropical and subtropical regions.

To extend the dissemination of articles and facilitate access and appropriation, manuscripts in Spanish, English or Portuguese are accepted. Most of the documents published belong to scientific articles, however, it also publishes articles of reflection, reviews, case reports and technical notes.

The journal has been edited, without interruption, since 1998 and is indexed in Scopus, Chemical Abstracts, CAB Abstract, Publindex National Bibliographic Index classified in “B” Announcement No. 910 of 2021, SciELO Colombia, Review in Latindex and included in the database Periódica UNAM, Mexico, in the Directory of Open Access Journals-DOAJ, and in the Red Iberoamericana de Innovación y Conocimiento Científico-REDIB.

The not charges for the publication to the authors and the free access to the readers obey to the financing of the Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales and the disinterested collaboration of the peer reviewers.

*Topics covered: Agricultural Sciences, Natural Sciences and Social Sciences.

FOCO E ESCOPO

A Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica é uma publicação em série, multidisciplinar*, utilizando o sistema avaliação duplo-cega, de acesso aberto via diamante e de produção contínua, dirigida a investigadores. O seu objectivo é avaliar, publicar e divulgar a produção científica, principalmente da região Ibero-Americana e de outras regiões tropicais e subtropicais.

Com o propósito de facilitar o acesso e a apropriação da produção, a revista publica os artigos em espanhol, inglês e português. A maioria dos documentos que publica são artigos científicos; no entanto, também publica artigos de reflexão, artigos de revisão, relatórios de casos e notas técnicas.

A revista é publicada, sem interrupção, desde 1998 e se encontra indexada no Scopus, Chemical Abstracts, CAB Abstract, Índice Bibliográfico Nacional Publindex classificada em “B” Circular No.910 de 2021, SciELO Colombia, revisada em Latindex e incluída na base de dados Periódica UNAM, México, no the Directory of Open Access Journals-DOAJ, e na Red Iberoamericana de Innovación y Conocimiento Científico-REDIB.

A gratuidade para o autor, como para o leitor, deve-se ao apoio financeiro da Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales e a colaboração desinteressada dos avaliadores externos.

*Temas abordados: Ciências Agrárias, Ciências Naturais e Ciências Sociais.

EQUIPO EDITORIAL

Editor

Helber Adrián Arévalo Maldonado
Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A
Bogotá, Colombia

Comité editorial

Carlos Alberto Blanco Montero
USDA-Animal and Plant Health Inspection Service APHIS
Washington, Estados Unidos de América

Eduardo José Delgado Hernández
Universidad Experimental de los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora
Barinas, Venezuela

Marlete Brum Cleff
Universidade Federal de Pelotas UFP
Pelotas, Brasil

Rosângela Brito
Universidade Federal do Rio Grande do Sul UFRGS
Porto Alegre, Brasil

Comité científico

Adriana Posada Arrubla
Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A
Bogotá, Colombia

Alfonso Javier García
Universidad de Sevilla
Sevilla, España

Andrés Franco Herrera
Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano
Santa Marta, Colombia

Clistenes Williams Araújo do Nascimento
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Recife, Brasil

Diana Paola Gutierrez Diaz de Azevedo
Universidade Estadual do Norte Fluminense
Río de Janeiro, Brasil

Francisco Alonso Solis Marin
Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad de México, México

Galdino Andrade Filho
Universidade Estadual de Londrina
Londrina, Brasil

Hugo Sarmiento
Universidade de Coimbra
Coimbra, Portugal

Jesús Muñoz Rojas
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
Puebla de Zaragoza, México

Jhon James Mora Rodríguez
Universidad ICESI
Cali, Colombia

Jorge E. Peña
University of Florida
Gainesville, Estados Unidos

José Eleutério Junior
Universidade Federal do Ceará
Ceará, Brasil

José Gregorio Lanza Marchán
Normalización Chile-LAN Consultores Santiago,
Chile

José Siles González
Universidad de Alicante
Alicante, España

Rita María Ávila G. de Hernández
Universidad Centrooccidental Lisandro Alvarado
Barquisimeto, Venezuela

Samuel Moisés Nucamendi Guillén
Universidad Panamericana
Guadalajara, México

Sildivane Valcácia Silva
Universidade Federal da Paraíba
Paraíba, Brasil

Equipo colaborador

Correctora de estilo y ortográfica
Norella Castro Rojas

Profesional de apoyo
Kamila Bocanegra Solorzano

Diseño y Diagramación
Camilo Eduardo Carrasco Borrero

CONTENIDO

Volumen 25 número 1- enero-junio, 2022

<https://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022>

EDITORIAL

El progreso de la investigación, base de la economía de Colombia

Germán Anzola-Monteroe2295

<https://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.2295>

CIENCIAS AGRARIAS

Phenological and physicochemical changes during fruit development in two peach cultivars in the high tropics

Elberth Hernando Pinzón-Sandoval, Helber Enrique Balaguera-Lopez, Mauricio Enrique Becerra-Gonzalez e1942

<https://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1942>

Descripción morfológica y caracterización molecular de los hongos asociados a la raíz de *Masdevallia coccinea* Linden ex Lindl.

Jairo Alberto Triana-Vallejos, Concepción Bailón-Aijón, Johan Manuel Cifuentes-Castellanos e2098

<http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.2098>

Hongos formadores de micorrizas aislados a partir de raíces de la orquídea *Rodriguezia granadensis* (LINDL.) RCHB. F.

Nilsa Ceneida Romero-Salazar, Johanna Marcela Galvis-Gratz; Jenny Paola Moreno-Lópeze2086

<http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.2086>

Genetic parameters of agronomic traits and yield components of soybean genotypes in the Colombian Altillanura

Ruben Alfredo Valencia-Ramírez, Samuel Caicedo, Juan Carlos Reyes, Deisy Lorena Flórez-Gómez, Yuli Tibocha e1901

<http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1901>

Phenotypic intrapopulation variation in quinoa from the department of Boyacá, Colombia

Ana Cruz Morillo-Coronado, Elsa Helena Manjarres-Hernández, Wendy Lorena Reyes-Ardila, Yacenia Morillo-Coronado e1579

<http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1579>

Mutagénesis inducida en plantas de *Solanum betaceum* Cav. mediante el uso de dietil sulfato (DES)

Tulio César Lagos-Burbano, Liz Katherine Lagos-Santander, David Esteban Duarte-Alvarado, Javier Garcia-Alzate e1956

<http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1956>

Aplicación conjunta del consorcio microorganismos benéficos y FitoMas-E® incrementan los indicadores agronómicos del frijol

Alexander Calero-Hurtado, Yanery Pérez-Díaz, Mileidy Rodríguez-Lorenzo, Venancio Rodríguez-González..... e2252

<http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.2252>

Caracterización de daño y distribución espacial de *Ceroplastes cirripediformis* en maracuyá en el Caribe Colombiano

Omar Ríos-Suárez, Claudio Fernández-Herrera, Karol Pérez-García e1739

<http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1739>

Prevalence of rickettsias in ticks (Acari: Ixodidae) collected in domestic animals of the northern region of Caldas department, Colombia

Yuliana Zapata-Serna, Ana Elisa Rojas-Rodríguez, Jorge Enrique Pérez-Cárdenas, Héctor Jaime Aricapa-Giraldo, Marylin Hidalgo-Díaz,

Fredy A. Rivera-Páez e1850

<http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1850>

Reproductive and fertility parameters of ewes from the Colombian tropical highlands

Félix González, Romulo Campose1464

<http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1464>

Effect of incorporation of aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) on the physicochemical and bromatological characteristics and shelf-life of buffalo milk yogurt
Alba Montalvo-Puente, Piedad Montero-Castillo, Beatríz Alvarez-Badel e2019
<http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.2019>

Prototipo de alimento deshidratado con base en harina de auyama enriquecido con fuentes proteicas no convencionales
Magda Piedad Valdés-Restrepo, Liliana Londoño-Hernández, Sanín Ortiz-Grisales, Beatriz Guevara-Guerrero e1844
<http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1844>

Fortalecimiento empresarial en asociaciones apícolas: estudio de caso Asociación “Panaldemiel” del municipio de Fortul-Arauca
Dairo Burgos-Cañas, Fabio Eleazar Lozano-Suarez, Dora Esther Fonseca-Pinto e2203
<http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.2203>

CIENCIAS NATURALES

Valoración del servicio ecosistémico regulación hídrica en el Piedemonte Amazónico, Caquetá, Colombia
Yelly Yamparli Pardo-Rozo e1608
<http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1608>

Actividad antioxidante y cuantificación de fenoles y flavonoides de plantas colombianas empleadas en infecciones urinarias
Lida Vanessa Hernández-Moreno, Juan Rodrigo Salazar, Ludy C. Pabón, Patricia Hernández-Rodríguez e1690
<http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1690>

CIENCIAS SOCIALES

Prioridades de atención en zonas rurales en escenarios posconflicto: un análisis de minería de texto
Diana María Gutiérrez-Zapata, Mario Fernando Cerón-Muñoz, Rolando Barahona-Rosales e1947
<http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1947>

REPORTE DE CASO

Evaluation of working conditions in coffee farms in the department of Quindío (Colombia)
Milena E. Gómez, Rafael Humberto Villamizar, Lázaro V. Cremades e1923
<http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1923>

Uso de plasma rico en plaquetas como coadyuvante en el tratamiento quirúrgico de la ruptura del tendón calcáneo común en gatos
Xavier Jaramillo-Chaustre, Johanna Fonseca-Matheus, Karen Delgado-Villamizar, Fernando Gómez-Parra, Jesús Mendoza-Ibarra e1878
<http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1878>

Macroinvertebrados acuáticos en una quebrada andina con alteraciones antrópicas en Colombia
Vanessa Jaramillo-Rodríguez, Jaime Polanía, Néstor Javier Mancera-Rodríguez e2023
<http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.2023>

PARES EVALUADORES



Editorial

El progreso de la investigación, base de la economía de Colombia

Germán Anzola Montero¹ 

¹Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A. Bogotá D.C., Colombia.

Como citar: Anzola Montero, G. 2022. El progreso de la investigación, base de la economía de Colombia. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 25(1):e2295. <http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.2295>

Artículo de acceso abierto publicado por Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, bajo una licencia Creative Commons CC BY-NC 4.0

Publicación oficial de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Institución de Educación Superior Acreditada de Alta Calidad por el Ministerio de Educación Nacional.

La investigación científica en el país, a lo largo de los años, ha sido señalada como crítica y sin novedad y con un gran reto por delante, dado a que, en parte, no se le da la adecuada importancia ni recibe la suficiente inversión. Así, su situación, se percibe con grandes dificultades, dejando a las Universidades con una titánica responsabilidad, de apalancarla y de conseguir beneficios y logros.

En opiniones generales y resultados que muestra Colombia, año tras año, ratifica que la inversión del Gobierno, en ciencia y tecnología, es baja comparada con otros países de la región y del mundo, al estar alrededor del 1 % del PIB (OCyT, 2021), retrayendo a Colombia de afianzar un futuro en investigación y formar parte de grandes redes internacionales.

Garantizar el desarrollo para Colombia, no solo se hace desde una educación con calidad, pertinente, incluyente, con amplia cobertura, sino, también, a través de la investigación, la ciencia y la tecnología, un valor agregado y seguro, que permite generar futuro y ser la base de la economía del país.

Después de más de 50 años de existencia de Colciencias y con la apertura del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación - MinCiencias, hoy, se evidencian avances en el otorgamiento de becas y créditos para la alta formación, con el propósito de adelantar maestrías y doctorados; profesionales con título de Doctor, que desarrollan estancias postdoctorales; fortalecimiento del sector científico, medido a través de artículos de base investigativa, publicados en revistas científicas especializadas; proyectos de investigación de alta calidad; incremento de los grupos de investigación; semilleros y jóvenes investigadores e innovadores. Todo ello está muy bien, pero son cifras que impactan en mayor medida la agenda nacional, dejándonos por fuera de la internacional.

Entonces, las preguntas certeras son: ¿Cuánto invierten las Universidades para que el país registre esas cifras nacionales? ¿Cuánto destinan las Universidades de sus ingresos por matrícula al presupuesto o rubro para la ciencia, tecnología e innovación? ¿Cuánto aportan las Universidades al desarrollo económico y social del país con su investigación? La respuesta ideal sería que todos estos logros y avances fueran el resultado de un trabajo que se da en colaboración con el Estado, el sector productivo y la Educación Superior, pero la realidad es otra.

Las Universidades proyectan estrategias y programas para que sus grupos de investigación, junto con sus investigadores, planteen y generen conocimiento científico y se pueda transferir a todos los sectores, de la mano, justamente, de esa triada o alianza Universidad-Empresa-Estado, participando, por un lado, en convocatorias por parte de MinCiencias, para el fortalecimiento de la ciencia, la tecnología y la innovación que, en su mayoría, no permite la participación de todas las Instituciones de Educación Superior y, por otro, llegando a las empresas que quieran invertir en investigación, que en el país son pocas, para finalmente, ser las mismas Universidades las que deben invertir en sus propios proyectos de innovación, ciencia y tecnología.

La investigación, junto con la docencia y la extensión, que soportan la estructura de la Universidad, debería contar con un interés especial y con un presupuesto adecuado, para hacerla capaz de innovar, de ser creativa y prospectiva; es como si fuera un eslabón perdido. Aun así, la investigación se constituye en un factor cada vez más representativo en el quehacer universitario, con limitaciones derivadas del contexto socio-político, en la que está inmersa la Universidad en el país.

El poco acercamiento de los sectores tecnológico, productivo y científico; el número reducido de investigadores; la no institucionalización de la ciencia en el país; la escasa capacidad de la innovación en Colombia; el rol de la investigación, la ciencia y la tecnología no entendida como desarrollo para el país; el impacto que tiene la ciencia para la población no comprendida como bienestar para el ser humano; la no internacionalización de la innovación, la ciencia y la tecnología y más, son algunos ejemplos de las falencias que presenta la investigación en el país.

Entonces, es pertinente traer a colación, la Misión de Ciencia y Tecnología, de 1988, fecha en la que se declaró el Año de la Ciencia en Colombia, aportando políticas públicas nacionales, acentuando que las Universidades se deberían también apropiarse de la investigación, para desarrollar y poner en práctica la organización de la ciencia en Colombia. Posteriormente, en 1990 el Congreso de Colombia expide la Ley 29, “Por la cual se dictan disposiciones para el fomento de la investigación científica y el desarrollo tecnológico y se otorgan facultades extraordinarias”, con una serie de normas, reglamentaciones y estrategias, que le dieron un giro para el desarrollo de las capacidades de investigación e incorporar estos temas a la cultura colombiana; en otras palabras, ya se hablaba de comunidades científicas, internacionalizar el desarrollo científico, recurso humano calificado, todo ello, con el apoyo del gobierno: “Artículo 1.- Corresponde al Estado promover y orientar el adelanto científico y tecnológico y, por lo mismo, está obligado a incorporar la ciencia y la tecnología a los planes y programas de desarrollo económico y social del país y a formular planes de ciencia y tecnología tanto para el mediano como para el largo plazo. Así mismo, deberá establecer los mecanismos de relación entre sus actividades de desarrollo científico y tecnológico y las que, en los mismos campos, adelanten la universidad, la comunidad científica y el sector privado colombianos”. Nuevamente, la Universidad llamada a contribuir con la Política Investigativa, fortaleciendo el desarrollo científico, en la construcción del conocimiento, en beneficio de la sociedad y del país.

En 2009, el Congreso de Colombia aprobó la Ley 1286, que modificó la ley anterior y permitió que Colciencias se convirtiera en Departamento Administrativo y, nuevamente, se fortalece el Sistema Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación en el país. Esta normativa señala en el Capítulo III, Artículo 17, numeral 9: “Promover y evaluar la alianza estratégica universidad-empresa, en función de desarrollar conjuntamente la ciencia, la tecnología y la innovación en sectores estratégicos para el desarrollo económico y social del país”. Recientemente, en el 2019, el Congreso de Colombia, a través de la Ley 1951, permite la metamorfosis de Colciencias en el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación, cuyo objetivo es “impulsar la promoción del conocimiento, la productividad y la contribución al desarrollo y la competitividad del país, así como construir una sociedad más equitativa”.

Sin duda alguna, los indicadores asociados a la investigación en Colombia han venido mejorando, pero las dinámicas locales, regionales, nacionales e internacionales, nos revelan múltiples problemas que deben ser abordados y resueltos

(OCyT, 2021), para lo cual, una mayor inversión en recursos financieros, humanos y de infraestructura, es totalmente determinante para el cubrimiento de estas necesidades.

La Universidad colombiana debe continuar como parte activa en el quehacer investigativo y científico del país y, para ello, debe emprender e implementar políticas o esquemas para su desarrollo, acordes con el ámbito económico, social y político del país.

La Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A no es ajena en el compromiso del avance en la CTel del país, por lo que, de forma permanente, ha fortalecido su capacidad investigativa, a través de lineamientos y normativas académicas y que dan cuenta a políticas nacionales decretadas. En su desarrollo, como función sustantiva, la investigación en la Universidad promueve, por una parte, la formación de los estudiantes al desarrollo del conocimiento, de la ciencia, la tecnología y al avance de las ciencias aplicadas y ambientales y, por otro, el uso del saber en la búsqueda de soluciones a los problemas sociales, alineando la investigación con las políticas y las agendas nacionales y regionales, en materia económica, social y cultural.

Su organización está dada por Grupos de Investigación, unidad fundamental de la actividad investigativa, avalado en su constitución y reconocido en su desarrollo por la U.D.C.A y por el Sistema Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación – SNCTeI, conformados por docentes investigadores de planta, por investigadores en formación, por estudiantes y por otro personal de afiliación temporal, quienes responden a las necesidades de los proyectos; por Líneas de Investigación, que son los ejes temáticos disciplinares, interdisciplinares y transdisciplinares que articulan proyectos, resultados y productos investigativos, en la búsqueda de soluciones a conjuntos de problemas de la ciencia y problemas sociales y por el Centro de Investigación, unidad formalmente organizada dentro de la U.D.C.A, conformada por más de un grupo de investigación, que formula y desarrolla un programa de investigación, participa en la formación y en la capacitación de recurso humano para la investigación, transfiere el conocimiento, hace divulgación científica, gestiona los recursos necesarios al cumplimiento de su objetivo y adquiere reconocimiento nacional e internacional (Consejo Académico, 2012).

La Política de Investigación en la U.D.C.A relaciona su articulación con la Extensión, dejando atrás ese eslabón perdido: “...*debe ser pertinente y apropiada por los sectores sociales en los que pretende influir, así como constituir el acervo del conocimiento que enriquece nuestra cultura y favorece el desarrollo social, además de las acciones propias de la divulgación y de la difusión de los resultados de investigación*” (Consejo Académico, 2012).

Asimismo, cuenta con un Plan de Investigación, Desarrollo e Innovación I+D+I 2021-2024, cuyos impactos esperados se relacionan en lo científico: nuevos conocimientos de alta calidad, capital humano fortalecido en I+D+I y fomento del conocimiento y la ciencia abierta; en la sociedad; abordaje de retos y necesidades mundiales, regionales y locales, beneficios tangibles, fortalecer

la incorporación de la I+D+I en la sociedad; en lo económico; crecimiento basado en la innovación, más y mejores puestos de trabajo y movilización de inversiones y en lo institucional: reacreditación institucional, visibilidad internacional, entorno digital y reconocimiento y desarrollo focalizado y consciente por los ODS.

Por lo tanto, se presenta algunos datos y cifras relacionados con la evolución de la investigación en la Universidad.

Se ha facilitado la formación de cerca de 50 doctores y magísteres, que aportan al avance de la Ciencia Tecnología e Innovación-CTeI, en sus diferentes áreas de conocimiento, en instituciones nacionales e internacionales de reconocido prestigio.

Como resultado de la Convocatoria 894 de 2021, para la medición y la categorización de grupos e investigadores, la U.D.C.A presentó 14 grupos propios y dos, que se trabajan en articulación con la

Tabla 1. Resumen de la clasificación de los grupos de investigación U.D.C.A.

Categoría	A1	A	B	C	NR/Reconocido	Total
2017	1	1	2	8	1	13
2019	2	1	3	9	1	16
2021	3	3	4	3	3	16

Fuente: Dirección de Investigación y Gestión del Conocimiento, 2022.

Universidad Simón Bolívar de Barranquilla, para un total de 16 grupos, con la siguiente distribución de resultados. Grupos A1: 3, Grupos A: 3, Grupos B: 4, Grupos C: 3, Grupos No Reconocidos: 3. Algunos datos históricos de los grupos, se presenta en la tabla 1.

A nivel Nacional, se presentaron a la Convocatoria 894, 93.337 hojas de vida de investigadores, de las cuales, 21.094 cumplieron con los requisitos y se categorizaron de la siguiente manera: Eméritos: 83, Senior: 3.040, Asociado: 4.601, Junior: 13.370. A nivel Institucional, la distribución quedó de la siguiente manera: Eméritos: 0, Senior: 2, Asociado: 9 y Junior 37.

En su nivel de formación, la Universidad registra un 58 % de docentes Magister/Maestría, 25 %, con Doctorado y un total de 131 investigadores.

Respecto al número de Semilleros de Investigación e Innovación activos por facultades, en total son 30, distribuidos en Ciencias (3), Ciencias Administrativas y Comerciales (2), Ciencias de la Salud (7), Ciencias Jurídicas (1), Ciencias Agropecuarias (11) y en Ciencias Ambientales y de la Sostenibilidad (6).

Un total de 354 artículos científicos fueron publicados en los últimos cinco años, con la siguiente distribución: revistas nacionales no indexadas 6,5 %, revistas nacionales indexadas 20,3 %, revistas internacionales no indexadas 3,7 % y en revistas internacionales indexadas 69, 5 %. Finalmente, se registran más de 45 proyectos activos, durante el 2022, desarrollados en todas las facultades.

Para el fomento de la Investigación, la Universidad, anualmente, destina de sus recursos, un presupuesto para el desarrollo de proyectos de investigación científica y tecnológica, para la

divulgación y la transferencia de sus resultados, para el fomento de la formación investigativa de sus estudiantes, mediante los programas de semilleros y de jóvenes investigadores e innovadores y para la formación de investigadores. De igual forma, se gestionan recursos externos para el desarrollo de la investigación, a través de convenios, de acuerdos, de contratos, de alianzas, de recursos provenientes de convocatorias y demás mecanismos de participación en fondos concursales, así como por la prestación de servicios de investigación (Tabla 2).

Con estos resultados y el reconocimiento a nivel nacional e internacional de la investigación que se genera desde la Universidad, se puede concluir varios aspectos. Se aprecia una mejora en la categorización, a nivel general, de los grupos de investigación de la Universidad; en la autoevaluación rendida, se percibió la necesidad de fortalecer la planta de investigadores de algunos grupos, con el fin de ascender en su categorización; se aprecia un incremento en el número de profesores categorizados como investigadores y, finalmente, frente a la meta del Plan de Acción 2021-2023, que precisa: "En 2023 se deben alcanzar los siguientes indicadores mínimos de investigación: 40 investigadores categorizados (2 eméritos, 2 senior, 8 asociados y 26 junior); 15 grupos de investigación clasificados (2 grupos A1, 2 grupos A, 5 grupos B y 6 grupos C)", se tiene pendiente cumplir con los 2 investigadores eméritos e incrementar la categorización de grupos en B y C.

Por otro lado, la Universidad, consciente de la importancia de la articulación de la investigación con el sector real, inauguró en marzo de 2022, el Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Molecular BSL-3, un proyecto que se hizo realidad en agosto de 2020, cuando mediante el Acuerdo 93 de 2020, emanado por el Órgano Colegiado de Administración y Decisión - OCAD de Ciencia,

Tabla 2. Fomento de la investigación en la U.D.C.A, 2018 - 2022.

Año	No. Proyectos que iniciaron en ese año	Financiación U.D.C.A		Financiación Externa			
		Valor (\$)	Porcentaje (%)	Total (\$)	Porcentaje (%)	Nacional	Internacional
2018	16	\$1.116.118.620	47%	\$1.280.100.630	53%	\$1.219.900.630	\$60.200.000
2019	29	\$2.018.135.799	45%	\$2.418.708.138	55%	\$2.063.773.918	\$354.934.220
2020	10	\$1.523.924.702	25%	\$4.511.123.887	75%	\$4.426.899.887	\$84.224.000
2021	44	\$1.598.617.332	59%	\$1.114.693.055	41%	\$952.632.055	\$162.061.000
2022	5	\$303.425.468	78%	\$84.885.112	22%	\$68.885.112	\$16.000.000
Totales	104	\$6.560.221.921		\$9.409.510.822		\$8.732.091.602	\$677.419.220

Fuente: Dirección de Investigación y Gestión del Conocimiento, 2022

Tecnología e Innovación, la U.D.C.A obtuvo recursos económicos por \$3.174.770.762, provenientes del fondo de CTel del Sistema General de Regalías, para el fortalecimiento de laboratorios regionales, con la posibilidad de prestar servicios científicos y tecnológicos. Este laboratorio contribuirá al fortalecimiento de las capacidades instaladas de ciencia, tecnología e innovación, para atender problemáticas que involucran patógenos de alto riesgo para la salud humana, proyectando una fácil adaptación para realizar diagnóstico de agentes emergentes y reemergentes.

De igual forma, conscientes de la importancia de la formación para el país de capital humano, que, según MinCiencias, todos los programas que promueven la formación a alto nivel permiten la “formación de profesionales para generar nuevo conocimiento e impulsar la investigación, el desarrollo y la innovación a escalas nacional y regional” (El Espectador, 2022), la U.D.C.A realizó una inversión por \$303.000.000, en adecuaciones de infraestructura física, que permitió que el Instituto de Formación Avanzada cuente con instalaciones adecuadas para la formación posgradual. Asimismo, el Doctorado en Ciencias de la Sostenibilidad, responde a esta necesidad, pues busca formar investigadores con una profunda comprensión de la naturaleza sistémica de las causas y las consecuencias de las situaciones, problemas y conflictos complejos de la sostenibilidad, lo que les permite plantear estrategias colaborativas desde la transdisciplinariedad y reconociendo el diálogo de saberes para afrontar los retos de la sostenibilidad, anticipar situaciones emergentes y construir escenarios deseables, en el marco de los principios de la justicia, la equidad y la integridad, que caracterizan la sostenibilidad.

En últimas, la responsabilidad científica de las Universidades es muy infinita, un compromiso dado a través de investigaciones relevantes y oportunas, con aplicación en diferentes campos y así fomentar el bienestar, no solo de la población humana y animal, sino en lo ambiental y en lo social.

Así, la situación de la investigación, la ciencia, la tecnología y la innovación en el país, se percibe como una ayuda mutua que se

debe dar entre la Universidad, el Estado y la empresa. En el reciente informe que presentó el actual Gobierno Nacional, referente al Programa de Colombia Científica (Presidencia de la República 2022), destacó que su propósito “es el de contribuir al logro del objetivo de política pública sobre calidad en la educación superior del país” y, además, señaló que “cuenta con una inversión de más de \$150 mil millones de recursos del Estado y \$45.000 millones de contrapartidas”, gestado a través de alianzas, pertenecientes al Sistema Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación, las IES y la investigación nacional e internacional

La investigación de la Universidad y del país están en la capacidad de ser competitiva en invención de productos, bienes y servicios, para el desarrollo económico y social del país, articulando la industria, la academia, el Estado y la sociedad.

REFERENCIAS

1. CONGRESO DE COLOMBIA. 1990. Ley No. 29 del 27 de febrero de 1990. “Por la cual se dictan disposiciones para el fomento de la investigación científica y el desarrollo tecnológico y se otorgan facultades extraordinarias”. Disponible desde Internet en: <https://minciencias.gov.co/sites/default/files/upload/reglamentacion/ley-29-1990.pdf> (con acceso 8/6/2022).
2. CONGRESO DE COLOMBIA. 2009. Ley No.1286 del 23 de enero de 2009. “Por la cual se modifica la Ley 29 de 1990, se transforma a Colciencias en Departamento Administrativo, se fortalece el Sistema Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación en Colombia y se dictan otras disposiciones”. Disponible desde Internet en: https://minciencias.gov.co/sites/default/files/upload/reglamentacion/ley_1286_2009.pdf (con acceso 8/6/2022).
3. CONGRESO DE COLOMBIA. 2019. Ley No.1951 del 24 de enero de 2019. “Por la cual se crea el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación, se fortalece el Sistema Nacional

- de Ciencia, Tecnología e Innovación y se dictan otras disposiciones”. Disponible desde Internet en: http://www.secretariasenado.gov.co/senado/basedoc/ley_1951_2019.html (con acceso 8/6/2022).
4. CONSEJO ACADÉMICO. 2012. Política y lineamientos para la investigación en la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A (8 de noviembre). Acta No. 398. Disponible desde Internet en: <https://investigacion.udca.edu.co/wp-content/uploads/2022/05/Politica-y-Lineamientos-Investigacion.pdf> (con acceso 7/6/2022).
5. EL ESPECTADOR. 2022. ¿A qué se dedican los doctores que hay en Colombia? Disponible desde Internet en: <https://www.elspectador.com/educacion/a-que-se-dedican-los-doctores-que-hay-en-colombia/> (con acceso 13/06/2022).
6. OBSERVATORIO COLOMBIANO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA, OCYT. 2021. Indicadores de ciencia y tecnología e innovación. Colombia 2020. Observatorio colombiano de ciencia y tecnología. 291p.
7. PRESIDENCIA DE LA REPÚBLICA. 2022. Presidente Duque presenta resultados del programa Colombia Científica en los sectores de salud, energético, social y educativo. Disponible en internet: <https://idm.presidencia.gov.co/prensa/Paginas/Presidente-Duque-presenta-resultados-del-programa-Colombia-Cientifica-en-lo-220606.aspx>



Phenological and physicochemical changes during fruit development in two peach cultivars in the high tropics

Cambios fenológicos y fisicoquímicos durante el desarrollo del fruto en dos cultivares de duraznero en trópico alto

Elberth Hernando Pinzón-Sandoval¹ ; Helber Enrique Balaguera-López^{2*} ; Mauricio Enrique Becerra-Gonzalez¹ 

¹Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Tunja - Boyacá, Colombia; e-mail: elberth.pinzon@uptc.edu.co; mauricio.becerra@uptc.edu.co

²Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Agronomía. Bogotá, Colombia; e-mail: hebalaguera@unal.edu.co

*corresponding author: hebalagueral@unal.edu.co

How to cite: Pinzón-Sandoval, E.H.; Balaguera-López, H.E.; Becerra-Gonzalez, M.E. 2022. Phenological and physicochemical changes during fruit development in two peach cultivars in the high tropics. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 25(1):e1942. <http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1942>

Open access article published by Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, under Creative Commons License CC BY-NC 4.0

Official publication of the Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, University, Accredited as a High-Quality Institution by the Colombian Ministry of Education.

Received: April 30, 2021

Accepted: March 16, 2022

Edited by: Helber Adrián Arévalo Maldonado

ABSTRACT

Several aspects of the development of the peach fruit under tropical conditions are unknown, this information allows agronomic practices to be carried out with technical criteria. Therefore, the objective was to determine the different changes and phenological changes of peach fruit depending on the Growing Degree Days (GDD) in the varieties 'Dorado' and 'Rubidoux', grown in the Colombian high tropics. This study randomly selected 51 trees and 100 flowers per plant that were in full flowering for sampling every 15 days until harvest to determine physical variables such as firmness, color index of the epidermis and pulp, and chemical properties such as soluble solids, titratable acidity, and respiratory rate. From full bloom to harvest, the Dorado and Rubidoux varieties took 1081.8 GDD (153 days) and 1667.1 GDD (205 days) respectively. The firmness increased in the two cultivars during phase 1 of development, then decreased until harvest. The color index of the epidermis and pulp increased during ripening, indicating yellow tones in the two varieties. The soluble solids

increased continuously, with final values of 15.9 ± 0.9 and 15.5 ± 0.3 °Brix. The acidity increased during phase 2 and then decreased during ripening. The respiratory rate decreased between phase 1 and 3, with an increase in phase 2, which is related to the lignification of the endocarp in the two cultivars. These results contribute to the understanding of the development of the two peach cultivars under tropical conditions.

Keywords: Deciduous; Phenological characterization; Physicochemical characterization; Plant physiology; *Prunus persica*.

RESUMEN

Se desconocen varios aspectos del desarrollo del fruto de duraznero en condiciones tropicales, información que permite realizar labores agronómicas con criterio técnico, por tanto, el objetivo fue determinar los diferentes cambios fisicoquímicos y fenológicos del fruto de durazno, en función del tiempo térmico, de las variedades 'Dorado' y 'Rubidoux', cultivados en zonas de

trópico alto colombiano. Se seleccionaron al azar 51 árboles y 100 flores/planta, en estado de plena floración. Cada 15 días y hasta la cosecha, se hicieron mediciones de la firmeza, el índice de color de epidermis y pulpa, los sólidos solubles, la acidez titulable y la tasa respiratoria. De plena floración a cosecha, las variedades Dorado y Rubidoux tardaron 1081,8 GDC (153 días) y 1667,1 GDC (205 días), respectivamente. La firmeza presentó un incremento en los dos cultivares durante la fase 1 de desarrollo, luego disminuyó hasta la cosecha. El índice de color de epidermis y pulpa aumentó durante la maduración, con tonalidades amarillas, en las dos variedades. Los sólidos solubles incrementaron de forma continua y en los dos cultivares, con valores finales de $15,9 \pm 0,9$ y $15,5 \pm 0,3$ °Brix. La acidez mostró un incremento durante la fase 2 y luego disminuyó durante la maduración. La tasa respiratoria decreció entre la fase 1 y 3, con un incremento en la fase 2, relacionado con la lignificación del endocarpio, en los dos cultivares. Estos resultados contribuyen al entendimiento del desarrollo de los dos cultivares de durazno, bajo condiciones tropicales.

Palabras clave: Caducifolio; Fisiología vegetal; Caracterización fenológica; Caracterización fisicoquímica; *Prunus persica*.

INTRODUCTION

The peach (*Prunus persica* [L] Batsch) belongs to the Rosaceae family (Liu *et al.* 2020) and is highly desired for its pleasant taste, aroma, and nutritional characteristics (Africano-Pérez *et al.* 2016; Rodríguez *et al.* 2019), used for fresh consumption and industrial processes (Mariño-González *et al.* 2019). By 2018, Colombia had 2,501.62 cultivated ha that produced 34,738.09 t (MADR, 2018). In the country, it is considered one of the most important fruit trees in the high tropics because it has comparative advantages over those grown in temperate areas (Pinzón *et al.* 2014). These advantages include the agroecological offering that, with the use of early, late and intermediate varieties, can provide year-round production for fresh consumption and agroindustrial uses (Castro & Puentes, 2012).

In Boyacá, Colombia, different varieties are grown, such as Dorado and Rubidoux. The Dorado variety is grown between 2.200 and 2.700 meters above sea level and has a low requirement for cold hours and rapid fruit development, making it a highly appreciated variety in Colombia (Miranda & Carranza, 2013). The Rubidoux variety is adapted to areas between 2.400 and 2.800 meters above sea level, with a requirement of 500-700 cold hours.

The fruit growth follows a double sigmoid pattern (Rodríguez *et al.* 2019), which begins with a rapid growth phase as the result of cell division and elongation. Afterward, important physiological and anatomical changes are evident, with a decrease in the growth rate of the pericarp, lignification, increased endocarp weight, and partial or total seed formation. The accelerated growth of the pericarp is seen with an increased number and volume of cells and intercellular spaces. In the last stage, the fruit reaches its final size, and ripening begins (Rodríguez *et al.* 2019). However, the development pattern may vary in the many peach cultivars, which do not present the same

phenological cycle in the early, intermediate, and late-cycle materials (Dela Bruna, 2007; Bonghi *et al.* 2011). During fruit development, there are different important physicochemical and phenological parameters whose behavior is specific for each cultivar. These parameters are useful for understanding the physiology and integral process of fruit development. In addition, they are indicative of the quality and can be used as maturity indices to determine optimal harvest and other important crop tasks. Commonly, soluble sugars increase, total acidity decreases, firmness is lost and color changes occur. These changes were observed in the Jarillo cv, cultivated in three zones in Colombia (Quevedo *et al.* 2018).

Studies have been carried out for physicochemical and phenological characterizations during the development of peach fruits; however, most have been carried out in temperate zones and do not represent the growth and development conditions of fruits in tropical and subtropical zones where ecophysiological conditions are different (Fischer *et al.* 2011). Therefore, the objective of this study was to evaluate fruit development with the determination of physicochemical changes and phenology as a function of thermal time in the 'Dorado' and 'Rubidoux' varieties, grown in Colombian high tropics.

MATERIAL AND METHODS

The field phase was carried out on commercial farms in the municipalities of Tuta and Soracá, Boyacá-Colombia. The farms are in the high tropics with altitudes over 2,500 meters above sea level, with an average temperature of 13 to 14 °C and bimodal precipitation that averages 700 to 1000 mm. The laboratory phase was carried out in the Laboratorio de Calidad y Poscosecha de Productos Agrícolas in the Facultad de Ciencias Agrarias at the Universidad Nacional, Bogotá.

15 sampling units were used to collect data with a total of 51 trees selected at random for each cultivar. Each unit had three trees in the full productive stage (7 years of sowing), planted at distances of 3 m between trees and 2.5 m between rows. Each tree had 100 marked flowers, with mixed branches with one year in full bloom. Although only 25 fruits per tree were collected for the analyses, overestimated sampling was used to ensure the total number of fruits needed for this study. The accumulation of Growing Degree Days (GDD) was determined by the following equation:

$$GDD = T_m - T_{base}$$

Where, T_m is the mean daily air temperature, calculated by taking the daily temperature every 30 min with a Humidity and Temperature Datalogger RHT20 (Extech™). The T_{base} used the base temperature, which for this study was 4,5 °C according to Chaar & Astorga (2012).

Starting at day 30 after full flowering (daff), when different measurements could be taken on the fruits, and until harvest, samples were taken every 15 days until each cultivar reached physiological maturity. The size of the repetition varied according

to the variable, 10 repetitions for the physical variables, each with one fruit, and 6 repetitions for the determination of the chemical variables. The fruit phenology was established with a photographic record and description of the physicochemical changes concerning the GDD from the formation of the flower bud to harvest.

For the fruit firmness (N), the equatorial zone was drilled with a digital texturometer (Lloyd LS1 brand, Bognor Regis, UK), a 1 KN load cell, a 3 mm cylindrical punch, and Nexygen plus. The titratable acidity (TA % of malic acid) was obtained with acid-base titration according to Africano-Pérez *et al.* (2016). The soluble solids (SS) were quantified using a Hanna brand digital refractometer with a range of 0 to 85 % with a precision of 0.1 °Brix. The epidermis and pulp color index (CI) were calculated with the CIELab system parameters: L*, a*, and b*, for which three readings were taken in

the equatorial zone of 8 fruits with a CR 410 digital colorimeter (Konica Minolta®, Hong Kong). The values were plugged into the following formula:

$$CI = \frac{1000xa^*}{L^* \times b^*}$$

To determine the fruit respiration ($\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$), a CO_2 sensor was used (Vernier, Software & Technology, Beaverton, OR, USA) with LabQuest according to Mariño-González *et al.* (2019). The readings were taken every 5 s for 5 min, and approximately 600 g of fruit were used per repetition.

All variables were subjected to descriptive analysis to estimate the mean and standard error in each sampling point, and the coefficient of determination (R^2) determined the most appropriate statistical



Figure 1. Growth and development of peach fruit cv 'Dorado' under conditions of high Colombian tropics. Stages: a) Full flowering; b) fruit 30 daff; c) fruit between 30 and 75 daff, 8.9 to 413.5 GDD; d) fruit 90, daff 554.6 GDD; e) fruit 120 daff, 835.3 GDD; f) fruit 135 daff, 979.1 GDD; g) fruit 153 daff, 1081.8 GDD.

model. the models were generated through the lm function of the software R version 3.5.3.

RESULTS AND DISCUSSION

Phenology and growth. The varieties studied present a differentiated behavior in the development of the fruit, the Dorado variety presented full flowering with fruit set one month later, when the fruit began the first phase, which is characterized by active cell division. This phase lasted 45 d, with 413.5 GDD. A second phase with cell expansion and simultaneous lignification of the endocarp lasted 60 d and accumulated 565.6 GDD. The final phase of fruit ripening lasted 18 d and accumulated 102.7 GDD.

This variety accumulated a total of 1081.8 GDD over 153 d after full flowering (daff) (Figure 1).

The Rubidoux variety showed full flowering with fruit set one month later, when the first phase began, lasting 60 d and accumulating 563.8 GDD, with little gain for the diameter and mass. Cell division processes predominated up to the second phase, which lasted 90 d and accumulated 734.5 GDD. This phase had an endocarp lignification process that stopped growth, followed by an accelerated gain in mass and size.

The endocarp lignification phase has been described as a prolongation of phase I, characterized by a progressive reduction



Figure 2. Growth and development of peach fruit cv 'Rubidoux' under conditions of high Colombian tropics. Stages: a) Full flowering; b) fruit 30 daff; c) fruit between 75 daff, 413.2 GDD; d) fruit 105, daff 699.6 GDD; e) fruit 150 daff, 1161.8 GDD; f) fruit 180 daff, 1431.6 GDD; g) fruit 205 daff, 1667.1 GDD.

in the mitotic rate and differentiation of endocarp cells that considerably increase their lignin content (Dardick *et al.* 2010). The final phase lasted 25 days and accumulated 368.6 GDD. This phase had the greatest amount of physical and chemical changes as maturation occurred. This variety accumulated a total of 1667.1 GDD over 205 daff (Figure 2).

Reports have stated that the accumulated growth of peach fruits follows a double sigmoid model (Rodríguez *et al.* 2019) but is linked to the cultivar cycle, with some conforming to simple sigmoid models (Dela Bruna, 2007). According to growth and development, peach fruits have three phases. Phase I is characterized by rapid growth as the result of cell division, and phase II has a temporary decrease in pulp mass gain, increased endocarp mass, lignification of the endocarp, with partial or total seed formation. Phase III includes typical physical and biochemical changes for the ripening process, such as an increase in the production of ethylene and volatile compounds, color changes, increase in respiratory rate,

decrease in firmness, and chemical transformations that affect sugars, organic acids, proteins, phenolic compounds, pigments, and pectins. During the ripening phase, specific flavors and odors, along with increased sugars and decreased acidity, are notable (Martínez-González *et al.* 2017). These phases were evidenced in the evaluated cultivars.

Physicochemical changes. The firmness was adjusted to following polynomial models, $y = -6E-05x^2 + 0.0542x + 27.387$ to Dorado (R^2 0.94) and $y = 3E-08x^3 - 0.0001x^2 + 0.0959x + 24.057$ to Rubidoux (R^2 0.92), with a similar behavior in the two evaluated varieties. The Dorado variety presented an initial firmness of 26.72 ± 1.13 N, which increased until reaching a maximum value of 39.40 ± 0.71 N at 413.5 GDD (75 daff). Afterward, it decreased until reaching a value of 11.6 ± 0.78 N at 1081.8 GDD (153 daff) (Figure 3A). The Rubidoux variety had an initial value of 20.17 ± 0.27 N, which increased until reaching a maximum value of 49.03 ± 1.07 N at 285.02 GDD (60 daff). Afterward, it decreased

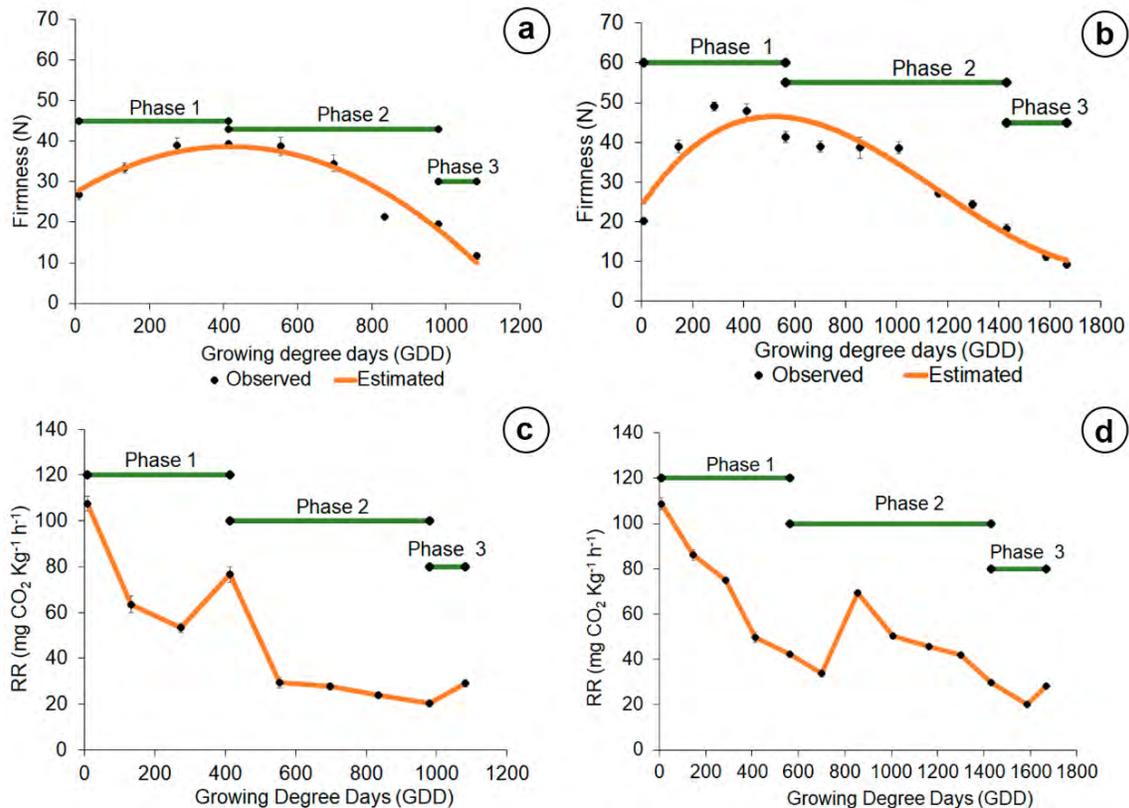


Figure 3. Firmness during the growth and development of the peach fruit: A) cv 'Dorado'; B) cv 'Rubidoux'. Respiration rate development of the peach fruit: C) cv 'Dorado'; D) cv 'Rubidoux'. Vertical bars at each sampling point indicate the standard error (n=10).

and obtained a value of 9.19 ± 0.40 N at 1667.1 GDD (205 daff) (Figure 3C).

Firmness is the best indicator at a practical level for fruit ripening in different stages. It can determine the optimal levels of consumption, transport, and handling. It is also one of the main quality attributes and often limits postharvest shelf-life (Africano-Pérez *et al.* 2016).

It has been shown that the state of maturity in peaches is highly correlated with pulp firmness (Matteoli *et al.* 2015). The increase in firmness in the first stages of development in the two peach cultivars, according to some authors, may be associated with the synthesis of protopectin and the accumulation of reserve sugars, such as starch (Lo Bianco & Rieger, 2002; Cirilli *et al.* 2016).

The loss of firmness in phases 2 and 3 may be due to a series of genetically programmed events, characterized by biochemical and physiological processes. According to Payasi *et al.* (2009), this process is complex and involves three subsequent steps: 1) relaxation of the cell wall by expansins; 2) depolymerization of hemicelluloses; and 3) depolymerization of polyuronides by polygalacturonase or other hydrolytic enzymes. In climacteric fruits, the loss of interconnectedness in pectins and hemicelluloses results from the effects of solubilization and enzymatic depolymerization and leads to interconversion of highly interconnected polysaccharides to structures with low fibrillar association (Prasanna *et al.* 2003).

The respiratory rate in the Dorado variety had an initial value of $107.6 \pm 3.27 \text{ mg CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, with a decrease until reaching a value of $53.30 \pm 2.01 \text{ mg CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ at 273.5 GDD (60 daff), followed by an increase until reaching a value of $76.62 \pm 3.33 \text{ mg CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ at 413.5 GDD (75 daff), and finally decreasing constantly to a value of $20.26 \pm 1.47 \text{ mg CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ at 979.1 GDD (135 daff) (Figure 3B). The variety Rubidoux had an initial value of $108.74 \pm 2.75 \text{ mg CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, which decreased to a value of $33.92 \pm 1.5 \text{ mg CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ at 699.6 GDD (105 daff), followed by an accelerated but momentary increase at 855.6 GDD (120 daff), from which it decreased continuously to a value of $28.1 \pm 0.1 \text{ mg CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ at 1586.8 GDD (195 daff) (Figure 3D).

Respiration may be related to the synthesis of new tissue (growth respiration) and structural maintenance (maintenance respiration) through the turnover of ATP and NADH₂, which are necessary for plant growth (Galho *et al.* 2007) and, in this case, for fruit development in the two peach cultivars, especially in phase 1, where the respiratory rate must be high to meet the energy demands of cell division in this stage.

It has been shown at a physiological level that the expression of lignin and flavonoid pathway genes is associated with development processes in peaches. Here, growth is described by double sigmoid curves (Rodríguez *et al.* 2019), with a growth plateau that coincides with endocarp hardening, commonly known as bone. According to Dardick *et al.* (2010), the slowdown in fruit expansion could be attributed to important energy resources obtained through respiration processes being used for lignification and hardening of the endocarp because expression of the lignin gene is induced to extremely high levels immediately before the growth slowdown. However, these energy resources appear to be carefully divided to allow the accumulation of flavonoids before the hardening of the endosperm depletes the energy and metabolic resources needed for the other phases of fruit development.

In the studied cultivars, there was an unusual increase in respiration in phase II of fruit growth, which might be due to the fruit

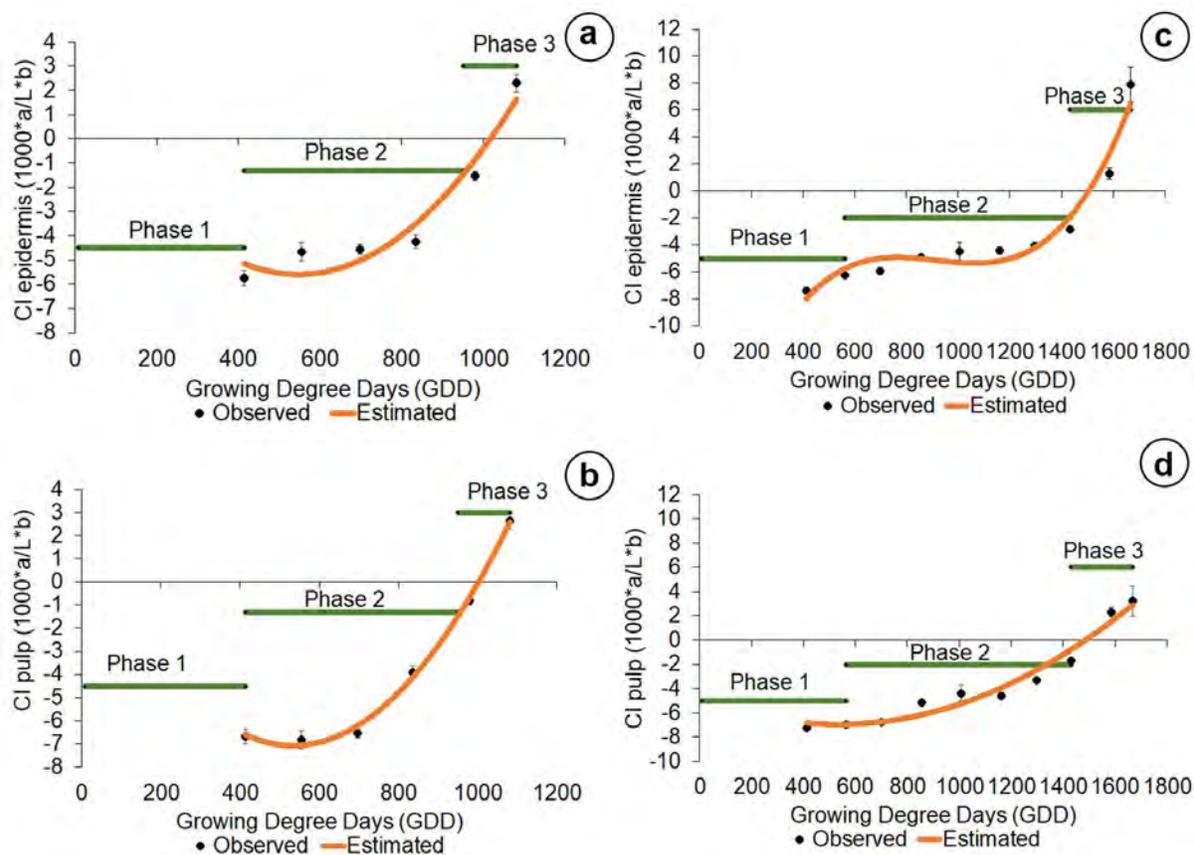


Figure 4. Color Index during the growth and development of the peach fruit cv 'Dorado. A) Epidermis; B) Pulp and cv 'Rubidoux'; C) Epidermis; D) Pulp. Vertical bars at each sampling point indicate the standard error (n=10).

lignification process, where growth respiration increases notably to obtain necessary compounds for the formation of this tissue. Despite being unusual, this increase has been reported for peaches grown under subtropical conditions (Silva *et al.* 2013). A similar result was also found by Hernández & Hernández (2012), who found an increase in the respiratory rate in phase II of growth that was associated with the formation of seeds when studying the Amazonian copoazu fruit.

The epidermis and pulp color index was carried out from 75 daff in the two varieties because the high number of pubescences and the fruit size prevented the correct measurement of this variable up to this time. Epidermis color index of the Dorado variety was fitted to model $y = 3E-05x^2 - 0.0277x + 1.9834$ (R^2 0.91), presented a value initial of -5.74 ± 0.31 , while the pulp ($y = 3E-05x^2 - 0.0343x + 2,084$) (R^2 0.96) was -6.67 ± 0.11 , which continuously increased until reaching 2.30 ± 0.35 and 2.64 ± 0.13 , respectively (Figure 4A and B). The variety Rubidoux had an initial epidermis color index of -7.38 ± 0.08 , and the pulp had -7.23 ± 0.10 , which continuously increased until reaching values at harvest of 7.92 ± 1.27 and 3.21 ± 0.18 , respectively (Figure 4C and D), the models to epidermis and pulp were $y = 3E-08x^3 - 8E-05x^2 + 0,0756x - 26.906$ (R^2 0.96), and $y = 8E-06x^2 - 0.0082x - 4.7595$ (R^2 0.96) respectively.

Previous results have indicated that both the Dorado and Rubidoux varieties have green fruits, epidermis, and pulp, in early stages of fruit growth, with synchronous epidermis-pulp changes to yellow fruits in the Dorado variety and to intense yellow fruits in the

Rubidoux variety, which, according to Pinzon *et al.* (2014), are characteristic colors for these cultivars.

Color is a fundamental physical property of agricultural products because of its high correlation with other physical, chemical, and sensory indicators of quality in fruits and vegetables. Pigments make fruits attractive and commonly accumulate in the cuticle during the ripening process although many climacteric fruits also accumulate pigments in pulp tissue during ripening (Bouzayen *et al.* 2010), as seen in figures 1 and 2 for the two peach cultivars. According to Slaughter *et al.* (2013), the color change is caused by the enzymatic degradation of chlorophylls, synthesis of carotenoids and anthocyanins, and variation in the cell pH. Color change has also been related to an increase in ethylene since it triggers chlorophyll degradation reactions and stimulates coloring in berries by regulating genes involved in anthocyanin biosynthesis (Bouzayen *et al.* 2010). The results indicated that the color index in cultivars 'Dorado' and 'Rubidoux' is a very reliable parameter for establishing harvest tasks, with synchronized external color (epidermis) and internal color (pulp) under the studied conditions.

Soluble solids (SS) were adjusted to second ($y = 3E-06x^2 + 0,0018x + 9,5623$, R^2 0.93) and third order ($y = 1E-09x^3 - 3E-06x^2 + 0,0043x + 8,9633$, R^2 0.87) polynomial models for Dorado and Rubidoux, respectively. The Dorado variety obtained an initial value of 9.1 ± 0.63 °Brix, until reaching a maximum value of 15.9 ± 0.9 °Brix (1081.8GDD or 153 daff) (Figure 5A). The Rubidoux variety presented a value of 9.0 ± 0.17 °Brix at 9.6GDD (30 dds), with a

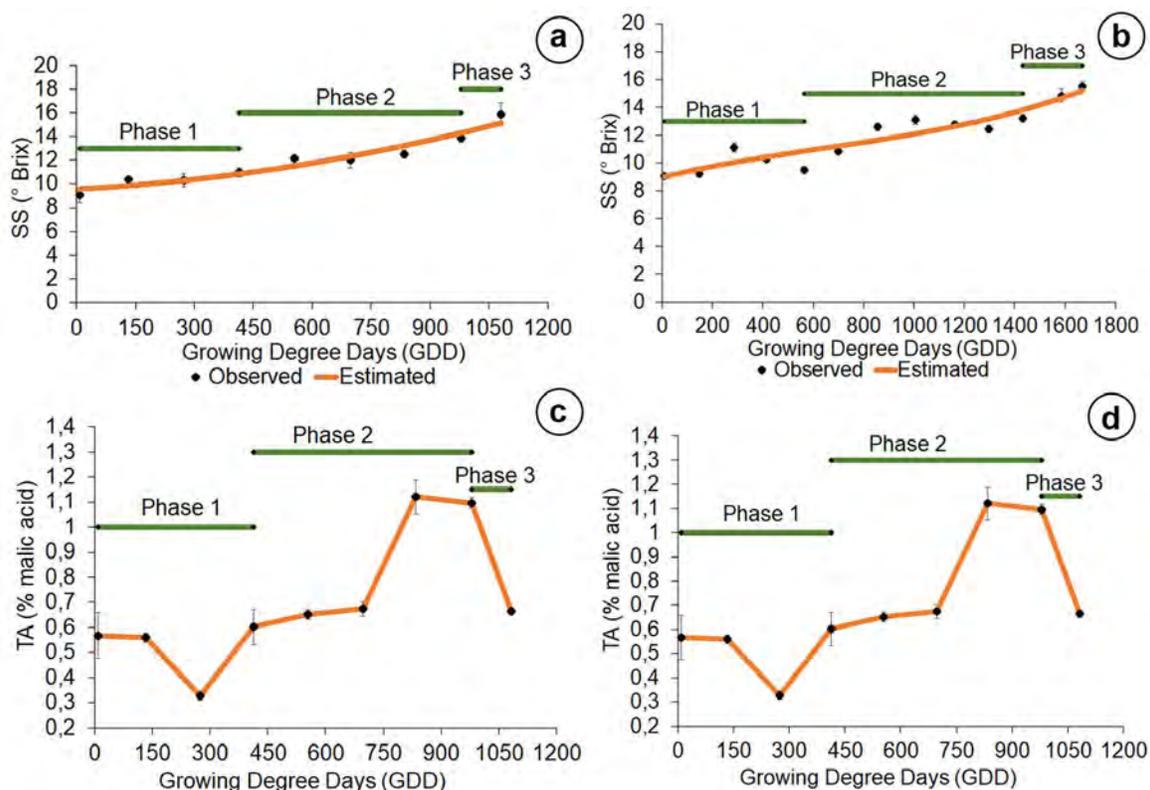


Figure 5. Behavior of Soluble Solids (SS) in peach fruit of A) cv 'Dorado'; B) cv 'Rubidoux'. Behavior of Titratable acidity (TA) in peach fruit of C) cv 'Dorado'; D) cv 'Rubidoux'. Vertical bars at each sampling point indicate the standard error (n=6).

continuous increase until reaching a maximum value of 15.5 ± 0.3 °Brix at 1667.1GDD (205 daff) (Figure 5B).

The peach accumulates different types of soluble sugars and sugar alcohols, mainly sucrose, glucose, fructose, and sorbitol (Cirilli *et al.* 2016). Sucrose is the predominant sugar in the peach mesocarp at maturity, representing approximately 40 to 85 % of the total sugar content, followed by Glucose and Fructose (in variable proportions) (Brooks *et al.* 1993). These sugars were possibly in the evaluated cultivars. Starch accumulates in the early stages of fruit development and is then rapidly metabolized, becoming almost imperceptible in the maturity or the final phase (Lo Bianco & Rieger, 2002). Hexoses are the most abundant sugars in immature peach fruits until the phases of rapid growth or cell elongation begin when sucrose becomes the predominant sugar. This behavior may also occur in the Dorado and Rubidoux varieties. While the accumulation pattern of glucose and fructose is generally characterized by variations throughout fruit development, the content is slightly higher in the early stages and progressively declines until maturity (Desnoues *et al.* 2014).

For the titratable acidity (TA), the variety Dorado presented an initial concentration of 0.56 ± 0.09 % at 8.9 GDD (30 daff), with a decrease up to 273.5 GDD (60 daff). Afterward, there was a continuous increase up to 835.3 GDD (120 daff), reaching a value of 1.12 ± 0.06 %, followed by a drastic decrease until harvest, with a final value of 0.66 ± 0.003 % at 1081.8 GDD (153 daff) (Figure 5C). The variety Rubidoux obtained an initial TA of 1.18 ± 0.06 %, which decreased up to 413.2 GDD (75 daff). Afterward, the TA increased until a maximum value of 1.38 ± 0.01 % at 1431.6 GDD (180 daff). Then, the TA began to decrease until a value of 0.71 ± 0.05 % at 1667.1 GDD (205 daff), when the fruit reached physiological maturity (Figure 5D).

The decrease in acidity observed in the first phase in the two peach cultivars (Figure 5) may have been associated with the consumption of organic acids as a result of the high respiratory rates in this stage, as observed by Quevedo *et al.* (2018) in variety Jarillo. However, some reports indicate the opposite, where fruits accumulate organic acids in the early stages of development (Cepeda *et al.* 2021). The increase found in phase 2 is uncommon for this species although it has been found in some plums with increased malate that remains constant during ripening and only decreases in a very advanced stage of this process (Famiani *et al.* 2012). This result is consistent with the findings of this study.

Most of the organic acids present in the pulp of fruits are not imported; they are synthesized in the pulp from sugars (Etienne *et al.* 2013). They accumulate in the pulp of many types of fruits in certain stages of development (Famiani *et al.* 2015). The peach may have important organic acids such as oxalic acid, quinic acid, shikimic acid, citric acid, fumaric acid, and malic acid. The latter is the predominant acid (Le Dantec *et al.* 2010; Famiani *et al.* 2015). However, TA, a general measure of acids in fruits, can vary between cultivars, as evidenced in our study.

The results allow concluding that the behavior of several physicochemical parameters was elucidated for Dorado and Rubidoux varieties cultivated under high tropic conditions. The fruit development cycle in Rubidoux is greater than in Dorado. The firmness, soluble solids, and color index showed a typical behavior for this species in the two cultivars. The acidity had a marked increase during phase 2 of development but decreased during maturation. The respiratory rate decreased between phase 1 and 3 but had an atypical increase in phase 2 in the two varieties.

Conflict of interests: The manuscript was prepared and reviewed with the participation of all authors, who declare that no conflict of interest is present that might question the validity of the results presented in the article.

REFERENCES

1. AFRICANO-PÉREZ, K.L.; BALAGUERA-LÓPEZ, H.E.; ALMANZA-MERCHÁN, P.J.; CÁRDENAS-HERNÁNDEZ, J.F.; HERRERA-ARÉVALO, A. 2016. Caracterización poscosecha del fruto de durazno [*Prunus persica* (L.) Bastch] cv. Dorado producido bajo condiciones de trópico alto. Rev. Colombiana de Ciencias Hortícolas. 10(2):232-240. <https://doi.org/10.17584/rcch.2016v10i2.5212>
2. BONGHI, C.; TRAINOTTI, L.; BOTTON, A.; TADIELLO, A.; RASORI, A.; ZILLOTTO, F.; ZAFFALON, V.; CASADORO, G.; RAMINA, A. 2011. A microarray approach to identify genes involved in seed-pericarp cross-talk and development in peach. BMC Plant Biology. 11:1-14. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-107>
3. BOUZAYEN, M.; LATCHE, A.; NATH, P.; PECH, J.C. 2010. Mechanism of Fruit Ripening M. In: Pua, E.; Davey, M. (Eds.). Plant Developmental Biology - Biotechnological Perspectives. Springer (Berlin, Heidelberg). https://doi.org/10.1007/978-3-642-02301-9_16
4. BROOKS, S.J.; MOORE, J.N.; MURPHY, J.B. 1993. Quantitative and qualitative changes in sugar content of peach genotypes [*Prunus persica* (L.) Batsch.]. J. the American Society for Horticultural Science. 118(1):97-100. <https://doi.org/10.21273/jashs.118.1.97>
5. CASTRO, Á.; PUENTES, G.A. 2012. Ciruelo y Duraznero (*Prunus salicina* Lindl.) - (*Prunus persica* (L.) Batsch.). In: Fischer, G. (Ed.). Manual para el cultivo de frutales en el trópico. Produmedios (Bogotá D.C.). p.370-392.
6. CEPEDA M., A.; VÉLEZ-SÁNCHEZ, J.; BALAGUERA-LOPEZ, H. 2021. Analysis of growth and physicochemical changes in apple cv. Anna in a high-altitude tropical climate. Rev. Colombiana De Ciencias Hortícolas. 15(2):e12508. <https://doi.org/10.17584/rcch.2021v15i2.12508>

7. CHAAR, J.; ASTORGA, D. 2012. Determinación del requerimiento de frío y de calor en duraznero [*Prunus persica* (L.) Batsch.] mediante un modelo de correlación. RIA: Revista Investigaciones Agropecuarias. 38(3):289-298.
8. CIRILLI, M.; BASSI, D.; CIACCIULLI, A. 2016. Sugars in peach fruit: A breeding perspective. Horticulture Research. 3:1-12. <https://doi.org/10.1038/hortres.2015.67>
9. DARDICK, C.D.; CALLAHAN, A.M.; CHIOZZOTTO, R.; SCHAFFER, R.J.; PIAGNANI, M.C.; SCORZA, R. 2010. Stone formation in peach fruit exhibits spatial coordination of the lignin and flavonoid pathways and similarity to Arabidopsis dehiscence. BMC Biology. 8:13-30. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-8-13>
10. DELA BRUNA, E. 2007. Curva de crecimiento de frutos de pêssego em regiões subtropicais. Rev. Brasileira de Fruticultura. 29(3):685-689. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452007000300050>
11. DESNOUES, E.; GIBON, Y.; BALDAZZI, V.; SIGNORET, V.; GÉNARD, M.; QUILOT-TURION, B. 2014. Profiling sugar metabolism during fruit development in a peach progeny with different fructose-to-glucose ratios. BMC Plant Biology. 14:336-339. <https://doi.org/10.1186/s12870-014-0336-x>
12. ETIENNE, A.; GÉNARD, M.; LOBIT, P.; MBEGUIÉ-AMBÉGUIÉ, D.; BUGAUD, C. 2013. What controls fleshy fruit acidity? A review of malate and citrate accumulation in fruit cells. J. Experimental Botany. 64(6):1451-1469. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert035>
13. FAMIANI, F.; BATTISTELLI, A.; MOSCATELLO, S.; CRUZ-CASTILLO, J.G.; WALKER, R.P. 2015. The organic acids that are accumulated in the flesh of fruits: occurrence, metabolism and factors affecting their contents – a review. Rev. Chapingo, Serie Horticultura. 21(2):97-128. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2015.01.004>
14. FAMIANI, F.; CASULLI, V.; BALDICCHI, A.; BATTISTELLI, A.; MOSCATELLO, S.; WALKER, R.P. 2012. Development and metabolism of the fruit and seed of the Japanese plum Ozark premier (Rosaceae). J. Plant Physiology. 169(6):551-560. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2011.11.020>
15. FISCHER, G.; CASIERRA-POSADA, F.; VILLAMIZAR, C. 2011. Producción forzada de duraznero (*Prunus persica* (L.) Batsch) en el altiplano tropical de Boyacá (Colombia). Rev. Colombiana de Ciencias Hortícolas. 4(1):19-32. <https://doi.org/10.17584/rcch.2010v4i1.1223>
16. GALHO, A.S.; LOPES, N.F.; BACARIN, M.A.; LIMA, M. 2007. Chemical composition and growth respiration in *Psidium cattleianum* sabiné fruits during the development cycle. Rev. Brasileira de Fruticultura. 29(1):61-66. <https://doi.org/10.1590/s0100-29452007000100014>
17. HERNÁNDEZ, L.C.; HERNÁNDEZ, G.M.S. 2012. Crecimiento y desarrollo del fruto de copoazú (*Theobroma grandiflorum* [Willd. Ex Spreng.] Schum.) en la Amazonia occidental Colombiana. Agr. Col. 30(1):95-102.
18. LE DANTEC, L.; CARDINET, G.; BONET, J.; FOUCHÉ, M.; BOUDEHRI, K.; MONFORT, A.; POËSSEL, J.L.; MOING, A.; DIRLEWANGER, E. 2010. Development and mapping of peach candidate genes involved in fruit quality and their transferability and potential use in other Rosaceae species. Tree Genetics and Genomes. 6(6):995-1012. <https://doi.org/10.1007/s11295-010-0308-8>
19. LIU, Z.; MA, H.; JUNG, S.; MAIN, D.; GUO, L. 2020. Developmental mechanisms of fleshy fruit diversity in Rosaceae. Annual Review of Plant Biology. 71:547-573. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-111119-021700>
20. LO BIANCO, R.; RIEGER, M. 2002. Partitioning of sorbitol and sucrose catabolism within peach fruit. J. American Society for Horticultural Science. 127(1):115-121. <https://doi.org/10.21273/jashs.127.1.115>
21. MARIÑO-GONZÁLEZ, L.A.; BUTRAGO, C.M.; BALAGUERA-LOPEZ, H.E.; MARTÍNEZ-QUINTERO, E. 2019. Effect of 1-methylcyclopropene and ethylene on the physiology of peach fruits (*Prunus persica* L.) cv. Dorado during storage. Rev. Colombiana de Ciencias Hortícolas. 13(1):46-54. <https://doi.org/10.17584/rcch.2019v13i1.8543>
22. MARTINEZ-GONZÁLEZ, M.; BALOIS-MORALES, R.; ALIA-TEJACAL, I.; CORTES-CRUZ, M.; PALOMINO-HERMOSILLO, Y.; LÓPEZ-GÚZMAN, G. 2017. Postharvest fruits: maturation and biochemical changes. Rev. Mexicana de Ciencias Agrícolas. 8(19):4075-4087. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i19.674>
23. MATTEOLI, S.; DIANI, M.; MASSAI, R.; CORSINI, G.; REMORINI, D. 2015. A spectroscopy-based approach for automated nondestructive maturity grading of peach fruits. IEEE Sensors J. 15(10):5455-5464. <https://doi.org/10.1109/JSEN.2015.2442337>
24. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL, MADR. 2018. Estadísticas Agrícolas. Área, producción, rendimiento y participación municipal en el departamento por cultivo. Estadísticas Agrícolas. Disponible en internet desde: <http://www.agronet.gov.co/estadistica/Paginas/default.aspx> (con acceso el 12/08/2020).

25. MIRANDA, D.; CARRANZA, C. 2013. Caracterización, clasificación y tipificación de los sistemas de producción de caducifolios: ciruelo, duraznero, manzano y peral en zonas productoras de Colombia. En: Miranda, D.; Fischer, G.; Carranza, C. (eds). Los frutales caducifolios en Colombia. Situación actual, sistemas de cultivo y plan de desarrollo. Equilibrio Gráfico Editorial Ltda (Bogotá D.C.). p.87-113.
26. PAYASI, A.; MISHRA, N.N.; CHAVES, A.L.S.; SINGH, R. 2009. Biochemistry of fruit softening: An overview. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 15(2):103-113. <https://doi.org/10.1007/s12298-009-0012-z>
27. PINZÓN, E.H.; CRUZ-MORILLO, A.; FISCHER, G. 2014. Physiological aspects of peach (*Prunus persica* [L.] Batsch) in the high tropical zone: A review. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 17(2):401-411. <https://doi.org/10.31910/rudca.v17.n2.2014.243>
28. PRASANNA, V.; YASHODA, H.M.; PRABHA, T.N.; THARANATHAN, R.N. 2003. Pectic polysaccharides during ripening of mango (*Mangifera indica* L.). *J. Science of Food and Agriculture*. 83(11):1182-1186. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1522>
29. QUEVEDO, E.; CASIERRA-POSADA, F.; DARGHAN, A.E. 2018. Quality of peach fruits Jarillo cv. (*Prunus persica* L.) in Pamplona, Colombia. *Rev. Brasileira de Fruticultura*. 40(6):e-040. <https://doi.org/10.1590/0100-29452018040>
30. RODRIGUEZ, C.E.; BUSTAMANTE, C.A.; BUDDE, C.O.; MÜLLER, G.L.; DRINCOVICH, M.F.; LARA, M.V. 2019. Peach fruit development: A comparative proteomic study between endocarp and mesocarp at very early stages underpins the main differential biochemical processes between these tissues. *Frontiers in Plant Science*. 10(715):1-19. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00715>
31. SILVA, D.F.; SILVA, J.O.; GONÇALVES, R.; RIBEIRO, M.; BRUCKNER, C. 2013. Curva de crescimento e padrão respiratório de frutos de genótipos de pessegueiro em região de clima subtropical. *Rev. Brasileira de Fruticultura*. 35(2):642-649. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452013000200037>
32. SLAUGHTER, D.C.; CRISOSTO, C.H.; TIWARI, G. 2013. Nondestructive determination of flesh color in clingstone peaches. *J. Food Engineering*. 116(4):920-925. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.007>



Descripción morfológica y caracterización molecular de los hongos asociados a la raíz de *Masdevallia coccinea* Linden ex Lindl.

Morphological description and molecular characterization of fungi associated with the root of *Masdevallia coccinea* Linden ex Lindl.

Jairo Alberto Triana-Vallejos^{1*} ; Concepción Bailón-Aijón¹ ; Johan Manuel Cifuentes-Castellanos¹ 

¹Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A. Bogotá D.C., Colombia; e-mail: jaitriana@udca.edu.co; cbailonaijon@gmail.com; johcifuentes@udca.edu.co

*autor de correspondencia: jaitriana@udca.edu.co

Cómo citar: Triana-Vallejos, J.A.; Bailón-Aijón, C.; Cifuentes-Castellanos, J.M. 2022. Descripción morfológica y caracterización molecular de los hongos asociados a la raíz de *Masdevallia coccinea* Linden ex Lindl. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 25(1):e2098. <http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.2098>

Artículo de acceso abierto publicado por Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, bajo una Licencia Creative Commons CC BY-NC 4.0

Publicación oficial de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Institución de Educación Superior Acreditada de Alta Calidad por el Ministerio de Educación Nacional.

Recibido: septiembre 24 de 2021

Aceptado: mayo 26 de 2022

Editado por: Helber Adrián Arévalo Maldonado

RESUMEN

Masdevallia coccinea es una orquídea llamativa, endémica de Colombia, empleada en la generación de híbridos ornamentales con más de una década, clasificada como una especie en peligro de extinción. Entre las técnicas usadas para la propagación *in vitro* y *ex situ* de especies de la familia Orchidaceae, se estudia la simbiosis micorrízica, debido a que esta familia micoheterótrofa depende de una correlación con estos hongos para subsistir en las primeras etapas de desarrollo en estado silvestre. Con el objetivo de caracterizar e identificar los hongos asociados a las raíces de *M. coccinea*, se realizó un estudio histológico en raíces y, a partir de micropreparados, se caracterizó morfológicamente micro, macroscópica y molecularmente diez aislamientos. Se identificó a *M. coccinea* como una orquídea que presenta diferentes patrones de colonización micorrízicos y con posibles efectos endófitos de los géneros *Aspergillus*, *Scopulariopsis*, *Trichoderma*, *Ilyonectria* y del orden Xylariales en condiciones *ex situ*.

Palabras claves: Colonización de raíces; Hongos endófitos; Hongos orquídeas; Micorrizas; Orquídea.

ABSTRACT

Masdevallia coccinea is a striking orchid, endemic to Colombia, used in the generation of ornamental hybrids, with more than a decade classified as an endangered species. Among the techniques used for *in vitro* and *ex situ* propagation of species of the Orchidaceae family, mycorrhizal symbiosis is studied, because this mycoheterotrophic family depends on a correlation with these fungi to survive in the early stages of development in the wild. In order to characterize and identify the fungi associated with the roots of *M. coccinea*, a histological study was carried out on roots and 10 isolates were morphologically, macroscopically and molecularly characterized from micropreparations. *M. coccinea* is identified as an orchid with different mycorrhizal colonization patterns and with possible endophytic effects of the genera *Aspergillus*, *Scopulariopsis*, *Trichoderma*, *Ilyonectria* and the order Xylariales under *ex situ* conditions.

Keywords: Endophytic fungi; Mycorrhiza; Orchid; Orchid fungi; Root colonization.

INTRODUCCIÓN

Las micorrizas orquidioides son organismos fúngicos que pueden colonizar las células del córtex, con la formación de haustorios dentro de las paredes celulares de la raíz, permitiendo, a su vez, el crecimiento de las hifas, a nivel intracelular, a través de la membrana celular; debido al desarrollo de pelotones, un complejo enrollamiento de hifas, a nivel intracelular, con una matriz de interfaz que permite el intercambio de carbono, nitratos y fósforo, este tipo de colonización se conoce como tolipofagia, que se caracteriza, además, porque los pelotones degradados brindan pectinas, celulosa y β -1,3-glucanos, para que, posteriormente, las células puedan ser recolonizadas (Singh & Varma, 2000; Peterson & Massicotte, 2004).

La relación simbiótica entre las orquídeas y los hongos formadores de micorrizas se creía una relación parasítica, debido a que

se consideraba que las micorrizas proporcionaban nutrientes, minerales y carbono a las semillas sin ninguna recompensa o, al menos, hasta que la planta fuera fotosintéticamente activa (Jacquemyn *et al.* 2015); sin embargo, Cameron *et al.* (2006) y Dearnaley & Cameron (2016) demostraron que las células embrionarias maduras de las semillas de orquídeas contienen un orgánulo de almacenamiento de proteínas, que podría producir amonio por medio de catálisis y que el amonio producido, a partir de los cuerpos proteicos, se puede usar para atraer hongos e iniciar la colonización, aunque la atracción también puede ser posible con nitrógeno orgánico, el ácido glutámico o la glutamina. En contacto los dos individuos, se inicia una señalización, que usa alrededor de 229 proteínas, que codifican la transducción de señales simbióticas, reacción de defensa, utilización de proteínas de almacenamiento y del metabolismo de nitrógeno, carbohidratos y lípidos (Chen *et al.* 2017).



Figura 1. *Masdevallia coccinea* Linden ex Lindl. Foto: Manuel Almanza. Miembro de la Asociación Bogotana de Orquideología, ABO.

Colonizada la semilla, la micorriza permite el ingreso del agua, iniciando la imbibición y la catálisis de reacciones metabólicas, formando pelotones que transfieren azúcares, fósforo y fuentes de nitrógeno, como el amonio y los aminoácidos esenciales para el crecimiento; por su parte, la semilla transloca lípidos a las hifas, donde se metabolizan como fuente de carbono y se usan para el crecimiento y el mantenimiento del hongo (Keymer *et al.* 2017; Yeh *et al.* 2019).

M. coccinea Linden ex Lindl. (Figura 1) es una orquídea de hábito terrestre o litofítico, endémica de Colombia, con distribución en la Cordillera Oriental, entre un rango de 2.500 a 3.400 metros de elevación, en áreas húmedas del bosque nuboso (Leathers, 2007). Morfológicamente es una orquídea cespitosa de hojas erectas, con tallos cortos, cubiertos de envolturas tubulares, que desarrollan una sola hoja apical lanceolada; no obstante, el tallo de la inflorescencia es más largo (hasta de 30 cm) y presenta una flor solitaria, con un sépalo dorsal reflexible y dos sépalos laterales, que forman un tubo más largo que ancho; pétalos con abundantes tricomas, un labelo inconspicuo, una columna paralela al labelo; una antera y un estigma ventral con dos polinios lateralmente aplanados; con respecto a su sistema radicular, sus raíces son flexuosas y delgadas (Cuervo Martínez *et al.* 2009).

M. coccinea es empleada en la generación de híbridos ornamentales, debido al aprecio de los agricultores y los coleccionistas aficionados; se clasifica como una especie **en peligro de extinción** y aunque presenta una distribución geográfica amplia, la alta degradación de su ambiente y su desmesurada recolección catalogan su vulnerabilidad (Calderón-Sáenz, 2006; Cuervo Martínez *et al.* 2013; Minambiente, 2017).

Esta investigación buscó identificar los hongos asociados a las raíces de *M. coccinea*, con el objetivo de conocer las dinámicas de interacción de un individuo en condiciones *ex situ* y estos microorganismos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección del material vegetal. Cinco raíces de crecimiento terrestre de 4 a 5 cm de largo fueron colectadas de un individuo joven de *M. coccinea*, sembrado en pino patula. La planta se adquirió en el 2012, en un vivero comercial y, posteriormente, se conservó en la Unidad del orquidiario de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A. Esta Unidad, se encuentra en condiciones de intemperie, realiza actividades de deshierbe manual, podas sanitarias y no realiza manejos con agroquímicos. Las cinco raíces fueron analizadas en el laboratorio de Sanidad Vegetal.

Colonización micorrízica.

Fijación de muestras de raíces para examen microscópicos de la colonización micorrízica: El procedimiento, se realizó de acuerdo con lo descrito por Nieto Melo & Bailón Aijón (2016), con las siguientes modificaciones: dos de las raíces extraídas fueron enjuagadas y sumergidas en 10 ml de formaldehído (CH₂O), a

5 %; 10 ml de ácido acético (CH₃COOH), a 5 % y 180 ml de alcohol etílico (C₂H₅OH), a 90 %, por 24 h. Tras este proceso, se lavaron con agua destilada y, posteriormente, se deshidrataron con 50 ml de alcohol etílico, en concentraciones crecientes de 70 % (2 h), 80 % (1 h), 90 % (1 h) y 100 % (1 h); seguido de un aclaramiento del tejido, con una mezcla de 25 ml de alcohol etílico, a 5 % + 25 ml de xilol (C₈H₁₀), a 50 % (1 h) y 50 ml de xilol, a 100 % (1 h). Para finalizar, se ejecutó la inclusión en parafina (60 °C), con tres periodos de (1/2 h) sumergidos y 1 min de reposo entre cada inmersión y culminó este proceso, con la solidificación de los bloques a temperatura ambiente (20 °C).

De cada bloque parafinado, se realizaron cortes de 15 micrómetros de grosor, en un micrótopo manual Leica RM2125 RTS; cada lamina fue montada en portaobjetos y sumergidos en 50 ml de xilol, a 100 % (1/2 h), 50 ml de alcohol etílico, a 100 % (1/2 h), 50 ml de alcohol etílico, a 90 % (1/2 h) y 100 ml de agua destilada. Tras el proceso, se obtuvieron cuatro cortes longitudinales y un corte transversal; dos de los cortes longitudinales y el corte transversal, se tiñeron con 5 ml de azul de lactofenol, a 0,5 % y los otros dos cortes longitudinales, con 5 ml de safranina, a 0,5 %. Cada montaje fue observado en un microscopio NIKON ECLIPSE E200, un adaptador NIKON TV lents 0.55 x y fotografiado con una cámara digital NIKON DS-2Mv, con los objetivos 10x y 40x.

Aislamientos fúngicos de raíces.

Elaboración de micropreparados: El procedimiento, se realizó de acuerdo con lo descrito por Nieto Melo & Bailón Aijón (2016), con las siguientes modificaciones: tres segmentos de las raíces fueron lavados en cámara de flujo laminar y desinfectados con 20 ml de Tween 20 (5 s); 20 ml de alcohol etílico (C₂H₅OH), a 70 % (60 s); hipoclorito de sodio (NaClO), a 25 % (30 s); al finalizar, se realizaron tres repeticiones de enjuague con agua destilada y esterilizada (120 s). Cada raíz se dividió en las siguientes zonas: C (Zona de crecimiento), B (Zona basal), A (Meristemo apical) y fueron cortadas en cinco secciones de 0,5 cm y sembradas en una caja Petri, de 9 x 1,4 cm, con 20 ml de PDA, con un pH 5,0. Posteriormente, cada caja Petri fue depositada en una incubadora a 20 °C, en oscuridad por 8 días, para finalizar su crecimiento, en condiciones ambientales dentro del laboratorio de Sanidad Vegetal (7 días). Transcurrido el periodo de incubación, se purificaron las colonias observadas.

Identificación de colonias fúngicas.

Identificación macro y microscópica: La identificación macroscópica fue realizada de cada colonia pura, registrando las siguientes variables: velocidad de crecimiento (cm²/24 h), forma de la colonia, altura y color de las hifas aéreas, color base y textura superficial (Chen *et al.* 2012). Las colonias fueron observadas en un estereoscopio Advance óptica modelo SE2200, con la luz blanca reflejada y se usó la cartilla Pantone, como sistema de estandarización de color (Pantone, 2017). Respecto a la identificación microscópica, se usó una cámara húmeda en caja Petri, obteniendo micelio en un cubreobjeto que, posteriormente, fue montado en dos

portaobjetos, para su visualización, en objetivos 40X y 100X; a cada portaobjeto, se le adicionó una gota de azul de lactofenol y una gota de safranina. Los hongos aislados, se identificaron de acuerdo con la clave dicotómica y descripción de géneros de hongos imperfectos de Barnett & Hunter (1998).

Velocidad de crecimiento radial: Un disco de micelio de 48 h de crecimiento fue sembrado por triplicado en cajas Petri, de 9 x 1,4 cm, con medio PDA, con 4,1 de pH, a 18 °C. El crecimiento se delimitó cada 24 h durante cuatro días; posteriormente, el área de crecimiento se determinó a través del programa imageJ. Tras la tabulación de los datos, se realizó un ajuste mediante una ecuación de regresión lineal, para calcular la pendiente de la curva de crecimiento, que corresponde a la velocidad media radial de cada especie fúngica. Los datos fueron evaluados en un análisis de varianza, para determinar si las medias eran iguales o no (Pereira *et al.* 2007). A partir de este resultado, se usó la prueba Tukey, para identificar la colonia o las colonias que fueran diferentes, tomando en cuenta un valor crítico de prueba 4,72; 11,39, como valor del cuadro del error medio y 4, como “n”, obteniendo de esta forma un HDS (Honestly-significant-difference) de 7,0.

Identificación molecular.

Aislamiento y purificación del DNA: Para este proceso, se usó el kit DNeasy PowerSoil (QIAGEN), que comprende un método de eliminación de inhibidores (IRT), obteniendo un ADN de un alto nivel de pureza, lo que permite una amplificación por PCR más exitosa de los organismos de la muestra.

Amplificación del ADN: La amplificación de la región ITS (Internal Transcribed Spacer) del ADN ribosomal fúngico, se realizó con los iniciadores ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) e ITS5 (GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG), en reacciones de 25 µL, que contienen 12,5 µL de mezcla PCR-100-2X Corpogen, 1 µL de cada iniciador a 10 µM (Concentración final: 0,4 µM), 2 µL de ADN purificado y 8,5 µL de agua tipo PCR Corpogen.

La muestra, se amplificó usando un termociclador BIORAD C1000, (Denaturación inicial 95 °C, 5 min; 35 ciclos de denaturación, a 95 °C, 30 s; anillamiento 55 °C, 30 s; extensión 72 °C, 45 s; extensión final 72, °C 5 min); posteriormente, se purificó el producto mediante precipitación alcohólica.

Secuenciación: Se realizó mediante el método de Sanger del producto amplificado por PCR, con los iniciadores universales ITS4 e ITS5, utilizando el kit “ABI PRISM® BigDye™ Terminator Cycle Sequencing”, electroforesis capilar y un secuenciador ABI PRISM® 3730XL Analyzer (96 capillary type); posteriormente, se realizó limpieza y el ensamblaje de las secuencias, para obtener la secuencia problema, empleando el software Geneious.

Análisis taxonómico: El análisis, se realizó a través de la herramienta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), del NCBI (National Center for Biotechnology Information), comparándolas contra las bases de datos: GenBank, EMBL (European Molecular Biology

Laboratory), DDBJ (DNA Data Bank of Japan), PDB (Protein Data Bank) y RefSeq. Adicionalmente, se comparó contra la base de datos de UNITE (<https://unite.ut.ee>) y la herramienta “Classifier”, alojada en el sitio Web de RDP (Ribosomal Data Project), obteniendo el 99 % de identidad en cada una de las muestras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Colonización micorrízica en raíces. El corte trasversal evidencia colonización fúngica dentro de la raíz de estudio; se observó que, en el velamen, el hongo se desarrolla de forma intracelular (hifas engrosadas con crecimiento rectilíneo); en la exodermis, la colonización no interactúa con todas las células, pero el desarrollo longitudinal de las hifas se extendió desde el velamen hasta la endodermis, de forma intercelular; dentro del parénquima cortical, las células presentaron discrepancia en su tamaño sin ningún patrón, pero evidencian hifas o pelotones degradados.

La vista del corte longitudinal de la raíz permitió evidenciar que el tejido teñido con safranina presenta la deformación celular, a causa del desarrollo del pelotón activo (Figura 2A); no obstante, también se identificó un patrón en la lisis de los pelotones en paralelo al sistema vascular de la raíz, presentándose de tamaño similar y de forma continua, indicando una zona fenológica activa. Respecto a la tinción con azul de lactofenol, se observó la presencia de pelotones activos y degradados sin ningún patrón; también se detalló que este organismo forma estructuras, tanto en el velamen como en la endodermis, simultáneamente (Figura 2B). La vista longitudinal, adicionalmente, demuestra colonización por ambos lados del cilindro vascular, que estaría acorde con el parámetro de recolección de las raíces, ya que la penetración de los hongos está en relación con el contacto directo del suelo en orquídeas terrestres y con la corteza en epífitas (Balachandar *et al.* 2019).

Los resultados anteriores sugieren que, en esta etapa vegetativa, *M. coccinea* está en un proceso de interacción micorrízica activa (Jiménez-Peña *et al.* 2018), por lo menos, con dos hongos formadores de micorrizas simultáneos, dado a las dos colonizaciones, anatómicamente distintas, procedentes de raíces diferentes (González-Chávez *et al.* 2018; Ventre Lespiaucq *et al.* 2021). La diferencia más notoria dentro de la colonización es el patrón en la formación de los pelotones (Figura 2A). En una de las raíces, se presentaron crecimientos longitudinales con un mismo periodo de desarrollo y un posible ciclo de colonización; esto se debe, a que las células que presentan lisis en los pelotones son más próximas al cilindro vascular y aquellas con pelotones activos están más cerca de la exodermis, lo cual, puede ser el resultado de una recolonización fúngica. La colonización teñida con azul de lactofenol, se caracteriza por la formación de estructuras, desde del velamen hasta la endodermis, de forma simultánea y sin ningún patrón, pero, principalmente, se detalla la interacción con el cilindro vascular (Figura 2B) (Pylro *et al.* 2013). Aunque las dos colonizaciones son diferentes, las dos interactúan de forma intercelular, conocida como tolipofagia, propia de las endomicorrizas de orquídeas (Ordóñez *et al.* 2015).

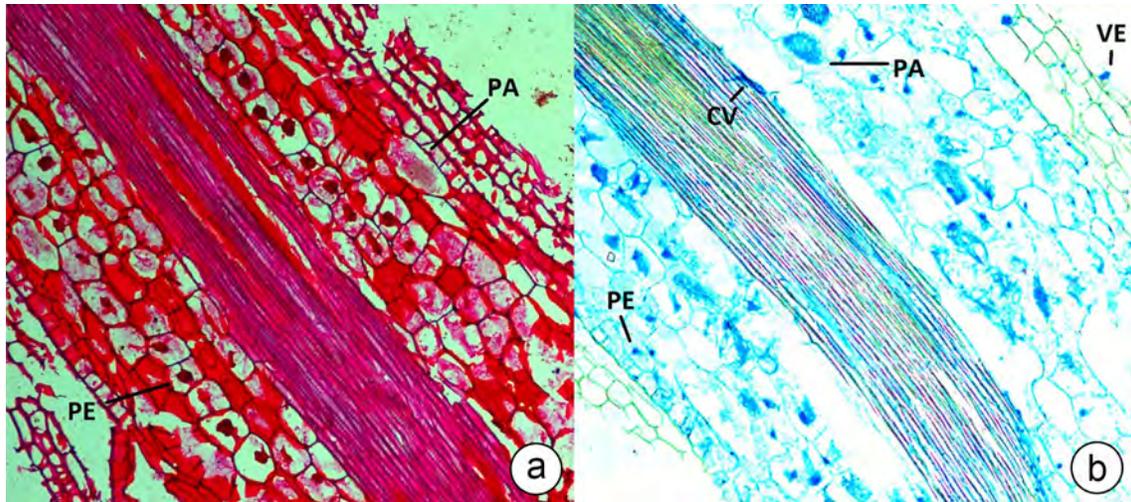


Figura 2. Colonización de micorrizas en vista de corte longitudinal. a) Tinción de safranina; b) tinción de lactofenol. PA: pelotón activo; PE: pelotón degradado; VE: estructura en el velamen; CV: penetración en el cilindro vascular.

Pese al gran papel que tienen los hongos en la simbiosis es la orquídea la que tiene mayor influencia. Dearnaley & Cameron (2016) determinaron que las orquídeas poseen la facultad de orientar el movimiento de los hongos en la raíz y pueden interferir a tal grado de alterar colonizaciones para que cumplan una función simbiótica (Sathiyadash *et al.* 2012; 2020). Esta característica de las orquídeas podría explicar las diferencias en la colonización de las dos raíces, indicando de que cada raíz puede interactuar con hongos micorrízicos de forma independiente.

Aislamientos fúngicos de raíces. Se obtuvieron 10 aislamientos de hongos puros; 30 combinaciones de hongos y bacterias y cinco asociados solo a bacterias; se seleccionaron solo las colonias fúngicas puras. La identificación de bacterias es inesperada, ya que se establecieron medidas para limitar la presencia de bacterias. Teixeira Da Silva *et al.* (2015) resaltan la presencia y el papel de las bacterias como simbiosis en la correlación entre hongos micorrízicos y las raíces de las orquídeas, asociando, de esta manera, que las bacterias afines a las raíces de orquídeas tengan características adaptativas diferentes.

El mayor porcentaje de los aislamientos, se ubicaron en la sección C (40 %); en las secciones B y A, se distribuyó el 30 %, a cada una. El 60 % se aislaron de la raíz No. 1; el 30 %, en la raíz No. 2 y en la raíz No. 3, solo obtuvo el 10 %. Respecto a la correlación de la región radicular y el porcentaje de microorganismos hallados, se puede considerar que, la razón por la cual, un hongo se ubica en partes continuas de una sola raíz, puede estar relacionado con el crecimiento longitudinal, asociando, al tiempo que ha interactuado con el tejido vegetal, ya sea de forma exógena o endógena (nivel de micorrización) (Ordóñez *et al.* 2015).

Se identificó que algunas cepas tuvieron un crecimiento más rápido que otras, donde la velocidad media muestra tres rangos: primero, aquellas cepas con medias radiales de crecimiento menores de 2 cm²/24 h, seguido por cepas con velocidades entre 6 y 8 cm²/24 h y aquellas cepas con valores mayores de 8 cm²/24 h. La prueba Tukey

determinó que en la velocidad de crecimiento los aislamientos C14 y C12 presentan una diferencia significativa con respecto a A14, A15, B12 y B25, y A15 y B12, respectivamente. Este resultado puede estar relacionado con la naturaleza del microorganismo.

Identificación de colonias fúngicas. Todas las cepas pertenecen al filo Ascomycota, subdivisión que alberga hongos simbióticos asociados a orquídeas (Martos *et al.* 2012). La identificación molecular comprueba, en algunos aislamientos, los resultados de la caracterización microscópica, como es el caso de las cepas A31 y C11, pertenecen al género *Aspergillus*; B24 y C25, corresponden a *Scopulariopsis* y las cepas C12 y C14, integran la especie *Trichoderma viride*; sin embargo, las cepas A14, A15 y B12, que se identificaron como *Cylindrocarpon*, fueron agrupadas al género *Ilyonectria* y el aislamiento B25, se identificó como parte de familia teleomórfica Xylariaceae, perteneciente del orden Xylariales. El porcentaje de identidad genética no permitió una identificación a nivel de especie o de género de todas las muestras; esto se debe, a que muchas especies aún no están ingresadas en los bancos de datos, por lo cual, es útil resaltar que las secuencias que no se lograron identificar hasta especie o género, corresponden a organismos que no estaban registrados.

***Ilyonectria* sp.:** Las cepas A14, A15 y B12, que se identificaron microscópicamente como *Cylindrocarpon* y, posteriormente, al género *Ilyonectria*, un género que es filogenéticamente congénico con *Cylindrocarpon* (Chaverri *et al.* 2011). Microscópicamente, los aislamientos de *Ilyonectria* presentaron las características propias del género, desarrollando conidióforos simples y formando clamidosporas, ya sea entre micelio o de forma terminal, permitiendo la supervivencia en condiciones desfavorables. Posteriormente, también se observó la liberación de conidias; sin embargo, comparando las cepas obtenidas no se pudo determinar muchas similitudes con individuos ya categorizados de especies de este género (Cabral *et al.* 2012; Aiello *et al.* 2014). En condiciones *in vitro*, el carácter de conidios hialinos ovoides asociaría a los aislamientos A14, A15 y B12, con la especie *I. protearum*.

Morfológicamente, los aislamientos obtenidos en esta investigación de *Ilyonectria* tendieron a tener colores tierra y, a medida que pasaba el tiempo, el micelio se oscurecía, patrón acorde a este género. *Ilyonectria* es un género que, en los últimos años, se reconoce como simbiote de orquídeas en especies, como *Paphiopedilum spicerianum*, originaria de China y *Pleurothallis coriacardia*, nativa de los Andes (Maldonado *et al.* 2020).

Trichoderma viride: A nivel microscópico, se captaron conidióforos ramificados, compactos, con atenuación en un cuello largo, finalizando con conidios globosos; esta descripción comprende lo descrito por Saha & Rao (2006), de *T. viride*, aislado de la orquídea *Cymbidium*. Macroscópicamente, los aislamientos presentaron el color blanco del género y la especie, pero, adicionalmente, en su estado de colonización, presenta su crecimiento arbolario, clave en su identificación (Zi *et al.* 2014). En este estudio, se caracterizó el rápido crecimiento de estos aislamientos, parámetro que puede estar asociado a la eficiencia de este género, como competidor de espacio (Cano, 2011). *Trichoderma* es un género que desarrolló participación en términos de simbiosis, aunque, principalmente, no se le atribuye como micorriza; su papel relevante esta como degradador de celulosa, biocontrolador, inductor de resistencia, promotor de crecimiento y de tolerancia a estrés hídrico (Hernández-Melchor *et al.* 2019).

Aspergillus sp.: En el caso de *Aspergillus*, la observación microscópica identificó en los extremos de las hifas estípites con vesículas esféricas y con conidios globosos; en la caracterización macroscópica, una de las colonias que se encontró, se desarrolló formando una estera micelial de tonalidad pálida, seguido de un crecimiento oscuro y finalizando con un aro de color claro, que indica su inmadurez; sin embargo, la otra colonia presentó un estado más maduro, indicado por su tonalidad oscura. Referente a la velocidad de crecimiento, los aislamientos mostraron un valor moderado, que se enmarca con los observados por Luna *et al.* (2010). *Aspergillus* ha sido conocido por ser un hongo oportunista y patógeno; no obstante, cuando coexisten con orquídeas se les atribuye otras capacidades, por ejemplo, reportaron asociaciones cooperativas entre *A. fumigatus* y *Vanilla panifolia* (Khojraty *et al.* 2015), pero en las especies de *Laelia*, se demostró susceptibilidad al ataque de este género (Almanza-Álvarez *et al.* 2017); otro ejemplo lo reportan Sahoo & Gupta (2018), donde demostraron el papel de *A. fumigatus* y *A. niger* en la solubilidad de fósforo o como biocontroladores de plagas al liberar toxinas, como es el caso de *A. flavus* y *A. ochraceus* (Sudheep & Sridhar, 2012).

Scopulariopsis sp.: *Scopulariopsis*, se caracterizó por una textura aterciopelada, una coloración desde marrón a canela y microscópicamente las hifas fueron hialinas y septadas, que le dan paso a los conidióforos donde se forman conidios, los cuales, son globosos y, principalmente, se desarrollan con una base truncada; todos estos parámetros concuerdan con caracteres de identificación en un estudio de especies de este género, además, corrobora el crecimiento moderadamente rápido que los resultados demuestran (Sandoval-Denis *et al.* 2016). En este mismo sentido, *Scopulariopsis* fue descubierto en las raíces de *Dendrobium sagittatum*, un

especimen silvestre del pueblo de Turgo Village Pakem, Indonesia (Sugiyarto *et al.* 2016); asimismo, es un género reconocido como hongo endófito de plantas silvestres (Bolívar-Anillo *et al.* 2016).

Xylariaceae: El aislamiento B25, se identificó como un género anamórfico *Nodulosporium* de la familia teleomórfica Xylariaceae, perteneciente del orden Xylariales (Stadler *et al.* 2014; Wittstein *et al.* 2020). Las características relevantes macromorfológicas de este aislamiento son: crecimiento crateriforme, el color claro de sus hifas y estromas inmaduros, características que se han mencionado en especies de *Daldinia*; no obstante, su lento crecimiento puede estar relacionado con el pH bajo del medio y la temperatura ambiente donde se mantuvieron los aislamientos. Por otro lado, en el microscopio, se observaron las esporas de forma ovoide-elíptica y en el crecimiento, engrosamiento en las células formadoras de conidióforos, sin poder determinar caracteres para identificar especies de *Daldinia* (Pérez-Silva, 1973; Stadler *et al.* 2014). A nivel ecológico, la familia *Xylariaceae*, se ha asociado a las orquídeas como hongos endófitos descomponedores y entre los géneros reconocidos, se menciona a *Daldinia* (Sawmya *et al.* 2013); sin embargo, *Daldinia eschscholtzii*, un hongo asociado a orquídeas tailandesas, metaboliza una gama de policétidos aromáticos con actividad antimicrobial (Barnes *et al.* 2016) y *Daldinia cf. concéntrica* demostró que los compuestos orgánicos volátiles que sintetiza tiene actividad nematocida en huevos y en estados jóvenes de *Meloidogyne javanica* (Liarzi *et al.* 2016); por otro lado, *Hansfordia* es un género con muy poca información y sus reportes abarcan su capacidad de hiperparasitismo (Vivas *et al.* 2021), pero también se ubicó *Hansfordia granulosa* en las raíces de la orquídea *Loroglossum hircinum*; no obstante, no fue identificada su relación (Richardson & Currah, 1995). Además, se caracterizó la familia Xylariaceae como saprofito de madera, dando, en este aislamiento, contexto como hongo benéfico para la orquídea (Barnett & Hunter, 1998).

Las diferentes funciones que tienen los hongos mencionados permiten identificar su potencial como hongos endófitos de *M. coccinea*; sin embargo, es necesario continuar realizando estudios que evidencien su papel. Esta investigación evidencia la capacidad de una plántula de *M. coccinea* para interactuar con hongos en condiciones *ex situ*, pero no concluye, si los hongos aislados cumplen una función como hongos formadores de micorrizas o si los pelotones presentes en sus raíces fueron desarrollados en condiciones *ex situ*.

Agradecimientos. Al laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A.

Conflicto de intereses: El artículo fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados. **Financiación:** Este estudio fue financiado por la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A.

REFERENCIAS

1. AIELLO, D.; GUARNACCIA, V.; VITALE, A.; CIRVILLERI, G.; GRANATA, G.; EPIFANI, F.; PERRONE, G.; POLIZZI, G.; GROENEWALD, J.; CROUS, W. 2014. *Ilyonectria palmarum* sp. nov. causing dry basal stem rot of Arecaceae. European Journal of Plant Pathology. 138(2):347-359. <https://doi.org/10.1007/s10658-013-0334-0>
2. ALMANZA-ÁLVAREZ, J.; GARIBAY-ORIJEL, R.; SALGADO-GARCIGLIA, R.; FERNÁNDEZ-PAVÍA, S.P.; LAPPE-OLIVERAS, P.; ARELLANO-TORRES, E.; ÁVILA-DÍAZ, I. 2017. Identification and control of pathogenic fungi in neotropical valued orchids (*Laelia* spp.). Tropical Plant Pathology. 42:339-351. <https://doi.org/10.1007/s40858-017-0171-3>
3. BALACHANDAR, M.; RAVI, R.K.; RANJITHAMANI, A.; MUTHUKUMAR, T. 2019. Comparative vegetative anatomy and mycorrhizal morphology of three South Indian *Luisia* species (Orchidaceae) with the note on their epiphytic adaptations. Flora. 251:39-61. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.12.001>
4. BARNES, E.C.; JUMPATHONG, J.; LUMYONG, S.; VOIGT, K.; HERTWECK, C. 2016. Daldionin, an unprecedented binaphthyl derivative, and diverse polyketide congeners from a fungal orchid endophyte. Chemistry A European Journal. 22(13):4551-4555. <https://doi.org/10.1002/chem.201504005>
5. BARNETT, H.; HUNTER, B. 1998. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 4th edition. American Phytopathological Society. 240p.
6. BOLÍVAR-ANILLO, H.J.; OROZCO-SANCHEZ, C.J.; DA SILVA LIMA, G.; DOS SANTOS, G.F. 2016. Endophytic microorganisms isolated of plants grown in Colombia: A short review. Journal of Microbial Biochemical Technology. 8(6):509-513. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000335>
7. CABRAL, A.; REGO, C.; NASCIMENTO, T.; OLIVEIRA, H.; GROENEWALD, J.Z.; CROUS, P.W. 2012. Multi-gene analysis and morphology reveal novel *Ilyonectria* species associated with black foot disease of grapevines. Fungal Biology. 116(1):62-80. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2011.09.010>
8. CALDERÓN-SÁENZ, E. 2006. Libro rojo de plantas de Colombia. Vol. 6. Orquídeas, primera parte. Ed. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (Colombia). 820p.
9. CAMERON, D.D.; LEAKE, J.R.; READ, D.J. 2006. Mutualistic mycorrhiza in orchids: evidence from plant–fungus carbon and nitrogen transfers in the green-leaved terrestrial orchid *Goodyera repens*. New Phytologist. 171(2):405-416. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01767.x>
10. CANO, M. 2011. Interacción de microorganismos benéficos en plantas: micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. Una revisión. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica. 14(2):15-31. <https://doi.org/10.31910/rudca.v14.n2.2011.771>
11. CHAVERRI, P.; SALGADO, C.; HIROOKA, Y.; ROSSMAN, A.Y.; SAMUELS, G.J. 2011. Delimitation of *Neonectria* and *Cylindrocarpon* (Nectriaceae, Hypocreales, Ascomycota) and related genera with *Cylindrocarpon*-like anamorphs. Studies in Mycology. 68:57-78. <https://doi.org/10.3114/sim.2011.68.03>
12. CHEN, J.; LIU, S.S.; KOHLER, A.; YAN, B.; LUO, H.M.; CHEN, X.M.; GUO, S.X. 2017. iTRAQ and RNA-Seq analyses provide new insights into regulation mechanism of symbiotic germination of *Dendrobium officinale* seeds (Orchidaceae). Journal of Proteome Research. 16(6):2174-2187. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.6b00999>
13. CHEN, J.; WANG, H.; GUO, S.X. 2012. Isolation and identification of endophytic and mycorrhizal fungi from seeds and roots of *Dendrobium* (Orchidaceae). Mycorrhiza. 22:297-307. <https://doi.org/10.1007/s00572-011-0404-0>
14. CUERVO MARTÍNEZ, M.A.; BONILLA GÓMEZ, M.A.; BUSTOS SINGER, R. 2009. Morfología y morfometría de dos especies de banderitas (Orchidaceae: *Masdevallia*) en Colombia. Acta Biológica Colombiana. 17(3):575-588.
15. CUERVO MARTÍNEZ, M.A.; BUSTOS SINGER, R.; GÓMEZ BONILLA, M.A. 2013. Reproductive biology of *Masdevallia coccinea* and *Masdevallia ignea* in Guasca (Cundinamarca: Colombia). Lankesteriana. 13(1-2):141. <https://doi.org/10.15517/lank.v0i0.11576>
16. DEARNALEY, J.D.W.; CAMERON, D.D. 2016. Nitrogen transport in the orchid mycorrhizal symbiosis—further evidence for a mutualistic association. New Phytologist. 213(1):10-12. <https://doi.org/10.1111/nph.14357>
17. GONZÁLEZ-CHÁVEZ, M. DEL C.A.; TORRES-CRUZ, T.J.; SÁNCHEZ, S.A.; CARRILLO-GONZÁLEZ, R.; CARRILLO-LÓPEZ, L.M.; PORRAS-ALFARO, A. 2018. Microscopic characterization of orchid mycorrhizal fungi: *Scleroderma* as a putative novel orchid mycorrhizal fungus of *Vanilla* in different crop systems. Mycorrhiza. 28:147-157. <https://doi.org/10.1007/s00572-017-0808-6>

18. HERNÁNDEZ-MELCHOR, D.J.; FERRERA-CERRATO, R.; ALARCÓN, A. 2019. *Trichoderma*: importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences. 35(1):98-112. <https://doi.org/10.4067/S0719-38902019005000205>
19. JACQUEMYN, H.; BRYNS, R.; WAUD, M.; BUSSCHAE-RT, P.; LIEVENS, B. 2015. Mycorrhizal networks and coexistence in species-rich orchid communities. *New Phytologist*. 206(3):1127-1134. <https://doi.org/10.1111/nph.13281>
20. JIMÉNEZ-PEÑA, N.; SANDOVAL-VILLA, M.; VOLKE-HALLER, V.H.; PEDRAZA-SANTOS, M.E.; FERNÁNDEZ-HERRERA, E. 2018. Colonización micorrízica de *Laelia autumnalis* (La Llave & Lex.) Lindl. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*. 5(15):547-553. <https://doi.org/10.19136/era.a5n15.1756>
21. KEYMER, A.; PIMPRIKAR, P.; WEWER, V.; HUBER, C.; BRANDS, M.; BUCERIUS, S.L.; DELAUX, P.-M.; KLINGL, V.; VON RÖPENACK-LAHAYE, E.; WANG, T.L.; EISENREICH, W.; DÖRMANN, P.; PARNISKE, M.; GUTJARH, C. 2017. Lipid transfer from plants to arbuscular mycorrhiza fungi. *Elife*. 1-33. <https://doi.org/10.7554/eLife.29107>
22. KHOYRATTY, S.; DUPONT, J.; LACOSTE, S.; PALAMA, T.L.; CHOI, Y.H.; KIM, H.K.; PAYET, B.; GRISONI, M.; FOUILLAUD, M.; VERPOORTE, R.; KODJA, H. 2015. Fungal endophytes of *Vanilla planifolia* across Réunion Island: isolation, distribution and biotransformation. *BMC Plant Biology*. 15:142. <https://doi.org/10.1186/s12870-015-0522-5>
23. LEATHERS, J.J. 2007. *Masdevallia coccinea*. *Orchids Magazine*. 2007(10):752-755.
24. LIARZI, O.; BUCKI, P.; BRAUN MIYARA, S.; EZRA, D. 2016. Bioactive volatiles from an endophytic *Daldinia* cf. *concentrica* isolate affect the viability of the plant parasitic nematode *Meloidogyne javanica*. *PloS One*. 11(12):e0168437. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168437>
25. LUNA, M.; LOZADA, Y.; TRIGOS, Á. 2010. Aislamiento de cepas de *Aspergillus niger*, productoras de ocratoxina A, en café verde (*Coffea arabica*) almacenado. *Revista Mexicana de Micología*. 32:63-68.
26. MALDONADO, G.P.; YARZÁBAL, L.A.; CEVALLOS-CEVALLOS, J.M.; CHICA, E.J.; PEÑA, D.F. 2020. Root endophytic fungi promote *in vitro* seed germination in *Pleurothallis coriacardia* (Orchidaceae). *Lankesteriana*. 20(1):107-122. <http://dx.doi.org/10.15517/lank.v20i1.41472>
27. MARTOS, F.; MUNOZ, F.; PAILLER, T.; KOTTKE, I.; GONNEAU, C.; SELOSSE, M.-A. 2012. The role of epiphytism in architecture and evolutionary constraint within mycorrhizal networks of tropical orchids. *Molecular Ecology*. 21(20):5098-5109. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05692.x>
28. MINAMBIENTE. 2017. RESOLUCIÓN 1912 DEL 2017. Por la cual se establece el listado de las especies silvestres amenazadas de la diversidad biológica colombiana continental y marino costera que se encuentran en el territorio nacional y se dictan otras disposiciones. Disponible desde Internet en: <https://www.minambiente.gov.co/wp-content/uploads/2021/10/resolucion-1912-de-2017.pdf> (con acceso el 17/09/2022).
29. NIETO MELO, L.; BAILÓN AIJÓN, C. 2016. Evaluación de la germinación *in vitro* de *Epidendrum Oxypetalum* Hagsater & E. Santiago en presencia de hongos micorrízicos aislados de orquídeas de ecosistemas altoandinos. *Revista Ciencia: Desarrollo e Innovación*. 2(2):1-9.
30. ORDÓÑEZ, N.F.; OTERO OSPINA, J.T.; DÍAZ, L.A. 2015. Interacciones Micorrízicas de *Masdevallia coccinea* Linden ex Lindl. *Orquideología*. (Colombia). 31(2):123-135.
31. PANTONE. 2017. Carta de colores PANTONE CMYK. Ed. PANTONE CMYK (Estados Unidos). 12p.
32. PEREIRA, G.; HERRERA, J.; MACHUCA, A.; SÁNCHEZ, M. 2007. Efecto del pH sobre el crecimiento *in vitro* de hongos ectomicorrízicos recolectados de plantaciones de *Pinus radiata*. *Bosque (Chile)*. 28(3):215-219. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002007000300005>
33. PÉREZ-SILVA, E. 1973. El género *Daldinia* (Pyrenomycetes) en México. *Boletín de la Sociedad Mexicana de Micología*. 7:51-58.
34. PETERSON, R.L.; MASSICOTTE, H.B. 2004. Exploring structural definitions of mycorrhizas, with emphasis on nutrient-exchange interfaces. *Canadian Journal of Botany*. 82(8):1074-1088. <https://doi.org/10.1139/B04-071>
35. PYLRO, V.S.; NOGUEIRA, R.E.; DA SILVA LANNA, M.C. 2013. Anatomical characterisation of mycorrhizal fungi in neotropical orchids. *Advanced Studies in Biology*. 5:215-221. <https://doi.org/10.12988/asb.2013.326>
36. RICHARDSON, K.A.; CURRAH, R.S. 1995. The fungal community associated with the roots of some rainforest epiphytes of Costa Rica. *Selbyana*. 16(1):49-73
37. SAHA, D.; RAO, A.N. 2006. Studies on endophytic mycor-

- rhiza of some selected orchids of Arunachal Pradesh–1. Isolation and identification. *Bulletin of Arunachal Forest Research*. 22(1-2):9-16.
38. SAHOO, H.; GUPTA, N. 2018. Diversity of endophytic phosphate solubilising fungi associated with *Pomatocalpa decipiens* (Lindl.) J.J. Smith—an endangered orchid in Barbara forest of Odisha, India. *Studies in Fungi*. 3(1):84-99. <https://doi.org/10.5943/sif/3/1/11>
39. SANDOVAL-DENIS, M.; GENÉ, J.; SUTTON, D.A.; CANO-LIRA, J.F.; DE HOO, G.S.; DECOCK, C.A.; WIEDERHOLD, N.P.; GUARRO, J. 2016. Redefining *Microascus*, *Scopulariopsis* and allied genera. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*. 36(2):1-36. <https://doi.org/10.3767/003158516X688027>
40. SATHIYADASH, K.; MUTHUKUMAR, T.; KARTHIKEYAN, V.; RAJENDRAN, K. 2020. Orchid mycorrhizal fungi: Structure, function, and diversity. In: Khasim, S.; Hegde, S.; González-Arnao, M.; Thammasiri, K. (eds). *Orchid biology: Recent trends & challenges*. Springer (Singapore). p.239-208. https://doi.org/10.1007/978-981-32-9456-1_13
41. SATHIYADASH, K.; MUTHUKUMAR, T.; UMA, E.; PANDEY, R.R. 2012. Mycorrhizal association and morphology in orchids. *Journal of plant interactions*. 7(3):238-247. <https://doi.org/10.1080/17429145.2012.699105>
42. SAWMYA, K.; VASUDEVAN, T.G.; MURALI, S.R. 2013. Fungal endophytes from two orchid species pointer towards organ specificity. *Czech Mycology*. 65(1):89-101.
43. SINGH, A.; VARMA, A. 2000. Orchidaceous mycorrhizal fungi. In: Mukerji, K.G.; Chamola, B.P.; Singh, J. (eds). *Mycorrhizal Biology*. Springer (Boston, E.E.U.U.). p.265-288. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4265-0_17
44. STADLER, M.; LÆSSØE, T.; FOURNIER, J.; DECOCK, C.; SCHMIESCHEK, B.; TICHY, H.-V.; PERŠOH, D. 2014. A polyphasic taxonomy of *Daldinia* (*Xylariaceae*). *Studies in mycology*. 77:1-143. <https://doi.org/10.3114/sim0016>
45. SUDHEEP, N.M.; SRIDHAR, K.R. 2012. Non-mycorrhizal fungal endophytes in two orchids of Kaiga forest (Western Ghats), India. *Journal of Forestry Research*. 23(3):453-460. <https://doi.org/10.1007/s11676-012-0284-y>
46. SUGIYARTO, L.; UMNIYATIE, S.; HENUHILL, V. 2016. Keanekaragaman anggrek alam dan keberadaan mikoriza anggrek di Dusun Turgo Pakem, Sleman Yogyakarta. *Jurnal Sains Dasar*. 5(2):71-80.
47. TEIXEIRA DA SILVA, J.A.; TSAVKELOVA, E.A.; ZENG, S.; NG, T.B.; PARTHIBHAN, S.; DOBRÁNSZKI, J.; CARDOSO, J.C.; RAO, M.V. 2015. Symbiotic in vitro seed propagation of *Dendrobium*: fungal and bacterial partners and their influence on plant growth and development. *Planta*. 242:1-22. <https://doi.org/10.1007/s00425-015-2301-9>
48. VENTRE LESPIAUCQ, A.; JACQUEMYN, H.; RASMUSSEN, H.N.; MÉNDEZ, M. 2021. Temporal turnover in mycorrhizal interactions: a proof of concept with orchids. *New Phytologist*. 230(5):1690-1699. <https://doi.org/10.1111/nph.17291>
49. VIVAS, J.M.S.; SILVEIRA, S.F.; MUSSI-DIAS, V.; SANTOS, P.H.D.; RAMOS, G.K.S.; SANTOS, P.R.; ALMEIDA, R.N. 2021. Sensitivity of hyperparasitic fungi to alternative products for use in the control of papaya black spot. *Brazilian Journal of Biology*. 81(1):27-36. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.214909>
50. WITTSTEIN, K.; CORDSMEIER, A.; LAMBERT, C.; WENDT, L.; SIR, E.; WEBER, J.; WURZLER, N.; PETRINI, L.; STADLER, M. 2020. Identification of *Rossellinia* species as producers of cyclodepsipeptide PF1022 A and resurrection of the genus *Dematophora* as inferred from polythetic taxonomy. *Studies in Mycology*. 96:1-16. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2020.01.001>
51. YEH, C.-M.; CHUNG, K.; LIANG, C.-K.; TSAI, W.-C. 2019. New Insights into the Symbiotic Relationship between Orchids and Fungi. *Applied Sciences*. 9(3):585-599. <https://doi.org/10.3390/app9030585>
52. ZI, X.-M.; SHENG, C.-L.; GOODALE, U.M.; SHAO, S.-C.; GAO, J.-Y. 2014. In situ seed baiting to isolate germination-enhancing fungi for an epiphytic orchid, *Dendrobium aphyllum* (Orchidaceae). *Mycorrhiza*. 24(7):487-499. <https://doi.org/10.1007/s00572-014-0565-8>



Hongos formadores de micorrizas aislados a partir de raíces de la orquídea *Rodriguezia granadensis* (LINDL.) RCHB. F.

Mycorrhizal forming fungi isolated from roots of the orchid *Rodriguezia granadensis* (LINDL.) RCHB. F.

Nilsa Ceneida Romero-Salazar¹ ; Johanna Marcela Galvis-Gratz¹ ; Jenny Paola Moreno-López^{2*} 

¹Universidad de Cundinamarca, Sede Fusagasugá, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Grupo de investigación ProsaFis. Fusagasugá - Cundinamarca, Colombia; e-mail: nceneidaromero@ucundinamarca.edu.co; jmarcelagalvis@ucundinamarca.edu.co

²Universidad de Cundinamarca, Sede Fusagasugá, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Programa Ingeniería Agronómica. Fusagasugá - Cundinamarca, Colombia; e-mail: jpmoreno@ucundinamarca.edu.co

*autor de correspondencia: jpmoreno@ucundinamarca.edu.co

Cómo citar: Romero-Salazar, N.C.; Galvis-Gratz, J.M.; Moreno-López, J.P. 2022. Hongos formadores de micorrizas aislados a partir de raíces de la orquídea *Rodriguezia granadensis* (LINDL.) RCHB. F. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 25(1):e2086. <http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.2086>

Artículo de acceso abierto publicado por Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, bajo una Licencia Creative Commons CC BY-NC 4.0

Publicación oficial de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Institución de Educación Superior Acreditada de Alta Calidad por el Ministerio de Educación Nacional.

Recibido: septiembre 10 de 2021

Aceptado: junio 13 de 2022

Editado por: Helber Adrián Arévalo Maldonado

RESUMEN

Rodriguezia granadensis (Lindl.) Rchb. f. es una orquídea epífita que crece sobre árboles, en zonas poco intervenidas. Para la germinación de sus semillas y en los estadios iniciales de su desarrollo forma relaciones simbióticas con hongos micorrícicos, los cuales, brindan los nutrientes que necesita. En el municipio de Fusagasugá esta especie crece en condiciones naturales y debido a la belleza de sus flores es promisoría para su producción comercial, pero hay poca información sobre los microorganismos asociados a esta planta; por lo tanto, el presente trabajo tuvo como propósito identificar, a nivel de género, los hongos asociados a las raíces de *R. granadensis*, en el agroecosistema Hacienda Betania. Se tomaron muestras de raíz, anotando el forofito donde se encontraban las plantas. En laboratorio, se dividieron en tres extremos: proximal, medio y distal y se realizaron cortes transversales, para identificar enrollamientos hifales. Adicionalmente, se sembraron explantes en agar papa dextrosa, agar Sabouraud y medio de Ko y Hora. Se identificó al género *Rhizoctonia*, con una frecuencia del 95 %. Se encontró que el 70 % de las plantas muestreadas crecían sobre árboles de guayabo

y el 30 % sobre cítricos. Los resultados indican que *R. granadensis* pueden tener interacciones con hongos del género *Rhizoctonia*.

Palabras clave: Enrollamientos hifales; Forofitos; Micosimbionte; Orchidaceae; *Rhizoctonia*.

ABSTRACT

Rodriguezia granadensis (Lindl.) Rchb. f. is an epiphytic orchid that grows on trees in areas with little intervention. For seed germination and the initial stages of development, it forms symbiotic relationships with mycorrhizal fungi, which provide the necessary nutrients. In the municipality of Fusagasugá, this species grows in natural conditions and, due to the beauty of its flowers is a promissory specie to commercial production, but there is little information about the microorganisms associated with this plant; therefore, the purpose of this work was to identify, at the genus level, the fungi associated with the roots of *R. granadensis* in Betania farm. Root samples were taken, noting the phorophyte where the plants grew. In the laboratory, they were divided into three

sections: proximal, middle, and distal, and made cross-sections to identify hyphal curls. Additionally, explants were put in potato dextrose agar, Sabouraud agar, and Ko and Hora media. The genus *Rhizoctonia* was identified, with a frequency of 95 %. It was found that 70 % of the sampled plants grew on guava trees and 30 % on citrus. The results indicate that *R. granadensis* may have interactions with fungi of *Rhizoctonia* genus.

Keywords: Hyphal coils; Orchidaceae; Mycosymbiont; Phorophytes; *Rhizoctonia*.

INTRODUCCIÓN

La familia Orquidaceae es uno de los taxones con más especies reportadas (Chase *et al.* 2015). En Colombia, en términos de riqueza y de abundancia, la región Andina cuenta con un 87,2 %; Amazónica y Pacífica, con 10,6 %; el Caribe, 5 % y la región de la Orinoquía, 4 % (Mejía Rosero & Pino Benítez, 2010). La mayoría de las especies de orquídeas tienden a tener áreas de distribución restringidas y muchas especies se encuentran en peligro de extinción, debido a la pérdida de hábitat, ocasionada por la expansión de la frontera agrícola, el desarrollo urbano, la degradación del hábitat de los parches restantes y la pérdida de interacciones ecológicas críticas (Gale *et al.* 2018; Evans *et al.* 2020; Shefferson *et al.* 2020).

Dentro de la familia Orquidaceae se encuentra el género *Rodriguezia*, que cuenta con más de 30 especies; es una orquídea epífita, que forma grupos pequeños de pseudobulbos (entre uno a veinte), una hoja por pseudobulbo e inflorescencias laterales colgantes (1 o 2 por pseudobulbo) (Ospina-Calderón *et al.* 2015). Las plantas crecen en grupos de varios ejes, en zonas de baja humedad y alta luminosidad y se pueden encontrar fácilmente sobre cafetos (*Coffea arabica*), guayabos (*Psidium guajava*), cítricos (*Citrus* spp.), pomarrosos (*Syzygium jambos*), más precisamente, sobre la corteza desnuda de estos arbustos (Calderón, 2006; Valencia, 2014). En Colombia, *Rodriguezia granadensis* (Lindl.) Rchb. f., se reporta en bosques andinos, en rangos altitudinales que van de los 700 a los 3.900 m s.n.m. (Calderón, 2006; Gil & Jácome 2014), siendo, un ejemplo, la Reserva Forestal natural de Yotoco, en el Valle del Cauca (Ventre-Lespiauq *et al.* 2017). Esta orquídea presenta su floración y producción de cápsulas en las épocas de mayor precipitación (Gil-Clavijo *et al.* 2020).

Las plantas de la familia Orchidaceae son micótrofas y este fenómeno se observa, principalmente, en la germinación de la semilla y en la fase vegetativa (Sarsaiya *et al.* 2019; Sathiyadash *et al.* 2020). En la interacción micorrícica entre hongo y planta, las orquídeas dependen de los nutrientes que le proporciona el micosimbionte, el cual, les suministra minerales, agua y carbono (Kuga *et al.* 2014). La importancia de la relación simbiótica que existe entre microorganismos endófitos, rizosféricos o micorrízicos y las raíces de las orquídeas radica en hacer posible la germinación de las semillas y la toma de nutrientes, debido a que, en ausencia o déficit de éstos, los procesos fisiológicos de estas plantas se podrían ver afectados (Jacquemyn *et al.* 2017; Herrera *et al.* 2017). La relación simbiótica entre las orquídeas y los hongos formadores de

micorrizas es diferente a otras simbiosis, ya que, al principio, es unidireccional, debido a que el hongo le aporta a la semilla y aunque se creyó que los hongos micorrízicos no recibían recompensa, hoy, se sabe que estos también reciben carbono, cuando las orquídeas han crecido y desarrollan hojas para hacer fotosíntesis (Dearnaley & Cameron, 2016; Yeh *et al.* 2019). Por tanto, la distribución de las orquídeas también estaría influenciada por la presencia de hongos formadores de micorrizas (Jacquemyn *et al.* 2017).

Las hifas de los hongos micorrízicos forman complejos en espiral llamadas pelotones en la región parenquimática del córtex de las raíces. Los pelotones varían en cuanto a forma, tamaño y arreglo de la masa hifal (Hadley & Williamson, 1971; Kaur, 2020). Los pelotones pueden ser funcionalmente activos durante algún periodo de tiempo y, posteriormente, se desintegran o se lisan dentro de las células corticales, formando una estructura redonda agrupada o en forma de disco; se tornan de color amarillo o café (Kaur, 2020).

Los hongos formadores de micorrizas juegan un rol importante en los procesos germinación y de establecimiento de las orquídeas en los diferentes ecosistemas, por lo cual, el objetivo de la presente investigación fue identificar los géneros de los hongos formadores de micorrizas asociados a las raíces de *R. granadensis*, presentes en el agroecosistema Hacienda Betania, en el municipio de Fusagasugá, Cundinamarca, como marco inicial del desarrollo de protocolos de germinación y de establecimiento de esta orquídea, para producción comercial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio. La investigación, se realizó en el agroecosistema Hacienda Betania, ubicada en la vereda El Resguardo, corregimiento Occidental del municipio de Fusagasugá, departamento de Cundinamarca, propiedad de la Alcaldía municipal, con coordenadas Latitud 4° 21' 37,3" N y Longitud 74° 22' 29,98" W. Esta área corresponde a la zona de vida denominada bosque húmedo montano bajo (Bh-MB), con una altitud entre los 1.400 y 1.600 m s.n.m. y una temperatura entre 18 y 24 °C. Esta hacienda cuenta con un bosque en recuperación que, anteriormente, se dedicaba a la producción de café (*C. arabica*).

Fase de campo. Para la colecta de las muestras, se realizó un recorrido general de la hacienda Betania, con el fin de identificar la presencia de *R. granadensis* en floración (Figura 1), determinar los puntos de muestreo y ubicar plantas que no mostraran síntomas visuales de problemas fitosanitarios ni de deficiencias nutricionales. Para el muestreo, se identificaron los forofitos (soporte o tutor de una planta epífita), que tuvieran las orquídeas que se buscaban (*R. granadensis*), como los puntos de muestreo en donde cada planta representaba una muestra (en algunos forofitos, se encontró más de una planta). Las muestras, se obtuvieron a partir de forofitos a una altura no mayor a 3 metros, para facilitar la colecta.

Para la toma de las muestras, se tomó una muestra de raíz completa por planta con ayuda de un bisturí desinfectado, previamente, con etanol al 70 %; luego, las muestras colectadas se envolvieron en



Figura 1. *Rodriguezia granadensis* en la Hacienda Betania (Fusagasugá, Cundinamarca).

servilletas y se guardaron en bolsas de papel, rotuladas con los datos de punto de muestreo, forofito y estado fenológico de la planta. Las muestras, se almacenaron en nevera e, inmediatamente, se trasladaron al laboratorio de microbiología de la Universidad de Cundinamarca - sede Fusagasugá, para el respectivo aislamiento, en un lapso no mayor a 24 horas, después de su recolección.

Fase de laboratorio: observación de enrollamientos hifales.

Cada muestra compuesta por la raíz completa, se dividió en tres submuestras: proximal (P), media (M) y distal (D) (Figura 2); luego, se hicieron cortes transversales en cada submuestra, para obtener explantes de, aproximadamente, 1 mm, los cuales, se observaron al microscopio, con el fin de observar enrollamientos hifales (pelotones).

Aislamiento. El aislamiento, se realizó utilizando la metodología adaptada de Ordóñez C. *et al.* (2012); las raíces se lavaron con agua potable, para eliminar residuos; luego, se realizaron cortes de 0,5 cm de longitud (explantes) de la raíz, para obtener las submuestras (P, M y D), las cuales, se desinfectaron, superficialmente, con un tratamiento de lavado inicial con hipoclorito de sodio al 5 %, durante 30 segundos, luego con etanol, al 70 %, por 30 segundos y un enjuague con agua destilada estéril, por un minuto.

La siembra de los explantes desinfectados, se realizó sobre un medio de cultivo de papa dextrosa agar (PDA) $39 \text{ g.L}^{-1} + 0,05 \text{ g.L}^{-1}$ de cloranfenicol, para inhibir el crecimiento bacteriano; posteriormente, se realizaron tres repiques para la obtención de cultivo en el medio Sabouraud dextrosa agar (SDA) $65 \text{ g.L}^{-1} + 0,05 \text{ g.L}^{-1}$

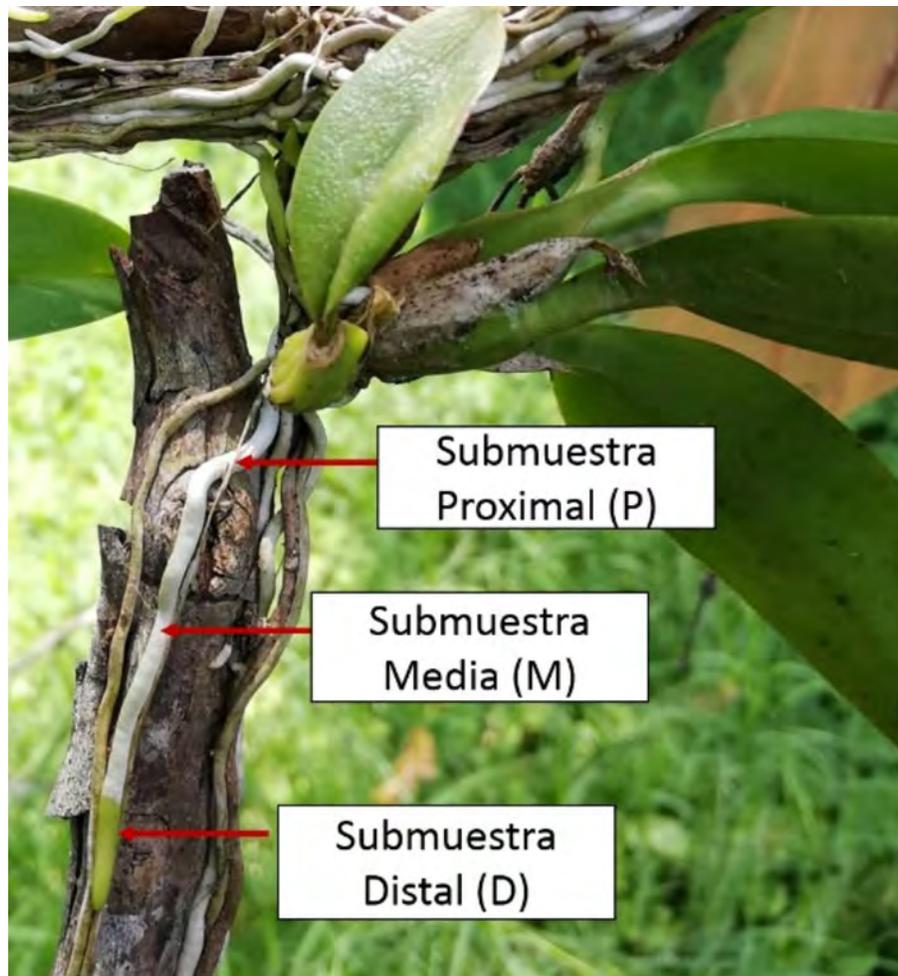


Figura 2. Esquema de la muestra con las respectivas partes utilizadas para el aislamiento de raíz de la orquídea *Rodriguezia granadensis*.

de cloranfenicol y un último repique en medio selectivo, para *Rhizoctonia* (Ko y Hora). Las muestras, se mantuvieron en una incubadora Binder® serie bd avantgarde.line, a una temperatura de 25 °C, hasta observar el desarrollo micelial de los hongos asociados a la raíz (Moreno López & Ariza Castillo, 2020).

Identificación macroscópica y microscópica de los géneros.

La descripción de las características macroscópicas, se realizó a los 7 días después de siembra, en donde se evaluó: textura, tipo de crecimiento y presencia del micelio. La identificación de los hongos, se realizó utilizando un microscopio binocular Leica® Dm500, empleando la clave taxonómica de Barnett & Hunter (1998).

Determinación del índice de diversidad, frecuencia de colonización y abundancia de los hongos encontrados.

Para determinar la diversidad de los hongos micorrícicos encontrados, se utilizó el índice de Shannon-Wiener (H') (Beltrán-Nambo *et al.* 2018); se evaluó el porcentaje de frecuencia de colonización (% FC=((número de unidades muestreadas positivas para la especie/número de unidades muestreadas analizadas)x100) y abundancia relativa (% A= ((número de aislamientos del género/número de aislamientos totales)x100)), del hongo identificado (Lizarazo *et al.* 2015).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fase de campo. El total de plantas de *R. granadensis* encontradas fue de 20, en 11 puntos diferentes, las cuales, estaban sobre guayabos y cítricos, de la siguiente manera: 70 % de las muestras, en arbustos de guayabo, de los cuales, un 70 % estaban senescentes y, el otro 30 %, en producción; 20 % en arbustos de naranjo (*Citrus X Sinensis*), que se encontraban en fase de producción y el 10 % restante, en arbustos de mandarino (*Citrus reticulata*); de éstos, un 60 %, se encontraba en producción y, el otro 40 %, senescentes.

La distribución de *R. granadensis* es similar a la reportada por Reina-Rodríguez & Otero (2011), quienes indican que, en hábitats transformados o intervenidos, esta orquídea se distribuye en parches y muestra preferencia por arbustos de guayabos y de cítricos. De manera similar, Gil-Clavijo *et al.* (2020) reportaron a los guayabos como el forofito donde crece *R. granadensis*, en un paisaje fragmentado en el Valle del Cauca (Colombia), lo cual, se debe a las condiciones ambientales que estos le proporcionan (Mejía Rosero & Pino Benítez, 2010).

Fase de laboratorio

Identificación de enrollamientos hifales (pelotones). En los cortes transversales de las diferentes partes de la raíz de *R. granadensis* analizadas por separado (Figura 3), se obtuvo que, en las submuestras del extremo proximal, un 70 % de las células presentaron pelotones; en la submuestra parte media de la raíz, un 60 % y en el extremo distal de la raíz, un 35 %.

Rivas *et al.* (1998), Rasmussen & Whigham (2002) y Bertolini *et al.* (2014) encontraron pelotones en raíces que estaban en contacto con el sustrato, es decir, la corteza del forofito, debido a que en las orquídeas epífitas los hongos entran en contacto con el sustrato por medio de las hifas, que salen de las raíces y absorben nutrientes.

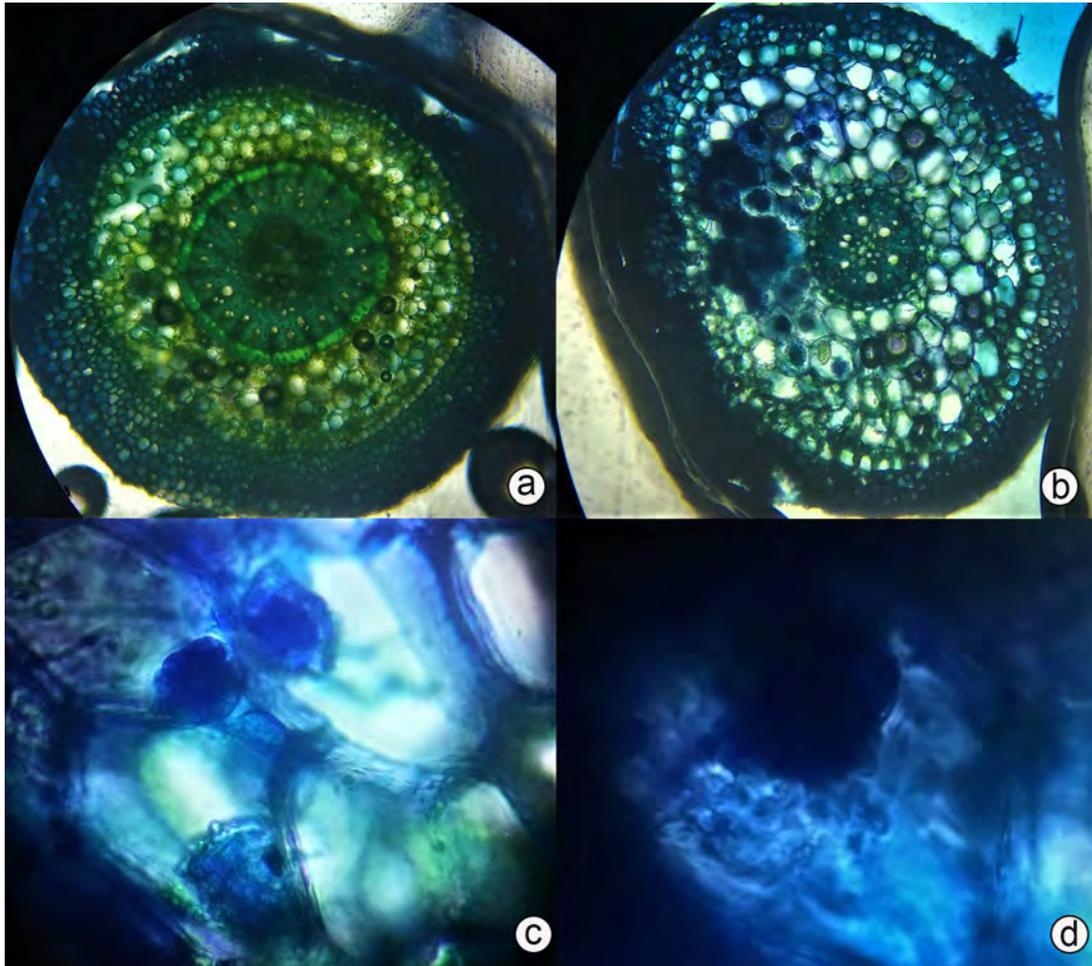


Figura 3. Corte transversal en raíz de la orquídea *Rodriguezia granadensis*. a) Cilindro central sin presencia de pelotones; b) Corte transversal con presencia de pelotones; c) Pelotones e hifas teñidos con azul de metileno; d) Acercamiento de pelotones. Fotografía microscópica (40x y 100x).

Zettler & Corey (2018) indican que los pelotones son digeridos como fuente de carbono (micotrofia), de una forma controlada, según las necesidades de la planta; por otra parte, el número de pelotones en la raíz varía de una planta a otra. En las plantas epífitas, a inicios de las épocas lluviosas, se encuentra mayor cantidad respecto a la temporada seca. Osorio-Gil *et al.* (2008), Bertolini *et al.* (2014) y Jiménez-Peña *et al.* (2018) reportan que la cantidad de pelotones se incrementa al aumentar la madurez de la raíz y al estar en contacto con el sustrato, es decir, la corteza del forofito y al ser estas plantas epífitas, su desarrollo está sujeta, en cierta forma, a la asociación micorrízica, es decir, depende del carbono suministrado por el hongo. Asimismo, Ma *et al.* (2015), también observaron pelotones en raíces de las orquídeas epífitas *Dendrobium* spp. y *Cymbidium* spp., que estuvieron en contacto con el sustrato.

Caracterización microscópica de las muestras. Se obtuvieron 44 submuestras, de las cuales, 39 pertenecen al género-forma *Rhizoctonia* (Figura 4), lo que corresponde al 88,64 % de los aislamientos; cinco submuestras (11,36 % de los aislamientos), no presentaron esporulación y se denominaron *micelia sterilia*, ya que tampoco se logró observar las características que permitieran identificarlos como *Rhizoctonia*. El género-forma *Rhizoctonia*, se caracteriza por la ausencia de conidias y por formar hifas hialinas, cuando pasa por su etapa juvenil y, a medida que va madurando, se torna de color amarillo, café rojizo a oscuro. Se pueden observar células largas y ramificaciones formando un ángulo recto con la hifa principal, haciéndose más estrecha en el punto de la bifurcación y la presencia de un septo cerca de ésta (Figura 4 a, b, c, e, f, g). En ocasiones es posible observar células elipsoides a globosas,

conocidas como células moniloides (Figura 4 d, h, i, j) (Ding *et al.* 2014; Zettler & Corey, 2018).

Características macroscópicas de los aislamientos. El 70 % de las submuestras caracterizadas presentó una textura micelial algodonosa; el 30 % restante, tuvo una textura felposa. En cuanto

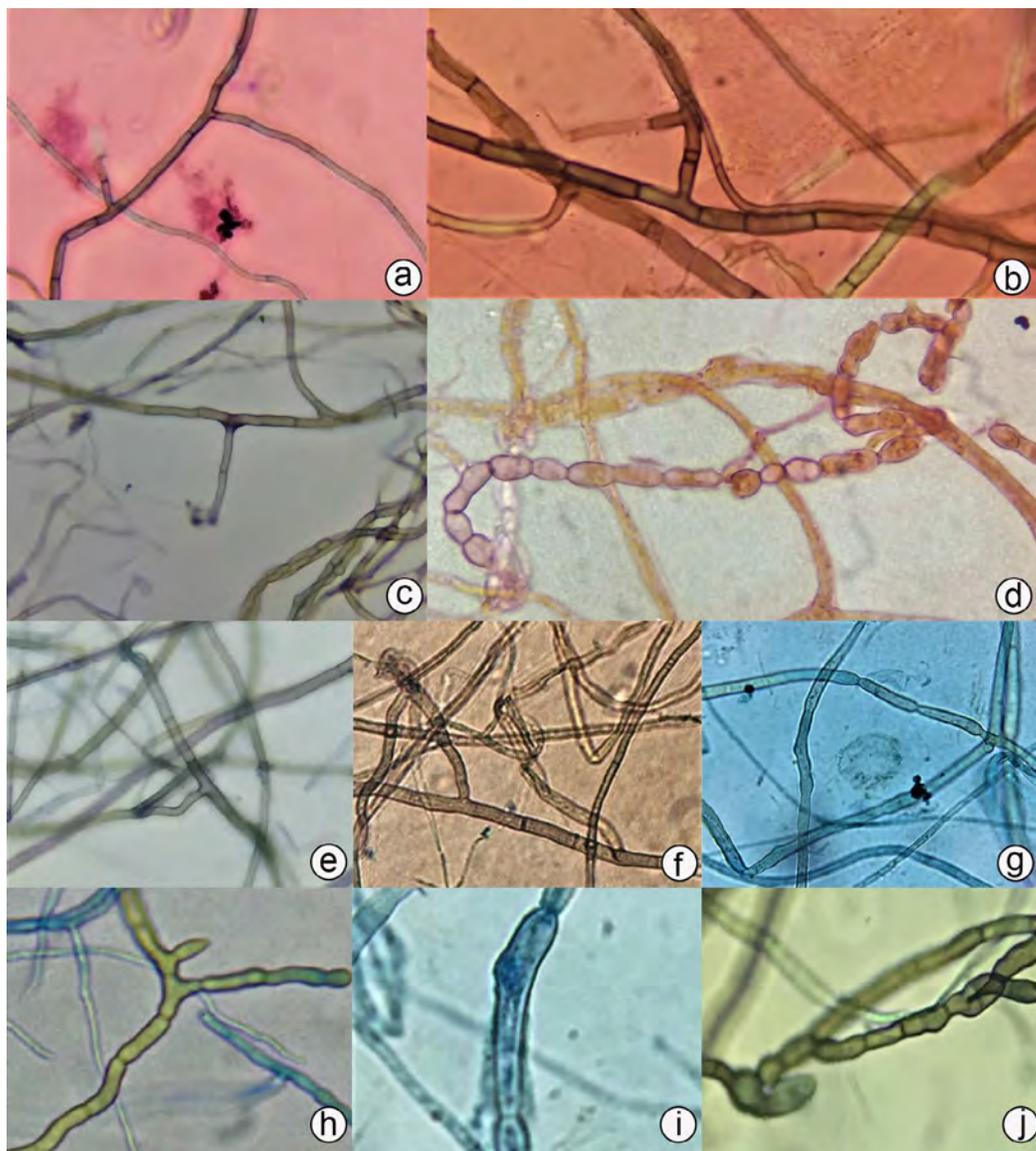


Figura 4. Aislamientos de hifas teñidas con azul de lactofenol identificadas morfológicamente como género-forma *Rhizoctonia*; vista microscópica en 40 x y 100 x. a) P4M6F; b) P4M4M; c) P1M1M; d) P4M6M, se puede observar células moniloides; e) P4M1M; f) P4M4M; g) P2M1I; h) P2M1M; i) P2M2I; j) P8M1M.

al tipo de crecimiento de las colonias, el 31,82 % presentaron color blanco; el 27,27 %, café rojizo; el 20-45 %, color café oscuro y el 20,45 % restante, amarillo. En cuanto a la presencia del micelio, el 40,91 % fue abundante; el 36,36 %, moderado y 22,73 %, poco (figura 5). Se ha descrito que el color de las colonias del género *Rhizoctonia* varía entre colores que van de blanco, crema a castaño y crecimiento abundante (Giovannini *et al.* 2005; Zettler & Corey, 2018), lo cual, coincidió con lo observado en esta investigación.

Según la parte de la raíz, se presentó mayor porcentaje del género-forma *Rhizoctonia* en la parte media, con 36 %, seguida de la parte proximal, con 33 % y la parte final, con 31 %, coincidiendo con

Durán *et al.* (2007) y Ordóñez C. *et al.* (2012), quienes reportaron, en las orquídeas *Gavilea araucana*, *Vanilla planifolia*, *Elleanthus amethystinoide*, *Trichoceros antennifer*, *Epidendrum chioneum*, *Stelis* sp., *Epidendrum* sp. y *Pleurothallis linguifera*, mayor colonización del género-forma *Rhizoctonia*, en la zona media de la raíz, seguida de la región basal y, finalmente, la apical.

Se reporta que los hongos formadores de micorrizas en orquídeas son miembros del complejo de *Rhizoctonia*, que comprende taxones de tres familias fúngicas distintas: Tulasnellaceae, Ceratobasidiaceae y Serendipitaceae (Smith & Read, 2008; Dearnaley *et al.* 2012) y esta asociación, se considera como el estado ancestral de la familia



Figura 5. a-b) Células del micelio en cultivo puro obtenido de explantes de raíces de la orquídea *Rodriguezia grandensis*.

(Dearnaley *et al.* 2012; Ogura-Tsujita *et al.* 2021). Los hongos del género *Rhizoctonia* tienen diferentes estrategias tróficas pudiendo actuar como fitopatógenos, endófitos, saprófitos, hongos micorrízicos orquídeas o ectomicorrízicos (Veldre *et al.* 2013; Ogura-Tsujita *et al.* 2021).

Para determinar si había una asociación entre la presencia del género-forma *Rhizoctonia*, la parte de la raíz y el forofito, se realizó una prueba de Chi-cuadrado (Tabla 1), obteniendo resultados de probabilidad asociada mayor a 0,05, lo que indica, que no hay asociación entre estos factores.

Tabla 1. Asociación entre la presencia del género-forma *Rhizoctonia* y las variables submuestra y forofito.

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	0,00	8	> 0,9999
Chi CuadradoMV-G2	0,00	8	> 0,9999
Coef.Conting. Cramer	0,00		
Coef.Conting. Pearson	0,00		

Determinación del índice de diversidad, frecuencia de colonización y abundancia de los géneros fúngicos encontrados. Teniendo en cuenta que se encontraron dos grupos de géneros fúngicos asociados a las raíces de *R. grandensis* encontrados en este trabajo (género-forma *Rhizoctonia* y *micelia sterilia*), la diversidad de los hongos endófitos hallados fue muy baja, con $H' = 0,487$, siendo el género-forma *Rhizoctonia*, el endófito dominante. Esto sugeriría, que *R. grandensis* representa un nicho ecológico pobre en cuanto a micobiota endofítica, por lo que arroja un resultado cercano a cero. Este valor posiblemente cambie, si realizan los cálculos después de la identificación molecular de estos aislamientos.

En cuanto al porcentaje de frecuencia de colonización (% FC) y abundancia relativa (% A), el género-forma *Rhizoctonia*, presentó 95 % de colonización en las muestras analizadas y un 65 % de

abundancia relativa del género-forma *Rhizoctonia*, en los aislamientos realizados. Estas variables indican que *Rhizoctonia* spp. se encuentra como hongo micorrízico orquídeoide disponible en los forofitos del agroecosistema del área de estudio. Bayman *et al.* (1997) reportan que en raíces de la orquídea *Lepanthes* sp., el género *Rhizoctonia* tiene una frecuencia de colonización de 45 %, seguido del género fúngico *Xyllaria*, con un 29 %. Ordóñez *et al.* (2015) obtuvieron una frecuencia de colonización del género-forma *Rhizoctonia* en raíces de orquídeas *Masdevallia coccinea* Linden ex Lindl., del 83,8 %, en plantas jóvenes y el 54,8 %, en plantas adultas. Por el contrario, en aislamientos de raíz de *Dendrobium nobile* no se reporta la presencia de *Rhizoctonia*, sino de los géneros *Colletotrichum*, *Phomopsis*, *Clonostachys*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma* y *Xyllaria* (Yuan *et al.* 2009). No se reportan estudios similares para orquídeas del género *Rodriguezia* en otros ecosistemas naturales o en sistemas productivos.

El reconocimiento de los hongos asociados a las raíces de orquídeas *R. granadensis* permitirán realizar estudios que evalúen el efecto de los microorganismos asociados a las raíces en el crecimiento vegetal, el análisis de los efectos que hace el hongo micorrízico orquídeoide encontrado en la estimulación de la tolerancia a estrés, las defensas de la planta y cómo mejora la absorción de nutrientes.

De forma general, se concluye que, en las raíces de *R. granadensis*, el género fúngico más abundante es *Rhizoctonia*, por lo tanto, se recomienda realizar trabajos tendientes a la identificación de las especies asociadas y profundizar en el entendimiento de la interacción micorrízica, para propender por el cuidado de esta orquídea en condiciones naturales y hacer un aprovechamiento de este conocimiento para la propagación, a nivel comercial.

Agradecimientos. Al grupo de investigación Prosafig y a las oficinas de Desarrollo Económico y Turismo de la Alcaldía Municipal de Fusagasugá, por contribuir en el desarrollo del proyecto de investigación “Aspectos generales de la ecología de orquídeas nativas en el ecosistema hacienda Betania, con proyección a su conservación, manejo y producción”, de la Universidad de Cundinamarca. A Alberto Suárez, por su colaboración en el laboratorio de Microbiología de la Universidad de Cundinamarca.

REFERENCIAS

- BARNETT, H.; HUNTER, B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi fourth (fourth ed.). The American Phytopathological Society (Minnesota, USA). 218p.
- BAYMAN, P.; LEBRON, L.L.; TREMBLAY, R.L.; JEAN LODGE, D. 1997. Variation in endophytic fungi from roots and leaves of *Lepanthes* (Orchidaceae). *New Phytol.* 135:143-149.
- BELTRÁN-NAMBO, M.D.L.A.; MARTÍNEZ-TRUJILLO, M.; MONTERO-CASTRO, J.C.; SALGADO-GARCIGLIA, R.; OTERO-OSPINA, J.T.; CARREÓN-ABUD, Y. 2018. Fungal diversity in the roots of four epiphytic orchids endemic to Southwest Mexico is related to the breadth of plant distribution. *Rhizosphere.* 7:49-56.
<https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2018.07.001>
- BERTOLINI, V.; CRUZ-BLASI, J.; DAMON, A.; VALLE, J. 2014. Seasonality and mycorrhizal colonization in three species of epiphytic orchids in southeast Mexico. *Acta Botanica Brasílica.* 28(4):512-518.
<https://doi.org/10.1590/0102-33062014abb3436>
- CALDERÓN, E. 2006. Libro Rojo de Plantas de Colombia. Orquídeas, Primera Parte. Serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Vol. 3. Instituto Alexander von Humboldt - Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial (Bogotá, Colombia). 828p.
- CHASE, M.W.; CAMERON, K.M.; FREUDENSTEIN, J.V.; PRIDGEON, A.M.; SALAZAR, G.; VAN DEN BERG, C.; SCHUITEMAN, A. 2015. An updated classification of Orchidaceae. *Botanical journal of the Linnean Society.* 177(2):151-174.
<https://doi.org/10.1111/boj.12234>
- DEARNALEY, J.D.W.; CAMERON, D.D. 2016. Nitrogen transport in the orchid mycorrhizal symbiosis-further evidence for a mutualistic association. *New Phytologist.* 213(1):10-12.
<https://doi.org/10.1111/nph.14357>
- DEARNALEY, J.D.W.; MARTOS, F.; SELOSSE, M.A. 2012. 12 Orchid mycorrhizas: molecular ecology, physiology, evolution and conservation aspects. In: Hock, B. (ed.). *Fungal associations. The mycota (A comprehensive treatise on fungi as experimental systems for basic and applied research)*. Springer (Berlin, Germany). p.207-230.
https://doi.org/10.1007/978-3-642-30826-0_12
- DING, R.; CHEN, X.H.; ZHANG, L.J.; YU, X.D.; QU, B.; DUAN, R.; XU, Y.F. 2014. Identity and specificity of *Rhizoctonia*-like fungi from different populations of *Liparis japonica* (Orchidaceae) in Northeast China. *PloS one.* 9(8):e105573.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105573>
- DURÁN, C.; RIVERO, M.; SEEMANN, P. 2007. Identificación de endomicorrizas en la orquídea nativa *Gavilea araucana* (PHIL.) Correa. *Agrosur.* 35(2):67-69.
<https://doi.org/10.4206/agrosur.2007.v35n2-32>
- EVANS, A.; JANSSENS, S.; JACQUEMYN, H. 2020. Impact of climate change on the distribution of four closely related *Orchis* (Orchidaceae) species. *Diversity.* 12(8):312.
<https://doi.org/10.3390/d12080312>
- GALE, S.W.; FISCHER, G.A.; CRIBB, P.J.; FAY, M.F. 2018. Orchid conservation: bridging the gap between science and practice. *Botanical Journal of the Linnean Society.* 186(4):425-434.
<https://doi.org/10.1093/botlinnean/boy003>
- GIL, K.S.; JÁCOME, J. 2014. Representatividad de las colecciones “ex situ” de la familia Orchidaceae en la franja altitudinal entre bosque andino y páramo, en el departamento de Cundinamarca, Colombia. *Orquídeología.* 31(2):144-172.
- GIL-CLAVIJO, A.I.; BOHÓRQUEZ, M.A.; REYES, Y.Y. 2020. La precipitación está asociada con la fenología de *Rodriguezia granadensis* (Lindl.) Rchb. f. en Fusagasugá, Cundinamarca. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica.* 23(1):e1511.
<https://doi.org/10.31910/rudca.v23.n1.2020.1511>
- GIOVANNINI, C.; ANDRADE, N.; VALENZUELA, E.; CASTRO, I.; CONTRERAS, A. 2005. Caracterización

- morfológica y patogénica de *Rhizoctonia solani* Kühn a partir de tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) provenientes de diferentes predios de la X región de Chile. *IDESIA* Chile. 23(1):13-18.
16. HADLEY, G.; WILLIAMSON, B. 1971. Analysis of the post-infection growth stimulus in orchid mycorrhiza. *New Phytologist*. 70(3):445-455.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1971.tb02546.x>
 17. HERRERA, H.; VALADARES, R.; CONTRERAS, D.; BASHAN, Y.; ARRIAGADA, C. 2017. Mycorrhizal compatibility and symbiotic seed germination of orchids from the Coastal Range and Andes in south central Chile. *Mycorrhiza*. 27:175-188.
<https://doi.org/10.1007/s00572-016-0733-0>
 18. JACQUEMYN, H.; DUFFY, K.J.; SELOSSE, M.-A. 2017. Biogeography of orchid mycorrhizas. In: Tedersoo, L. (eds). *Biogeography of Mycorrhizal Symbiosis. Ecological Studies (Analysis and Synthesis)*. Springer, Cham. p.159-177.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-56363-3_8
 19. JIMÉNEZ-PEÑA, N.; SANDOVAL-VILLA, M.; VOLKE-HALLER, V.H.; PEDRAZA-SANTOS, M.; FERNÁNDEZ-HERRERA, E. 2018. Colonización micorrízica de *Laelia autumnalis* (La Llave & Lex.) Lindl.). *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*. 5(15):547-553.
<http://dx.doi.org/10.19136/era.a5n15.1756>
 20. KAUR, S. 2020. Mycorrhiza in Orchids. In: Merillon, J.M.; Kodja, H. (eds.). *Orchids phytochemistry, biology and horticulture*. Springer, Cham. p.1-14.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-11257-8_7-1
 21. KUGA, Y.; SAKAMOTO, N.; YURIMOTO, H. 2014. Stable isotope cellular imaging reveals that both live and degenerating fungal pellets transfer carbon and nitrogen to orchid protocorms. *New Phytologist*. 202(2):594-605.
<https://doi.org/10.1111/nph.12700>
 22. LIZARAZO, P.; MENDOZA, M.; GUTIERREZ, A. 2015. Diversidad de la microbiota endófito de *Cattleya percivaliana* y *Cattleya trianaei* cultivadas en invernadero. *Actualidades Bilógicas*. 37(102):67-78.
 23. MA, X.; KANG, J.; NONTACHAIYAPOOM, S.; WEN, T.; HYDE, K.D. 2015. Non-mycorrhizal endophytic fungi from orchids. *Current science*. 109(1):36-51.
 24. MEJÍA ROSERO, H.; PINO BENÍTEZ, N. 2010. Diversidad de Orquídeas epífitas en un bosque húmedo tropical (BH-T) del departamento del Chocó, Colombia. *Acta Biológica Colombiana*. 15(2):37-46.
 25. MORENO LÓPEZ, J.P.; ARIZA CASTILLO, C.A. 2020. Procedimientos de laboratorio para la búsqueda de hongos formadores de micorrizas y microorganismos endófitos en orquídeas. En: Banda Sánchez, L.; Gil Clavijo, A.I.; Moreno López, J.P.; Ariza Castillo, C.A.; Vanegas Martínez, L.E. (eds). *Metodologías de muestreo y procedimientos en laboratorio para investigaciones en orquídeas presentes en la región del Sumapaz-Colombia*. Editorial Universidad de Cundinamarca. p.48-57.
 26. OGURA-TSUJITA, Y.; YUKAWA, T.; KINOSHITA, A. 2021. Evolutionary histories and mycorrhizal associations of mycoheterotrophic plants dependent on saprotrophic fungi. *Journal of plant research*. 134(1):19-41.
<https://doi.org/10.1007/s10265-020-01244-6>
 27. ORDÓÑEZ, N.F.; OTERO OSPINA, J.T.; DIAZ, L.A. 2015. Interacciones Micorrízicas de *Masdevallia coccinea* Linden ex Lindl. *Orquideología*. 31(2):123-135.
 28. ORDÓÑEZ C., N.F.; OTERO, J.T.; DÍEZ G., M.C. 2012. Hongos endófitos de orquídeas y su efecto sobre el crecimiento en *Vanilla planifolia* Andrews. *Acta Agronómica*. 61(3):283-291.
 29. OSORIO-GIL, E.M.; FORERO-MONTAÑA, J.; OTERO, J.T. 2008. Variation in Mycorrhizal Infection of the epiphytic orchid *Ionopsis utricularioides* (Orchidiaceae) on different substrata. *Caribbean Journal of Science*. 44(1):130-132.
<https://doi.org/10.18475/cjos.v44i1.a15>
 30. OSPINA-CALDERÓN, N.H.; DUQUE-BUITRAGO, C.A.; TREMBLAY, R.L.; TUPAC OTERO, J. 2015. Pollination ecology of *Rodriguezia granadensis* (Orchidaceae). *Lankesteriana*. 15(2):129-139.
 31. RASMUSSEN, H.N.; WHIGHAM, D.F. 2002. Phenology of roots and mycorrhiza in orchid species differing in phototrophic strategy. *New Phytologist*. 154:797-807.
<https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00422.x>
 32. REINA-RODRÍGUEZ, G.A.; OTERO, J.T. 2011. Guía ilustrada de las orquídeas del Valle geográfico del Río Cauca y Piedemonte andino bajo. Asociación Vallecaucana de Orquideología. Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira (Palmira, Colombia). 96p.
 33. RIVAS, M.; WARNER, J.; BERMÚDEZ, M. 1998. Presencia de micorrizas en orquídeas de un jardín botánico neotropical. *Revista de Biología Tropical*. 46(2):211-216.
 34. SARSAIYA, S.; SHI, J.; CHEN, J. 2019. A comprehensive review on fungal endophytes and its dynamics on Orchidaceae plants: current research, challenges, and future possibilities. *Bioengineered*. 10(1):316-334.
<https://doi.org/10.1080/21655979.2019.1644854>

35. SATHIYADASH, K.; MUTHUKUMAR, T.; KARTHIKEYAN, V.; RAJENDRAN, K. 2020. Orchid mycorrhizal fungi: structure, function, and diversity. In: *Orchid biology: recent trends & challenges*. Springer (Singapore). p.239-280. https://doi.org/10.1007/978-981-32-9456-1_13
36. SHEFFERSON, R.P.; JACQUEMYN, H.; KULL, T.; HUTCHINGS, M.J. 2020. The demography of terrestrial orchids: Life history, population dynamics and conservation. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 192(2):315-332. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boz084>
37. SMITH, S.E.; READ, D.J. 2008. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic press. 800p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370526-6.X5001-6>
38. VALENCIA, J. 2014. *Las Orquídeas de San José de Suaita (Santander, Colombia)*. Universidad Nacional de Colombia (Bogotá). 307p.
39. VELDRE, V.; ABARENKOV, K.; BAHRAM, M.; MARTOS, F.; SELOSSE, M.A.; TAMM, H.; KÓLJALG, U.; TEDERSOO, L. 2013. Evolution of nutritional modes of Ceratobasidiaceae (Cantharellales, Basidiomycota) as revealed from publicly available ITS sequences. *Fungal ecology*. 6(4):256-268. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2013.03.004>
40. VENTRE-LESPIAUCQ, A.B.; DELGADO, J.A.; OSPINA-CALDERÓN, N.H.; OTERO, J.T.; ESCUDERO, A.; SÁNCHEZ, M.A.; BALAGUER, L.; FLANAGAN, N.S. 2017. A tropical epiphytic orchid uses a low-light interception strategy in a spatially heterogeneous light environment. *Biotropica*. 49(3):318-327. <https://doi.org/10.1111/btp.12425>
41. YEH, C.M.; CHUNG, K.; LIANG, C.K.; TSAI, W.C. 2019. New insights into the symbiotic relationship between orchids and fungi. *Applied Sciences*. 9(3):585. <https://doi.org/10.3390/app9030585>
42. YUAN, Z.-L.; CHEN, Y.-C.; YANG, Y. 2009. Diverse non-mycorrhizal fungal endophytes inhabiting an epiphytic, medicinal orchid (*Dendrobium nobile*): estimation and characterization. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2(25):295-303. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9893-1>
43. ZETTLER, L.; COREY, L. 2018. Orchid mycorrhizal fungi: Isolation and identification techniques. In: Lee, Y.I.; Yeung, E.T. (eds). *Orchid propagation: From laboratories to greenhouses-methods and Protocols*. Springer Science. p.27-59. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7771-0_2



Genetic parameters of agronomic traits and yield components of soybean genotypes in the Colombian Altillanura

Parámetros genéticos de rasgos agronómicos y componentes de rendimiento de genotipos de soja en la Altillanura colombiana

Ruben Alfredo Valencia-Ramírez¹ ; Samuel Caicedo¹ ; Juan Carlos Reyes¹ ; Deisy Lorena Flórez-Gómez^{2*} ; Yuli Tibocho¹ 

¹Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria-Agrosavia. Villavicencio - Meta, Colombia; e-mail: rvalencia@agrosavia.co, scaicedo@agrosavia.co; jreyesd@agrosavia.co; ytibocho@agrosavia.co

²Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria-Agrosavia. Mosquera - Cundinamarca, Colombia; e-mail: dlfflorez@agrosavia.co

*corresponding author: dlfflorez@agrosavia.co

How to cite: Valencia-Ramírez, R.A.; Caicedo, S.; Reyes, J.C.; Flórez-Gómez, D.L.; Tibocho, Y. 2022. Genetic parameters of agronomic traits and yield components of soybean genotypes in the Colombian Altillanura. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 25(1):e1901. <http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1901>

Open access article published by Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, under Creative Commons License CC BY-NC 4.0

Official publication of the Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, University, Accredited as a High-Quality Institution by the Colombian Ministry of Education.

Received: March 30, 2021

Accepted: March 30, 2022

Edited by: Helber Adrián Arévalo Maldonado

ABSTRACT

Soybean cultivation expansion in Colombia has generated the need to seek varieties with high genetic merit. A soybean genetic breeding program seeks to generate varieties with competitive and sustainable yields, and high-quality grain adapted to the conditions of the low tropics. The aim was to determine the genetic parameters and expected gains in quantitative traits of interest in a soybean breeding process using biometric tools. Sixty lines and four commercial varieties were evaluated in an 8x8 alpha lattice design (genotypes x blocks) planted in oxisols from the Altillanura region of Colombia. The estimation of the parameters was performed by applying mixed models with a random-effects adjustment through the REML method. Wide genetic variability was observed for all the evaluated traits, except for plant height. High heritability values were registered for the characters at flowering and maturity. Heritability was high for yield components such as the number of

Pods and the weight of 100 grains. Overall, the environmental effect was low, with values close to or higher than 1, except for embryonic abortions, number of empty pods, and grain yield. The genetic gain as a mean percentage was high for plant height, moderate for grain yield, and low for the rest of the characters. Moderate heritability and grain yield gain indicate an additive action of the genes ideal for recurrent selection. The most discriminating characters in the evaluated conditions were the grain yield, weight of 100 grains, and number of pods.

Keywords: Genetic gain; Genetic variability; Heritability; Low tropics; Plant breeding.

RESUMEN

La expansión del cultivo de soja en Colombia genera la necesidad de buscar variedades con alto mérito genético y su mejoramiento,

la generación de variedades con rendimientos competitivos y con alta calidad de grano, adaptadas a las condiciones del trópico bajo. El objetivo fue determinar, mediante herramientas biométricas, los parámetros genéticos y las ganancias esperadas, en caracteres cuantitativos de interés, para el proceso de mejora de soya. Se evaluaron 60 líneas y 4 variedades comerciales, en un diseño alfa látice 8x8, en oasisoles de la Altillanura. La estimación de los parámetros, se realizó mediante la aplicación de modelos mixtos, con ajuste de efectos aleatorios, por el método REML. Se observó amplia variabilidad genética para todos los rasgos evaluados, exceptuando la altura de planta. Se registraron valores altos de heredabilidad, para los caracteres de floración y madurez. En los componentes de rendimiento, la heredabilidad fue alta para número de vainas y peso de 100 granos. El efecto ambiental fue bajo, con valores cercanos o superiores a 1, con excepción de abortos embrionarios, número de vainas vanas y rendimiento de grano. La ganancia genética, como porcentaje de la media fue alta, para altura de planta; moderada, para rendimiento de grano y baja, para el resto de los caracteres. La heredabilidad y la ganancia moderadas de rendimiento de grano indican una acción aditiva de los genes, ideal para la selección recurrente. Los caracteres más discriminantes en las condiciones evaluadas fueron rendimiento de grano, peso de 100 granos y número de vainas.

Palabras claves: Ganancia genética; Heredabilidad; Mejoramiento genético; Trópico bajo; Variabilidad genética.

INTRODUCTION

At a global level, soybean is one of the most important legume species in animal and human nutrition due to its high protein and oil contents. In the 2018-2019 period, the worldwide soybean area was 125.33 million hectares (USDA, 2020), where Brazil ranked first with 28.6 % of the total area, followed by the USA with 28.3 % and Argentina with 13.2 %. The average yields recorded were 2.87, 3.31, 3.40, and 3.33 t ha⁻¹, respectively.

In Colombia, soybean demand is 468,000 t/year of grain and 1,043,000 t/year of imported soybean meal. The country only produces around 105,980 t/year, in approximately 36,370 ha (Fenalce, 2019). Thus, it is necessary to plant approximately 500,000 ha in the Altillanura subregion of the Colombian Orinoquía region, representing about 90 % of the national soybean production. The department of Meta is the largest producer focused mainly on the production of concentrates for poultry and swine feed. In this vast region, the Altillanura subregion, with the largest soybean cultivation area of 32,600 ha (Fenalce, 2019), has an agricultural potential of 2,800,000 ha (DNP, 2014) for different productive systems, where soybean, due to its comparative and competitive advantages, is one of the most viable alternatives.

The dynamic expansion of soybean cultivation in the flat Altillanura subregion has generated the need to seek new genetic resources with traits of interest to contribute to improving the sustainability of the production system. This same approach has been adopted by Brazil, whose greatest interest has been the constant release of new soybean

cultivars with high yield, adaptation to different edaphoclimatic conditions, and resistance to major diseases (Hamawaki *et al.* 2012).

The previous determination of the genetic parameters and the available variability measurement is essential for any breeding program because they characterize a population genetically and allow predicting the expected gains to establish selection strategies (Baldissera *et al.* 2014; Zamudio *et al.* 2002). However, generating varieties successfully with high genetic potential depends on the precision with which the relevant parameters are estimated (Wellmann & Bennewitz, 2019). The genotypic (CVg), the phenotypic (CVf) and the environmental coefficients of variation (CVe), the heritability (H²) and the genetic progress (GG), are useful parameters to determine genetic variability (Aditya *et al.* 2011; Firouzian, 2003; Ali *et al.* 2016) and the successful selection of superior genotypes (Hamawaki *et al.* 2012; Baraskar *et al.* 2014; Silva *et al.* 2018).

For decades, the variance components were estimated from the mean squares in the linear model for fixed effects. Currently, in mixed models, the restricted maximum likelihood method (REML) is a widely used procedure for the estimation of variance components (Searle *et al.* 1992), when there are both fixed and random factors in the treatment structure of an experiment; thus, the genetic parameters of interest are estimated.

Heritability is the proportion of phenotypic variance that can be inherited in these parameters. It is not the portion of the phenotype attributed to genetics but rather a proportion of the phenotypic variance due to genetic factors. It has been described by Falconer & Mackay (1996), as the σ^2g/σ^2f ratio defined from 0 to 1. The phenotypic variance (σ^2f) is a variability measure that can be decomposed into genotypic (σ^2g) and environmental (σ^2e) variances and the genotype x environment interaction (σ^2ge). The genotypic variance, in turn, is comprised of additive (σ^2A) and epistatic (σ^2AD) variances and dominance (σ^2D). Heritability refers to a particular population that also develops under a particular environment. It is a property of the character, population, and environmental effects (Falconer, 1981). Further, the same character in two different populations can show different heritability values, which can vary when the environment is changed. This genetic parameter is essential to measure, in quantitative traits, the response to selection and efficiency in plant breeding (Bekele *et al.* 2012). According to Badiali *et al.* (1995), to know the variability and heritability of agronomic characters in the broad sense, their determination should be made in the environment in which the selection is carried out. Characters with high heritability can be improved faster and with less evaluation intensity than those with low H². High heritability and genetic progress values allow a more effective selection based on phenotype expression. For their part, CVg and CVf coefficients provide information on the nature and magnitude of the variation. A high difference between these coefficients denotes a greater environmental effect on the character (Ali *et al.* 2016).

Several genetic breeding programs have contributed to the development of soybean varieties with high yields and adapted to different edaphoclimatic conditions of the low tropics. However, new, more competitive, and sustainable genetic alternatives must overcome this varietal offer. To this effect, it is necessary to have a broad genetic base, know its expression in the tropics, and study and apply the necessary genetic parameters that contribute to a successful selection. Additionally, having a highly diverse collection is not guaranteed to broaden the varietal genetic base if this variability is ineffective. Wysmierski *et al.* (2013), when evaluating the pedigrees of 444 Brazilian soybean varieties released (before 1971, 1971-1980, 1981-1990, 1991-2000, and 2001-2009), according to its origin (public or private), found a narrow genetic base comprised of four main ancestors (CNS, S-100, Nanking and Tokyo), contributing with 55.26 % of the diversity. Only 14 ancestors represent 92.41 % of the Brazilian genetic base. This genetic base is very similar to the one in the United States, sharing six of the main ancestors. Genetic variability is the primary factor in a breeding program when developing a superior variety. Furthermore, breeding will be faster if this variation is wide (Kuswantoro, 2017) and effective. Thus, estimates of genetic gain allow the breeder to know the potential genetic progress and guide the selection process (Vallejos *et al.* 2010).

The current research was aimed to determine the genetic parameters of broad-sense heritability, the coefficients of genetic and phenotypic variation, and the prediction of the genetic progress of 60 advanced soybean lines from a breeding program.

MATERIALS AND METHODS

Study area. The evaluation of soybean lines and varieties in a Preliminary Yield Trial (PYT) was carried out during the second semester of 2019 at the Taluma headquarters of Agrosavia, located in the municipality of Puerto López, department of Meta. The coordinates of the study area are 4°72' N latitude and 72°13' E longitude at 176 m a.s.l.

The climate of the study area is monomodal from April to December, with an average temperature of 25.8 °C and average annual rainfall of 2,200 mm irregular in frequency and intensity (Bernal *et al.* 2013). The soil is an oxisol of the Colombian Altillanura region, with an acidic pH (5.1), low contents of organic matter (1.63 %), phosphorus (8.8 ppm), and low cation exchange capacity (2.35 meq/100 g).

Genotypes. Sixty-four discriminated soybean (*Glycine max* L. Merrill) genotypes were evaluated in 60 advanced lines (F6-F7) of the soybean genetic breeding program of Agrosavia, three registered commercial varieties of Agrosavia (C. Superior 6, C. Achagua 8, and C. Primavera 11), and the ICA variety Soyica P-34.

Experimental design, variables, and information analysis. The experimental units were distributed in an alpha lattice design of 8x8 (genotypes x block) with two repetitions, described by Patterson & Williams (1976). This design assumes that the variation within a

block is less than between the units of different blocks, increasing the precision of the analysis by controlling experimental errors. Furthermore, the treatments had the same frequency in each block, i.e., the distribution of blocks and treatments was orthogonal. Orthogonality facilitates the mathematical computation necessary to produce an analysis of variation (Barreto *et al.* 1997).

Each experimental unit consisted of four rows of 5 m long, 0.45 m apart, and a distance between plants of 0.07 m. Agronomic management was uniform for all experimental units, following the technical recommendations for cultivation previously established by various national and international agricultural sector entities (Valencia & Ligarreto, 2010).

Variables evaluated: days to the beginning of flowering (DIF), days to full flowering (DFC), plant height to flowering (ALTF), number of nodes to flowering (NF), days to physiological maturity (DM), days period from flowering to maturity (DPFM), height to maturity (ALTM), number of nodes at maturity (NM), number of embryonic abortions or pod compartments without grain (AE), number of vain pods (VV), total number of pods (VT), weight of 100 grains (PG) in grams, and grain yield (REN) in t ha⁻¹ adjusted to 14 % humidity.

An analysis of variance was carried out to evaluate the variability of the quantitative traits, according to the statistical model described by Singh & Bhatia (2017), as follows.

$$Y_{ijL} = \mu + G_i + B_{j/L} + e_{ij}$$

where Y_{ijL} is the value of the character studied, μ is the general mean, G_i is the genotype effect, $B_{j/L}$ is the block effect within each repetition, and e_{ij} is the experimental error.

The SAS 9.4 software (SAS Institute Inc, 2014) was used to analyze the information. Variance components for continuous variables were estimated by applying the linear mixed model (PROC MIXED), with the random-effects adjustment through the restricted maximum likelihood method (REML), proposed by Patterson & Thompson (1971). The generalized linear mixed model (PROC GLIMMIX) was applied for discrete variables. The repetitions were considered fixed in the model, while the lines/varieties and block (repetition) were random. The mixed model assumes normality, so it was necessary to transform using \sqrt{x} . With these variance components, genotypic (V_g) and phenotypic (V_f) variances, broad-sense heritability (H^2), genotypic (CV_g) and phenotypic (CV_f) coefficients of variation, CV_g/CV_f ratio, genetic gain (GG), and genetic gain related to the mean (Gg) of each variable or character were estimated. The genetic parameters were calculated using the following formulas:

Broad-sense heritability $H^2 = V_g/V_f * 100$, where V_g is the genotypic variance and V_f is the phenotypic variance (Allard, 1960). Its magnitude was valued as low (< 30 %), moderate (30-59 %), high (60-80 %), and very high (> 80 %).

Genetic gain (GG) = $k\sigma_f H^2$ (Johnson *et al.* 1955), where k is the selection index, σ_f is the phenotypic standard deviation, and H^2 is the broad-sense heritability. The selection pressure is 20 % ($K=1.4$). Genetic gain was determined as its proportion with respect to the mean, i.e., $Gg=GG/\bar{x} \times 100$, where \bar{x} is the mean. Genetic progress was classified as low (< 10 %), moderate (10-20 %) and high (> 20 %).

The genotypic and phenotypic coefficients of variation were calculated according to Burton & Devane (1953), as follows:

$$\text{Coefficient of genotypic variation } CV_g = \frac{\sqrt{V_g}}{\bar{X}} \times 100$$

$$\text{Coefficient of phenotypic variation } CV_f = \frac{\sqrt{V_f}}{\bar{X}} \times 100$$

Genetic variability was estimated as wide or narrow for a trait, based on genetic variance (V_g) and its standard deviations (σV_g), as described by Sulistyó & Mejaya (2018). Genetic variability is wide if V_g is higher than twice the standard deviation of the genotypic variance ($V_g > 2 \sigma V_g$), and it is narrow if the genotypic variance is less than or equal to two times the standard deviation of the genotypic variance ($V_g \leq 2 \sigma V_g$).

To obtain more information on the relations between agronomic and yield traits, the data, due to being on different scales, were standardized with the general mean and analyzed through multivariate methods with principal components (CP), using the PROC PRINCOMP instruction of SAS 9.4. (SAS institute inc, 2014).

RESULTS AND DISCUSSION

The statistical description of the original soybean lines and varieties population shows an important variability in the characters under study, both in flowering and in maturation and their yield components (Table 1). These results were ratified by the analysis and interpretation of mixed models applying REML, where the statistical differences between lines/varieties were evident for all the variables evaluated. For Pushpa Reni & Koteswara Rao (2013) and Ahsan *et al.* (2015), knowledge of the nature and magnitude of the variability between genotypes due to their attributes is essential for effective selection in varietal breeding. The assessment of the different genetic parameters estimated in the edaphoclimatic conditions of the current research is presented in table 2.

Analysis of genetic parameters at flowering. In the mixed model analysis using REML, the flowering characters (DIF, DFC, and ALTF) and the Glimmix analysis for NF showed highly significant differences for the covariance parameter between genotypes ($P < 0.01$). The variables at flowering showed high broad-sense heritabilities ranging from 84 to 92 %. The high heritability of flowering has also been reported by Ali *et al.* (2016) and Teixeira *et al.* (2017). In these very high heritability traits (> 80 %), the selection is relatively easy, since there is a close correspondence between the genotype and the phenotype due to the small relative contribution of the environment to the character (Singh, 2001), with a selection

accuracy higher than 92 % as seen in table 2. CVf coefficients were higher than CVg, agreeing with the results found by Kuswanto (2017). However, these coefficients were very close to each other, confirming the low environmental effect on flowering. Wide variability was observed for DIF, DFC, and NF, while in ALTF, the variability was narrow ($V_g \leq 2 \sigma V_g$). Similar results for DFC in their CVg were reported by Sulistyó & Mejaya (2018). The average genetic gains for DIF, DFC, and NF were less than 10 %, with a selection pressure of 20 %. However, in DFC, there is a significant potential to exploit since it is associated with the juvenile period and the growth habit of the genotypes. Soybean is a plant with short days (long dark period); it tends to flower early (short juvenile period) in the tropics, limiting grain production. According to Miranda *et al.* (2020), knowing the influence of the juvenile period and the growth habit, development, and adaptation are crucial to optimizing phenology and improving soybean yield potential in tropical environments. Fehr & Caviness (1977) established that temperature, day length and genotype are determining factors to initiate flowering and later reproductive development. In varieties with a determined growth habit, flowering is simultaneous in nearly the entire plant ((DFC-DIF) ≤ 2 days) and grows very shortly after initiating flowering. On the other hand, in varieties with an indeterminate growth habit ((DFC-DIF) ≥ 3 days), these continue to grow up to 50 % more. In the varietal breeding process, it is not enough to obtain genotypes with long juvenile periods and ideal plant architecture if there are not favorable environmental conditions to achieve the best plant performance to maximize yield and quality.

Analysis of genetic parameters at maturity. In ALTM, PDFM, DPFM, DM, and NM, highly significant differences for the covariance parameter between genotypes ($P < 0.01$) were found. ALTM, DM, and DPFM reached very high heritability values between 86 and 95 %, while in NM, the values reached only 63 %. High heritability has been reported in days to maturity (MD) by Kuswanto (2017) and Ali *et al.* (2016), in ALTM and PDFM by Zhang *et al.* (2015) and in NM by Teixeira *et al.* (2017). In general, in traits with high heritability where the environmental effect is low or very low, effective selection can be made directly by the phenotype. In characters with heritability close to 60 %, there is a slight but important environmental effect to consider when carrying out selection processes. The selection accuracy in the very high heritability variables reached values higher than 93 % and only 80 % for NM. In these variables at maturity, the low environmental effect is ratified by the scarce difference between the coefficients of variation CVg and CVf of each character (Table 2). Similar results were reported by Chandrawati *et al.* (2017). Genetic variances, except for ALTM, were higher than two times their standard deviation ($V_g > 2 \sigma V_g$), which, according to Sulistyó & Mejaya (2018), is an indicator of wide variability. Narrow variability ($V_g \leq 2 \sigma V_g$) was observed for ALTM and ALTF, as was also recorded by Kuswanto (2017).

Although selection is more effective in populations with high genetic variability (Allard, 1960), its comprehensive analysis with the expected genetics gain is fundamental. The traits at maturity

Table 1. Descriptive statistics of the original population of 60 lines and 4 soybean varieties in the Colombian Altillanura region 2019B.

Variable	Mean	Min	Max	SD
Beginning of flowering (DIF) [days]	34.78	30	47	3.92
Full bloom (DFC) [days]	38.17	34	49	4.42
Plant height at flowering (ALTF) [cm]	54.24	34	75	9.10
Number of nodes at flowering (NF)	13.45	11	17	1.26
Cycle to physiological maturity (DM) [days]	85.66	75	92	4.06
Plant height at maturity (ALTM) [cm]	86.77	57	119	14.03
Number of nodes at maturity (NM)	16.93	14	19	0.79
Flowering to maturity period (DPFM) [days]	47.92	36	56	3.80
Number of vain pods (VV)	4.30	0	19	3.75
Number of embryonic abortions (AE)	12.31	2	50	7.12
Number of total pods (VT)	68.97	28	161	23.82
Weight of 100 grains (PG) [g]	12.1	8	18	1.64
Grain yield (REN) [t ha ⁻¹]	2.06	1.09	3.58	0.44

SD: Standard deviation.

Table 2. Genetic parameters of agronomic characters and yield components in a soybean population of 60 lines and four commercial varieties 2019B.

Parameter/Character	DIF	DFC	ALTF	NF	DM	DPFM	ALTM	NM	AE	VV	VT	PG	REN
Variability	Wide	Wide	Narrow	Wide	Wide	Wide	Narrow	Wide	Wide	Wide	Wide	Wide	Wide
Mean	34.8	38.2	54.2	13.6	85.7	47.5	86.8	16.9	12.3	4.3	69	12.1	2.06
H ²	0.91	0.92	0.86	0.84	0.93	0.86	0.95	0.63	0.53	0.16	0.72	0.66	0.51
Vg	0.09	0.11	62.69	1.74	0.04	10.84	179.12	0.27	0.24	0.11	1.09	1.08	0.06
Ve	0.02	0.02	20.62	0.66	0.01	3.58	20.78	0.31	0.41	1.2	0.85	1.12	0.11
Vf	0.09	0.11	73	2.07	0.05	12.63	189.51	0.42	0.44	0.71	1.52	1.64	0.12
CVg	0.84	0.85	14.6	9.69	0.24	6.93	15.42	3.04	3.93	7.76	1.52	8.6	11.67
CVf	0.88	0.88	15.75	10.58	0.25	7.48	15.87	3.82	5.39	19.6	1.79	10.6	16.33
CVe	0.38	0.34	8.37	6	0.09	3.99	5.25	3.27	5.22	25.46	1.34	8.76	16.15
CVg/CVe	2.22	2.47	1.74	1.62	2.67	1.74	2.94	0.93	0.75	0.3	1.13	0.98	0.72
GG	0.39	0.44	10.27	1.69	0.28	4.27	18.22	0.57	0.49	0.19	1.24	1.18	0.25
Gg [%]	1.12	1.14	18.94	12.44	0.33	8.99	20.99	3.39	4.02	4.3	1.8	9.77	11.9

DIF: Days to the beginning of flowering; DFC: Days to full bloom; ALTF: Plant height from plant to flowering; NF: Number of nodes at flowering; DM: Days to maturity; DPFM: Days period from flowering to maturity; ALTM: Plant height at maturity; NM: Number of nodes at maturity; AE: Number of embryonic abortions; VV: Number of vain pods; VT: Number of total pods; PG: Weight of 100 grains; REN: Grain yield. H²: Broad-sense heritability; Vg: Genotypic variance; Ve: Error variance; Vf: Phenotypic variance; CVg and CVf: Genotypic and phenotypic variation coefficients; CVe: environmental variation coefficient; GG: Genetic gain; Gg: Genetic gain in relation to the mean.

showed low genetic gain except for ALTM. It is necessary to increase the selection pressure (higher index) to increase the gain in a trait with high or moderate heritability and high CVg. If the expected objective is not achieved, it is essential to expand the genetic base of parents or validate the performance of the genotypes in favorable environments for the expression of the character of interest.

Analysis of genetic performance parameters and their components. There were highly significant differences for VT, PG, and REN between lines/varieties ($P < 0.001$) and significant differences ($P < 0.05$) for VV and AE. In these yield components, VT and PG achieved high heritability (72 and 66 %, respectively),

moderate for AE (53 %) and REN (51 %), and low for VV (16 %). High heritability for VT and PG was also recorded by Ali *et al.* (2016). CVg and CVf showed differences associated with significant environmental and non-additive genetic effects. These effects were evident in order of importance: VV > REN > AE > PG with CVg/CVe ratios lower than 1 (Table 2). On the contrary, in VT, it was higher than 1, suggesting a lower environmental effect on this character.

In VV, the low heritability, the high difference between CVg and CVf, and a CVg/CVe ratio of 0.3 demonstrate a high environmental effect on the expression of the character. Something similar

happened in AE (Table 2), with a moderate heritability of 53 % and a marked difference between the variation coefficients. These types of variables with high environmental effects make selection processes difficult because the phenotype does not fully describe the genotype, especially when their expected genetic gains were less than 4.3 %. Although VT reached high heritability, a CVg/CVe ratio higher than 1, and a wide variability ($Vg > 2 \sigma Vg$), the genetic gain was still low, as also happened with PG (Table 2). High heritability and low expectation of genetic progress as a percentage of the mean may indicate that the trait may be governed by additive and non-additive gene actions, and selection to improve the trait may be challenging (Netra & Rabendra, 2019). The performance components VV, AE, and VT, were positively and significantly associated with days to full flowering ($r=0.33^*$, 0.21^* , and 0.26^* , respectively), while PG was negative and significant ($r=-0.40^*$). These results indicate that the longer the juvenile period (days to flowering), the greater the number of total pods, but with a high proportion of vain pods and grain abortion, coupled with a reduction in the weight of 100 grains.

Grain yield (REN) showed values from 1.09 to 3.58 t ha⁻¹ and a general average of 2.06 t ha⁻¹. The moderate heritability, a CVg/CVe ratio of 0.72, and other REN genetic parameters (Table 2) indicate additive action of genes on their expression and, according to Mohammed *et al.* (2019), the possibility of achieving genetic gains in selection. The grain yield was differential between lines/varieties and reached a moderate genetic gain of 0.25 t ha⁻¹ (11.9 %). With the antecedents described in the analysis at maturity and the yield components, the water deficit in the reproductive state primarily affected the performance of the lines/varieties. Plant maturity accelerated, empty pod and embryonic abortion increased, and the weight of 100 grains was differentially reduced by an average of 32 % and, therefore, grain yield. A study on the response of no-till soybean to timing of preplant and foliar potassium applications in a claypan soil reported that in the period between flowering and grain filling, the highest water demand by the plant occurs (Nelson *et al.* 2004).

In this period, a moderate or severe water deficit reduces the number of total pods associated with flower and pod abortion (Nunes *et al.* 2016) and reduces the quantity and quality of soybean seeds (Ku *et al.* 2013). Results showed marked differences between lines/varieties, and although late flowering genotypes could apparently be the most affected, there was no significant correlation between flowering and grain yield. This means that both early and late lines/varieties responded differently to this type of stress in the reproductive phase, generating an excellent selection opportunity for these particular climatic variability conditions.

The comprehensive analysis of the genetic parameters of grain yield and its components allows deducing that the variables VV and AE have little relevance when selecting lines due to their low heritability and genetic gain. The PG and VT characters with moderate to high heritability but with reduced genetic gain, and REN, with moderate values, are the most discriminant when identifying the superior lines in the study conditions.

Analysis of main components. Multivariate statistical techniques such as principal components are especially useful tools to describe or group a set of genotypes, simultaneously including several characteristics while considering the relations between all the characters under study (Rojas, 2003). A principal component analysis (PCA) is essential for the breeder because it allows identifying traits that contribute to significant genetic variability between genotypes and selecting those of interest for varietal breeding. The first four principal components contributed 81 % of the total variation in this analysis. However, CP1 is associated with flowering (42 %), CP2 with maturity (18 %), CP3 with yield and its components (13 %) and CP4 with the weight of 100 grains (8 %). In CP1, the variables at flowering had a positive and highly significant behavior together with the variables at maturity DM and VT, in inverse relation with ALTM, NM, and PG. In CP2, DM, ALTF, ALTM, and NM were highly significant and positively opposed to VT and REN. In CP3, REN, PG, VT, and NM showed a positive and highly significant association. These results confirm that the number of total pods was favored by long juvenile periods with an inverse response for the weight of 100 grains. This phenomenon is attributed to the scarcity of water resources when filling the pods and grains, with repercussions on final plant yield.

Grain yield is a quantitative character, a function of a large number of loci that control it, allowing a greater environmental influence and, consequently, a reduced relation between genotype and phenotype (Hamawaki *et al.* 2012). Although very complex, yield is highly relevant in generating new varieties. Its expression depends on many genetic-environmental variables that interact and deserve to be analyzed with caution. Currently, the aim is to increase performance in an economically viable way and in highly sustainable systems. Therefore, when selecting an improved line/variety, it is vital to consider its yield potential for a given environmental condition, phenotypic stability, tolerance to adverse biotic or abiotic factors, seed quality for multiplication and dissemination, and grain quality for the processing and consumer market.

Based on the results obtained, it can be concluded that a wide genetic variability and heritabilities from moderate to high (51 to 95 %) was found when evaluating genetic parameters in a population of 60 lines and four soybean varieties in the conditions of the Colombian Altillanura region, except for plant height with narrow variability ($Vg \leq 2 \sigma Vg$) and the number of vain pods with low heritability (16 %). In general, CVg/CVe ratios were close to or higher than 1, indicating a low environmental effect on the characters, except for VV, AE and REN, with indices much lower than 1. The number of total pods, empty pods, and flower abortions was higher in genotypes with long juvenile periods. The expected genetic gains for the next selection cycle were moderate to low (<20 %). The moderate heritability and grain yield gain (51 and 11.9 %, respectively) demonstrate an additive action of genes desirable for future recurrent selection. The most discriminating characters were, in their order, grain yield (REN), weight of 100 grains (PG), and total pods (VT). The adverse weather conditions that affected soybean cultivars differentially, as it is an increasingly recurrent situation of climatic variability in the Orinoquía region,

make it essential to know the performance of all lines in multi-environment trials (yield trials - ER) to determine the effects of the genotype by environment interaction (GxE) and achieve an effective selection of those with the highest genetic potential for the Colombian Altillanura region.

Acknowledgment. The authors thank the Ministry of Agriculture and Rural Development of Colombia (MADR), for funding this research work framed in the project “Genetic Improvement of soybean for the Orinoquia and the Humid Caribbean” [Cod: 1001244] implemented by Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Agrosavia. **Conflicts of Interest:** The manuscript was prepared and revised by all authors, who declare the absence of any conflict, which can put the validity of the results presented at risk. **Authors’ contributions:** Valencia-Ramírez, R.A., Researcher, Ph.D., leader of the Soybean Orinoquia Project. Designed the experiments, performed the statistical analysis, interpreted the results, and contributed to writing the manuscript. Caicedo, S.: Researcher, M.Sc. Planned and supervised project activities, contributed to the results, discussion, and manuscript writing. Reyes, J.C.: participated in the execution of project activities, collected the data in the field, and contributed to writing the manuscript. Flórez-Gómez, D.L.: made contributions to the writing of the materials and methods and the results and discussion sections. Tibocho, Y.: carried out planting activities, data collection in the field and contributed to writing the manuscript.

REFERENCES

- ADITYA, J.; BHARTIYA, P.; BHARTIYA, A. 2011. Genetic variability, heritability and character association for yield and component characters in soybean (*G. max* (L.) Merrill). J. Central European Agriculture. 12(1):27-34. <https://doi.org/10.5513/JCEA01/12.1.877>
- AHSAN, M.; MAJIDANO, M.; BHUTTO, H.; SOOMRO, A.; PANHWAR, F.; CHANNA, A.; SIAL, K. 2015. Genetic variability, coefficient of variance, heritability and genetic advance of some *Gossypium hirsutum* L. accessions. J. Agricultural Science. 7(2):147-151. <https://doi.org/10.5539/jas.v7n2p147>
- ALI, A.; KHAN, S.A.; ULLAH, E.; ALI, N.; HUSSAIN, I. 2016. Estimation of genetic parameters in soybean for yield and morphological characters. Pak J Agri Agril Eng Vet Sc. 32(2):162-168.
- ALLARD, R.W. 1960. Principles of plant breeding. John Willey and Sons Inc. (New York). 485p.
- BADIALI, O.; LOVEY, R.; ROLANDO, R. 1995. Heredabilidad y coeficientes de variación fenotípica y genética de caracteres agronómicos en triticale (*Triticosecale* Wittmack). Agriscientia. 12:19-23.
- BALDISSERA, J.N.DA.C.; VALENTINI, G.; COAN, M.M.D.; GUIDOLIN, A.F.; COIMBRA, J.L.M. 2014. Fatores genéticos relacionados com a herança em populações de plantas autógamas. Rev. Ciênc. Agrovet. 13(2):181-189.
- BARASKAR, V.V.; KACHHADIA, V.H.; VACHHANI, J.H.; BARAD, H.R.; PATEL, M.B.; DARWANKAR, M.S. 2014. Genetic variability, heritability and genetic advance in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). Electronic Journal of Plant Breeding. 5(4):802-806.
- BARRETO, H.; EDMEADES, G.; CHAPMAN, S.; CROSSA, J. 1997. The alpha lattice design in plant breeding and agronomy: Generation and analysis. In: Edmeades, G.O.; Bänziger, M.; Mickelson, H.R.; Peña-Valdivia, C.B. (eds.). Developing drought and low N-tolerant maize. CIMMYT (Mexico, DF). p.544-551.
- BEKELE, A.; ALEMAW, G.; ZELEKE, H. 2012. Genetic divergence among soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) introductions in Ethiopia based on agronomic traits. Biol Agric Health. 2(6):6-12.
- BERNAL, J.; PEÑA, A.; DÍAZ, N.; OBANDO, D. 2013. Condiciones climáticas de la altillanura plana colombiana en el contexto de cambio climático. In: Amézquita, E.; Rao, I.M.; Rivera, M.; Corrales, I.I.; Bernal, J.H. (eds.). Sistemas agropastoriles: Un enfoque integrado para el manejo sostenible de Oxisoles de los Llanos Orientales de Colombia. Centro Internacional de Agricultura Tropical. p.14-28.
- BURTON, C.; DEVANE, E.H. 1953. Estimating heritability in tall Fescue (*Festuca arundinaceae*) from donor material. Agron. J. 45(10):478-481. <https://doi.org/10.2134/agronj1953.00021962004500100005x>
- CHANDRAWAT, K.S.; BAIG, K.S.; HASHMI, S.; SARANG, D.H.; KUMAR, A.; DUMAI, P. 2017. Study on genetic variability, heritability and genetic advance in soybean. Int. J. Pure App. Biosci. 5(1):57-63. <http://dx.doi.org/10.18782/2320-7051.2592>
- DEPARTAMENTO NACIONAL DE PLANEACIÓN, DNP. 2014. Política para el desarrollo integral de la Orinoquia: Altillanura - Fase I. Conpes 3797. 83p.
- FALCONER, D.S. 1981. Introducción a la genética cuantitativa. 2nd Ed. Longman Inc. (New York). 430p.
- FALCONER, D.; MACKAY, T. 1996. *Introducción a la genética cuantitativa*. Ed 4. Longman Scientific and Technical (Essex, Reino Unido). 464p.
- FEDERACIÓN NACIONAL DE CULTIVADORES DE CEREALES, LEGUMINOSAS Y SOYA, FENALCE. 2019. Estadísticas. Área, producción y rendimiento de

- los cultivos de cereales y leguminosas. Available from Internet in: https://www.fenalce.org/alfa/dat_particular/ar/ar_10365_q_APR_2019_A.pdf (with access on: 26/12/2019).
17. FEHR, W.; CAVINESS, C. 1977. Stages of soybean development. Iowa State University (Ames, Iowa). Available from Internet in: <https://lib.dr.iastate.edu/specialreports/87> (with access on: 13/02/2019)
 18. FIROUZIAN, A. 2003. Heritability and genetic advance of grain yield and its related traits in spring wheat. Pak. J. Biological Sciences. 6(24):2020-2023. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2003.2020.2023>
 19. HAMAWAKI, O.T.; BARBOSA DE SOUSA, L.; NEVES ROMANATO, F.; OLIVEIRA NOGUEIRA, A.; SANTOS JÚNIOR, C.D.; POLIZEL, A.C. 2012. Genetic parameters and variability in soybean genotypes. Comunicata Scientiae. 3(2):76-83. <https://doi.org/10.14295/cs.v3i2.192>
 20. JOHNSON, H.W.; ROBINSON, H.F.; COMSTOCK, R.E. 1955. Estimates of genetic and environmental variability in soybeans. Agronomy Journal. 47(7):314-318. <https://doi.org/10.2134/agronj1955.00021962004700070009x>
 21. KU, Y.-S.; AU-YEUNG, W.-K.; YUNG, Y.-L.; LI, M.-W.; WEN, C.-Q.; LIU, X.; LAM, H.-M. 2013. Drought stress and tolerance in soybean. In: Board, J.E. (eds.). A Comprehensive Survey of International Soybean Research - Genetics, Physiology, Agronomy and Nitrogen Relationships. InTech (New York, NY). p.209-237. <https://doi.org/10.5772/52945>
 22. KUSWANTORO, H. 2017. Genetic variability and heritability of acid-adaptive soybean promising lines. Biodiversitas. 18(1):378-382. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d180148>
 23. MIRANDA, C.; SCABOO, A.; COBER, E.; DENWAR, N.; BILYEU, K. 2020. The effects and interaction of soybean maturity gene alleles controlling flowering time, maturity, and adaptation in tropical environments. BMC Plant Biology. 20(65):1-13. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-2276-y>
 24. MOHAMMED, A.; TESSO, B.; CHRIS, O.; AHMED, S. 2019. Assessment of genetic variability and heritability of agronomic traits in Ethiopian chickpea (*Cicer arietinum* L) landraces. BSJ Agri. 2(1):10-15.
 25. NELSON, K.; MOTAVALLI, P.; NATHAN, M. 2004. Response of no-till soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) to timing of preplant and foliar potassium applications in a claypan soil. Agronomy Journal. 97(3):832-838. <https://doi.org/10.2134/agronj2004.0241>
 26. NETRA, H.; RABENDRA, P. 2019. Performance of advanced breeding lines of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) at mid western terai of nepal. Int. J. Adv. Res. Biol. Sci. 6(12):118-125. <http://dx.doi.org/10.22192/ijarbs.2019.06.12.014>
 27. NUNES, A.; BEZERRA, F.; SILVA, R.; DA SILVA JÚNIOR, J.; GONÇALVES, F.; SANTOS, G. 2016. Agronomic aspects of soybean plants subjected to deficit irrigation. Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient. 20(7):654-659. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v20n7p654-659>
 28. PATTERSON, H.; THOMPSON, R. 1971. Recovery of inter-block information when block sizes are unequal. Biometrika. 58:545-554. <https://doi.org/10.1093/biomet/58.3.545>
 29. PATTERSON, H.D.; WILLIAMS, E.R. 1976. A new class of resolvable incomplete block designs. Biometrika. 63(1):83-92. <https://doi.org/10.1093/biomet/63.1.83>
 30. PUSHPA RENI, Y.; KOTESWARA RAO, Y. 2013. Genetic variability in soybean (*Glycine max* (L) Merrill). International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences. 3(4):35-38.
 31. ROJAS, W. 2003. Análisis multivariado en estudios de variabilidad genética. In: Franco, T.L.; Hidalgo, R. (eds.). Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. IPGRI. Boletín técnico No.8. (Cali, Colombia). 89p.
 32. SAS INSTITUTE INC. 2014. Computer program Version 9.4. SAS (Cary, NC).
 33. SEARLE, S.; CASELLA, G.; MCCULLOCH, C. 1992. Variance components. John Wiley (New York, United States). 501p.
 34. SILVA, F.M.DA.; PEREIRA, E.DE.M.; VAL, B.H.P.; PERECIN, M.; MAURO, A.O.D.; UNÊDA-TREVISOLI, S.H. 2018. Strategies to select soybean segregating populations with the goal of improving agronomic traits. Acta Scientiarum. Agronomy. 40:e39324. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v40i1.39324>
 35. SINGH, B. 2001. Plant Breeding: Principles and methods. Kalyani publishers (New Delhi). 918p.
 36. SINGH, P.; BHATIA, D. 2017. Incomplete block designs for plant breeding experiments. Agric Res J. 54(4):607-611. <https://doi.org/10.5958/2395-146X.2017.00119.3>

37. SULISTYO, A.; MEJAYA, M.J. 2018. Genetic parameters estimation of agronomic traits in soybean population resistant to whitefly. IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 197(1):012041.
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/197/1/012041>
38. TEIXEIRA, F.G.; HAMAWAKI, O.; NOGUEIRA, A.P.O.; HAMAWAKI, R.L.; JORGE, G.L.; HAMAWAKI, C.L.; MACHADO, B.Q.V.; SANTANA, A.J.O. 2017. Genetic parameters and selection of soybean lines based on selection indexes. Genet Mol Res. 16(3):1-17.
<http://dx.doi.org/10.4238/gmr16039750>
39. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, USDA. 2020. World Agricultural Production. Circular Series WAP 6-20.
40. VALENCIA, R.; LIGARRETO, G. 2010. Soybean breeding (*Glycine max* [L.] Merrill) for the Colombian Altillanura: a prospective and conceptual view. Agronomía Colombiana. 28(2):155-163.
41. VALLEJOS, J.; BADILLA, Y.; PICADO, F.; MURILLO, O. 2010. Metodología para la selección e incorporación de árboles plus en programas de mejoramiento genético forestal. Agr. Costarricense. 34(1):105-119.
<https://doi.org/10.15517/rac.v34i1.6704>
42. WELLMANN, R.; BENNEWITZ, J. 2019. Key genetic parameters for population management. Front. Genet. 10:1-20.
<https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00667>
43. WYSMIERSKI, P.T.; VELLO, N.A. 2013. The genetic base of Brazilian soybean cultivars: evolution over time and breeding implications. Genet. Mol. Biol. 36(4):547-555.
<https://doi.org/10.1590/S1415-47572013005000041>
44. ZAMUDIO, F.; BAETTYG, R.; VERGARA, A.; GUERRA, F.; ROZENBERG, P. 2002. Genetic trends in wood density and radial growth with cambial age in a radiata pine progeny test. Ann. For. Sci. 59(5-6):541-549.
<https://doi.org/10.1051/forest:2002039>
45. ZHANG, J.; SONG, Q.; CREGAN, P.B.; NELSON, R.L.; WANG, X.; WU, J.; JIANG, G.-L. 2015. Genome-wide association study for flowering time, maturity dates and plant height in early maturing soybean (*Glycine max*) germplasm. BMC Genom. 16:1-11.
<https://doi.org/10.1186/s12864-015-1441-4>



Phenotypic intrapopulation variation in quinoa from the department of Boyacá, Colombia

Variación fenotípica intrapoblacional en quinua en el departamento de Boyacá, Colombia

Ana Cruz Morillo-Coronado^{1*} ; Elsa Helena Manjarres-Hernández² ; Wendy Lorena Reyes-Ardila¹ ; Yacenia Morillo-Coronado³ 

¹Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Facultad Ciencias Agropecuarias, Programa Ingeniería Agronómica. Tunja - Boyacá, Colombia; e-mail: ana.morillo@uptc.edu.co; wendy.reyes@uptc.edu.co

²Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Facultad de Ciencias. Tunja - Boyacá, Colombia; e-mail: elsa.manjarres@uptc.edu.co

³Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, AGROSAVIA. Palmira - Valle del Cauca, Colombia; email: ymorillo@agrosavia.co

*corresponding author: ana.morillo@uptc.edu.co

How to cite: Morillo-Coronado, A.C.; Manjarres-Hernández, E.H.; Reyes-Ardila, W.L.; Morillo-Coronado, Y. 2022. Phenotypic intrapopulation variation in quinoa from the department of Boyacá, Colombia. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 25(1):e1579. <http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1579>

Open access article published by Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, under Creative Commons License CC BY-NC 4.0

Official publication of the Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, University, Accredited as a High-Quality Institution by the Colombian Ministry of Education.

Received: July 24, 2021

Accepted: April 4, 2022

Edited by: Helber Adrián Arévalo Maldonado

ABSTRACT

Quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild.) is an Andean crop that originated from the Andes of South America, with great agronomic, industrial, pharmaceutical potential and also a great capacity to tolerate adverse environmental factors. In Colombia, more accurately in the Department of Nariño, Cauca, Cundinamarca and Boyacá. Shows great genetic variation, both molecular and morphological, which organization remains poorly documented. In Boyacá, there are few studies on the morphological characterization of cultivated materials, and there is no certified planting material, with farmers planting a mixture of materials. Qualitative and quantitative descriptors and principal component and cluster analyses were used to characterize the structure of the intra-population phenotypic variation in Blanca de Jericó quinoa materials grown in the Department of Boyacá. The principal component analysis explained more than 70 % of the observed variation, with the AP, LP, DP, LHS, and AHS characteristics being more variable. The cluster analysis showed grouping by characteristics, such as AP,

panicle color, and the presence of pigmented axillae. Results show that the variance in morpho-phenological traits was concentrated at the intra-population, due to high variation at the inter-individual level. A more efficient selection process should be carried out to find materials or “pure” varieties with higher yields, resistance to biotic and abiotic factors, and adaptation to local conditions, which make quinoa an economically profitable crop in the Boyacá department.

Keywords: Andean culture, Genetic diversity, Plant breeding, Morphological characteristics; Pseudocereal.

RESUMEN

La quinua (*Chenopodium quinoa* Wild.) es un cultivo andino, originario de los Andes Suramericanos, con gran potencial agronómico, industrial y farmacéutico y también con una gran capacidad para tolerar factores ambientales adversos. En Colombia, actualmente, se cultiva en los departamentos de Nariño, Cauca, Cundinamarca y Boyacá. Presenta una gran variación genética,

tanto a nivel molecular como morfológica, la cual, ha sido poco documentada. En Boyacá son pocos los estudios de caracterización morfológica de materiales cultivados y no hay material de siembra certificado, por lo que los agricultores siembran una mezcla de materiales. Descriptores cualitativos y cuantitativos y un análisis de componentes principales y de agrupamiento fueron usados para caracterizar la estructura de la variación fenotípica intrapoblacional de los materiales de quinua Blanca Jericó, que son cultivados en el departamento de Boyacá. El análisis de componentes principales explicó más del 70 % de la variación observada, siendo las características más variables AP, LP, DP, LHS y AHS. El análisis clúster mostró un agrupamiento por características, tales como AP, color de la panícula y presencia de axilas pigmentadas. Los resultados mostraron que la variación en las características morfológicas estaba concentrada dentro de la población, debido a la alta variación, a nivel inter-individual. Se deben llevar a cabo procesos de selección más eficientes para encontrar materiales “puros” o variedades con más altos rendimientos, con resistencia a factores bióticos y abióticos y adaptados a las condiciones locales, para así hacer de la quinua un cultivo económicamente rentable para el departamento de Boyacá.

Palabras clave: Cultivo andino; Descriptores morfológicos; Diversidad genética; Mejoramiento vegetal; Pseudocereal.

INTRODUCTION

Quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild.) is native to the Andean region, it has a high nutritional value because of its high content of essential amino acids, with possible beneficial health effects. Quinoa has broad genetic diversity for qualitative and quantitative characteristics, which allows for wide adaptability to agroclimatological stress conditions (Hussain *et al.* 2020; Matías *et al.* 2021). As a result, global consumer demand has increased, and cultivation has spread throughout the world in recent decades. In Colombia, it is cultivated in the departments Nariño, Cauca, Cundinamarca and Boyacá (Veloza Ramírez *et al.* 2016). One of the main domestic problems, in the quinoa production system, is the lack of identification of planting materials since farmers select seeds from their cycle crops. This has led to a varietal mixture in the field as a result of this selection process (Infante *et al.* 2018; Morillo Coronado *et al.* 2020).

In the last two decades, intraspecific diversity has been shown to represent a non-negligible part of the total biodiversity measured in plants and animals (Siefert *et al.* 2015). Although preferably autogamous, quinoa shows notable inter and intra-population genetic variation, easily observable in rural plots, and quantifiable by molecular markers (Del Castillo Gutiérrez & Winkel, 2014). For morphological markers, global studies on quinoa diversity have shown variability in the phenotypic characteristics of the evaluated germplasm (Maliro & Njala, 2019).

Colombia does not have certified seeds or commercial varieties, which has led to a mixture of varieties in the fields (Manjarres-Hernández *et al.* 2021a; b). Therefore, characterization,

conservation, and use of this phylogenetic resource is of great strategic importance for Colombia (Morillo Coronado *et al.* 2020). In Colombia, there have been morphoagronomic characterization studies on quinoa materials cultivated in the Bogotá savanna and in Nariño (Veloza Ramírez *et al.* 2016). In Boyacá, Infante *et al.* (2018) carried out a morphological characterization of quinoa varieties grown in that department; Morillo Coronado *et al.* (2020) evaluated 19 quinoa materials in the Department of Boyacá, with 27 morphological descriptors. The results of these studies showed that the evaluated materials present great variability in both qualitative and quantitative characteristics, which can be used for the selection of materials.

Manjarres-Hernández *et al.* (2021a) evaluated the phenotypic characteristics of thirty genetic *C. quinoa* accessions for the selection of outstanding accessions in terms of yield and grain quality, the results that the proposed selection index, based on yield components and morphological descriptors indicated four accessions as potential for quinoa breeding programs in Colombia.

None of these studies attempted to explain the distribution of genetic variation between the different levels of organization of the species. Thus, the objective of this research was to evaluate the phenotypic intrapopulation variation in the quinoa materials Blanca de Jericó in the Department of Boyacá to analyze the structure of the variation of the morphological markers and, thus, be able to establish strategies for obtaining “pure” planting materials with high yield and adaptation to local conditions and determine their usefulness to increasing the efficiency of quinoa improved programs.

MATERIALS AND METHODS

For The morphological characterization *in situ*, the sampling of the individuals from Blanca de Jericó was carried out in the main producing municipalities in the Department of Boyacá: Tuta (P1), Tunja (P5), Siachoque (P8), and Porvenir (P9), In parentheses, is the name of each of the populations considered in this study. In total, four municipalities and 15 farms were sampled, and a total of 27 different morphotypes in the already established Blanca de Jericó quinoa crops. The type of sampling used was a completely randomized stratified, in which the morphotypes were selected according to clearly distinguishable phenotypic differences in characteristics such as panicle color, presence of pigmented axillae, and colored striae (morphotypes); the number of replicates depended on the frequency in which the morphotype was present in the crop samples.

The FAO for quinoa and its wild relatives defined the descriptors evaluated (Manjarres-Hernández *et al.* 2021a). Measurements *in situ* were made on each of the selected morphotypes at physiological maturity (Morillo Coronado *et al.* 2020). Qualitative descriptors: Panicle color at physiological maturity, panicle shape, stem color, upper and lower leaf color, upper and lower leaf shape, upper and lower leaf edge, and presence of teeth on upper and lower leaves. Quantitative descriptors: Panicle length (LP) (cm), panicle diameter

(DP) (cm), plant height (AP) (cm), number of teeth upper leaf (DHS), number of teeth lower leaf (DHI), main stem diameter (DT) and upper leaf length (LHS) and width (AHS).

For the quantitative variables, a descriptive analysis was made. Then, the assumptions for the parametric analyzes were verified and the analysis of variance (ANOVA) was carried out. To determine the significant differences between treatments, Tukey multiple comparison test was performed with $p < 0.05$. These analyses were performed using InfoStat. For the multivariate analysis, a hierarchical grouping with principal components (HCPC) was carried out with the data obtained from the morphoagronomic characterization using the statistical programs NTSYSpc® and InfoStat. A principal component analysis was used with a correlation matrix between the characteristics, performing a linear transformation of the original data, which generated a new set of independent variables. With the NTSYSpc® statistical package, a hierarchical cluster analysis was performed using the mean taxonomic distance matrix between the qualitative and quantitative characteristics and the hierarchical grouping algorithm (UPGMA), for which the squared Euclidean distance and the full link algorithm were applied.

RESULTS AND DISCUSSION

The climatic conditions of the study region were typical of tropical zones, characterized by few fluctuations in the photoperiod and average temperatures. The minimum temperature during this study ranged between 7 and 12 °C, the maximum was between 14 and 18 °C, and the average relative humidity was 76 %. The daily illumination that the accessions received during the experiment were approximately 12 h.

When evaluating the qualitative variables of the Blanca de Jericó quinoa material in the populations of Tuta (P1), Tunja (P5), Siachoque (P8), and El Porvenir (P9), Department of Boyacá. In general, it was observed that the most variable qualitative characteristics were the panicle color, which, for populations 1 and 9 showed segregation between green, light purple, and purple, in population 8, 57 % of the individuals have green panicles and 43 % purple. In P5 all morphotypes had green panicles. Regarding the stem color of the P5 and P9 populations, it was only green, while in P1 and P8 the morphotypes presented stem colorations between yellow, green, and purple. For the P1 and P8 populations, phenotypic variation was observed in terms of the characteristic edges of the leaves, which were serrated, teathed, and entire, while the morphotypes in P5 only presented two types of serrated and teathed edges and in P9 the upper and lower leaves ones all exhibited serrated edges. Regarding the color of the lower leaves and the stries, these characteristics varied in all evaluated populations and showed colorations between green-yellow, yellow and green. The axilla color was purple for all populations except P5, where 50 % of the individuals had purple axillae and the other 50 % were pigmented.

The less variable qualitative characteristics included stem shape, which was angular in all populations; the color of the upper leaves was green for P1, P5, and P9 but was green-yellow for P8; the shape of the upper or lower leaves was rhomboidal or triangular, along with a simple growth habit and green stria marks.

In general, in the evaluation of the qualitative characteristics of the Blanca de Jericó material, it was observed that the color of the panicle had the greatest variation, as reported in characterization studies or evaluations of the *Chenopodium* germplasm (Del Castillo Gutiérrez & Winkel, 2014; Afiah *et al.* 2018; Al-Naggar *et al.* 2018).

A study carried out by Infante *et al.* (2018), with a comparison of morphological characteristics, identified varieties in quinoa from Boyacá in the vegetative and reproductive phases and reported that the color of the stem and panicle in Blanca de Jericó varied from green to light green and those characteristics such as stem and axilla color were also variable. The color characteristic in different plant structures was variable, and this variation is subject to the phenological stage of the crop, as reported in other studies (Noulas *et al.* 2018; De Santis *et al.* 2018).

In this research, the morphological characteristic showed a wide range of variations. The evaluated morphotypes were very diverse, possibly because of their coevolution process with the environment. The frequency analysis showed that the panicle color had the most variability, results similar to those reported by Morillo Coronado *et al.* (2022) who found that 46 % of the genetic materials had purple panicles, 28 % had green ones, and 14 % had a mixture of green and yellow panicles and panicle color changed during physiological maturity. Montes Rojas *et al.* (2018) reported that the wide range of colors in quinoa evaluated is because the panicle is covered by granular vesicular pubescence rich in calcium oxalate with white, pink, and purple tones that contribute to the panicle coloration of each variety.

In quinoa, characteristics associated with the stem, such as color, striae, and/or axils, can be used to identify varieties (Kir & Temel, 2016), since combinations of these characteristics differentiate the materials. Manjarres-Hernández *et al.* (2021a) reported although qualitative variables constitute a fundamental tool to determinate the adaptation strategies of plants and are used as varietal descriptors (Katwal & Bazile, 2020), in their study, these traits had broad genetic variability, as is shown in the different colorations of the striae, axillae, panicles, and seeds. In addition, these traits were highly variable associated with variables. This behavior was also observed in quinoa materials evaluated in the Rio Grande do Sul region of Brazil (Vergara *et al.* 2020) and in cultivars of Quinoa Blanca de Jericó, expressed in different pigmentations within individuals in structures such as panicles and stems. These variations allow plants to adapt more quickly to environmental conditions (Alandia *et al.* 2020). However, these variables are the basis for genetic improvement programs because, if there is no variability, no selection can be made since all individuals respond in the same way to the evaluated conditions.

In the evaluation of the quantitative characteristics for the Blanca de Jericó material (Table 1), it was found that the more variable characteristics were DHI (28.27 % - 103.96 % for P5 and P7, respectively), DHS (22.36 % -59 % for P1 and P8, respectively), AHS (20.27 % -26.98 % for P1 and P8, respectively), DP (25.96 % for P9), LP (24.25 % for P5), AP (23 % P8), and AHI (21.90 % P1). In the quantitative characteristics, such as AP, values similar to those reported by Delgado *et al.* (2009) in the morphoagronomic evaluation of Blanca de Jericó from the Department of Nariño

were recorded. The values found in the other quantitative variables were similar to those reported in other genetic diversity studies on quinoa (Afiah *et al.* 2018; Ebrahim *et al.* 2018; Infante *et al.* 2018; Morillo Coronado *et al.* 2020). The results obtained of variance detected statistically significant differences ($p < 0.05$) between the evaluated morphotypes for the characteristics of plant height, stem diameter, length and diameter of the panicle, number of panicles, number of teeth on the leaf, yield, and seed weight and diameter.

Table 1. Descriptive statistics and analysis components of the quantitative morphological variables and showing the contribution variables, ordering the morphotypes according the quantitative variables in Blanca Jericó.

P1								P5							
Variable	N	Average	S.D	C.V (%)	Range	CP1	CP2	Variable	N	Average	S.D	C.V (%)	Range	CP1	CP2
AP	5	114	12.60	11.04	27	0.89	-0.09	AP	6	135.33	8.76	6.47	24	0.81	0.32
DT	5	3.60	0.47	13.18	1.1	0.89	-0.18	DT	6	5.18	0.68	13	1.9	0.46	0.25
LP	5	25.80	4.15	16	9.9	0.41	-0.81	LP	6	22.40	5.43	24.25	13.6	-0.47	0.87
DP	5	27.43	4.97	15.10	13.3	-0.35	-0.89	DP	6	30.46	5.45	17.88	14.25	-0.43	0.56
DHS	5	23.46	13.89	59.19	34.3	0.05	0.11	DHS	6	15.67	4.27	27.28	10	0.77	0.55
DHI	5	15.14	15.74	103.96	34.7	-0.24	0.96	DHI	6	14.67	4.13	28.17	12	0.78	-0.59
LHI	5	4.76	0.79	16.65	1.9	0.84	0.46	LHI	6	3.82	0.51	13.30	0.6	0.02	-0.78
AHI	5	4.34	0.95	21.90	2	0.97	0.20	AHI	6	3	0.29	9.48	0.9	0.04	-0.11
LHS	5	7.38	1	14.32	2.6	0.97	0.17	LHS	6	5.18	0.77	14.76	2	0.87	0.01
AHS	5	5.52	1.12	20.27	2.8	0.92	-0.28	AHS	6	1.82	0.51	10.62	0.5	0.71	0.46
P8								P9							
Variable	N	Average	S.D	C.V (%)	Range	CP1	CP2	Variable	N	Average	S.D	C.V (%)	Range	CP1	CP2
AP	7	90.57	7.39	8.16	20	0.08	0.55	AP	9	84.89	16.45	19.38	51	0.34	0.52
DT	7	3.01	0.29	9.47	0.9	0.49	-0.51	DT	9	3.71	0.69	18.59	2.48	0.07	0.76
LP	7	28.47	5.39	18.94	16.48	-0.22	-0.89	LP	9	27	5.88	21.2	16.5	0.47	0.34
DP	7	27.89	7.24	25.96	19.44	-0.77	0.01	DP	9	25.73	5.6	22.7	17.6	0.04	-0.53
DHS	7	28.71	6.85	23.85	20	0.04	0.96	DHS	9	21.3	4	18.75	14	0.67	-0.46
DHI	7	18.86	17.96	95.23	38	-0.59	0.03	DHI	9	17	4.9	28.26	14	0.86	-0.35
LHI	7	4.61	0.64	13.90	1.7	0.80	-0.14	LHI	9	2.61	0.4	15.13	1.5	0.93	-0.19
AHI	7	3.93	0.88	22.27	2.5	0.79	-0.43	AHI	9	2.20	0.36	16.55	1.2	0.90	-0.22
LHS	7	7.21	1.39	19.25	3.4	0.85	0.24	LHS	9	3.38	0.80	23.58	2.5	0.64	0.42
AHS	7	5.4	1.43	26.43	3	0.92	0.26	AHS	9	2.82	0.56	19.87	1.8	0.52	0.64

AP: Plant height; DT: Main stem diameter; LP: Panicle length; DP: Panicle diameter; DHS: Number of teeth upper leaf; DHI: Number of teeth lower; LHI: Lower leaf length; leaf; AHI: Lower leaf width; LHS: Upper leaf length; AHS: Upper leaf width.

The Tukey test ($p < 0.05$) for all the quantitative variables, shows differences between accessions evaluated, the most diverse characteristics being those associated with yield, such as the number and length of the panicle, height of the plant, number and diameter of seeds, similar results found in morphoagronomic characterization studies of quinoa in Boyacá (Morillo Coronado *et al.* 2020; Manjarres-Hernández *et al.* 2021a; b; Morillo Coronado *et al.* 2022).

The principal component analysis grouped the 10 quantitative variables into several components, with the first two (CP1 and CP2) accounting for more than 70 % of the total observed variation. All variables contributed significantly to each of the components, except DHS and AP (CP1, CP2, respectively) in P1 and DP (CP2) in P8 (Table 1). In the analysis of all evaluated quantitative descriptors in the nine populations from the seven municipalities, AP, LP, DP, LHS, and AHS were more discriminating variables for the evaluated quinoa materials, contrary to the findings of Morillo Coronado *et al.* (2020), who found that the presence and color

of axillae, presence, and effusion of saponins, number of panicles and secondary branches, the yield of seeds/plant and grain diameter differentiated the evaluated quinoa materials, coinciding with evaluations of the Cochabamba germplasm in Bolivia (Del Castillo Gutiérrez & Winkel, 2014).

Manjarres-Hernández *et al.* (2021b) in the principal components analysis found that 67 % of the total variance was explained by the first two components, the variables that the greatest contribution was plant height, length, diameter, and the number of panicles, the weight of 1000 seeds, seed diameter and stem diameter contributed. On the other hand, the variables associated with weight and seed diameter correlated more with yield than the variables plant height, stem diameter, number of teeth on the leaves, and the variables associated with the panicle.

The correlation analyses showed very particular associations in each of the populations (Table 2); P1 had a total of 15 highly significant coefficients, with the highest correlation value ($r = 0.98$) between

AP and DT. AP had a weak correlation with LHI ($r = 0.54$) but a significant one with LHS, AHI, and AHS ($r = 0.81$, $r = 0.78$, $r = 0.75$, respectively). The DT presented a high correlation with AHS, LHS and AHI, ($r = 0.78$, $r = 0.77$, $r = 0.76$, respectively). LP showed a significant and negative correlation with DHI ($r = -0.82$) and a moderate one with DP and LHS ($r = 0.54$, $r = 0.61$, respectively).

In P5, the highest correlation value was found between AP and AHS ($r = 0.94$). LP had a significant but negative correlation with DHI ($r = -0.83$), the same as with DP and DHI ($r = -0.76$).

LHI had a positive correlation with AHI ($r = 0.77$). In P8, it was observed that AP and AHS had the highest correlation value ($r = 0.94$), followed by AP with DHS ($r = 0.69$). Negative values were observed in the associations of the variables LP and DHI ($r = -0.86$) and LP and LHI ($r = -0.74$). In P9, the highest correlation values were found between the variables AHI and LHI ($r = 0.93$), DHI and AHI ($r = 0.84$) and DHI and LHI ($r = 0.82$). Significant values were found for LHS and AHS ($r = 0.77$), and moderate values were observed for AP and LP ($r = 0.69$) and LHI with LHS ($r = 0.66$).

Table 2. Pearson correlation analysis for the quantitative variables ($P \geq 0.005$) measured in each population from the Blanca Jericó material evaluated.

P1											P5											
	AP	DT	LP	DP	DHS	DHI	LHI	AHI	LHS	AHS		AP	DT	LP	DP	DHS	DHI	LHI	AHI	LHS	AHS	
AP	1										AP	1										
DT	0.98	1									DT	0.36	1									
LP	0.34	0	1								LP	0.69	0.52	1								
DP	-0.32	0	0.54	1							DP	0.35	-0.52	0.28	1							
DHS	-0.38	-0.39	0.03	0.13	1						DHS	0.12	-0.17	0.15	0.29	1						
DHI	-0.31	-0.38	-0.82	-0.79	0.07	1					DHI	0.03	-0.06	0.43	0.13	0.77	1					
LHI	0.59	0.55	5.0E-04	-0.64	0.38	0.23	1				LHI	0.10	-0.17	0.27	0.07	0.54	0.82	1				
AHI	0.78	0.78	0.29	-0.50	0.20	-0.04	0.94	1			AHI	0.04	-0.01	0.26	-0.04	0.60	0.84	0.93	1			
LHS	0.81	0.77	0.22	-0.44	0.21	-0.09	0.93	0.98	1		LHS	0.16	0.13	-0.04	-0.48	0.10	0.26	0.66	0.56	1		
AHS	0.75	0.76	0.61	-2.8E-03	0.27	-0.51	0.72	0.86	0.89	1	AHS	0.55	0.21	0.26	-0.26	0.05	0.14	0.38	0.18	0.77	1	
P8											P9											
	AP	DT	LP	DP	DHS	DHI	LHI	AHI	LHS	AHS		AP	DT	LP	DP	DHS	DHI	LHI	AHI	LHS	AHS	
AP	1										AP	1										
DT	0.01	1									DT	0.51	1									
LP	-0.36	0.44	1								LP	-0.13	-0.08	1								
DP	0.04	-0.03	0.17	1							DP	0.11	0.36	0.60	1							
DHS	0.46	-0.39	-0.87	0.12	1						DHS	0.69	0.63	0.12	-0.08	1						
DHI	-0.02	-0.07	-0.09	0.58	-0.01	1					DHI	0.43	0.03	-0.86	-0.76	0.24	1					
LHI	0.05	0.50	-0.23	-0.53	-0.11	-0.13	1				LHI	-0.05	0.25	-0.74	-0.08	-0.38	0.38	1				
AHI	-0.17	0.49	0.10	-0.59	-0.37	-0.43	0.88	1			AHI	0.30	0.65	-0.18	0.48	0.01	-0.06	0.71	1			
LHS	0.10	0.52	-0.37	-0.51	0.33	-0.37	0.60	0.44	1		LHS	0.64	0.34	-0.43	-0.39	0.66	0.69	-0.16	-0.26	1		
AHS	0.20	0.34	-0.35	-0.73	0.29	-0.66	0.54	0.49	0.91	1	AHS	0.94	0.15	0.14	-0.22	0.75	0.35	-0.40	-0.09	0.45	1	

Values in bold are not significant ($P \geq 0.005$).

In the results of the correlation analysis, a positive and significant correlation was observed for AP and LP in P7, which indicated that the increase in AP contributed to an increase in panicle length (Delgado *et al.* 2009; Ebrahim *et al.* 2018), contrary to the negative correlations between AP and LP in P5 and P8, which indicated that the higher the AP, the lower the LP. Also, in P1, the correlation of these variables was weak, as suggested by the existence of great variability for the management of these characteristics through genetic breeding (Al-Naggar *et al.* 2018; Afiah *et al.* 2018; Morillo Coronado *et al.* 2020).

For P1, P8 and P9, a positive correlation was observed between the characteristics associated with leaf morphology, such as AHS, LHS, AHI, and LHI, similar to that obtained. As was observed in the study carried out by Al-Naggar *et al.* (2018), a positive correlation was also found between the height of the plant and the length of the panicle, which showed that a high grain yield can be achieved by selecting the stem/inflorescence ratio. Afiah *et al.* (2018), in an evaluation of six quinoa genotypes by seed yield and attributes under the conditions of Toshka, found that the components of seed yield exhibited various associations. Highly positive and significant associations were observed between plant height and the number of secondary branches/plant (0,64) and the number of inflorescences/plant (0,59), revealing that the highest genotypes often had more branches and inflorescences. The path analysis showed that the maximum relative

importance of the weight of the seed/plant was obtained with the height of the plant (14,36), followed by the number of secondary branches/plant (8,95) and the number of inflorescences/plant (20,66). Consequently, indirect selection of these three traits would improve seed/plant yield and would effectively contribute to the improvement of quinoa.

Morillo Coronado *et al.* (2020) found that, among plant architecture correlations, higher and more significant correlations were observed between plant height, grain diameter and yield/plant. Positive and significant correlations between phenological variables and plant architecture were also quantified. The variables grain diameter and weight of 1000 seeds had a high and positive correlation, which suggested that there was an important margin of variation with the possibility of selecting materials with a larger grain diameter without affecting the weight and carbon requirement to obtain it; similar results were reported by Del Castillo Gutiérrez & Winkel (2014).

Based on the correlations of all the variables and the evaluated populations, the phenotype of the material was highly influenced by the environment. Correlation studies are an important step in quinoa improvement programs since the information that is obtained is useful for estimating the correlated response to selection for the formulation of selection indices (Al-Naggar *et al.* 2018; Ebrahim *et al.* 2018; Afiah *et al.* 2018).

The cluster analysis was used as an efficient procedure to show the structural relationships between the evaluated individuals and provided a hierarchical classification (Figure 1). In the present study, the distance between the individuals was estimated based on their morphological characteristics, where Euclidean distances greater than 7,0 were observed along with a distribution of the individuals according to mainly to the characteristics of panicle color, plant height, and presence of pigmented axillae. In the study carried out by Morillo Coronado *et al.* (2020), the clusters showed a lax distribution of the materials with an association of the characteristics of presence or absence of striae, growth habit, color, shape, length, and diameter of the panicle, seed/plant yield and weight of 1000 grains, results that were consistent with morphological characterization studies on quinoa (Infante *et al.* 2018; Farooq Azhar *et al.* 2018).

In this research, as in the study by Morillo Coronado *et al.* (2020), no groupings were observed according to the site of origin of the materials, as observed when evaluating the intrapopulation and

interpopulation phenotypic variation in seven quinoa populations from the Bolivian altiplano, in which the morpho-phenological markers separated the quinoa from the most limiting sectors for agriculture (southern plateau and cold zones of the northern plateau) from quinoa cultivated in more temperate zones (Del Castillo Gutiérrez & Winkel, 2014). These results are consistent with that reported by Farooq Azhar *et al.* (2018) where all quinoa accessions showed good growth in subtropical and semi-arid climatic conditions in Pakistan. In addition, the studies carried out by Noulas *et al.* (2018) demonstrated not only the wide adaptation of quinoa materials to the agroclimatological conditions of Greece but also the variation of quinoa phenotypic characteristics according to the environment.

Madrid *et al.* (2018), in a characterization of the phenotypic diversity of 12 coastal/lowland quinoa, used cluster analysis to show that the morphological variables of the plant were grouped independently of the grain yield components. In the studies carried out by Afiah *et al.* (2018), the grouping pattern of quinoa materials

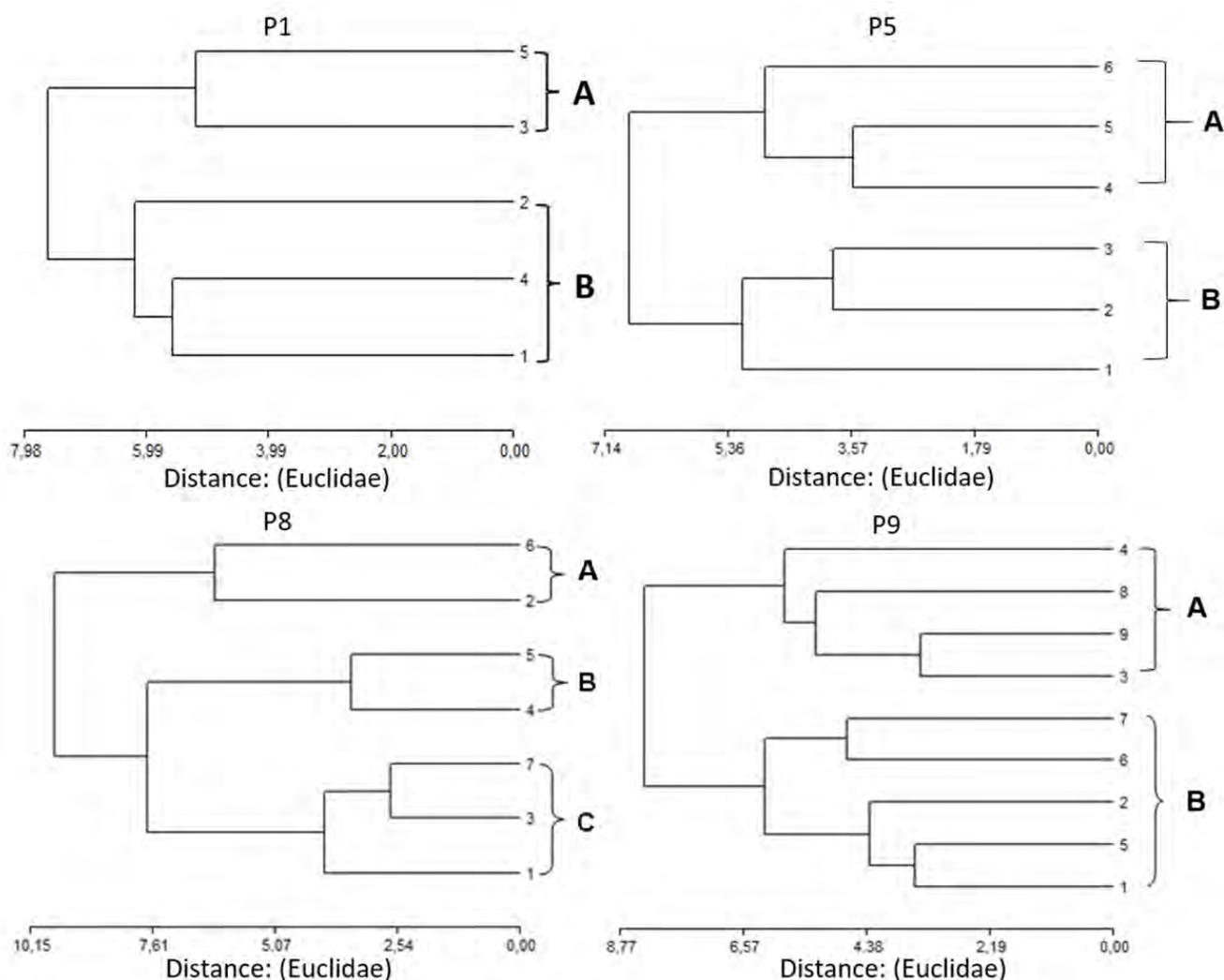


Figure 1. Cluster analysis showing the groups formed in each population from the Blanca Jericó material formed according to the qualitative and quantitative variables.

occurred according to the yield. De Santis *et al.* (2018) evaluated two groups of quinoa with different seed colors in Foggia, southern Italy, and found that the cluster analysis did not show a clear grouping of accessions based solely on seed color.

The morphoagronomic characterization of Blanca de Jericó quinoa materials in the four evaluated municipalities showed high intrapopulation phenotypic variability that depended on the agroclimatological conditions of each site (Infante *et al.* 2018; Morillo Coronado *et al.* 2020), mainly as the result of the fact that quinoa is a rustic crop with a broad agroecological adaptation that can tolerate different types of stress and that is a food security crop for the Andean community since with farmers who have maintained and selected seeds for generations (Alvarez-Flores *et al.* 2018).

However, the presence of morphotypes in quinoa crops is not a desirable condition since it means that there are still no pure materials or local varieties but only materials in the process of domestication, which is a limitation for the implementation of cultivation technologies. For example, populations can have differences in the maturity stage of the plants, which can complicate uniform agronomic management. In addition, the size and color of the seeds are different between materials and within each material, which prevents the development of machinery for threshing processes as has been done for cereals with uniform grain sizes and diameters.

The evaluation of the intrapopulation diversity of Blanca de Jericó materials showed that there was segregation for most of the evaluated phenotypic characteristics. Differentiation of quinoa populations in the Department of Boyacá would be largely determined by selection under environmental factors, particularly climatic factors, and by local variability.

Acknowledgements. The authors express their gratitude for the resources provided by the “Patrimonio Autónomo Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación Francisco José de Caldas - MinCiencias. Cód. 63924”. **Conflicts of interest:** The manuscript was prepared and revised by all authors, who declare the absence of any conflict which can put the validity of the presented results in risk.

REFERENCES

1. AFIAH, S.; HASSAN, W.; AL KADY, A. 2018. Assessment of six quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) genotypes for seed yield and its attributes under Toshka conditions. *Zagazig Journal of Agricultural Research*. 45(6):2281-2294. <https://doi.org/10.21608/zjar.2018.47761>
2. ALANDIA, G.; RODRIGUEZ, J.P.; JACOBSEN, S.E.; BAZILE, D.; CONDORI, B. 2020. Global expansion of quinoa and challenges for the Andean region. *Global Food Security*. 26:100429. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2020.100429>
3. AL-NAGGAR, A.; EL-SALAM, R.; BADRAN, A.; BOULOS, S.; EL-MOGHAZI, M. 2018. Heritability and genetic advance from selection for morphological, biochemical and anatomical traits of *Chenopodium quinoa* under water stress. *Bionature*. 38(2):66-85.
4. ALVAREZ-FLORES, R.; NGUYEN THI-TRUC, A.; PEREDO-PARADA, S.; JOFFRE, A.; WINKEL, T. 2018. Rooting plasticity in wild and cultivated Andean *Chenopodium* species under soil water deficit. *Plant Soil*. 425:479-492. <https://doi.org/10.1007/s1104-018-3588-7>
5. DE SANTIS, G.; RONGA, D.; CARADONIA, F.D.; AMBROSIO, T.; TROISI, J.; RASCIO, A.; FRAGASSO, M.; PECCHIONI, N.; RINALDI, M. 2018. Evaluation of two groups of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) accessions with different seed colours for adaptation to the Mediterranean environment. *Crop & Pasture Science*. 69(12):1264-1275. <https://doi.org/10.1071/CP18143>
6. DEL CASTILLO GUTIÉRREZ, C.; WINKEL, T. 2014. Variación fenotípica intra- e inter-poblaciones en siete poblaciones de quinua del altiplano boliviano. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*. 1(1):58-64.
7. DELGADO, A.; PALACIOS, J.; BETANCOURT, C. 2009. Evaluación de 16 genotipos de quinua dulce (*Chenopodium quinoa* Willd.) en el municipio de Iles, Nariño (Colombia). *Agronomía Colombiana*. 27(2):159-167.
8. EBRAHIM, M.E.A.; ABDEL-ATI, A.A.; HUSSIN, S.A.; ALI, S.H.; EISA, S.S. 2018. Evaluation of some *Chenopodium quinoa* cultivars under saline soil conditions in Egypt. *Arab Universities Journal of Agricultural Sciences*. 26(1):337-347. <https://doi.org/10.21608/ajs.2018.14020>
9. FAROOQ AZHAR, M.; AZIZ, S.; AZIZ, A.; JAVAID, M.; MUHAMMAD AATIF, H.; WASAYA, A.; AHMAD YASIR, T.; WAHID BALOCH, A. 2018. Morphological features of different accessions of *Chenopodium quinoa*. *Pure and Applied Biology*. 7:374-383. <https://doi.org/10.19045/bspab.2018.70046>
10. HUSSAIN, M.I.; MUSCOLO, A.; AHMED, M.; ASGHAR, M.A.; AL-DAKHEEL, A. 2020. Agro-morphological, yield and quality traits and interrelationship with yield stability in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) genotypes under saline marginal environment. *Plants*. 9(12):1-16. <https://doi.org/10.3390/plants9121763>
11. INFANTE, H.; ALBESIANO, S.; ARRIETA, L.; GÓMEZ, N. 2018. Morphological characterization of varieties of *Chenopodium quinoa* cultivated in the department of Boyacá,

- Colombia. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 21(2):329-339. <https://doi.org/10.31910/rudca.v21.n2.2018.977>
12. KATWAL, T.B.; BAZILE, D. 2020. First adaptation of quinoa in the Bhutanese mountain agriculture systems. PLoS One. 15:e0219804. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219804>
 13. KIR, A.E.; TEMEL, S. 2016. Determination of seed yield and some agronomical characteristics of different quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) variety and populations under dry conditions of Iğdır Plain. Journal of the Institute of Science and Technology. 6(4):145-154.
 14. MADRID, D.; SALGADO, E.; VERDUGO, G.; OLGUÍN, P.; BILALIS, D.; FUENTES, F. 2018. Morphological traits defining breeding criteria for coastal quinoa in Chile. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 46:190-196. <https://doi.org/10.15835/nbha46110788>
 15. MALIRO, M.; NJALA, A.L. 2019. Agronomic performance and strategies of promoting Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) in Malawi. International Journal of Agriculture and Natural Resources. 46(2):82-99. <https://doi.org/10.7764/rcia.v46i2.2143>
 16. MANJARRES-HERNÁNDEZ, E.H.; ARIAS-MORENO, D.M.; MORILLO-CORONADO, A.C.; OJEDA-PÉREZ, Z.Z.; CÁRDENAS-CHAPARRO, A. 2021a. Phenotypic characterization of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) for the selection of promising materials for breeding programs. Plants. 10(7):1-16. <https://doi.org/10.3390/plants10071339>
 17. MANJARRES-HERNÁNDEZ, E.; MORILLO-CORONADO, A.C.; OJEDA-PÉREZ, Z.; CÁRDENAS-CHAPARRO, A.; ARIAS-MORENO, D. 2021b. Characterization of the yield components and selection of materials for breeding programs of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Euphytica. 217:1-14. <https://doi.org/10.1007/s10681-021-02837-5>
 18. MATÍAS, J.; RODRÍGUEZ, M.J.; CRUZ, V.; CALVO, P.; REGUERA, M. 2021. Heat stress lowers yields, alters nutrient uptake and changes seed quality in quinoa grown under Mediterranean field conditions. Journal of Agronomy and Crop Science. 297(3):481-491. <https://doi.org/10.1111/jac.12495>
 19. MONTES ROJAS, C.; BURBANO-CATUCHE, G.A.; MUÑOZ-CERTUCHE, E.F.; CALDERÓN-YONDA, Y. 2018. Descripción del ciclo fenológico de cuatro ecotipos de (*Chenopodium quinoa* willd.), en Purace – Cauca, Colombia. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. 16(2):26-37. <https://doi.org/10.18684/bsaa.v16n2.1163>
 20. MORILLO CORONADO, A.C.; MANJARRES HERNÁNDEZ, E.H.; MORILLO CORONADO, Y. 2020. Evaluación morfoagronómica de 19 materiales de *Chenopodium quinoa* en el departamento de Boyacá. Scientia Agricola. 18:84-96. <https://doi.org/10.18684/bsaa.v18n1.1416>
 21. MORILLO CORONADO, A.C.; MANJARRES HERNÁNDEZ, E.; MORILLO CORONADO, Y. 2022. Phenotypic diversity of agromorphological characteristics of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) germplasm in Colombia. Scientia Agricola. 79(4):1-6. <https://doi.org/10.1590/1678-992X-2021-0017>
 22. NOULAS, C.; TZIOUVALEKAS, M.; VLACHOSTERGIOS, D.; BAXEVANOS, E.; KARYOTIS, T.; ILIADIS, C. 2018. Adaptation, agronomic potential, and current perspectives of quinoa under Mediterranean conditions: case studies from the lowlands of central Greece. Communications in soil science and plant analysis. 48(22):2612-2629. <https://doi.org/10.1080/00103624.2017.1416129>
 23. SIEFERT, A.; VIOLLE, C.; CHALMANDRIER, L.; ALBERT, C.; TAUDIERE, A.; FAJARDO, A.; AARSSSEN, L.W.; BARALOTO, C.; CARLUCCI, M.; CIANCIARUSO, M.; DANTAS, V. DE L.; DE BELLO, F.; DUARTE, L.D.S.; FONSECA, C.R.; FRESHCJET, S.G.; GAUCHERAND, S.; GROSS, N.; HIKOSAKA, K.; JACKSON, B.; JUNG, V.; KAMIYAMA, C.; KATABUCHI, M.; KEMBEL, S.W.; KICHENIN, E.; KRAFT, N.J.B.; LAGERSTRÖM, A.; BAGOUSSE-PINGUET, Y.; LI, Y.; MASON, N.M.; MESSIER, J.; NAKASHIZUKA, T.; OVERTON, J.; PELTZER, D.A.; PÉREZ-RAMOS, I.M.; PILLAR, V.D.; PRENTICE, H.C.; RICHARDSON, S.; SASAKI, T.; SCHAMP, B.S.; SCHÖB, C.; SHIPLEY, B.; SUNDQVIST, M.; SYKES, M.T.; VANDEWALLE, M.; WARDLE, D.A. 2015. A global meta-analysis of the relative extent of intraspecific trait variation in plant communities. Ecology Letters. 18:1406-1419. <https://doi.org/10.1111/ele.12508>
 24. VELOZA RAMÍREZ, C.; ROMERO GUERRERO, G.; GÓMEZ PIEDRAS, J.J. 2016. Respuesta morfoagronómica y calidad en proteína de tres accesiones de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) en la sabana norte de Bogotá. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 19:325-332. <https://doi.org/10.31910/rudca.v19.n2.2016.86>
 25. VERGARA, R.D.O.; MARTINS, A.B.N.; SOARES, V.N.; CARVALHO, I.R.; BARBOSA, M.H.; CONTE, G.G.; GADOTTI, G.I.; LUDKE, R.; VILLELA, F.A. 2020. Agronomic and morphological characteristics of quinoa grown in the southern region of Rio Grande do Sul State. Revista Brasileira de Engenharia e Sustentabilidade. 8(1):18-25. <https://doi.org/10.15210/rbes.v8i1.18315>



Mutagénesis inducida en plantas de *Solanum betaceum* Cav. mediante el uso de dietil sulfato (DES)

Induced mutagenesis in *Solanum betaceum* Cav. plants by the use of diethyl sulphate (DES)

Tulio César Lagos-Burbano¹ ; Liz Katherine Lagos-Santander¹ ; David Esteban Duarte-Alvarado^{1*} ; Javier Garcia-Alzate¹ 

¹Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas, Grupo de Investigación en Producción de Frutales Andinos GPFA. San Juan de Pasto - Nariño, Colombia; e-mail: tclagosb@udenar.edu.co; lklagoss@unal.edu.co; deduartea@unal.edu.co; javiergarcialzate@gmail.com
*autor de correspondencia: deduartea@unal.edu.co

Cómo citar: Lagos-Burbano, T.C.; Lagos-Santander, L.K.; Duarte-Alvarado, D.E.; Garcia-Alzate, J. 2022. Mutagénesis inducida en plantas de *Solanum betaceum* Cav. mediante el uso de dietil sulfato (DES). Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 25(1):e1956. <http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1956>

Artículo de acceso abierto publicado por Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, bajo una Licencia Creative Commons CC BY-NC 4.0

Publicación oficial de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Institución de Educación Superior Acreditada de Alta Calidad por el Ministerio de Educación Nacional.

Recibido: mayo 13 de 2021

Aceptado: abril 19 de 2022

Editado por: Helber Adrián Arévalo Maldonado

RESUMEN

La materia prima del fitomejoramiento es la variabilidad genética, que se presenta baja, en especies en proceso de domesticación, que no han sido sometidas a selección, como en *Solanum betaceum*. Una de las tecnologías para incrementar la variabilidad genética es la inducción de mutagénesis. El objetivo del estudio fue evaluar, a través de marcadores RAMs, las variaciones moleculares presentes en plántulas de *S. betaceum*, provenientes de semillas sometidas a diferentes concentraciones del agente mutante dietil sulfato (DES). Los loci polimórficos oscilaron entre 87,5 y 100 % y el número de alelos efectivos (N_e), entre 1,0 y 1,99. Los loci más polimórficos se observaron en TG, AG, ACA y CGA, que mostraron una heterosis media insesgada entre 0,34 y 0,51, que permite establecer que estos marcadores sean útiles para obtener mayor discriminación entre mutantes en *S. betaceum*. Las distancias genéticas oscilaron entre 0,30 y 1,0. El 81,28 % de estos registros se dieron entre 0,60 y 0,90; esto revela bajo nivel de cambios, debido al DES. Estos pequeños cambios contribuyeron a enriquecer la variabilidad genética de la muestra tratada con DES. Los marcadores RAMs fueron útiles para detectar cambios entre plantas provenientes de semillas tratadas con DES y plantas normales. La variabilidad genética entre tratamientos

con DES fueron más altos que tratamientos sin DES. Las similitudes genéticas fueron bajas entre plantas tratadas y no tratadas y fueron altas, entre no tratadas. Los cambios producidos por DES fueron de baja magnitud; sin embargo, produjeron cambios en los niveles de variabilidad genética.

Palabras clave: Loci polimórficos; Heterosis insesgada; Microsatélites amplificados al azar; Mutagénesis; Tomate de árbol.

ABSTRACT

The raw material for plant breeding is genetic variability, which is low in species in the process of domestication that have not been subjected to selection, as is the case with *Solanum betaceum*. One of the technologies to increase genetic variability is mutagenesis induction. The objective was to evaluate, through RAMs markers, the molecular variations present in *S. betaceum* seedlings from seeds previously subjected to different concentrations of the mutant agent diethyl sulfate (DES). The polymorphic loci ranged from 87.5 to 100%, number of effective alleles (N_e) between 1.0 and 1.99. The most polymorphic loci were observed in TG, AG, ACA, and CGA, which showed a mean unbiased heterosis between 0.34 and 0.51

with an average of 0.44, which allows establishing that these markers are useful to obtain greater discrimination between mutants in *S. betaceum*. Genetic distances ranged from 0.30 to 1.0. The 81.28% of these records were between 0.60 and 0.90. This reveals a low level of changes due to DES. These small changes contribute to enriching the genetic variability of the DES-treated sample. The RAMs markers were useful for detecting changes between plants from DES treated seeds and normal plants. Genetic variability between DES treatments was higher than non-DES treatments. Genetic similarities were low between treated and untreated plants and were high among untreated plants. The changes produced by DES were of low magnitude, however, they produced changes in the levels of genetic variability.

Keywords: Mutagenesis; Polymorphic loci; Random amplified microsatellite; Tree tomato; Unbiased heterozygosity.

INTRODUCCIÓN

El tomate de árbol *Solanum betaceum* Cav. es una especie originaria de Sur América, donde se encuentran sus principales centros de distribución, como la zona Andina de Perú, Bolivia, norte de Argentina y sureste de Brasil (Díaz Granada *et al.* 2017). Es una alternativa de producción, que se ha generalizado, gradualmente, entre productores de clima frío y frío-moderado, en la región natural Andina de Colombia, siendo una especie, cuyo fruto posee características organolépticas aceptadas entre los consumidores de los mercados, tanto nacional como internacionales (Acosta-Quezada *et al.* 2016). Entre 2007 y 2018, en el país, se presentó un incremento del 26,5 % en el área cultivada de tomate de árbol, con una superficie cosechada en el 2018, de 10.161 ha, una producción de 174.230 t y rendimientos entre 15,5 y 20,2 t ha⁻¹ (Agronet, 2021).

Existe una escasa oferta de genotipos mejorados para la siembra en frutales de Colombia, como el tomate de árbol; es por eso, que los agricultores obtienen semilla tomando frutos de las plantas y los cultivos resultantes son fenotípicamente heterogéneos, además, genera en la especie pérdida de variabilidad genética, ya que, para procesos de selección, se debe partir de una base genética amplia (Lobo Arias, 2006; Lagos-Santander *et al.* 2013).

Los factores más importantes en la producción de variabilidad en plantas son: la hibridación, la recombinación y la mutación (espontánea o inducida); sin embargo, la ocurrencia de las mutaciones de forma natural es demasiado baja para fines prácticos, por lo tanto, mutágenos físicos y químicos han probado ser útiles para incrementar las mutaciones y la variabilidad (Donini & Sonnino, 1998). Las mutaciones causan un cambio repentino en un carácter, el cual, es heredable y, por lo tanto, transmisible a la progenie, además de tener un gran potencial y servir como una aproximación complementaria en el mejoramiento de cultivos (Gandhi *et al.* 2014).

El dietil sulfato (DES) es ampliamente reportado como un agente químico capaz de causar alteraciones genéticas en distintas

especies. Bhagwat & Duncan (1997) utilizaron diferentes dosis de ácido de sodio, dietil sulfato y etilmetano sulfonato en ápices de banano *Musa* spp., cultivados *in vitro*, con el objetivo de evaluar su efectividad induciendo mutaciones; además de producir variantes tolerantes a *Fusarium oxysporum*, encontrando que los individuos expuestos a los diferentes tratamientos mostraron menos de 10 % de infección de *F. oxysporum*.

Para identificar la variabilidad generada, a través de la mutagénesis inducida en especies cultivadas, se conocen diferentes metodologías para el análisis de la composición genética, las cuales, permiten tomar decisiones en el manejo de los recursos genéticos de las plantas e identificar, de forma precisa, los individuos, aún en fases tempranas de desarrollo (Estrada Salazar *et al.* 2010). Dentro de las metodologías están los marcadores moleculares, que se basan en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y, dentro de ellos, se pueden distinguir varios métodos, que difieren entre sí por su poder de resolución, es decir, el nivel de polimorfismo que puedan detectar (Muñoz Flórez *et al.* 2008).

Uno de los marcadores convencionales y de fácil aplicación son los microsatélites amplificados al azar-RAMs (por sus siglas en inglés), propuestos inicialmente por Zietkiewicz *et al.* (1994), para el estudio de la diversidad en plantas y en animales y combinan propiedades, tanto de los marcadores de amplificación aleatoria de ADN polimórfico- RAPDs (por sus siglas en inglés), como de secuencias simples repetidas o microsatélites- SSRs (por sus siglas en inglés). Los estudios de diversidad dirigidos con marcadores moleculares RAMs han mostrado ser viables y sus resultados confiables, en muchas especies, entre las cuales, se pueden mencionar a *Physalis peruviana* (Morillo Paz *et al.* 2011), *Guadua angustifolia* (Rugeles-Silva *et al.* 2012), *Musa* spp (Muñoz F. *et al.* 2012), *Prunus persica* (Morillo Coronado *et al.* 2014), *Prunus* sp (Ben Tamarzizt *et al.* 2015), *Physalis ixocarpa* (Delgado-Alvarado *et al.* 2018), entre otros.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar, a través de marcadores RAMs, las variaciones moleculares presentes en plántulas de *S. betaceum* provenientes de semillas, previamente sometidas a diferentes concentraciones del agente mutante dietil sulfato (DES).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. Las semillas de tomate proceden de una planta cultivar Manzano, con 14 meses de establecida en campo, una variedad seleccionada por el agricultor; su fruto es de tamaño grande 120 a 200 g, color de pulpa y arilo de semilla naranja; contenido de sólidos solubles de 9,35 a 10,32 °Brix, contenido de jugo por fruto entre 26 a 31 mL y un rendimiento de 5,21 a 9,32 t ha⁻¹ (Lagos-Santander *et al.* 2013). Las semillas, se trataron con diferentes concentraciones y tiempos de incubación del agente mutagénico dietil sulfato (DES). Se utilizaron 25 semillas por repetición, con cuatro repeticiones, para un total de 100 semillas por tratamiento.

Inducción de mutaciones. En los laboratorios de Biología Molecular y de Cultivo de Tejidos Vegetales del Grupo de Investigación en

Producción de Frutales Andinos, GPFA, de la Universidad de Nariño, se desarrolló la fase de inducción de mutaciones. Las semillas de tomate de árbol, previamente desinfectadas y sumergidas en ácido giberélico, se secaron a temperatura ambiente y luego se sometieron a los tratamientos, que incluyeron 0,5, 1,0, 1,5 y 2 % de concentración de DES y se incubó durante 8 y 16 horas, a temperatura ambiente, con agitación suave. En total, se obtienen 10 tratamientos que corresponden a T1: 0 %_{DES}-8h, T2: 0,5 %_{DES}-8h, T3: 1 %_{DES}-8h, T4: 1,5 %_{DES}-8h, T5: 2 %_{DES}-8h, T6: 0 %_{DES}-16h, T7: 0,5 %_{DES}-16h, T8: 1,0 %_{DES}-16h, T9: 1,5 %_{DES}-16h y T10: 2 %_{DES}-16h.

Para determinar el efecto de los tratamientos sobre la variación genética, se sembraron los tratamientos en medio de cultivo *in vitro* (Murashige & Skoog, 1962).

Extracción de ADN. Tomando el ADN total de 50 plántulas de tomate por tratamiento a los 35 días después de la germinación (tratadas con DES y plantas no tratadas), se aisló con el kit extracción de ADN DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN). La cuantificación y la pureza de los ácidos nucleicos, se determinó con el espectrofotómetro NanoDrop One de Thermo Scientific.

Amplificación de marcadores RAMs. Para evaluar la variabilidad genética producida por los tratamientos mutantes, se probaron seis cebadores RAMs, los cuales, corresponden a: AG (5'HBH(AG)₇A 3'), CA (5'DBDA(CA)₇ 3'), TG (5'HVH(TG)₇T 3'), ACA (5'BDB(ACA)₅ 3'), CCA (5'DDB(CCA)₅ 3') y CGA (5'DHB(CGA)₅ 3'), donde: H = A, T o C; B = G, T o C; V = G, A o C y D = G, A o T.

Los perfiles de amplificación de la PCR fueron los siguientes: desnaturalización inicial de 95 °C, durante 5 minutos; 37 ciclos de desnaturalización, a 95 °C, por 30 segundos; hibridación: 50 °C (Primer AG), 41 °C (Primer CA), 55 °C (Primer TG), durante 45 segundos; 58 °C (Primer ACA), 61 °C (Primer CGA) y 55 °C (Primer CCA), durante 50 segundos. La extensión, se hizo a 72 °C, por 2 minutos y la extensión final, a 72 °C, durante 7 minutos. Para la amplificación, se utilizó un termociclador MultigeneTM OptiMax (Labnet, USA). Los productos amplificados fueron separados por electroforesis vertical, en geles de poliacrilamida, al 7,5 % y se construyó una matriz binaria de presencia y ausencia, donde 1 es presencia y 0 ausencia de bandas.

Se determinó el número de alelos polimórficos, la heterocigosidad observada, la heterocigosidad esperada y el número de alelos por cebador. Para el análisis, se utilizó el complemento de Excel, GenAlex versión 6 (Peakall & Smouse, 2006). Dado que el cebador CCA fue 100 % monomórfico en las plantas evaluadas, no se incluyó en el análisis estadístico. Las estimaciones de similitud, se obtuvieron mediante el índice de Dice (1945) y la construcción de grupos y la generación del dendrograma, se realizó por el método UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean), que permite buscar la distancia más pequeña en la matriz de distancias genéticas y agrupar las unidades que lo conforman, como una sola unidad taxonómica independiente (Hart, 1983), para los cuales,

se utilizó el programa Numerical Taxonomy System (NTSYSpc) version 2.02g (Rohlf, 1988).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los cinco cebadores RAMs analizados generaron 37 loci, de los cuales, siete se obtuvieron en CA y TG; cinco en AG; seis en ACA y 12 en CGA. Igualmente, se lograron 1.258 registros con 594 unos y 664 ceros; estos valores son inferiores a los encontrados en estudios que determinaron genotipos con mayor diversidad genética, como en mora (*Rubus glaucus*) (Morillo C. *et al.* 2005) y en cacao (*Theobroma cacao* L) (Morillo C. *et al.* 2014); sin embargo, los niveles de diversidad identificados se consideran aceptables, teniendo en cuenta que se utilizó la progenie de una sola planta. El número de alelos (*N_a*) varió entre 1,86 y 2,0, con un promedio de $1,97 \pm 0,97$ y el número de alelos efectivos (*N_e*), entre 1,0 y 1,60, con una media de $1,40 \pm 0,05$, mientras que considerando todos los loci, el *N_e* osciló entre 1,0 (CA5) y 1,99 (ACA1) (Tablas 1 y 2). Según lo reportado por Magallán Hernández *et al.* (2009), se presentan alelos raros dentro de la población evaluada, a causa de que el *N_a* es mayor al *N_e*; el número de alelos por locus polimórfico es la medida más directa de la diversidad y se refiere al número de estados variantes de un locus dentro del genoma, ya sean las formas alternativas de una proteína, el número de sitios dentro del genoma que pueden ser cortados con enzimas de restricción, o a la variación en el número de secuencias repetitivas en el ADN, entre otras.

A excepción de CCA, los loci identificados mostraron una naturaleza polimórfica. Solo CA presentó el 87,5 % de loci polimórficos; los demás obtuvieron el 100 %. El porcentaje de loci polimórficos en la población evaluada fue del 97,30. Los loci más polimórficos correspondieron a TG₁, TG₂, TG₃, TG₅, TG₆, AG₁, ACA₁, AC₂, ACA₅, ACA₆, CGA₁, CGA₃, CGA₅ y CGA₆, que mostraron una diversidad génica o una heterosis media insesgada (*uh*), entre 0,34 y 0,51, con una media de 0,44 (Tabla 2), que permite establecer que estos marcadores son útiles para obtener una mayor discriminación entre los tratamientos mutantes en *Solanum betaceum*. En un estudio relacionado con marcadores codominantes, como los microsatélites (SSRs), en esta especie, los niveles del Índice de Contenido Polimórfico (PIC), para un mismo microsatélite, estuvieron en un rango de 0,08 y 0,51. Los resultados de este estudio revelan una reducida diversidad genética en las plantaciones de *S. betaceum*, en el Ecuador y constituyen un primer paso para determinar futuras acciones en el mejoramiento de este cultivo (Peñafiel L. *et al.* 2009), como puede ser la inducción de mutaciones en cultivares existentes.

En la tabla 2, se puede observar una síntesis de los parámetros de diversidad genética obtenidos con cinco marcadores RAMs, a través de los tratamientos mutantes en *S. betaceum*. Los valores de heterosis insesgada promedia (*uh*) y los índices de diferenciación genética (*F_{st}*) indican altos niveles de variación en los tratamientos. Llama la atención el marcador CA, que presenta una moderada *uh*, pero un alto *F_{st}*, lo cual, se debe a que de los 238 registros de presencias/ausencias que se presentó en la población muestreada, puede diferenciar entre aquellos que contienen unos loci de aquellos que no lo manifiestan. Así, en un grupo uno, están C₁, C₂, C₃ y C₄, que solo

presentan bandas en un 0,09 % de 136 registros y, en el otro, C₅, C₆ y C₇, que exhibieron bandas en un 97 % de 102 registros, a través de los 34 individuos evaluados.

Los demás marcadores muestran altos valores de variación genética, reflejados en altos valores de *uh* y *Fst*. Si se tiene en cuenta el criterio de Wright (1978), que indica que valores de *Fst* entre 0,05 y 0,15 muestran una diferenciación moderada, entre 0,15 y 0,25 alta y

Tabla 1. Parámetros de diversidad genética de los loci obtenidos con cinco marcadores RAMs en plántulas de *Solanum betaceum*, provenientes de semillas tratadas con dietil sulfato-DES.

Loci	P	q	Na	Ne	I	h	uh	Loci	p	q	Na	Ne	I	h	uh
CA1	0,06	0,94	2,00	1,13	0,22	0,11	0,11	ACA1	0,47	0,53	2,00	1,99	0,69	0,50	0,51
CA2	0,12	0,88	2,00	1,26	0,36	0,21	0,21	ACA2	0,68	0,32	2,00	1,78	0,63	0,44	0,45
CA3	0,15	0,85	2,00	1,34	0,42	0,25	0,26	ACA3	0,03	0,97	2,00	1,06	0,13	0,06	0,06
CA4	0,03	0,97	2,00	1,06	0,13	0,06	0,06	ACA4	0,09	0,91	2,00	1,19	0,3	0,16	0,17
CA5	1,00	0,00	1,00	1,00	0,00	0,00	0,00	ACA5	0,68	0,32	2,00	1,78	0,63	0,44	0,45
CA6	0,97	0,03	2,00	1,06	0,13	0,06	0,06	ACA6	0,68	0,32	2,00	1,78	0,63	0,44	0,45
CA7	0,94	0,06	2,00	1,13	0,22	0,11	0,11	CGA1	0,56	0,44	2,00	1,97	0,69	0,49	0,51
TG1	0,29	0,71	2,00	1,71	0,61	0,42	0,43	CGA2	0,09	0,91	2,00	1,19	0,30	0,16	0,17
TG2	0,74	0,27	2,00	1,64	0,58	0,39	0,40	CGA3	0,41	0,59	2,00	1,94	0,68	0,48	0,50
TG3	0,74	0,27	2,00	1,64	0,58	0,39	0,40	CGA4	0,06	0,94	2,00	1,13	0,22	0,11	0,11
TG4	0,12	0,88	2,00	1,26	0,36	0,21	0,21	CGA5	0,29	0,71	2,00	1,71	0,61	0,42	0,43
TG5	0,77	0,24	2,00	1,56	0,55	0,36	0,37	CGA6	0,79	0,21	2,00	1,49	0,51	0,33	0,34
TG6	0,79	0,21	2,00	1,49	0,51	0,33	0,34	CGA7	0,09	0,91	2,00	1,19	0,30	0,16	0,17
TG7	0,82	0,18	2,00	1,41	0,47	0,29	0,30	CGA8	0,03	0,97	2,00	1,06	0,13	0,06	0,06
AG1	0,44	0,56	2,00	1,97	0,69	0,49	0,51	CGA9	0,94	0,06	2,00	1,13	0,22	0,11	0,11
AG2	0,85	0,15	2,00	1,34	0,42	0,25	0,26	CGA10	0,03	0,97	2,00	1,06	0,13	0,06	0,06
AG3	0,85	0,15	2,00	1,34	0,42	0,25	0,26	CGA11	0,06	0,94	2,00	1,13	0,22	0,11	0,11
AG4	0,85	0,15	2,00	1,34	0,42	0,25	0,26	CGA12	0,12	0,88	2,00	1,26	0,36	0,21	0,21
AG5	0,85	0,15	2,00	1,34	0,42	0,25	0,26								

Na = número de alelos diferentes; Ne = número de alelos efectivos = $1/(p^2+q^2)$; I = Índice de información de Shannon = $-1*(p*\ln(p)+q*\ln(q))$; h = heterocigosidad = $1 - (p^2 + q^2)$; uh = heterocigosidad incesgada = $(N / (N-1)) * h$; %P = porcentaje de loci polimórficos ($\%P = 1 - [(1/m)\sum p^2]$); p = frecuencia de banda presente y q = 1 - p. Fst = índice de diferenciación genética.

Tabla 2. Parámetros de diversidad genética obtenidos con cinco marcadores RAMs en plántulas de *Solanum betaceum*, provenientes de semillas tratadas con dietil sulfato-DES.

Macador	P	q	Na	Ne	I	h	uh	Fst	%P
CA	0,47	0,53	1,86	1,14	0,21	0,11	0,12	0,77	85,7
AG	0,77	0,23	2,00	1,46	0,47	0,30	0,31	0,29	100
TG	0,61	0,39	2,00	1,53	0,52	0,34	0,35	0,15	100
ACA	0,44	0,56	2,00	1,60	0,50	0,34	0,35	0,31	100
CGA	0,29	0,71	2,00	1,35	0,36	0,22	0,23	0,45	100
Media	0,51	0,49	1,97	1,40	0,40	0,25	0,26	0,40	0,62
DE	0,18	0,18	0,03	0,05	0,03	0,03	0,03	0,24	0,17

Na = número de alelos diferentes; Ne = número de alelos efectivos = $1/(p^2+q^2)$; I = Índice de información de Shannon = $-1*(p*\ln(p)+q*\ln(q))$; h = heterocigosidad = $1 - (p^2 + q^2)$; uh = heterocigosidad incesgada = $(N / (N-1)) * h$; %P = porcentaje de loci polimórficos ($\%P = 1 - [(1/m)\sum p^2]$); p = frecuencia de banda presente y q = 1 - p. Fst = índice de diferenciación genética.

Tabla 3. Valores de similitud (diagonal y encima de la diagonal) y disimilitud (debajo de la diagonal) de Dice (1945), para las plantas de *Solanum betaceum*, obtenidas de semillas tratadas con dietil sulfato-DES y evaluadas con cinco marcadores del tipo RAMs

T	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	1,0	0,9	0,9	0,7	0,7	0,8	0,8	0,8	0,8	0,6	0,6	0,7	0,9	0,6	0,9	0,7	0,7
2	0,1	1,0	0,9	0,7	0,8	0,8	0,8	0,8	0,9	0,7	0,6	0,8	0,9	0,5	0,9	0,8	0,8
3	0,1	0,1	1,0	0,7	0,7	0,8	0,9	0,9	0,8	0,7	0,6	0,8	0,9	0,6	0,9	0,8	0,7
4	0,3	0,3	0,3	1,0	0,9	0,8	0,7	0,8	0,8	0,8	0,8	0,7	0,7	0,3	0,6	0,6	0,5
5	0,3	0,2	0,3	0,1	1,0	0,8	0,8	0,8	0,8	0,7	0,7	0,8	0,8	0,4	0,7	0,6	0,5
6	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	1,0	0,9	0,9	0,9	0,7	0,8	0,8	0,9	0,5	0,8	0,8	0,7
7	0,2	0,2	0,1	0,3	0,2	0,1	1,0	1,0	0,9	0,7	0,7	0,8	0,9	0,6	0,8	0,7	0,7
8	0,2	0,2	0,1	0,3	0,2	0,1	0,0	1,0	0,9	0,7	0,8	0,8	0,9	0,5	0,8	0,8	0,7
9	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	1,0	0,7	0,7	0,8	0,8	0,6	0,8	0,8	0,7
10	0,4	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	1,0	0,9	0,8	0,7	0,3	0,6	0,6	0,5
11	0,4	0,4	0,4	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,1	1,0	0,9	0,6	0,3	0,6	0,5	0,4
12	0,3	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	1,0	0,8	0,5	0,7	0,7	0,6
13	0,1	0,1	0,1	0,3	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	1,0	0,6	0,9	0,8	0,7
14	0,4	0,5	0,4	0,7	0,6	0,5	0,4	0,5	0,4	0,7	0,7	0,5	0,5	1,0	0,6	0,6	0,6
15	0,1	0,1	0,1	0,4	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,3	0,1	0,4	1,0	0,7	0,7
16	0,3	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,3	0,2	0,2	0,4	0,5	0,3	0,2	0,4	0,3	1,0	0,9
17	0,3	0,2	0,3	0,5	0,5	0,3	0,3	0,3	0,3	0,5	0,6	0,4	0,3	0,4	0,3	0,1	1,0
18	0,1	0,0	0,1	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,3	0,2	0,5	0,2	0,2	0,2
19	0,1	0,1	0,0	0,3	0,3	0,2	0,1	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,1	0,4	0,1	0,2	0,3
20	0,1	0,1	0,0	0,3	0,3	0,2	0,1	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,1	0,4	0,1	0,2	0,3
21	0,1	0,1	0,0	0,3	0,3	0,2	0,1	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	0,1	0,4	0,1	0,2	0,3
22	0,2	0,1	0,1	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,3	0,2	0,1	0,5	0,1	0,2	0,3
23	0,3	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,7	0,3	0,4	0,5
24	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,3	0,3	0,2	0,1	0,4	0,1	0,1	0,2
25	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,5	0,4	0,4	0,5
26	0,3	0,3	0,2	0,4	0,3	0,2	0,1	0,2	0,2	0,4	0,4	0,3	0,2	0,4	0,3	0,4	0,5
27	0,3	0,2	0,3	0,4	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,4	0,3	0,3	0,4
28	0,3	0,3	0,2	0,4	0,3	0,2	0,1	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,4	0,2	0,4	0,4
29	0,3	0,3	0,2	0,5	0,4	0,2	0,1	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,4	0,2	0,4	0,5
30	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,4	0,3	0,2	0,2	0,4	0,3	0,3	0,4
31	0,1	0,1	0,0	0,3	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,3	0,2	0,1	0,5	0,1	0,2	0,3
32	0,1	0,1	0,0	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,3	0,2	0,1	0,5	0,1	0,2	0,3
33	0,6	0,6	0,7	0,4	0,5	0,6	0,6	0,6	0,5	0,5	0,4	0,5	0,6	0,7	0,6	0,5	0,6
34	0,6	0,6	0,7	0,4	0,5	0,6	0,6	0,6	0,5	0,5	0,4	0,5	0,6	0,7	0,6	0,5	0,6
T	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
1	0,9	0,9	0,9	0,9	0,8	0,7	0,9	0,6	0,7	0,7	0,7	0,7	0,8	0,9	0,9	0,4	0,4

Continuación tabla 3.

2	1,0	0,9	0,9	0,9	0,9	0,8	1,0	0,7	0,7	0,8	0,7	0,7	0,8	0,9	0,9	0,4	0,4
3	0,9	1,0	1,0	1,0	0,9	0,8	0,9	0,7	0,8	0,7	0,8	0,8	0,8	1,0	1,0	0,3	0,3
4	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,9	0,8	0,8	0,6	0,6	0,6	0,5	0,7	0,7	0,7	0,6	0,6
5	0,7	0,7	0,7	0,7	0,8	0,8	0,8	0,7	0,7	0,7	0,7	0,6	0,8	0,7	0,8	0,5	0,5
6	0,8	0,8	0,8	0,8	0,9	0,8	0,9	0,7	0,8	0,8	0,8	0,8	0,9	0,9	0,9	0,4	0,4
7	0,8	0,9	0,9	0,9	0,9	0,7	0,9	0,7	0,9	0,8	0,9	0,9	0,8	0,9	0,9	0,4	0,4
8	0,8	0,9	0,9	0,9	0,9	0,7	0,9	0,7	0,8	0,8	0,8	0,8	0,9	0,9	0,9	0,4	0,4
9	0,8	0,8	0,8	0,8	0,9	0,7	0,9	0,7	0,8	0,8	0,8	0,8	0,9	0,9	0,9	0,5	0,5
10	0,6	0,7	0,7	0,7	0,7	0,8	0,7	0,7	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,7	0,5	0,5
11	0,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,8	0,7	0,7	0,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,7	0,7	0,6	0,6
12	0,7	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,7	0,7	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,5	0,5
13	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,8	0,9	0,7	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,9	0,9	0,4	0,4
14	0,5	0,6	0,6	0,6	0,5	0,3	0,6	0,5	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,5	0,5	0,3	0,3
15	0,8	0,9	0,9	0,9	0,9	0,7	0,9	0,6	0,7	0,7	0,8	0,8	0,7	0,9	0,9	0,4	0,4
16	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,6	0,9	0,6	0,6	0,7	0,6	0,6	0,7	0,8	0,8	0,5	0,5
17	0,8	0,7	0,7	0,7	0,7	0,5	0,8	0,5	0,5	0,6	0,6	0,5	0,6	0,7	0,7	0,4	0,4
18	1,0	0,9	0,9	0,9	0,9	0,7	0,9	0,6	0,6	0,7	0,7	0,7	0,8	0,9	0,9	0,3	0,3
19	0,1	1,0	1,0	1,0	0,9	0,8	0,9	0,7	0,8	0,7	0,8	0,8	0,8	1,0	1,0	0,3	0,3
20	0,1	0,0	1,0	1,0	0,9	0,8	0,9	0,7	0,8	0,7	0,8	0,8	0,8	1,0	1,0	0,3	0,3
21	0,1	0,0	0,0	1,0	0,9	0,8	0,9	0,7	0,8	0,7	0,8	0,8	0,8	1,0	1,0	0,3	0,3
22	0,1	0,1	0,1	0,1	1,0	0,9	1,0	0,7	0,7	0,8	0,8	0,8	0,8	0,9	0,9	0,4	0,4
23	0,3	0,2	0,2	0,2	0,1	1,0	0,8	0,7	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,8	0,8	0,5	0,5
24	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,2	1,0	0,7	0,7	0,8	0,8	0,8	0,8	0,9	0,9	0,4	0,4
25	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	1,0	0,8	0,8	0,8	0,6	0,6	0,7	0,7	0,4	0,4
26	0,4	0,2	0,2	0,2	0,3	0,4	0,3	0,2	1,0	0,9	1,0	0,8	0,8	0,8	0,8	0,4	0,4
27	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,4	0,2	0,2	0,1	1,0	0,9	0,8	0,9	0,8	0,8	0,4	0,4
28	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,2	0,2	0,0	0,1	1,0	0,9	0,8	0,8	0,8	0,4	0,4
29	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,2	0,4	0,2	0,2	0,1	1,0	0,8	0,8	0,8	0,3	0,3
30	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,2	0,4	0,2	0,1	0,2	0,2	1,0	0,8	0,8	0,5	0,5
31	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,2	0,1	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	1,0	1,0	0,4	0,4
32	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	0,2	0,1	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,0	1,0	0,4	0,4
33	0,7	0,7	0,7	0,7	0,6	0,5	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,5	0,6	0,6	1,0	1,0
34	0,7	0,7	0,7	0,7	0,6	0,5	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,5	0,6	0,6	0,0	1,0

T= tratamiento; T1(0-8h) = 1, 2, 3; T2(0,5-8h) = 4, 5; T3(1-8h) = 6, ..., 9; T4(1,5-8h) = 10, 11, 12; T5(2-8h) = 13, 14, ..., 17; T6(0-16h)= 18, 19, 20, 21; T7(0,5-16h)= 22, 23, 24; T8(1,0-16h)= 25, ..., 29; T9(1,5-16h)= 31, 32, 32; T10(2,0-16h)= 33, 34.

mayor a 0,25 muy alta, demuestra que existieron cambios entre los grupos de plantas tratadas y no tratadas, tal como se verá más adelante. En la tabla 3, se muestran los valores de similitud (diagonal y encima de la diagonal) y disimilitud (debajo de la diagonal), de Dice (1945), obtenidos por los diferentes tratamientos de DES. Las observaciones 1, 2 y 3 fueron blancos (0 %_{DES-8 h}), al igual que 18,

19, 20 y 21 (0 %_{DES-16 h}). Las observaciones 4 y 5 correspondieron a T2 (0,5 %_{DES-8 h}), de 6 a 9 a T3 (1 %_{DES-8 h}), 10, 11 y 12 a T4 (1,5 %_{DES-8 h}), 13 a 17 a T5 (2 %_{DES-8 h}), 22 y 24 a T7 (0,5 %_{DES-16 h}), 25 a 29 a T8 (1,0 %_{DES-16 h}), 31 y 32 a T9 (1,5 %_{DES-16 h}), 33 y 34 a T10 (2 %_{DES-16 h}).

Tabla 4. Proporción de la presencia de bandas con los cinco cebadores RAMs en cada uno de los tratamientos de dietil sulfato-DES, en *Solanum betaceum*.

T	CA	TG	AG	ACA	CGA	T	CA	TG	AG	ACA	CGA
1	0,43	0,86	1,00	0,67	0,33	18	0,43	0,86	1,00	0,67	0,00
2	0,43	0,86	1,00	0,67	0,08	19	0,43	0,86	1,00	0,67	0,50
3	0,43	0,86	1,00	0,67	0,50	20	0,43	0,86	1,00	0,67	0,50
4	0,43	0,00	1,00	0,33	0,17	21	0,43	0,86	1,00	0,67	0,50
5	0,43	0,29	1,00	0,17	0,17	22	0,43	0,71	1,00	0,67	0,33
6	0,43	0,71	0,80	0,33	0,33	23	0,43	0,00	1,00	0,67	0,33
7	0,43	0,71	0,80	0,33	0,42	24	0,43	0,71	1,00	0,67	0,17
8	0,43	0,71	0,80	0,33	0,33	25	0,86	0,29	0,80	0,50	0,25
9	0,43	0,71	0,80	0,33	0,17	26	0,86	0,86	0,80	0,00	0,42
10	0,43	0,00	0,80	0,83	0,25	27	0,71	0,86	0,80	0,17	0,17
11	0,43	0,00	0,80	0,33	0,25	28	0,71	0,86	0,80	0,17	0,42
12	0,43	0,43	0,80	0,50	0,25	29	0,14	0,71	0,80	0,17	0,42
13	0,43	0,71	1,00	0,50	0,33	30	0,43	0,86	0,80	0,00	0,17
14	0,57	0,71	0,00	0,17	0,67	31	0,43	0,86	0,80	0,67	0,33
15	0,43	0,71	1,00	0,50	0,42	32	0,43	0,86	1,00	0,50	0,33
16	0,43	0,71	0,00	0,67	0,17	33	0,43	0,00	0,00	0,00	0,08
17	0,43	0,71	0,00	0,67	0,00	34	0,43	0,00	0,00	0,00	0,08

Los valores de similitud que están por encima de la diagonal (Tabla 3) tienen un total de $34t(34-1)/2 = 561$ registros, sobre este conjunto de datos, tal como lo muestran los parámetros de diversidad genética (Tablas 1 y 2). Como se dijo anteriormente, las plantas evaluadas surgen de semillas tomadas de una sola planta al azar de un cultivo de tomate de árbol var. Manzano, sometidas a diferentes concentraciones de DES; de ahí, que los valores de similitud permiten establecer los cambios y las diferencias entre plantas tratadas y no tratadas.

Los valores de distancia (Tabla 3) y la proporción de la presencia de bandas con los cinco cebadores RAMs en cada uno de los tratamientos DES en *Solanum betaceum* (Tabla 4), reflejan los cambios en las frecuencias de los loci identificados entre plantas tratadas y no tratadas. En las observaciones no tratadas (1, 2, 3, 18, 19, 20 y 21), los marcadores se manifestaron con las mismas proporciones, a excepción del marcador CGA, que cambia sus proporciones en las observaciones 1, 2 y 18. Estas variaciones, se deben al sistema de reproducción mixta que tiene la especie (Ramírez & Kallarackal, 2019), que permite manifestar algunos niveles de variación en progenies de una sola planta.

Es claro que muchos de los tratamientos con DES son semejantes a los tratamientos no tratados, pero con variaciones en los niveles de similitud; por ejemplo, las distancias genéticas o disimilitudes (debajo de la diagonal) (Tabla 3) son más grandes en concentraciones de 2 % de DES, por 8 y 16 horas, aunque las distancias son de diferente magnitud, que oscilan entre 0,4 y 0,9, confirma que existieron cambios de diferente magnitud entre plantas tratadas y no tratadas e incremento de la variabilidad genética, aunque con pequeños

cambios, que dieron como resultado una mayor frecuencia de distancias entre 0,1 a 0,4. Cambios similares observaron Mudibu *et al.* (2011), en plantas de soya, tratadas con rayos Gamma.

En el dendrograma de la figura 1, se muestran las relaciones genéticas entre los tratamientos DES de *Solanum betaceum*, construido con base en el coeficiente de similitud de Dice (1945) y el método de agrupamiento UPGMA, obtenido de cinco cebadores RAMs. A una similitud de 0,70, se identificaron tres grupos: en el grupo 1 (G1), se ubicaron el 70,6 % de la población analizada; en el grupo 2 (G2), el 20,6 % y en el grupo 3 (G3), el 5,9 %. La observación 14, que corresponde a T5 (2 %_{DES}, 8 h), no se ubicó en ningún grupo. Esta planta, se caracterizó por no producir bandas en el marcador AG y reducir la proporción de presencia de bandas en TG y CGA. Algo similar ocurrió en el G3, con las observaciones 33 y 34 del T5 (2 %_{DES}, 16 h), pero con la diferencia que no manifestaron bandas en los tres marcadores antes mencionados (Tablas 4 y 5). La similitud de estas tres observaciones respecto a las no tratadas oscila entre 0,3 y 0,6 (Tabla 3), lo cual, confirma el efecto del DES en el cambio de las frecuencias de los marcadores utilizados en esta investigación. En términos generales, la variación entre las 34 observaciones evaluadas es alta, pero las distancias genéticas moderadamente pequeñas, tal como se encontraron en soya tratada con rayos Gamma (Mudibu *et al.* 2011). De hecho, la heterosis total es relativamente alta (50 %), para la progenie de una planta, cuyas muestras tratadas presentan similitudes altas, que van entre 0,90 y 1,0.

El análisis genético de los tres grupos formados (Figura 1) indica que el porcentaje de loci polimórficos en el G1 fue de 70,27 %;

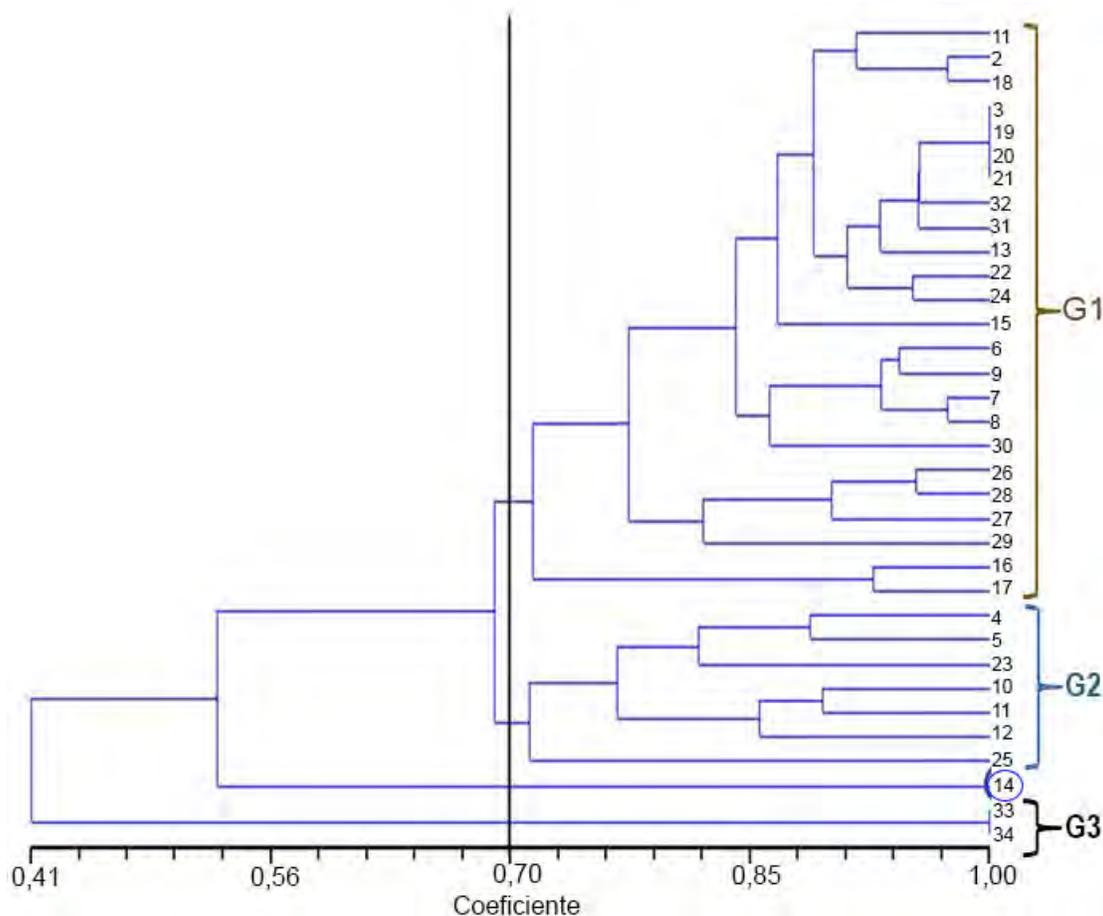


Figura 1. Dendrograma de las relaciones genéticas entre los tratamientos de dietil sulfato-DES de *Solanum betaceum*, construido con base en el coeficiente de similitud de Dice (1945) y el método de agrupamiento UPGMA, obtenido de cinco cebadores RAMs.

Tabla 5. Parámetros de diversidad genética obtenidos con cinco marcadores RAMs en plántulas de *Solanum betaceum*, provenientes de semillas tratadas con dietil sulfato-DES.

Grupos	%T	%P	Ne	I	h	uh	Nei (1973)
G1	70,60	70,27	1,29	0,29	0,18	0,19	D ₁₋₂ 0,15
G2	20,60	45,95	1,27	0,24	0,16	0,18	D ₁₋₃ 0,45
G3	5,90	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	D ₂₋₃ 0,24
Media		38,74	1,19	0,18	0,11	0,13	
DE		20,60	0,03	0,024	0,02	0,02	

%T = tamaño del grupo respecto a la población en porcentaje; %P = porcentaje de loci polimórficos ($\%P = 1 - [(1/m)\sum p^2]$); Ne = número de alelos efectivos = $1/(p^2+q^2)$; I = Índice de información de Shannon = $-1*(p*\ln(p)+q*\ln(q))$; h = heterocigosidad = $1 - (p^2 + q^2)$; uh = heterocigosidad insesgada = $(N / (N-1))$; D.= distancias genéticas insesgadas.

en el G2 de 45,95 % y de cero, en el G3. El índice de heterosis insesgada (uh) fue alta para los grupos dos y tres, con valores de 0,19 y 0,18, en su orden. El grupo 3 presentó una alta homogeneidad, con un uh de cero; es de aclarar que en el G1 se encuentran todos los controles (0 %_{DES}-8 h y 0 %_{DES}-1 h). Este grupo presenta una distancia baja con G1, moderada alta con G2 y moderada con G3. El número de alelos efectivos (Ne) en los tres grupos es similar y oscila entre uno y 1,3 (Tabla 5). Se comprueba que los cambios producidos por el agente DES fueron de baja magnitud; sin embargo, produjeron cambios en los niveles de variación genética, tal como lo indican los altos niveles de los parámetros de diversidad

genética y el porcentaje de loci polimórficos. Es necesario, comprobar, en la siguiente generación de esta población mutante, si existen diferencias a nivel fenotípico. Al respecto, Prina *et al.* (2010) indican que en la generación mutante (M2), se deben identificar los cambios causados por los agentes mutantes y es necesario iniciar, en esta fase, el proceso de selección.

Basado en los resultados obtenidos, se puede concluir que los marcadores RAMs fueron útiles para detectar cambios entre plantas provenientes de semillas tratadas con el agente mutagénico dietil sulfato (DES). Los niveles de variación genética entre los

tratamientos con DES fueron más altos que los tratamientos sin DES. Las similitudes de Dice fueron bajas entre plantas tratadas y no tratadas y fueron altas entre plantas no tratadas. Los cambios producidos por el agente mutante DES fueron de baja magnitud; sin embargo, produjeron cambios en los niveles de variación genética en la población estudiada.

Agradecimientos. Al sistema de investigaciones de la Vicerrectoría de Investigaciones e Interacción Social (VIIS), de la Universidad de Nariño, por haber financiado esta investigación. Conflicto de intereses: el manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe de conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados. Financiación: esta investigación fue financiada por el Sistema de Investigaciones de la Vicerrectoría de Investigaciones e Interacción Social de la Universidad de Nariño.

REFERENCIAS

- ACOSTA-QUEZADA, P.G.; RIOFRÍO-CUENCA, T.; ROJAS, J.; VILANOVA, S.; PLAZAS, M.; PROHENS, J. 2016. Phenological growth stages of tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.), an emerging fruit crop, according to the basic and extended BBCH scales. *Scientia Horticulturae*. 199:216-223. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.12.045>
- BEN TAMARZIZT, H.; BEN MUSTAPHA, S.; BARAKET, G.; ABDALLAH, D.; SALHI-HANNACHI, A. 2015. Assessment of genetic diversity and relationships among wild and cultivated Tunisian plums (*Prunus* spp) using random amplified microsatellite polymorphism markers. *Genetics and Molecular Research*. 14(1):1942-1956. <https://doi.org/10.4238/2015.march.20.4>
- BHAGWAT, B.; DUNCAN, E.J. 1997. Mutation breeding of banana cv. Highgate (*Musa* spp., AAA Group) for tolerance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* using chemical mutagens. *Scientia Horticulturae*. 73(1):11-22. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(97\)00141-6](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(97)00141-6)
- DELGADO-ALVARADO, E.A.; ALMARAZ-ABARCA, N.; ESCAMIROSA-TINOCO, C.; URIBE-SOTO, J.N.; ÁVILA-REYES, J.; TORRES-RICARIO, R.; CHAÍDEZ-AYALA, A.I. 2018. Potential of random amplified microsatellites (RAMS) to typify and discriminate varieties of *Physalis ixocarpa* Brot. ex Hornem. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 30(5):396-403. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2018.v30.i5.1684>
- DÍAZ GRANADA, L.; CANTO SÁENZ, M.; ALEGRE ORIHUELA, J.; CAMERENA MAYTA, F.; JULCA OTINIANO, A. 2017. Sostenibilidad social de los subsistemas productivos de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav) en el Cantón Guachapala, Provincia de Azuay – Ecuador. *Ecología Aplicada*. 16(2):99-104. <https://dx.doi.org/10.21704/rea.v16i2.1013>
- DICE, L.R. 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology*. 26(3):297-302. <https://doi.org/10.2307/1932409>
- DONINI, P.; SONNINO, A. 1998. Induced mutation in plant breeding: Current status and future outlook. En: Jain, S.M.; Brar, D.S.; Ahloowalia, B.S. (eds). *Somaclonal variation and induced mutations in crop improvement. current plant science and biotechnology in Agriculture*. Vol. 32. Springer. p.255-291.
- ESTRADA SALAZAR, E.I.; VALLEJO CABRERA, F.A.; RAMÍREZ, H.; ESPITIA CAMACHO, M.M. 2010. *Genética Vegetal*. Universidad Nacional de Colombia (Palmira). 460p.
- GANDHI, E.S.; SRI DEVI, A.; MULLAINATHAN, L. 2014. The effect of ethyl methane sulphonate and diethyl sulphate on chilli (*Capsicum annuum* L.) in M1 generation. *International Letters of Natural Sciences*. 10:18-23. <https://doi.org/10.18052/www.scipress.com/ILNS.10.18>
- HART, G. 1983. The Occurrence of Multiple UPGMA Phenograms. En: Felsenstein, J. (ed). *Numerical taxonomy*. NATO ASI Series. Vol. 1. Springer (Berlin, Heidelberg). p.254-258. https://doi.org/10.1007/978-3-642-69024-2_30
- LAGOS-SANTANDER, L.; VALLEJO, F.A.; LAGOS-BURBANO, T.C.; DUARTE-ALVARADO, D.E. 2013. Correlaciones genotípicas, fenotípicas y ambientales, y análisis de sendero en tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* Cav. Sendt.). *Acta Agronómica*. 62(3):215-222.
- LOBO ARIAS, M. 2006. Recursos genéticos y mejoramiento de frutales andinos: una visión conceptual. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*. 7(2):40-54. https://doi.org/10.21930/rcta.vol7_num2_art:68
- MAGALLÁN HERNÁNDEZ, D.; MARTÍNEZ, M.; HERNÁNDEZ SANDOVAL, L.; KEN OYAMA, Y. 2009. Estructura genética de poblaciones de *Eriocaulon Bilobatum* (Eriocaulaceae): una especie amenazada de humedales temporales. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 85:81-88.
- MORILLO C., A.C.; MORILLO C., Y.; MUÑOZ F, F.J.; VÁSQUEZ A., H.A.; ZAMORANO, A. 2005. Caracterización molecular con microsatélites aleatorios rams de la colección de mora, *Rubus* spp., de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. *Acta Agronómica*. 54(2):15-24.
- MORILLO C., Y.; MORILLO C., A.C.; MUÑOZ F, J.E.; BALLESTEROS P., W.; GONZÁLEZ, A. 2014. Molecular characterization of 93 genotypes of cocoa (*Theobroma cacao*

- L.) with random amplified microsatellites RAMs. *Agronomía Colombiana*. 32(3):315-325.
<https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v32n3.46879>
16. MORILLO CORONADO, A.C.; MORILLO CORONADO, Y.; PINZÓN SANDOVAL, E.H. 2014. Caracterización con RAMs de la colección de durazno (*Prunus persica* L. Batsch) existente en la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. *Acta Agronómica*. 63(4):367-376.
 17. MORILLO PAZ, A.T.; VILLOTA CERÓN, D.E.; LAGOS-BURBANO, T.C.; ORDÓÑEZ JURADO, H.R. 2011. Caracterización morfológica y molecular de 18 introducciones de uchuva *Physalis peruviana* L. de la colección de la Universidad de Nariño. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*. 64(2):6043-6053.
 18. MUDIBU, J.; NKONGOLO, K.K.C.; MEHES-SMITH, M.; KALONJI-MBUYI, A. 2011. Genetic analysis of a soybean genetic pool using ISSR marker: effect of gamma radiation on genetic variability. *International Journal of Plant Breeding and Genetics*. 5(3):235-245.
<http://dx.doi.org/10.3923/ijpb.2011.235.245>
 19. MUÑOZ F, J.E.; LOBO A., M.; MEDINA, C.I.; CAICEDO ARANA, Á.; MORILLO CORONADO, Y. 2012. Caracterización molecular de genotipos de plátano del Banco de Germoplasma de Corpoica Palmira, con uso de marcadores RAMs. *Acta Agronómica*. 61(5):28-29.
 20. MUÑOZ FLÓREZ, J.E.; MORILLO CORONADO, A.C.; MORILLO CORONADO, Y. 2008. Microsatélites amplificados al azar (RAM) en estudios de diversidad genética vegetal. *Acta Agronómica*. 57(4):219-226.
 21. MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 15(3):473-497.
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
 22. NEI, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 70(12):3321-3326.
<https://doi.org/10.1073/pnas.70.12.3321>
 23. PEAKALL, R.; SMOUSE, P.E. 2006. Genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 6(1):288-295.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>
 24. PEÑAFIEL L., N.; ARAHANA B., V.S.; TORRES P, M DE L. 2009. Evaluación de la variabilidad genética del tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) en los cultivos de tres provincias del Ecuador por medio de marcadores microsatélites. *Avances en Ciencias e Ingeniería*. 1(1):69-74.
<https://doi.org/10.18272/aci.v1i1.13>
 25. PRINA, L.; LANDAU, A.; PACHECO, M.G.; HOPP, H. 2010. Mutagénesis, TILLING y EcoTILLING. Parte II: Métodos para generar y analizar diversidad, Capítulo 4. En: Levitus G.; Echenique, V.; Rubinstein, C.; Hopp, E.; Mroginski, L. (Eds). *Biocología y Mejoramiento Vegetal II*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA, Consejo Argentino para la Información y Desarrollo de la Biotecnología ArgenBio (Argentina). p.217-228.
 26. RAMÍREZ, F.; KALLARACKAL, J. 2019. Tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.) reproductive physiology: A review. *Scientia Horticulturae*. 248:206-215.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.01.019>
 27. RED DE INFORMACIÓN Y COMUNICACIÓN DEL SECTOR AGROPECUARIO, AGRONET. 2021. Reporte: Área, Producción y Rendimiento Nacional por Cultivo. Estadísticas agrícolas: tomate de árbol. Disponible desde Internet en:
<https://www.agronet.gov.co/estadistica/Paginas/home.aspx?cod=1> (con acceso 03/04/2021)
 28. ROHLF, F.J. 1988. NTSYSpc Numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.2: getting started guide. Applied Biostatistics Inc (New York). 43p.
 29. RUGELES-SILVA, P.A.; POSSO-TERRANOVA, A.M.; LONDOÑO, X.; BARRERA-MARÍN, M.; MUÑOZ-FLÓREZ, J.E. 2012. Caracterización molecular de *Guadua angustifolia* Kunth mediante marcadores moleculares RAMs. *Acta Agronómica*. 61(4):325-330.
 30. WRIGHT, S. 1978. Evolution and the genetics of populations, variability within and among natural populations. Vol 4. University of Chicago Press (Chicago). 590p.
 31. ZIETKIEWICZ E.; RAFALSKI, A.; LABUDA, D. 1994. Genome fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)-anchored Polymerase Chain Reaction Amplification. *Genomics*. 20(2):176-183.
<https://doi.org/10.1006/geno.1994.1151>



Aplicación conjunta del consorcio microorganismos benéficos y FitoMas-E[®] incrementan los indicadores agronómicos del frijol

Joint application of beneficial microorganisms consortium and FitoMas-E[®] increases the agricultural indicators of beans

Alexander Calero-Hurtado^{1,2*} ; Yanery Pérez-Díaz² ; Mileidy Rodríguez-Lorenzo² ; Venancio Rodríguez-González² 

¹Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Jaboticabal - São Paulo, Brasil; e-mail: achurtado@uniss.edu.br

²Universidad de Sancti Spiritus "José Martí Pérez". Centro Universitario Municipal de Taguasco. Zaza del Medio - Taguasco, Sancti Spiritus, Cuba; e-mail: yaneryp@uniss.edu.br; mileidyrodrigue@infomed.sld.cu; venancio@uniss.edu.br

*autor de correspondencia: achurtado@uniss.edu.br

Cómo citar: Calero-Hurtado, A.; Pérez-Díaz, Y.; Rodríguez-Lorenzo, M.; Rodríguez-González, V. 2022. Aplicación conjunta del consorcio microorganismos benéficos y FitoMas-E[®] incrementan los indicadores agronómicos del frijol. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 25(1):e2252. <http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.2252>

Artículo de acceso abierto publicado por Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, bajo una Licencia Creative Commons CC BY-NC 4.0

Publicación oficial de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Institución de Educación Superior Acreditada de Alta Calidad por el Ministerio de Educación Nacional.

Recibido: julio 26 de 2018

Aceptado: marzo 22 de 2022

Editado por: Helber Adrián Arévalo Maldonado

RESUMEN

El uso de microorganismos benéficos en conjunto con bioestimulantes vegetales puede ser una alternativa eficiente para mejorar la productividad del frijol. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la aplicación individual y combinada entre los bioestimulantes ME-50[®] y FitoMas-E[®] en el incremento agroproductivo del frijol en época de siembra tardía. La investigación, se desarrolló en la Cooperativa de Créditos y Servicios "Mártires de Taguasco", Sancti Spiritus, Cuba. Se realizó un experimento en condiciones de campo con el cultivar "Velazco largo". Los tratamientos, se distribuyeron en bloques al azar, en esquema factorial 2×2, con cinco réplicas, dos niveles ausencia y presencia del consorcio ME-50[®] y su combinación con la no aplicación y aplicación de FitoMas-E. Los efectos de los bioestimulantes se observaron en los parámetros de i) crecimiento: hojas por planta, área foliar y la masa seca y ii) productivos: número de vainas por planta, granos por vaina, masa de 100 granos y el

rendimiento. Los resultados revelaron que la aplicación conjunta de ambos bioestimulantes fue más eficiente en el aumento del crecimiento y la productividad, que la aplicación individual y la no aplicación de bioestimulantes, al incrementar el rendimiento en 10 y 71 %, respectivamente. Los hallazgos de este estudio sugieren que la combinación entre el ME-50[®] y el FitoMas-E[®] constituye una alternativa eficiente, económica y viable, para aumentar la productividad del frijol en época de siembra tardía.

Palabras clave: Aplicación foliar; Bioproductos; Inoculación; *Phaseolus vulgaris* L.; leguminosas.

ABSTRACT

The use beneficial of microorganisms jointly with vegetal biostimulants can be an efficient alternative to improve the productivity of beans. The purpose of this research was to determine the effect of individual and joined application of the biostimulants

ME-50® and FitoMas-E® in the agroproductive increase of the bean in the late sowing season. The research was conducted at the collective farmer “Martires de Taguasco”, Sancti Spiritus, Cuba. An experiment was carried out under field conditions with the cultivar “Velazco Largo”. The treatments were distributed in random blocks, in a 2×2 factorial scheme, with five replications, two levels absence and presence of the ME-50® consortium and its combination with no application and application of FitoMas-E®. The biostimulants effects were observed in i) growth parameters: leaves per plant, leaf area and dry mass; ii) production parameters: number of pods per plant, grains per pod, the mass of 100 grains and yield. The results revealed that the joint application of both biostimulants was more efficient in increasing growth and productivity than the individual application and the non-application of biostimulants, due to the yield increase of 10 and 71 %, respectively. The findings of this study suggest that the joint application between ME-50® and FitoMas-E® constitutes an efficient, economical and viable alternative to increase bean productivity in the late sowing season.

Keywords: Foliar application; Bioproduct; Inoculation; *Phaseolus vulgaris* L.; Fabaceae.

INTRODUCCIÓN

Una población humana en aumento, unida a la privación de recursos y al cambio climático, sugiere que satisfacer la futura demanda mundial de alimentos será un desafío (Mwale *et al.* 2020). Los frijoles son las leguminosas de grano más importantes para el consumo humano, porque son una fuente de proteína y ricos en minerales, especialmente, hierro, zinc y vitaminas (Campa *et al.* 2018; Calero Hurtado *et al.* 2020c). La agricultura, se enfrenta a graves problemas de degradación de la tierra (Singh *et al.* 2020); sistemas de cultivo intensivo, así como el desequilibrio en el uso de fertilizantes, son los factores principales que provocan desbalance de nutrientes, disminuyen la fertilidad del suelo, bajan la productividad y reducen la calidad de los alimentos (Francisco *et al.* 2018).

La interacción entre plantas y microbios puede contribuir a la salud y la productividad de los cultivos (Avila *et al.* 2021). Los microorganismos de importancia agrícola representan una estrategia ecológica clave hacia el desarrollo integrado de prácticas, tales como manejo de nutrientes, entre otros, con miras a reducir el uso de productos químicos en la agricultura y mejorar el rendimiento (Nassary *et al.* 2020).

Los microorganismos eficientes - ME es una tecnología descubierta y desarrollada por el profesor Teuro Higa, en Japón (Avila *et al.* 2021), como una alternativa para remplazar los fertilizantes y los plaguicidas sintéticos, popularizados después de la Segunda Guerra Mundial, para la producción de alimentos en el mundo (Calero Hurtado *et al.* 2019a). El profesor encontró que el éxito de su efecto estaba en el cultivo de varios microbios mezclados; desde entonces, esta tecnología se investiga, se desarrolla y se aplica en una multitud de usos agropecuarios y ambientes, y es utilizada en más de 80 países del mundo (Silva *et al.* 2022).

Estos ME, se clasifican en grandes grupos funcionales, como un grupo ácido láctico, bacterias fotosintéticas, grupo de las levaduras, grupo de los actinomicetos y hongos (Avila *et al.* 2021; Silva *et al.* 2022), especialmente, la presencia de *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus bulgaricum* y *Saccharomyces cerevisiae*, además de la presencia de nutrientes minerales, como N, P, K y Ca, que intervienen en procesos biológicos del crecimiento y desarrollo de las plantas (Calero Hurtado *et al.* 2020d).

El principio fundamental de esta tecnología consiste en la introducción de un grupo de microorganismos benéficos para mejorar las condiciones fisicoquímicas del suelo (Avila *et al.* 2021; Silva *et al.* 2022). La utilización de ME es favorable para la agricultura; diversos estudios reportan efectos benéficos, porque su introducción mejora y favorece el crecimiento y el desarrollo de diferentes cultivos, como el pepino, el tomate, la habichuela, el tabaco y frijol (Calero Hurtado *et al.* 2017; Calero-Hurtado *et al.* 2018; Quintero *et al.* 2018; Calero *et al.* 2019; Calero Hurtado *et al.* 2019d; Calero-Hurtado *et al.* 2020a).

Por otra parte, existen una variedad de bioproductos con efectos bioestimulantes, antiestrés y con capacidades para incrementar la productividad de los cultivos (Calero Hurtado *et al.* 2019e). Entre estos bioproductos, se encuentra el FitoMas-E®, un bionutriente derivado de los residuos de la industria azucarera cubana, creado y desarrollado por el Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA). Este bioestimulante está compuesto por una mezcla de sales minerales y sustancias bioquímicas de alta energía (aminoácidos, bases nitrogenadas, sacáridos y polisacáridos biológicamente activos), 150 g L⁻¹ de extracto orgánico, 55,0 g L⁻¹ de Nitrógeno total, 60,0 g L⁻¹ de K₂O y 31,0 g L⁻¹ de P₂O₅, que actúa como bionutriente vegetal, con marcada influencia antiestrés y efecto bioestimulante, porque potencializa el crecimiento y el desarrollo de los cultivos (Calero-Hurtado *et al.* 2019c; Montano *et al.* 2007).

Diferentes estudios demuestran que la aplicación de FitoMas-E® al suelo, a la semilla y sobre las plantas, incrementa el crecimiento y el desarrollo de los cultivos, especialmente, el frijol (Calero Hurtado *et al.* 2017; Calero Hurtado *et al.* 2019e; Quintero *et al.* 2018). La utilización de los biofertilizantes/ bioestimulantes, desde el establecimiento inicial del cultivo, son esenciales para el éxito de la producción; basado en estos criterios, la hipótesis a constatar en este estudio es que la aplicación de los bioproductos de microorganismos benéficos y FitoMas-E®, de forma individualizada, estimulan la producción de frijol común, pero la aplicación conjunta podría incrementar, aún más, la productividad del grano. Consecuentemente, el objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de la aplicación individual y combinada entre el consorcio microbiano ME-50® y FitoMas-E®, en el incremento agroproductivo del frijol común en siembra tardía.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización y material vegetal. El experimento, se desarrolló en la época de siembra tardía, entre enero y abril del 2019, en la Cooperativa

de Créditos y Servicios “Mártires de Taguasco” (22°6'17.588"N; 79°22'33.544"O), en Sancti Spíritus, Cuba. El cultivar Velazco largo de frijol común fue donado por la Empresa Provincial de Semillas de Sancti Spíritus, con un 96 % de germinación, el cual, se caracteriza por presentar granos de color rojo, un potencial de rendimiento de 2,3 t ha⁻¹, hábito de crecimiento tipo I y un ciclo de 72 a 77 días (MINAG, 2019). La siembra, se realizó de forma manual, a la distancia de 0,60 m entre hileras y 0,05 m entre plantas, para obtener una densidad de plantas, alrededor de 320.000 plantas ha⁻¹.

Condiciones climatológicas generales. Durante desarrollo del experimento, se registraron el promedio de las precipitaciones acumuladas, de 48,40 mm, temperatura media diaria de 22,10 °C y humedad relativa de 74,70 %, en la Estación Municipal de Recursos Hidráulicos de Cabaiguán, Sancti Spíritus, Cuba.

Características del suelo. El suelo es clasificado como Pardo Sialítico Carbonatado (Hernández *et al.* 2015), denominado Cambisol; presenta perfil ABC, de mediana a poca profundidad, de color pardo a pardo oscuro y, en ocasiones, colores verde azules, cuando existen condiciones de oxidación en el medio, por el mal drenaje o compactación. Son arcillosos con predominio de arcillas del tipo 2:1 Montmorillonita.

Diseño experimental. Los tratamientos, se distribuyeron en un diseño en bloques al azar, en esquema factorial 2×2, con cinco réplicas. Se estudiaron dos niveles de aplicación (ausencia y presencia

[100 mg L⁻¹]), del consorcio ME-50[®] y su combinación con la no aplicación y aplicación (imbibición de las semillas a 100 mg g⁻¹ y aplicación foliar a 2,0 L ha⁻¹), de FitoMas-E[®], obteniéndose las siguientes combinaciones de tratamientos: -ME+FE: no aplicación de ME y FE; +ME-FE: inoculación al suelo y aplicaciones foliares con ME la concentración de 100 mg L⁻¹ en ausencia de FE; -ME +FE: tratamiento de las semillas a 100 mg g⁻¹ y aplicación foliar con FE a 2,0 L ha⁻¹ en ausencia de ME y +ME+FE: inoculación al suelo con ME (100 mg L⁻¹), tratamiento de las semillas con FE (100 mg g⁻¹) y aplicaciones foliares de ambos bioproductos mezclados ME (100 mg L⁻¹) y FE (2,0 L ha⁻¹). El tamaño de las parcelas fue de 9,60 m², el área efectiva fue de 3,36 m² y el área total del experimento de 0,38 ha. Las concentraciones y las dosis utilizadas de ambos bioproductos para la inoculación al suelo, tratamiento de las semillas y aplicaciones foliares, fueron seleccionadas con base a los resultados obtenidos anteriormente para el cultivo del frijol común (Calero-Hurtado *et al.* 2018; Calero Hurtado *et al.* 2019b; Quintero *et al.* 2018).

El modo de aplicación de los tratamientos está expuesto en la tabla 1 y la inoculación al suelo con ME-50[®], se realizó antes de depositar las semillas y, seguidamente, se procedió a la siembra. Las aspersiones realizadas, tanto al suelo como las foliares, fueron realizadas entre las 4:00 y 5:00 p.m., con una aspersora manual (ECHO MS-21H), de 7,6 L de capacidad.

Manejo agronómico. Las labores del cultivo fueron realizadas según las recomendaciones e instrucciones de la guía técnica para el cultivo (MINAG, 2019), destacándose que no se aplicaron

Tabla 1. Tratamientos y modo de aplicación utilizado en frijol cv. Velazco largo.

Tratamientos	Modo de aplicación				
	Suelo	Vía semilla	Etapa V3	Etapa V4	Etapa R5
-ME-FE	-	-	-	-	-
+ME-FE	100 mg L ⁻¹	-	100 mg L ⁻¹	100 mg L ⁻¹	100 mg L ⁻¹
-ME+FE	-	100 mg g ⁻¹	2,0 L ha ⁻¹	2,0 L ha ⁻¹	2,0 L ha ⁻¹
+ME+FE	100 mg L ⁻¹	100 mg g ⁻¹	100 mg g ⁻¹ +2,0 L ha ⁻¹	100 mg g ⁻¹ +2,0 L ha ⁻¹	100 mg g ⁻¹ +2,0 L ha ⁻¹

fertilizantes minerales u orgánicos en ningún momento del cultivo y las labores de limpieza fueron realizadas de forma manual.

Variables evaluadas. Los muestreos fueron realizados en el área efectiva de las parcelas y evaluadas 50 plantas por tratamientos. Las observaciones de las variables fisiológicas y productivas del cultivo correspondieron con los descriptores recomendados para las etapas de crecimiento y desarrollo de la planta de frijol común (Schoonhoven & Pastor-Corrales, 1987). Los parámetros relacionados con el crecimiento, como el número de hojas por planta (HP, conteo directo), el área foliar (AF, por el método de relación peso/área; se expresó en cm²) y la masa seca de las hojas (MS, separadas y colocadas en bolsas de papel en estufa a 60 C, hasta obtener peso constante y expresada en g planta⁻¹), se cuantificaron en la etapa reproductiva (R6).

Al finalizar el ciclo del cultivo (R9) fueron evaluados los parámetros productivos, como el número de vainas por planta (VP), el número de granos por vaina (SV), la masa de 100 semillas (M100, g), determinada a partir cinco muestras de 100 granos en cada unidad experimental y el rendimiento (RT, t ha⁻¹): tomando la producción obtenida en la parcela útil (kg) y se convirtió a t ha⁻¹.

Análisis estadístico. A los datos de NH, AF, MS, VP, SV, M100 y RT, se les comprobó la distribución normal, mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov, para la bondad de ajuste y la Dócima de Levene, para evaluar la homogeneidad de la varianza. Comprobados los supuestos de normalidad y de homogeneidad, se realizó un análisis de varianza de dos vías (ANOVA) y con una probabilidad del 5 %; cuando se encontraron diferencias significativas, se compararon las medias, por la prueba de Rangos Múltiples de

Tukey ($p < 0,05$). Todos los análisis mencionados, se realizaron en el software estadístico AgroEstat® (R Core Team, 2019).

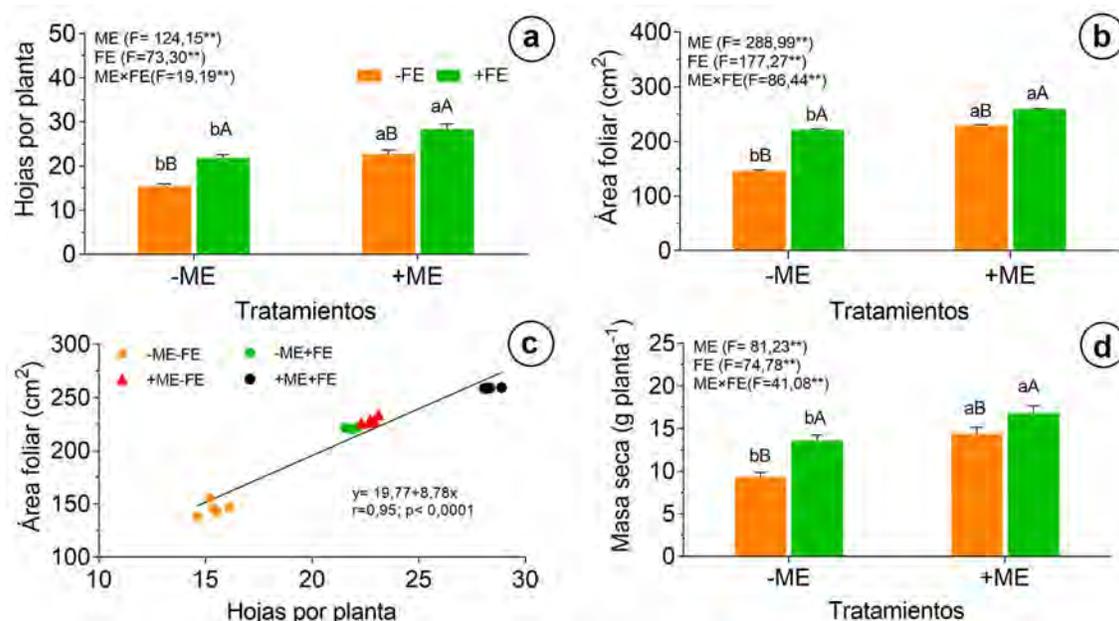
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto sobre los parámetros del crecimiento. El NH, el AF, la relación entre el NH, la AF y la MSH mostraron interacciones significativas ($p < 0,05$) entre los factores ME y FE (Figura 1a, b). El NH fue significativamente ($p < 0,001$) superior en el tratamiento ME-50+FE, en comparación con los demás tratamientos evaluados; los incrementos fueron de ~27 %, con relación a la utilización individual de ambos bioproductos y 84 %, con relación a las plantas sin bioestimulantes (-ME-FE) (Figura 1a).

La MSH exhibió diferencias significativas ($p < 0,001$) entre los tratamientos utilizados (Figura 1b). La MSH fue significativamente ($p < 0,01$) superior en las plantas tratadas con +ME+FE, con

relación a los otros tratamientos evaluados, con incrementos de 20 %, en comparación a la aplicación de individual de ME y FE y de ~81 %, comparado con las plantas sin bioestimulantes (-ME-FE) (Figura 1b). El análisis de correlación entre el NH y el AF involucró a todos los tratamientos combinados y mostró una relación positiva creciente entre ambas variables. Estos resultados indican que, cada vez que se aumente el NH, el AF se incrementa en casi nueve, especialmente, en el tratamiento +ME+FE (Figura 1a, b).

Estos resultados afirman la hipótesis, basada en que los bioestimulantes ME-50® y FitoMas-E® incrementan el crecimiento del frijol cv. Velazco largo y que la aplicación combinada de ambos bioestimulantes incrementa, aún más, el crecimiento (NH, AF y MSH). Este incremento en el crecimiento de las plantas de frijol es debido a la incorporación de nutrientes minerales (N, P, K, Ca y Mg), que favorecen diferentes procesos biológicos y celulares, que originan una mejor estructura de las plantas (Calero-Hurtado



ambos bioestimulantes mezclados son una alternativa eficiente, para incrementar el crecimiento de las plantas de frijol en siembras tardías.

Efecto sobre los parámetros productivos. El ANOVA reveló interacciones significativas ($p < 0,001$) entre los bioestimulantes ME-50[®] y FitoMas-E[®], en la producción de VP, SV, M100 y el RD (Figura 2a-d). El bioestimulante ME-50[®] fue más promisorio en el incremento de parámetros productivos VP, SV, M100 y RD, con

relación a la aplicación del FitoMas-E[®] (Figura 2a-d). El promedio de SV fue significativamente ($p < 0,001$) superior en las plantas tratadas con +ME-50+FE, respecto a los otros tratamientos -ME-FE, +ME-FE y -ME+FE, con incrementos de 55 y ~21 %, respectivamente, pero, al mismo tiempo, la aplicación de +ME-FE y -ME+FE mostraron efectos similares y fueron significativamente ($p < 0,001$) superiores, en 31 %, respecto a las plantas sin bioestimulantes (Figura 2a).

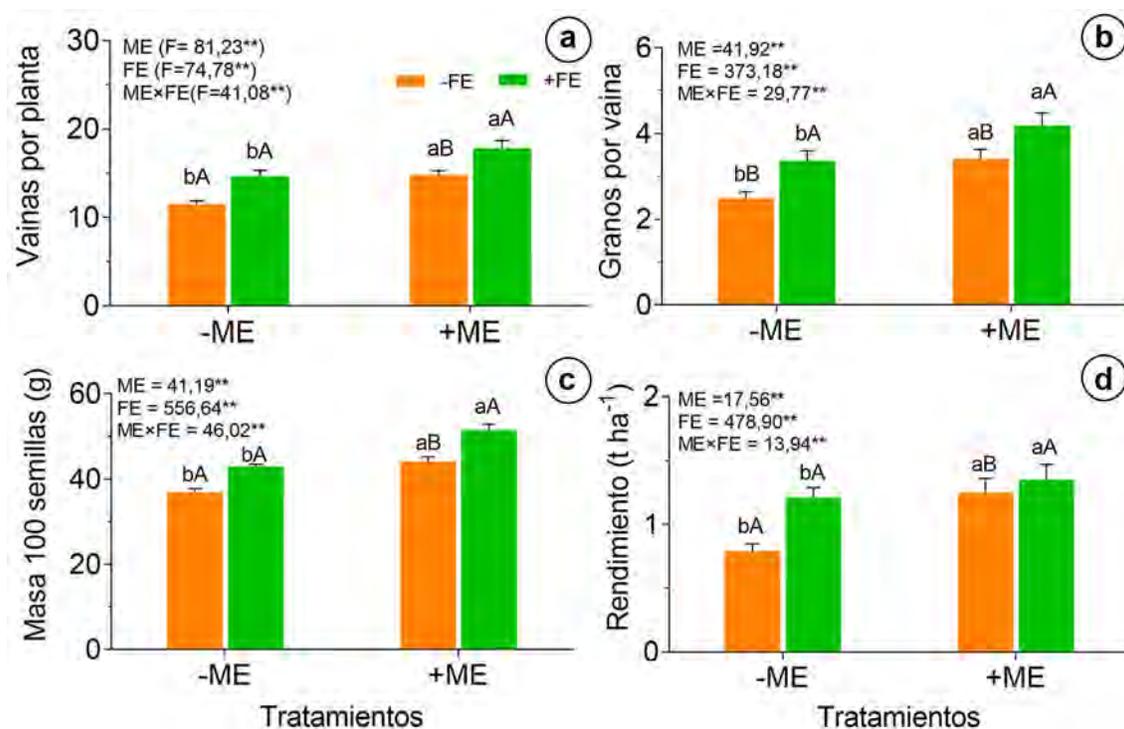


Figura 2. Efecto de los tratamientos en frijol cv. Velazco largo, en función de la aplicación o no de los bioproductos. -ME-FE, +ME-FE, -ME+FE y +ME+FE, en: a) promedio de vainas por planta; b) granos por vaina; c) masa de 100 semillas y d) el rendimiento. Letras minúsculas desiguales indican diferencias significativas entre la ausencia y la presencia de ME, y en el mismo nivel de FE, respectivamente. Letras mayúsculas diferentes muestran diferencias significativas entre los niveles de FE, en el mismo nivel de ME, de acuerdo con la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

El SV de las plantas de frijol reveló mayores resultados con la aplicación del bioestimulante ME-50[®], con relación al FitoMas-E[®] (Figura 2b). El SV mostró efectos significativos ($p < 0,001$) superiores en el tratamiento +ME+FE, comparado con los otros tratamientos evaluados, lo que significó aumentos de 64 %, respecto a la no utilización de los bioestimulantes (-ME-FE) y de 21 %, con relación a los tratamientos con +ME-FE y -ME+FE, pero, estos últimos, mostraron efectos similares y superaron en 35 % al tratamiento -ME-FE. La masa de 100 granos mostró diferencias significativas ($p < 0,001$) entre los tratamientos en plantas del cv. Velazco largo (Figura 2c). La M100 exhibió resultados superiores con la aplicación del bioestimulante ME-50[®], en comparación con el FitoMas-E[®] ($p < 0,01$). El tratamiento +ME+FE reveló efectos significativos superiores de ~40 %, comparados con el tratamiento -ME-FE y de 18 %, con relación a la aplicación individual de los bioestimulantes (+ME-FE y -ME+FE), pero, estos últimos, al

mismo tiempo, exhibieron una M100 superior a 24 %, comparado con las plantas sin bioestimulantes (-ME-FE) (Figura 2c).

El RD de las plantas de frijol fue significativamente ($p < 0,001$) superior en el bioestimulante ME-50[®], comparado con el tratamiento con FitoMas-E[®] (Figura 2d). El RD mostró efectos superiores en el tratamiento +ME-50+FE, en comparación con los demás tratamientos ($p < 0,001$), con incrementos de 71 %, en comparación con las plantas sin bioestimulantes (-ME-FE) y de ~10, en comparación con los tratamientos +ME-FE y -ME+FE, pero, estos últimos, a la misma vez, mostraron RD superiores, en 21 %, respecto al tratamiento -ME-FE ($p < 0,001$) (Figura 2d).

En este estudio, se observaron efectos positivos en el incremento de los parámetros productivos del frijol en época de siembra tardía, con la aplicación individual y combinada de los bioestimulantes

ME-50® y FitoMas-E®. Las interacciones significativas entre los parámetros productivos sugieren que el cultivar de frijol Velazco largo responde a la aplicación de ambos bioestimulantes y su combinación. Estos resultados indican que un mayor NV, SV, M100 y RD pueden estar relacionados a un mayor crecimiento expresado en el NH, AF y MSH (Figura 1).

El NV, SV, M100 son variables que constituyen un fuerte indicador del rendimiento del grano, porque influye directamente en la reducción o aumento de éste (Calero-Hurtado *et al.* 2020b). Estos resultados benéficos con la aplicación del bioestimulante ME-50®, se pueden deber a la incorporación de varios microorganismos, como *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus bulgaricum* y *Saccharomyces cerevisiae*, que facilitan la solubilización de nutrientes minerales, la incorporación de hormonas y el biocontrol de enfermedades (Keswani *et al.* 2019; Khatoon *et al.* 2020). Por otra parte, la aplicación de FitoMas-E® puede mejorar estos parámetros productivos, debido a la mejora de la nutrición, la floración, el cuajado de los frutos y el número de frutos por planta (Calero Hurtado *et al.* 2019e; Quintero *et al.* 2018).

Los resultados de esta investigación sugieren que la aplicación combinada entre los bioestimulantes ME-50® y FitoMas-E® son superiores a su aplicación individual, correspondiendo con nuestra hipótesis; esto indica, que hubo un efecto sinérgico entre ambos bioestimulantes en el aumento del crecimiento y la productividad del frijol común en época tardía. Resultados similares fueron reportados anteriormente en este cultivo, en otras épocas de siembras, en este mismo agroecosistema (Calero Hurtado *et al.* 2016; Calero Hurtado *et al.* 2019e). Estudios anteriores expresaron que el uso de microorganismos promotores del crecimiento ayuda a aumentar los rendimientos de los cultivos, además de aumentar la protección de las plantas (Paungfoo-Lonhienne *et al.* 2019).

Estudios recientes sugieren que la inoculación al suelo con el consorcio microbiano ME-50® y su aplicación alternada o asociada con el bionutriente FitoMas-E® tienen un efecto sinérgico y potencial, para aumentar el contenido nutricional de la planta y el crecimiento, con el consecuente aumento de la productividad del frijol (Calero-Hurtado *et al.* 2020b; Calero Hurtado *et al.* 2020c; Quintero *et al.* 2018). Los resultados de este estudio evidencian el posible efecto benéfico entre ambos bioestimulantes en el incremento del rendimiento del frijol común en época de siembra tardía, por lo tanto, el uso de microorganismos benéficos con bioestimulantes puede ser una alternativa eficiente para aumentar los rendimientos de este cultivo.

Por otra parte, es bien conocido que varios microorganismos tienen la capacidad de generar reguladores de crecimiento, que aprovechan las plantas para aumentar las raíces y la parte aérea, favoreciendo la productividad (Khatoon *et al.* 2020; Hassan *et al.* 2019). Los resultados de esta investigación sugieren que la inoculación del suelo y la semilla con el consorcio microbiano ME-50® y aplicaciones foliares mezcladas con FitoMas-E®, puede ser una herramienta prometedoras, eficiente y viable en los sistemas integrados de manejo de cultivos.

Finalmente, la hipótesis planteada fue verificada, sugiriendo que la aplicación combinada entre los bioestimulantes ME-50® y FitoMas-E® aumentan el crecimiento y la productividad del frijol en época de siembra tardía. Adicionalmente, estos hallazgos sugieren que la aplicación combinada de ambos bioestimulantes es una alternativa eficiente para aumentar el rendimiento de las plantas, lo que conduce a una producción agroecológica y sostenible de los cultivos.

Agradecimientos. Los autores agradecen a la Sucursal de Labiofam, por ofrecer gratuitamente los bioproductos para el desarrollo de estudio; a la Cooperativa de Créditos y Servicios “Mártires de Taguasco”, por la disponibilidad de recursos para el acompañamiento del trabajo en campo; a los pares evaluadores y a los editores de esta revista, por sus comentarios, que ayudaron a mejorar este trabajo. **Conflicto de intereses:** Los autores realizaron aportes significativos al documento y declaran que no está considerado para su publicación en ninguna otra revista, quienes declaran no tener conflicto de intereses y están de acuerdo con su publicación. **Financiación:** Todos los recursos y gastos de la investigación fueron financiados por la Cooperativa de Créditos y Servicios “Mártires de Taguasco”.

REFERENCIAS

1. AVILA, G.M. DE A.; GABARDO, G.; CLOCK, D.C.; JUNIOR, O.S.L. 2021. Use of efficient microorganisms in agriculture. *Res Soc Dev.* 10(8):e40610817515–e40610817515. <https://doi.org/10.33448/RSD-V10I8.17515>
2. BLAINSKI, J.M.L.; DA ROCHA NETO, A.C.; SCHIMIDT, E.C.; VOLTOLINI, J.A.; ROSSI, M.J.; DI PIERO, R.M. 2018. Exopolysaccharides from *Lactobacillus plantarum* induce biochemical and physiological alterations in tomato plant against bacterial spot. *Appl Microbiol Biotechnol.* 102(11):4741-4753. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8946-0>
3. CALERO, A.; QUINTERO, E.; PÉREZ, Y.; OLIVERA, D.; PEÑA, K.; CASTRO, I.; JIMÉNEZ, J. 2019. Evaluation of efficient microorganisms in the tomato seedling production (*Solanum lycopersicum* L.). *Rev Cienc Agríc.* 36(1):67-78. <https://doi.org/10.22267/rcia.193601.99>
4. CALERO HURTADO, A.; OLIVERA VICIEDO, D.; PÉREZ DÍAZ, Y.; GONZÁLEZ-PARDO HURTADO, Y.; YÁNEZ SIMÓN, L.A.; PEÑA CALZADA, K. 2020a. Manejo de diferentes densidades de plantación y aplicación de microorganismos eficientes incrementan la productividad del arroz. *Idesia.* 38(2):109-117. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292020000200109>
5. CALERO-HURTADO, A.; PÉREZ-DÍAZ, Y.; GONZÁLEZ-PARDO HURTADO, Y.; OLIVERA-VICIEDO, D.; PEÑA-CALZADA, K.; CASTRO-LIZAZO, I.; MELÉNDREZ-

- RODRÍGUEZ, J.F. 2020b. Complementary application of two bioproducts increasing the productivity on common bean. *Cultiv. Trop.* 41(3):e07.
6. CALERO HURTADO, A.; PÉREZ DÍAZ, Y.; GONZALEZ-PARDO HURTADO, Y.; YANES SIMÓN, L.A.; PEÑA CALZADA, K.; OLIVERA VICIEDO, D.; MELENDREZ RODRÍGUEZ, J.F. 2020c. Respuesta agroproductiva de la habichuela a la aplicación de vermicompost lixiviado y microorganismos eficientes. *Rev. Fac. Cienc.* 9(1):112-124. <https://doi.org/10.15446/REV.FAC.CIENC.V9N1.82584>
7. CALERO HURTADO, A.; PÉREZ DÍAZ, Y.; OLIVERA VICIEDO, D.; QUINTERO RODRÍGUEZ, E.; PEÑA CALZADA, K.; THEODORE NEDD, L.L.; JIMÉNEZ HERNÁNDEZ, J. 2019a. Effect of different application forms of efficient microorganisms on the agricultural productive of two bean cultivars. *Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín.* 72(3):8927-8935. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v72n3.76272>
8. CALERO HURTADO, A.; PÉREZ DÍAZ, Y.; PÉREZ REYES, D. 2016. Efecto de diferentes biopreparados combinado con Fitomas-E en el comportamiento agroproductivo del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). *Monfragüe Desarrollo Resiliente.* 7(2):162-176.
9. CALERO-HURTADO, A.; PÉREZ DÍAZ, Y.; QUINTERO RODRÍGUEZ, E.; OLIVERA VICIEDO, D.; PEÑA CALZADA, K. 2019b. Efecto de la aplicación asociada entre *Rhizobium leguminosarum* y microorganismos eficientes sobre la producción del frijol común. *Cienc. Tecnol. Agropecu.* 20(2):309-322. https://doi.org/10.21930/rcta.vol20_num2_art:1460
10. CALERO-HURTADO, A.; QUINTERO-RODRÍGUEZ, E.; OLIVERA-VICIEDO, D.; PEÑA-CALZADA, K.; PÉREZ-DÍAZ, Y. 2019c. Influencia de dos bioestimulantes en el comportamiento agrícola del cultivo del tabaco (*Nicotiana tabacum* L.). *Rev. Fac. Cienc.* 8(2):31-44. <https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v8n1.73546>
11. CALERO-HURTADO, A.; QUINTERO-RODRÍGUEZ, E.; OLIVERA-VICIEDO, D.; PÉREZ-DÍAZ, Y.; CASTRO-LIZAZO, I.; JIMÉNEZ, J.; LÓPEZ-DÁVILA, E. 2018. Respuesta de dos cultivares de frijol común a la aplicación foliar de microorganismos eficientes. *Cultiv. Trop.* 39(3):5-10.
12. CALERO HURTADO, A.; QUINTERO RODRÍGUEZ, E.; PÉREZ DÍAZ, Y. 2017. Utilización de diferentes bioproductos en la producción de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agrotec. Cuba.* 41(1):17-24.
13. CALERO HURTADO, A.; QUINTERO RODRÍGUEZ, E.; PÉREZ DÍAZ, Y.; GONZÁLEZ-PARDO HURTADO, Y.; GONZÁLEZ LORENZO, T.N. 2019d. Microorganismos eficientes y vermicompost lixiviado aumentan la producción de pepino. *Rev. U.D.C.A. Act. & Div. Cient.* 22(2):e1167. <https://doi.org/10.31910/RUDCA.V22.N2.2019.1167>
14. CALERO HURTADO, A.; QUINTERO RODRÍGUEZ, E.; PÉREZ DÍAZ, Y.; JIMÉNEZ HERNÁNDEZ, J.; CASTRO LIZAZO, I. 2020d. Asociación entre AzoFert® y microorganismos eficientes como potenciadores del crecimiento y la productividad del frijol. *Rev. Fac. Agron. (LUZ).* 37(4):387-409. [https://doi.org/10.47280/RevFacAgron\(LUZ\).v37.n4.04](https://doi.org/10.47280/RevFacAgron(LUZ).v37.n4.04)
15. CALERO HURTADO, A.; QUINTERO RODRÍGUEZ, E.; PÉREZ DÍAZ, Y.; OLIVERA VICIEDO, D.; PEÑA CALZADA, K.; JIMÉNEZ HERNANDEZ, J. 2019e. Efecto entre microorganismos eficientes y fitomas-e en el incremento agroproductivo del frijol. *Rev. Bio. Agro.* 17(1):25-33. <https://doi.org/10.18684/bsaa.v17n1.1173>
16. CAMPA, A.; MURUBE, E.; FERREIRA, J.J. 2018. Genetic diversity, population structure, and linkage disequilibrium in a spanish common bean diversity panel revealed through genotyping-by-sequencing. *Genes.* 9(11):518. <https://doi.org/10.3390/genes9110518>
17. FRANCISCO, J.G.; MENDES, K.F.; PIMPINATO, R.F.; TORNISIELO, V.L.; GUIMARÃES, A.C.D. 2018. Soil factors effects on the mineralization, extractable residue, and bound residue formation of Aminocyclopyrachlor in three tropical soils. *Agronomy.* 8(1):1. <https://doi.org/10.3390/agronomy8010001>
18. HASSAN, M.K.; MCINROY, J.A.; KLOEPPER, J.W. 2019. The interactions of rhizodeposits with plant growth-promoting rhizobacteria in the rhizosphere: A review. *Agriculture.* 9:142. <https://doi.org/10.3390/agriculture9070142>
19. HERNÁNDEZ, J.A.; PÉREZ, J.J.M.; BOSCH, I.D.; CASTRO, S.N. 2015. Clasificación de los suelos de Cuba. Ed. Ediciones INCA (Mayabeque, Cuba). 93p.
20. KESWANI, C.; PRAKASH, O.; BHARTI, N.; VÍLCHEZ, J.I.; SANSINENEA, E.; LALLY, R.D.; BORRIS, R.; SINGH, S.P.; GUPTA, V.K.; FRACETO, L.F.; LIMA, R.; SINGH, H.B. 2019. Re-addressing the biosafety issues of plant growth promoting rhizobacteria. *Sci. Total Environ.* 690:841-852. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.046>
21. KHATOON, Z.; HUANG, S.; RAFIQUE, M.; FAKHAR, A.; AQEEL, M.; SANTOYO, G. 2020. Unlocking the potential of plant growth-promoting rhizobacteria on soil health and the sustainability of agricultural systems. *J. Environ. Manage.* 273(8):111118. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111118>

22. KUMARI, B.; MALLICK, M.A.; SOLANKI, M.K.; HORA, A.; GUO, W. 2019. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): Modern prospects for sustainable agriculture. In: Ali Ansari, R.; Mahmood, I. (eds.). Plant health under biotic stress. Springer. p.109-127.
https://doi.org/10.1007/978-981-13-6040-4_6
23. MINISTERIO DE LA AGRICULTURA, MINAG. 2019. Instructivo técnico para la producción de frijol y maíz. MINAG (La Habana, Cuba). 37p.
24. MONTANO, R.; ZUAZNABAR, R.; GARCÍA, A.; VIÑALS, M.; VILLAR, J.C. 2007. Fitomas E: Bionutriente derivado de la industria azucarera. ICIDCA Deriv Caña Azúcar. 41(3):14-21.
25. MWALE, S.E.; SHIMELIS, H.; MAFONGOYA, P.; MASHILO, J. 2020. Breeding tepary bean (*Phaseolus acutifolius*) for drought adaptation: A review. Plant Breed. 139(5):821-833.
<https://doi.org/10.1111/pbr.12806>
26. NASSARY, E.K.; BAIJUKYA, F.; NDAKIDEMI, P.A. 2020. Intensification of common bean and maize production through rotations to improve food security for smallholder farmers. J. Agric. Food Res. 2:100040.
<https://doi.org/10.1016/J.JAFR.2020.100040>
27. PAUNGFUO-LONHIENNE, C.; REDDING, M.; PRATT, C.; WANG, W. 2019. Plant growth promoting rhizobacteria increase the efficiency of fertilisers while reducing nitrogen loss. J Environ Manage. 233:337-341.
<https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2018.12.052>
28. QUINTERO, E.; CALERO, A.; PÉREZ, Y.; ENRÍQUEZ, L. 2018. Efecto de diferentes bioestimulantes en el rendimiento del frijol común. Cent Agrícola. 45:73-80.
29. R CORE TEAM. 2019. "R: A language and environment for statistical computing; 2015." Disponible desde Internet en: <http://www.r-project.org>
30. SCHOONHOVEN, A.V.; PASTOR-CORRALES, M.A. 1987. Sistema estándar para la evaluación de germoplasma de frijol. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) (Colombia). 56p.
31. SILVA, A.L.DA.; CORDEIRO, R.S.; ROCHA, H.C.R. 2022. Aplicability of Efficient Microorganisms (EM) in agriculture: literature review. Res. Soc. Dev. 11(1):e32311125054–e32311125054.
<https://doi.org/10.33448/RSD-V11I1.25054>
32. SINGH, A.; KARMEGAM, N.; SINGH, G.S.; BHADAURIA, T.; CHANG, S.W.; AWASTHI, M.K.; SUDHAKAR, S.; ARUNACHALAM, K.D.; BIRUNTHA, M.; RAVINDRAN, B. 2020. Earthworms and vermicompost: an eco-friendly approach for repaying nature's debt. Environ. Geochem. Health. 42(6):1617-1642.
<https://doi.org/10.1007/s10653-019-00510-4>



Caracterización de daño y distribución espacial de *Ceroplastes cirripediformis* en maracuyá en el Caribe Colombiano

Damage characterization and spatial distribution of *Ceroplastes cirripediformis* in yellow passion fruit in the Colombian Caribbean

Omar Ríos-Suárez¹ ; Claudio Fernández-Herrera¹ ; Karol Pérez-García¹ 

¹Universidad de Córdoba. Montería - Córdoba, Colombia; e-mail: omarríos.biologo@gmail.com; cfernandezherrera@correo.unicordoba.edu.co; kperez@correo.unicordoba.edu.co

Cómo citar: Ríos-Suárez, O.; Fernández-Herrera, C.; Pérez-García, K. 2022. Caracterización de daño y distribución espacial de *Ceroplastes cirripediformis* en maracuyá en el Caribe Colombiano Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 25(1):e1739. <http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1739>

Artículo de acceso abierto publicado por Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, bajo una Licencia Creative Commons CC BY-NC 4.0

Publicación oficial de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Institución de Educación Superior Acreditada de Alta Calidad por el Ministerio de Educación Nacional.

Recibido: octubre 17 de 2020

Aceptado: enero 25 de 2022

Editado por: Helber Adrián Arévalo Maldonado

RESUMEN

El maracuyá es la principal especie del género *Passiflora*. Sus principales productores son Brasil, Ecuador, Colombia y Perú con, aproximadamente, 805.000 t/año. En Colombia, se cultivaron 8.164 ha en 2019, con una producción de 137.622 t y un rendimiento promedio de 16.86 t/ha; no obstante, este agroecosistema es afectado por *Ceroplastes cirripediformis*, que causa daños severos y pérdidas económicas sustanciales. Para conocer su potencial de daño e importancia, se investigó los diferentes grados de infestación y la distribución espacial de *C. cirripediformis* en el agroecosistema maracuyá. Para esto, se estableció una escala de daño y se elaboró una grilla espacial sobre el cultivo, seleccionando 36 puntos, en los cuales, se realizaron muestreos mensuales, durante seis meses. En cada punto, se evaluó el grado de severidad de la escama y las variables meteorológicas. Con esta información, se estimaron los índices de dispersión, varianza/media, índice de Morisita y exp. K de la binomial negativa. Asimismo, se realizó un análisis de correlación (r de Pearson), entre los factores abióticos y los índices

evaluados. Los resultados indican que los grados de severidad de *C. cirripediformis* establecidos fueron: grado 1 (<40 individuos), grado 2 (41-80 individuos), grado 3 (>a 81 individuos). De acuerdo con el análisis de correlación, los factores de temperatura y de precipitación inciden notablemente sobre las poblaciones del cóccido y su distribución. Los índices de dispersión mostraron que las poblaciones en el cultivo de maracuyá se establecen en agregado, por lo que es esencial focalizar estrategias de manejo hacia puntos específicos.

Palabras clave: Coccidae; Escama de cera; Escala de daño; *Passiflora*; Severidad.

ABSTRACT

The passion fruit is the main species of the genus *Passiflora*. Its main producers are Brazil, Ecuador, Colombia, and Peru with approximately 805,000 t/year. In Colombia, 8,164 ha were cultivated in 2019, with a production of 137,622 t and an average

yield of 16.86 t/ha. However, this agroecosystem is affected by *Ceroplastes cirripediformis*, which causes severe damage and substantial economic losses. To know its potential for damage and importance, the different degrees of infestation and the spatial distribution of *C. cirripediformis* in the passion fruit agroecosystem was investigated. For this, a damage scale was established, and a spatial grid was drawn up on the crop, selecting 36 points in which monthly samplings were carried out for six months. At each point, the degree of severity of the scale and the meteorological variables were evaluated. With this information, the dispersion indices, variance/mean, Morisita index, and exp. K of the negative binomial. Likewise, a correlation analysis (Pearson's r) was performed between the abiotic factors and the evaluated indices. The results indicate that the degrees of severity of *C. cirripediformis* established were: grade 1 (<40 individuals), grade 2 (41-80 individuals), grade 3 (> 81 individuals). According to the correlation analysis, the temperature and precipitation factors have a notable impact on the populations of the coccyx and its distribution. The dispersion indices found in the populations in the passion fruit cultivation were achieved in aggregate, so it is essential to focus management strategies towards specific points.

Keywords: Barnacle scale; Coccidae; Damage scale; *Passiflora*; Severity.

INTRODUCCIÓN

El constante crecimiento poblacional de la humanidad permite el desarrollo de nuevos mercados, en diferentes sectores económicos (Puerto Becerra, 2010). Es el caso del sector frutícola, donde se reflejó un incremento de la producción de 3,8 %, entre 2017 y 2018, siendo Asia, América Latina y África, las tres regiones principales productoras del mundo, lo cual, obedece al aumento del área cosechada (Molina, 2016; FAO, 2020). Se estima que para el periodo comprendido entre el 2019 y el 2028, se tendrá un crecimiento mesurado, aproximadamente, del 2,8 % en promedio, encabezando la lista las frutas tropicales, como el mango, la piña, la papaya, el aguacate, las pasifloras y los cítricos (Orrego *et al.* 2020; FAO, 2020).

En Latinoamérica, Colombia es el segundo país productor de frutas tropicales, debido a su ubicación geográfica y a la variedad de frutas disponibles, que exhiben excelentes cualidades sensoriales, nutricionales o nutraceuticas (Molina-Hernández *et al.* 2019). Entre las frutas tropicales con gran importancia comercial, se encuentra el maracuyá (*Passiflora edulis* fo. *flavicarpa*, Degener 1932), que pertenece a la familia Passifloraceae (Cañizares Chacín & Jaramillo Aguilar, 2015; Molina-Hernández *et al.* 2019). Esta familia posee entre 17 a 25 géneros, dentro de los cuales, *Passiflora* resulta ser el más numeroso e importante en la economía, ya que agrupa, aproximadamente, 575 especies (Ocampo *et al.* 2010).

Los principales productores de maracuyá, a nivel mundial, son Brasil, Ecuador, Colombia y Perú con, aproximadamente, 805.000 t/año (Passionfruit, 2021). En Colombia, esta fruta fue introducida a inicio de los 60's y en 2019, la superficie dedicada a este cultivo fue

de 8.164 hectáreas, con una producción de 137.622 toneladas y un rendimiento promedio de 16.86 ton/ha, de las cuales, el 70 % son destinados a la industria como jugo concentrado para exportación, debido a sus características nutritivas, coloración amarillo-naranja, sabor ácido y aroma exótico (Talcott *et al.* 2003; Molina-Hernández *et al.* 2019; Agronet, 2021).

A pesar de la gran demanda que genera esta fruta tropical, uno de los factores limitantes para su desarrollo corresponde al ataque de varios insectos plagas (Menacé Almea *et al.* 2019). Se reportan en Colombia, las especies, *Langsdorfia* sp., *Diabrotica* sp., *Hexaleurodicus* sp., *Trigona* sp., *Drosophila* sp., *Agraulis* sp., *Leptoglossus* sp., *Tetranychus urticae*, *Tetranychus mexicanus*, *Neohydatothrips* sp., *Dasiops inedulis*, *Corythucha gossypii*, *Aphis gossypii*, *Myzus persicae*, *Thrips tabaci* Lindeman, *Frankliniella auripes* Hood, *Frankliniella occidentalis*, Perg., *Neohydatothrips signifer* Priesner, *Ceroplastes cirripediformis*, *Dione juno juno* Cramer, *Eveides isabella* Huebneri, *Polyphagotarsonemus latus*, *Anastrepha pallidipennis*, *Drosophila* sp., *Diactor bilineatus*, *Agrotis ipsilon*, *Feltia* sp. (Kondo, 2009; Hernández M. *et al.* 2011; Romero-Ramírez *et al.* 2018).

Dentro de este complejo de plagas, *Ceroplastes cirripediformis* Comstock, 1881 (Hemiptera: Coccidae), comúnmente conocida como escama de percebe o tortugueta, es la única especie del género *Ceroplastes*, reportada en el maracuyá (Kondo, 2009; García *et al.* 2019); sin embargo, se referencia como una plaga altamente polífaga, capaz de alimentarse de plantas hospedadoras de 119 géneros en 63 familias, en más de 32 países (García *et al.* 2019), razón por la que, en el 2017, el centro internacional para la agricultura y biociencia (CABI), la designó como una escama invasiva, que causa daños severos a las plantas hospedantes, generando pérdidas económicas sustanciales (Wang *et al.* 2020). Como la mayoría de los insectos escama, esta especie se caracteriza por su hábito chupador, que inserta su estilete en el floema y otros tejidos de la planta, donde destruye al hospedante, succionando jugo directamente de él y excretando melaza para inducir manchas de carbón. El primer y segundo instar ninfal infestan las hojas de las plantas hospedantes y migran a los tejidos leñosos durante el tercer instar, donde culminan su ciclo de vida (Wang *et al.* 2020).

Para planificar las estrategias de control, incluidas dentro del manejo integrado de plagas (MIP), es importante conocer cómo se dispersan las poblaciones del insecto plaga en tiempo y espacio (Paz & Arrieche, 2017). Asimismo, resulta esencial tener conocimiento de los atributos que le son inherentes a los sistemas de vida, como son la disposición que presentan en el espacio, las fluctuaciones poblacionales en el tiempo y su relación con las variables meteorológicas (Sánchez-Castro *et al.* 2016).

En cuanto a la disposición espacial de las poblaciones de insectos es fundamental tener en cuenta la interacción entre la dinámica de la población y los factores bióticos o abióticos (Sciarretta & Trematerra, 2014), debido a que estas interacciones permiten exhibir patrones de distribución en el espacio, ya sea de forma homogénea, aleatoria o agrupada (Fortin *et al.* 2006). Cada tipo de distribución espacial podría ser el resultado de restricciones

medioambientales, como la disponibilidad de recursos, el clima, el tipo de suelo, la entrada de sustancias químicas y la manipulación física en los cultivos, lo que da como resultado, cambios en el paisaje (Hahn *et al.* 2017). Comprender estos cambios permite analizar cómo las plagas agrícolas se distribuyen espacialmente y qué decisiones de manejo son las más adecuadas (Hahn *et al.* 2017). Además, se logra optimizar qué medidas de control se pueden dirigir hacia las zonas específicas de infestación, reduciendo el uso de insecticidas, retrasando el desarrollo de resistencia y promoviendo la conservación de enemigos naturales (Pérez-Álvarez *et al.* 2010).

En relación con lo anterior, se planteó reconocer los diferentes grados de infestación de *C. cirripediformis*, su distribución espacial y la relación de la distribución espacial con la temperatura y la precipitación, en el agroecosistema maracuyá.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación, se realizó en un cultivo de maracuyá, establecido en el municipio de Ciénaga de Oro, Córdoba, Colombia (Figura 1), ubicado a 8°49'25,3" LN 75°36'12,4" LO, con una temperatura

promedio de 30,5 °C y humedad relativa de 77 %, lo que permite clasificarlo, de acuerdo con Holdridge (1982), como una zona de bosque seco tropical (Gobernación de Córdoba, 2012).

Escala de daño para *C. cirripediformis*. Se muestrearon al azar 50 tallos de maracuyá con incidencia de *C. cirripediformis*. Con el uso de una cinta métrica, se calculó el rango en que fluctúan las poblaciones del cóccido en cada tallo, determinando el intervalo promedio en que oscila *C. cirripediformis* en tallos. Posteriormente, se contabilizó el número de escamas presentes por cada segmento de tallo, independientemente, del estado de desarrollo del cóccido y se registraron los daños causados por la escama sobre cada una de las estructuras vegetales. En este parámetro, todas las plantas oscilaban con una edad de 18 a 20 meses (etapa reproductiva) y al muestrear no se discriminó el lugar de fijación del insecto en las diferentes secciones del tallo, debido a la ubicación que presenta *C. cirripediformis*, según el estado de desarrollo.

Con la información obtenida, se construyó una tabla de niveles de severidad, teniendo en cuenta tres criterios: número de individuos presentes por cada grado, longitud de la sección del tallo afectado

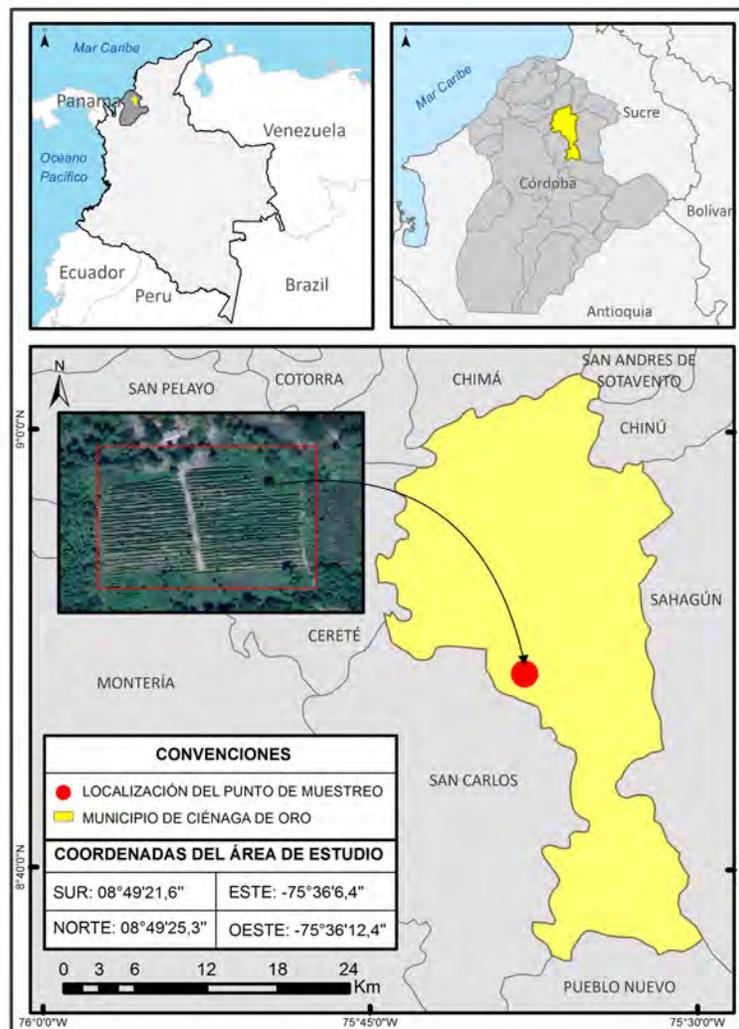


Figura 1. Ubicación geográfica de la zona de estudio (Municipio de Ciénaga de Oro, Córdoba, Colombia).

y caracterización de los daños expresados por cada grado de infestación, lo que permitió evaluar el grado de severidad, por cada punto de muestreo.

Tipo de muestreo. Se procedió a realizar un muestreo sistemático, donde se establecieron puntos específicos, teniendo en cuenta el área del cultivo y la densidad de plantas. Para esto, se utilizó una grilla espacial, donde se seleccionaron seis calles del cultivo y, en cada una, seis puntos de muestreo, a una distancia de 30 m de largo x 18 m de ancho, para un total de 36 puntos. Estos puntos fueron marcados dentro del lote y georreferenciados con un GPS, permitiendo, de esta forma, la ubicación exacta de cada punto dentro del predio. Teniendo en cuenta la escala de daño y el tipo de muestreo establecido, se llevaron a cabo muestreos mensuales donde se registró el grado de severidad de la escama.

Variables evaluadas. Se instaló un termómetro de máximos y mínimos en el cultivo y durante un periodo de 6 meses, se realizó el registro diario de los valores de temperatura, en tres espacios del día (mañana, medio día y tarde). Asimismo, con el uso de un pluviómetro, se hizo registro de cada uno de los valores correspondientes a las precipitaciones ocurridas, durante el desarrollo de la investigación.

Distribución espacial. Con la información recopilada, se realizó una base de datos, donde se registró, mensualmente, el grado de severidad y la abundancia de *C. cirripediformis*. Los valores de abundancia obtenidos fueron utilizados para determinar los índices de dispersión, varianza/media, índice de Morisita y exponente K de la binomial negativa, con los cuales, se estimó el tipo de distribución que presentan las poblaciones de la escama.

Para determinar el índice de varianza/media (S^2/\bar{x}), se utilizó la ecuación 1.

$$I = \frac{S^2}{\bar{x}} \quad \text{ecuación 1}$$

Donde, I es el índice de dispersión, s^2 la varianza y \bar{x} es la media. Si los valores de la relación se aproximan a 1, se puede decir que la distribución de la población es completamente aleatorizada; valores de 0 o cercanos a este indican una distribución espacial uniforme y valores mayores de 1 señalan una distribución agregada (Fernandes *et al.* 2003; Vivas C. & Notz, 2011; Silva *et al.* 2016).

Para estimar el índice de Morisita (I_δ), se utilizó la ecuación 2.

$$I_\delta = \frac{\sum ni(n_i-1)}{n(n-1)} N \quad \text{ecuación 2}$$

Donde, I_δ es el índice de agregación, n_i es el número de individuos en cada una de las muestras, n el total de individuos en el total de las muestras, N corresponde al número de muestras. Así, cuando $I_\delta = 1$, la distribución es aleatoria; cuando $I_\delta > 1$ la distribución es del tipo contagioso y cuando $I_\delta < 1$ indica una distribución regular (Fernandes *et al.* 2003; Vivas C. & Notz, 2011; Silva *et al.* 2016).

Con relación al exponente K de la distribución binomial negativa, se utilizó la ecuación 3.

$$k_1 = \frac{(\bar{x})^2}{s^2 - \bar{x}} \quad \text{ecuación 3}$$

Donde, K_1 es el índice de agregación, \bar{x} es la media y s^2 la varianza. Este parámetro es una medida inversa del grado de agregación, en este caso, los valores negativos indican una distribución regular o uniforme, los valores positivos, cercanos a cero, indican disposición agregada y los valores más altos que ocho indican una disposición al azar (Fernandes *et al.* 2003; Vivas & Notz, 2011; Silva *et al.* 2016).

Con el uso de gráficos, se compararon los grados de severidad de *C. cirripediformis* con las variables de temperatura y precipitaciones. De igual manera, se realizó un análisis de correlación (r de Pearson) en el programa estadístico R versión 4.1.2 (R core team, 2021), entre los factores abióticos y los índices de dispersión evaluados, permitiendo estimar el efecto que pueden tener estas variables sobre los grados de infestación del cóccido, en el transcurso del tiempo.

También, se llevó a cabo la estimación de los datos de abundancia en cada mes por medio del método de interpolación IDW (Distancia Inversa Ponderada), ejecutado en el software ArcGIS 10.1 (Spatial Analyst Tools/Interpolation/IDW) (ESRI, 2012). Realizado este proceso, se elaboraron los respectivos mapas, teniendo en cuenta la reclasificación de la escala de daño de *C. cirripediformis* por el IDW (< 0 corresponde a ausencia de plantas; valores entre 0 y 0,5, equivalen a grado 0; entre 0,5 y 1,5, equivalen a grado 1; entre 1,5 y 2,5, corresponde a grado 2 y los valores superiores a 2,5, equivalen a grado 3).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de daños y grados de severidad de la escama.

La presencia de *C. cirripediformis* en el cultivo permitió determinar una escala de daño para evaluar la presencia del cóccido en los diferentes muestreos. Se obtuvo que las altas poblaciones del cóccido se agruparon en longitudes, que variaron de 20 a 63 cm, con un promedio de $33,4 \pm 9,7$ cm y más de 80 individuos, independientemente, del estado en desarrollo del insecto; sin embargo, existían poblaciones con menor cantidad de individuos con relación a la longitud del tallo.

Con base a estas observaciones se establecieron 4 grados de severidad:

- Donde el grado 0 se caracterizó por la ausencia del cóccido, presentar tallos sanos y vigorosos de color verde, con haces vasculares en buen estado fisiológico y hojas fotosintéticamente activas sin daños mecánicos.
- El grado 1 presentó de 1 a 40 individuos en instar ninfal N3, N4. Los tallos, se caracterizaban por su coloración verde y aún vigorosa. Ante la presencia de la escama, se producen excreciones

de miel de rocío, que resultan de gran atracción para agentes fúngicos oportunistas, que producen fumagina sobre la superficie del tallo.

- En el grado 2, el número de individuos varía de 41 a 80, notándose la presencia de instares ninfales N3, N4 y adultos. Los tallos mantienen su coloración, aunque las paredes de los tejidos internos son más secas en comparación con el grado 1.
- En el grado 3, la población sobrepasa los 81 individuos, con presencia de ninfas N3, N4 y adultos, siendo, este último, de mayor abundancia. La planta presenta exceso de fumagina, tanto en tallos como hojas e, incluso, sobre las mismas escamas, lo que influye en la reducción de la fotosíntesis, daños cosméticos al fruto y otros órganos de la planta. Con el paso del tiempo y la severidad del cóccido, los tallos cambian de coloración, pasando a un color marrón claro, las hojas se vuelven cloróticas y se desprenden, la planta se descompensa, a nivel fisiológico y morfológico, presenta marchitez descendente y posterior muerte (Figura 2).

La descripción de los anteriores grados de severidad coincide con los reportes de Kondo (2009), quién evaluó la severidad de *C. cirripediformis* en tallo en diferentes lotes de maracuyá, en Palmira, Valle del Cauca, concluyendo que, a un nivel bajo, el control de la escama se puede combatir con podas directas, aplicación de extractos naturales (Aceite de Neem), aspersiones adecuadas de productos químicos y monitoreo constante.

Al comparar los grados de severidad con los factores de temperatura y de precipitación, se obtuvo que la precipitación es un factor de regulación de la escama en el maracuyá, dado que las abundancias de éstas, registradas hasta el mes 4, fueron disminuyendo en los meses 5 y 6, donde se presentaron lluvias hasta el punto de no registrar individuos, en 10 puntos de muestreo (Figura 3).

Al correlacionar este factor abiótico con los índices de dispersión evaluados, se determinó que el índice de dispersión (0,32) y el índice de Morisita (0,09), se asociaron positivamente presentando una correlación directamente proporcional, es decir, a medida que aumentan las precipitaciones el estado de agregación se mantiene en las poblaciones de *C. cirripediformis*; no obstante, el índice de la binomial negativa (-0,19), se asoció negativamente en relación con la precipitación, por lo que, a medida que aumenta este factor, los valores de este índice se acercan a cero, manteniendo una distribución en agregado; sin embargo, si los valores pasan de cero a valores negativos, se vería reflejada una distribución regular en las poblaciones del cóccido, incidiendo, notablemente, esta variable sobre el número de individuos o el ciclo de vida de la especie (Tabla 1).

Lo anteriormente descrito, coincide con los resultados reportados por Uriás-Lopez *et al.* (2010), quienes indicaron que poblaciones de *Aulacaspis tubercularis* Newstead en huertos comerciales de mango, disminuyó en julio y agosto, donde el factor precipitación osciló de 316 a 459 mm, lo que produjo un descenso drástico de las poblaciones del insecto.



Figura 2. Presencia de poblaciones de *Ceroplastes cirripediformis* en tallos de maracuyá *Passiflora edulis* fo. *Flavicarpa*.

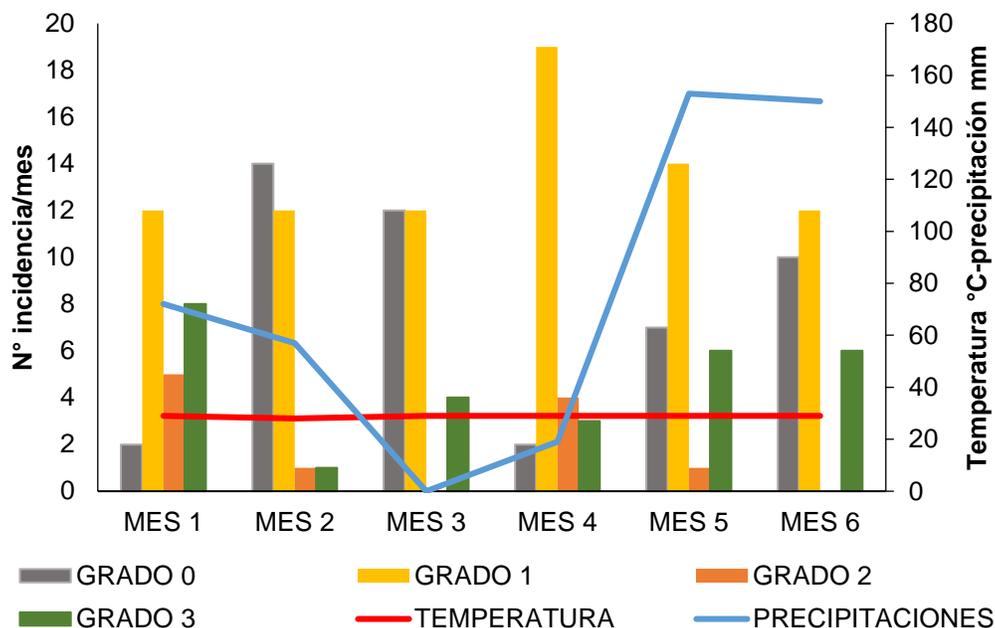


Figura 3. Influencia de los factores abióticos sobre los grados de severidad de *Ceroplastes cirripediformis* en tallos de maracuyá *Passiflora edulis* fo. *flavicarpa*.

(Mes 1: diciembre, Mes 2: enero; Mes 3: febrero, Mes 4: marzo, Mes 5: abril, Mes 6: mayo).

Tabla 1. Matriz de correlación de las condiciones ambientales evaluadas de temperatura y de precipitación y los índices de dispersión, Morisita y binomial negativa.

Factores abióticos	ID	IM	K
Temperatura (°C)	-0,06	-0,72°	0,88*
Precipitación	0,32	0,09	-0,19

*: Diferencias al 5 %; °: Diferencias al 10 %.

Por otro lado, las temperaturas reflejadas durante los meses evaluados se comportaron de manera constante. De acuerdo con la correlación de Pearson entre la temperatura y los índices de dispersión evaluados, este factor se asoció negativamente con el índice de dispersión (-0.06) y Morisita (-0.72), lo que indica que son inversamente proporcionales. Por tanto, si aumenta la temperatura disminuye el estado de agregación de *C. cirripediformis*, pudiendo pasar a una distribución aleatoria o uniforme, debido al efecto que esta variable ejerce sobre las poblaciones del cóccido. Por el contrario, la temperatura se asoció positivamente con el índice de distribución binomial negativa, comportándose directamente proporcional a esta variable, lo que demuestra que, al aumentar o disminuir la temperatura y los valores del índice de la binomial negativa, las poblaciones se alejan de un estado de agregación, reflejando una distribución, de acuerdo con las condiciones de temperatura presente y el número poblacional de la especie.

Por tanto, la temperatura es un factor que puede influir en la distribución de *C. cirripediformis* al igual que en su tasa reproductiva, ya que, a temperaturas cálidas, tiende a disminuir la duración del ciclo de vida y, a su vez, aumenta la tasa reproductiva de la escama, tal como lo demuestran Marín-Loayza & Cisneros-Vera (1995), al comparar la duración del ciclo de vida de *C. cirripediformis*, en

época de verano e invierno. Asimismo, Abd-Rabou *et al.* (2009) y Robayo Camacho & Chong (2015) reportaron que, a una mayor temperatura, *Saissetia coffeae* (Walker) alcanzó una menor duración del ciclo de vida, resultados que coinciden con los obtenidos en esta investigación, para los meses 3 y 4 (Figura 3).

Distribución espacial. La escama del maracuyá, bajo las condiciones del municipio de Ciénaga de Oro, Córdoba, registró una distribución en agregado, corroborado con los diferentes índices de dispersión evaluados (Tabla 2). Dicha distribución se confirma, puesto que los valores obtenidos para los índices de varianza/media y Morisita son superiores a uno, como fue descrito por Silva *et al.* (2016). De la misma forma, con la X^2 y F, se corrobora que el índice varianza/media y Morisita, respectivamente, reflejaron una distribución en agregado en las poblaciones de *C. cirripediformis*, durante los meses evaluados. Con relación al avance de las fechas de muestreo el valor de K fue más cercano a cero, lo que evidencia un mayor grado de agregación, como lo referencian Vivas C. & Notz (2011), Silva *et al.* (2013) y Silva *et al.* (2016) (Tabla 2).

La distribución descrita para esta especie puede estar atribuida a los factores abióticos estudiados. Autores, como Badii *et al.* (2011) y Silva *et al.* (2016), consideran que esta distribución puede obedecer

Tabla 2. Medias (m), varianzas (S²), índices de dispersión (I, razón varianza/media), índice de Morisita (I_δ) y exponente K de la distribución binomial negativa de la abundancia del insecto plaga *Ceroplastes cirripediformis* en un cultivo de maracuyá *Passiflora edulis* fo. *flavicarpa* en el municipio de Ciénaga de Oro, Córdoba, Colombia. (Mes 1: diciembre, Mes 2: enero; Mes 3: febrero, Mes 4: marzo, Mes 5: abril, Mes 6: mayo).

Muestreo	m	S ²	I	I _δ	K	X ² (I)	F (I _δ)
Mes 1	46,78	1530,84	32,72*	1,65*	1,47 ^{ag}	883,44	32,51
Mes 2	14,35	427,05	29,74*	2,94*	0,49 ^{ag}	803,11	29,81
Mes 3	6,60	156,46	23,68*	4,32*	0,29 ^{ag}	639,41	23,62
Mes 4	20,21	484,69	23,97*	2,09*	0,87 ^{ag}	647,39	23,8
Mes 5	17,25	766,12	44,41*	3,20*	0,39 ^{ag}	1199,14	40,27
Mes 6	5,71	99,10	17,34*	3,77*	0,34 ^{ag}	468,25	17,31

*: Significativo al 5 %; ag: Agregado.

a diferentes factores bióticos o abióticos, como microclimas (temperatura, humedad o viento), el desarrollo de huevos en masas debajo de la capa cerosa de la madre, preferencia por ciertos tejidos de la planta por parte de ninfas y adultos, respuestas a feromonas o parasitismo diferencial.

Por otro lado, es importante resaltar que la presencia de altas poblaciones del cóccido en ciertos puntos del agroecosistema genera competencia intraespecífica, lo que provoca que las poblaciones del insecto se dispersen hacia los alrededores, generando una distribución escalonada de los grados de severidad dentro del cultivo que, en el tiempo, se manifiesta en una infestación generalizada. En razón a lo anterior, se sugiere realizar un monitoreo constante, la ubicación de los primeros focos de mayor incidencia de la escama y el manejo oportuno, a través de podas de remoción, destrucción de tejido vegetal removido, eliminación de arvenses hospederas, uso de productos selectivos, entre otros. Esquivel Higuera & Jasso García (2014) y Silva *et al.* (2016) registraron distribución espacial en agregado del gusano soldado *Mytvimma unipuncta* y de *Vatiga* spp., en cultivo de maíz y e yuca, respectivamente, para lo cual, sugirieron basar la reducción poblacional de estos insectos, mediante la focalización de estrategias de manejo hacia puntos específicos o focos de infestación.

Agradecimientos. Al laboratorio de Entomología de la Universidad de Córdoba y productores de la zona donde se desarrolló la investigación. **Conflicto de intereses:** El artículo fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados. **Financiación:** Este estudio fue financiado por Colciencias, a través de la convocatoria No 697 para la formación de capital humano de alto nivel para el departamento de Sucre Maestría Nacional 2014.

REFERENCIAS

- ABD-RABOU, S.; ALI, N.; EL-FATIH, M.M. 2009. Life table of the hemispherical scale, *Saissetia coffeae* (Walker) (Hemiptera: Coccidae). Egyptian Academic Journal Biological Sciences a Entomology (Egypt). 2(2):165-170. <https://doi.org/10.21608/EAJBSA.2009.15438>
- AGRONET. 2021. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia. Análisis – estadísticas, maracuyá. Disponible desde Internet en: <http://www.agronet.gov.co> (con acceso el 17/11/2021).
- BADII, M.H.; GUILLEN, A.; CERNA, E.; LANDEROS, J. 2011. Dispersión espacial: El prerrequisito esencial para el muestreo. Daena: International Journal Good Conscience (México). 6(1):40-71.
- CAÑIZARES CHACÍN, A.; JARAMILLO AGUILAR, E. 2015. El cultivo de la Maracuyá en el Ecuador. Universidad Técnica de machala – UTMACH (Ecuador). 82p.
- ENVIROMENTAL SYSTEMS RESEARCH INSTITUTE, ESRI. 2012. ArcGIS Resource Center. Disponible desde Internet en: <https://support.esri.com/es/download/1951> (con acceso el 08/03/2020).
- ESQUIVEL HIGUERA, V.; JASSO GARCÍA, Y. 2014. Distribución espacial y mapeo de gusano soldado en seis localidades del estado de México, en el año 2011. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 5(6):923-935. <https://doi.org/10.29312/remexca.v5i6.879>
- FERNANDES, M.G.; BUSOLI, A.C.; BARBOSA, J.C. 2003. Distribuição espacial de *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em algodoeiro. Neotropical Entomology (Brasil). 32(1):107-115. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2003000100016>

1. ABD-RABOU, S.; ALI, N.; EL-FATIH, M.M. 2009. Life table of

8. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, FAO. 2020. Major tropical fruits - Preliminary market results 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponible desde Internet en: <https://www.fao.org/3/cb6196en/cb6196en.pdf> (con acceso el 17/11/2021).
9. FORTIN, M.-J.; DALE, M.R.; VER HOEF, J. 2006. Spatial analysis in ecology. In: El-Shaarawi, A.; Piegorisch, W.W. (eds). Encyclopedia of environmetrics. Ed. John Wiley and Sons (Chichester, England). p.2051-2058. <https://doi.org/10.1002/9780470057339.vas039>
10. GARCÍA, M.; DENNO, B.; MILLER, D.; MILLER, G.; BENDOV, Y.; HARDY, N. 2019. ScaleNet: a literature-based model of scale insect biology and systematics. Disponible desde Internet en: <http://scalenet.info> (con acceso el 17/11/2021).
11. GOBERNACIÓN DE CÓRDOBA. 2012. Plan departamental para la gestión de riesgos de Córdoba. Disponible desde Internet en: <https://repositorio.gestiondelriesgo.gov.co/bitstream/handle/20.500.11762/367/PDGR%20Cordoba.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (con acceso el 20/11/2021).
12. HAHN, N.G.; RODRIGUEZ-SAONA, C.; HAMILTON, G.C. 2017. Characterizing the spatial distribution of brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys* Stål (Hemiptera: Pentatomidae), populations in peach orchards. Plos One (United states). 12(3):e0170889. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170889>
13. HERNÁNDEZ M., L.M.; CASTILLO, F.; OCAMPO, J.; WYCKHUYS, K.A.G. 2011. Guía de identificación de plagas y enfermedades para el maracuyá, la gulupa y la granadilla. Bio-sistemas, Universidad Jorge Tadeo lozano (Colombia). 58p.
14. HOLDRIDGE, L.R. 1982. Ecología basada en zonas de vida. Centro Interamericano de Información y Documentación Agrícola -CIDIA, Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura -IICA. Costa Rica. 215p.
15. KONDO, T. 2009. Brote poblacional de “La tortuguita”: *Ceroplastes cirripediformis* Comstock en un cultivo de maracuyá en Palmira, Valle del Cauca, Colombia. Novedades Técnicas, Corpoica (Colombia). 12:26-33.
16. MARÍN-LOAYZA, R.; CISNEROS-VERA, F. 1995. Ciclo de desarrollo de *Ceroplastes floridensis* y *C. cirripediformis* (Homoptera: Coccidae). Revista peruana de entomología (Perú). 38:45-54.
17. MENACÉ ALMEA, M.A.; BELEZACA, C.; LARA VALAREZO, M.A. 2019. Análisis en condiciones semicontroladas la biología del gusano defoliador (*Dione juno juno*) del maracuyá (*Passiflora edulis*), en el litoral del Ecuador. Universidad y Sociedad (Cuba). 11(2):215-219.
18. MOLINA, N.A. 2016. La producción de frutas tropicales: panorama mundial y en Argentina. Estación experimental agropecuaria bella vista. Disponible desde Internet en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_hd42_frutas_tropicales_0.pdf (con acceso el 17/11/2021).
19. MOLINA-HERNÁNDEZ, J.B.; MARTÍNEZ-CORREA, H.A.; ANDRADE-MAHECHA, M.M. 2019. Potencial agroindustrial del epicarpio de maracuyá como ingrediente alimenticio activo. Información tecnológica (Chile). 30(2):245-256. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642019000200245>
20. OCAMPO, J.; COPPENS D'EECKENBRUGGE, G.; JARVIS, A. 2010. Distribution of the genus *Passiflora* L. diversity in Colombia and its potencial as an indicator for biodiversity management in the coffee growing zone. Diversity Journal (United states). 2(11):1158-1180. <https://doi.org/10.3390/d2111158>
21. ORREGO, C.; SALGADO, N.; DIAZ, M. 2020. Productividad y competitividad frutícola andina: Estudio de mercado interno y externo de la fruta fresca y sus derivados. Fontagro. Disponible desde Internet en: https://www.fontagro.org/new/uploads/productos/16111_-_Producto_9.pdf (con acceso el 16/11/2021).
22. PASSIONFRUIT. 2021. Supply and demand. Disponible desde internet en: <http://www.passionfruitjuice.com> (con acceso el 17/11/2021).
23. PAZ, R.; ARRIECHE, N. 2017. Distribución espacial de *Thrips tabaci* (Lindeman) 1888 (Thysanoptera: Thripidae) en Quibor, Estado Lara, Venezuela. Bioagro. 29(2):123-128.
24. PÉREZ-ÁLVAREZ, R.; ARGÜELLES-CÁRDENAS, J.; AGUILERA GARRAMUÑO, E. 2010. Distribución espacial de *Premnotrypes vorax* (Hustache) (Coleoptera: Curculionidae) en cultivos de papa. Corpoica Ciencia Tecnología Agropecuaria (Colombia). 11(1):11-20. https://doi.org/10.21930/rcta.vol11_num1_art:190
25. PUERTO BECERRA, D.P. 2010. La globalización y el crecimiento empresarial a través de estrategias de internacionalización. Revista pensamiento y gestión (Colombia). 28:171-195.
26. R CORE TEAM. 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponible desde Internet en: <https://www.R-project.org/> (con acceso el 18/11/2021).

27. ROBAYO CAMACHO, E.; CHONG, J.-H. 2015. General Biology and Current Management Approaches of Soft Scale Pests Hemiptera (Coccidae). *Journal of Integrated Pest Management (United Kingdom)*. 6(1):17. <https://doi.org/10.1093/jipm/pmv016>
28. ROMERO-RAMÍREZ, A.C.; SALAZAR-CERÓN, M.A.; ORDUZ-RODRIGUEZ, J.O. 2018. Diagnóstico tecnológico y socioeconómico de los cultivos de maracuyá y guayaba en el Ariari, Meta. *Revista Temas agrarios (Colombia)*. 24(1):42-52. <https://doi.org/10.21897/rta.v24i1.1778>
29. SÁNCHEZ-CASTRO, A.; MIRANDA CABRERA, I.; FERNÁNDEZ ARGUDÍN, B.M. 2016. Distribución espacial y temporal de *Empoasca* spp. (Typhlocybae) en un campo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Protección Vegetal (Cuba)*. 31(3):159-164.
30. SCIARRETTA, A.; TREMATERRA, P. 2014. Geostatistical Tools for the Study of Insect Spatial Distribution: Practical Implications in the Integrated Management of Orchard and Vineyard Pests. *Plant protection science (Europe)*. 50(2):97-110. <https://doi.org/10.17221/40/2013-PPS>
31. SILVA, A. DE S.; MOTA, T.A.; FERNANDES, M.G.; KASAB, S.O. 2013. Spatial distribution of *Bemisia tuberculata* (Hemiptera: Aleyrodidae) on cassava crop in Brazil. *Revista Colombiana de Entomología*. 39(2):193-196.
32. SILVA, A. DE S.; MOTA, T.A.; PYÑEIRO, N.G.; FERNANDES, M.G.; PEREIRA, F.F. 2016. Spatial distribution of *Vatiga* spp. (Hemiptera: Tingidae) on cassava crop. *Revista Acta biológica colombiana*. 21(1):195-200. <https://doi.org/10.15446/abc.v21n1.46762>
33. TALCOTT, S.T.; PERCIVAL, S.S.; PITTET-MOORE, J.; CELORIA, C. 2003. Phytochemical composition and antioxidant stability of fortifel yellow passion fruit (*Passiflora edulis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry (United states)*. 51(4): 935–941. <https://doi.org/10.1021/jf020769q>
34. URÍAS-LOPEZ, M.A.; OSUNA-GARCÍA, J.A.; VÁSQUEZ-VALDIVIA, V.; PÉREZ-BARRAZA, M.H. 2010. Fluctuación poblacional y distribución de la escama blanca del mango (*Aulacaspis tubercularis* Newstead) en Nayarit, México. *Revista Chapingo serie Horticultura (México)*. 16(2):77-82.
35. VIVAS C., L.E.; NOTZ, A. 2011. Distribución espacial en poblaciones de *Oebalus insularis* Stal (Hemiptera: Pentatomidae) en el cultivo de arroz en Calabozo, estado Guárico, Venezuela. *Revista Científica UDO Agrícola (Venezuela)*. 11(1):109-125.
36. WANG, F.; WANG, D.; GUO, G.; ZHANG, M.; LANG, J.; WEI, J. 2020. Potential distributions of the Invasive barnacle scale *Ceroplastes cirripediformis* (Hemiptera: Coccidae) under climate change and implications for its management. *Journal of Economic Entomology (England)*. 20(20):1-8. <https://doi.org/10.1093/jee/toaa245>



Prevalence of rickettsias in ticks (Acari: Ixodidae) collected in domestic animals of the northern region of Caldas department, Colombia

Prevalencia de rickettsias en garrapatas (Acari: Ixodidae) colectadas en animales domésticos del norte del departamento de Caldas, Colombia

Yuliana Zapata-Serna¹ ; Ana Elisa Rojas-Rodríguez¹ ; Jorge Enrique Pérez-Cárdenas^{2*} ; Héctor Jaime Aricapa-Giraldo² ; Marylin Hidalgo-Díaz³ ; Fredy A. Rivera-Páez²

¹Universidad Católica de Manizales. Manizales - Caldas, Colombia; e-mail: yzapata@ucm.edu.co; arojas@ucm.edu.co

²Universidad de Caldas. Manizales - Caldas, Colombia; e-mail: labmicro@ucaldas.edu.co; hjaricapa@ucaldas.edu.co; fredy.rivera@ucaldas.edu.co

³Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, D.C., Colombia; e-mail: hidalgo.m@javeriana.edu.co

*correspondence autor: labmicro@ucaldas.edu.co

How to cite: Zapata-Serna, Y.; Rojas-Rodríguez, A.E.; Pérez-Cárdenas, J.E.; Aricapa-Giraldo, H.J.; Hidalgo-Díaz, M.; Rivera-Páez, F.A. 2022. Prevalence of rickettsias in ticks (Acari: Ixodidae) collected in domestic animals of the northern region of Caldas department, Colombia. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 25(1):e1850. <http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1850>

Open access article published by Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, under Creative Commons License CC BY-NC 4.0

Official publication of the Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, University, Accredited as a High-Quality Institution by the Colombian Ministry of Education.

Received: August 6, 2021

Accepted: February 14, 2022

Edited by: Helber Adrián Arévalo Maldonado

ABSTRACT

The northern region of the Caldas department in Colombia is considered an endemic area for murine typhus. Recent studies in patients with acute febrile disease demonstrated infection with the spotted fever group's rickettsiae due to an increase in the IgG titer by indirect immunofluorescence in paired sera obtained from these patients. The objective of the current research was to identify the species of ticks present in domestic animals in the northern region of Caldas and establish the presence of rickettsial genomic material in the collected ticks. Ticks were obtained from bovines, horses, and dogs in seven municipalities in the north of Caldas. Ticks were stored in 90 % ethanol until processing and were identified using taxonomic keys, DNA was extracted using commercial techniques, and the *gltA* gene was amplified by conventional chain reaction polymerase (PCR). Seven hundred thirteen ticks were obtained

from 593 domestic animals. The highest infestation occurred in cattle, followed by canines and horses. Ticks found corresponded to the species *Rhipicephalus microplus*, *Dermacentor nitens*, *Amblyomma* sp., and *Rhipicephalus sanguineus* s.l. In none of the tick samples, Rickettsia-specific *gltA* gene DNA was found. It can be inferred that the ticks obtained are not a source of rickettsial infection for people in this department region, despite finding different species associated with the transmission of this disease.

Keywords: Domestic animals; Hard ticks; Murine typhus; Prevalence; Rickettsiaceae; Rickettsial infection.

RESUMEN

La región norte del departamento de Caldas, Colombia es considerada como una zona endémica de tifo murino. Estudios recientes realizados en pacientes con enfermedad febril aguda, demostraron

la infección con rickettsias, del grupo de las fiebres manchadas, debido al aumento en el título de IgG, por inmunofluorescencia indirecta (IFI), en sueros pareados, obtenidos de dichos pacientes. El objetivo de la investigación fue el de identificar las especies de garrapatas presentes en animales domésticos, de la región norte de Caldas y establecer la presencia de material genómico de rickettsias, en las garrapatas recolectadas. En siete municipios, se recolectaron garrapatas de bovinos, de equinos y de caninos. Las garrapatas, se almacenaron en etanol al 90 %, hasta su identificación taxonómica. Se extrajo el ADN, utilizando técnicas comerciales y se amplificó por reacción de cadena de la polimerasa (PCR) convencional el gen *gltA*. Se obtuvieron 713 garrapatas de 593 animales domésticos. La más alta infestación se presentó en bovinos, seguido de los caninos y equinos. Las garrapatas encontradas correspondieron a las especies *Rhipicephalus microplus*, *Dermacentor nitens*, *Amblyomma* sp. y *Rhipicephalus sanguineus* s.l. En ninguna de las muestras, se comprobó la presencia de ADN del gen *gltA* específico de *Rickettsia*. Se puede inferir que las garrapatas obtenidas no serían una fuente de infección rickettsial para las personas, en esta región del departamento; sin embargo, su presencia es un factor de riesgo para la adquisición de rickettsiosis asociadas con las fiebres manchadas.

Palabras clave: Animales domésticos; Garrapatas; Infección rickettsial; Prevalencia; Rickettsiaceae; Tifo murino.

INTRODUCTION

Ticks are ectoparasites of great importance in transmitting microorganisms to humans and animals (Parola & Raoult, 2001; Jongejan & Uilenberg, 2004; Labuda & Nuttall, 2004; Dumler & Walker, 2005). Ticks from the family Ixodidae, also known as hard ticks, are obligate ectoparasites of all kinds of terrestrial vertebrates; they can produce anemia and paralysis, but their primary importance is given by the fact that they are vectors of nematodes, viruses, bacteria, and protozoa (Guglielmo & Robbins, 2018). Forty-three species have been reported in Colombia belonging to the genera *Amblyomma*, *Ixodes*, *Haemaphysalis*, *Rhipicephalus*, and *Dermacentor* (Guglielmo *et al.* 2003; Rivera-Páez *et al.* 2018); these ticks are essential in the transmission of *rickettsias* of spotted fever group such as *Rickettsia rickettsii*, *R. parkeri*, *R. massiliae*, *R. africae* and *R. conorii* in America (Matsumoto *et al.* 2005; Parola *et al.* 2005). Ticks can be vectors by transmitting rickettsias across their bite but can also be reservoirs by the transstadial and transovarial passage of these bacteria (Bremer *et al.* 2005; Parola *et al.* 2005).

Rickettsiae are gram-negative, obligate intracellular coccobacillus bacteria. The genus *Rickettsia* has been classified into four groups: The spotted fever group (SFG), the typhoid group (TG) (Hackstadt, 1996), the transitional group (TRG) (Gillespie *et al.* 2007) and the ancestral group (Stothard & Fuerst, 1995).

Phylogenetic relationships in this genus have been established by variability in genes coding for the enzyme citrate synthetase (*gltA*) and external surface antigens and proteins (*sca1*, *sca2*, *sca4*, *ompA*, and *ompB*) (Merhej *et al.* 2014).

Currently, tick-borne rickettsial diseases are recognized as zoonotic diseases, causing a febrile syndrome that can be present in 1.5-5.6 % of travelers to tropical areas and 2.7 and 48.5 % of residents of such places (Blanton, 2013; Merhej *et al.* 2014). Rocky Mountain spotted fever (Tobia fever in Colombia, Brazilian spotted fever in Brazil) produced by *R. rickettsii* can be severe, with case fatality rates between 7.3-100 % (Raoult & Parola, 2007; Nogueira-Angerami *et al.* 2009; Regan *et al.* 2015). In Latin America, cases of the disease have been described in Brazil (Labruna, 2009), Colombia (Hidalgo *et al.* 2007; 2011) and Argentina (Paddock *et al.* 2008). In Colombia, outbreaks with lethality between 26 to 36 % have occurred in departments such as Cundinamarca, Córdoba and Antioquia (Acosta *et al.* 2006; Pacheco-García *et al.* 2008; Hidalgo *et al.* 2011).

In 2012, in the northern area of Caldas, it was found that 5 out of 27 patients with febrile processes compatible with the rickettsial disease presented antibody titers against *R. rickettsii*; all patients showed a variation in the titer that ranged between 2 to 3 times its initial value in the samples taken during convalescence, which suggests that they were suffering from an active disease (Hidalgo *et al.* 2013). Given the findings mentioned above, the objectives of this study were to establish the frequency of vectors associated with rickettsiae of the SFG group and to detect and identify the species of rickettsiae present in ticks found in this region of the department.

MATERIALS AND METHODS

A cross-sectional, observational, and descriptive study was conducted in which convenience sampling was carried out in rural properties and the urban area of each municipality. The study area comprised the northern region of the department of Caldas, Colombia: Neira 5°09'46"N, 75°31'31"W, Aranzazu 5°16'18"N, 75°28'12"W, Salamina 5°23'15"N, 75°29'41"W, Pácora 5°31'53"N, 75°27'20"W, Aguadas 5°36'07"N, 75°27'22"W, La Merced 5°23'35"N, 75°32'42"W and Filadelfia 5°17'33"N, 75°34'17"W (Figure 1).

Collection and identification of ticks. Ticks parasitizing equine, bovine, and canine individuals were collected between January and December 2015 in each municipality listed above. Ticks were carefully extracted with entomological tweezers to preserve the capitulum of the specimens. The individuals from each animal were stored in Eppendorf® tubes with 90 % ethanol, duly labeled. Data was obtained for each animal sampled, such as sex, age, breed, presence or absence of ectoparasites, date of tick harvest, municipality, place of sampling (urban or rural), altitude, and specific site of vector extraction. Tick morphological identification was carried out by visualization under a stereomicroscope (Euromex ref: stereoblue) and according to Jones *et al.* (1972), Barros-Battesti *et al.* (2006), Mehlhorn (2008), Martins *et al.* (2010) and Nava *et al.* (2014; 2017).

Molecular detection of *Rickettsia* spp. in ticks. Groups of eight ticks were formed, selecting the arthropods by species and



Figure 1. Map of Caldas department of Colombia with the study area colored and ticks species localization.

municipality of origin. DNA extraction was performed using the commercial kit Ultraclean Tissue & Cells DNA Isolation Kit sample Cat. 12334-S (MO BIO laboratories) (MO BIO Laboratories, 2019). DNA was stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ until amplification by conventional polymerase chain reaction (PCR).

The citrate synthetase enzyme gene (*gltA*), common in all members of the genus *Rickettsia*, was amplified using primers CS78 and CS323, which amplify a fragment of 440 bp (Labruna *et al.* 2004). In the case of the presence of this gene, the *ompA*, *ompB*, and 17kD genes of this microorganism would be amplified to establish the *Rickettsia* species by sequence comparison. To verify the integrity of the DNA obtained, the primers of the tick mitochondrial 16S rDNA gene (16S+1: CTG CTC AAT GAT TTT TTA AAT TGC TGT GG; 16S-1: CCG GTC TGA ACT CAG ATC AAG T) that amplify a fragment of approximately 463 bp (Black & Piesman, 1994) were used. *Rickettsia parkeri* DNA was used as a positive control, and ultrapure water was used as a negative control.

Amplification was performed using the Dream Taq Green DNA polymerase kit (Thermo Scientific®) according to the following protocols. For the *gltA* gene, denaturation at $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ for three minutes, followed by 35 amplification cycles with the following temperatures $98\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 20 sec, $56\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 15 sec and $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 60 sec, and a final extension at $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 60 sec (Labruna *et al.* 2004). Amplification of the 16S rDNA gene, was carried out with an initial denaturation at $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 3 sec; 10 cycles with the following temperatures $98\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 30 sec, $48\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 30 sec, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 40 sec; 15 cycles of $98\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 30 sec, $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 40 sec and $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 30 sec;

10 cycles at $98\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 30 sec, $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 30 sec, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 40 sec and a final extension at $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ for seven minutes (Black & Piesman, 1994).

Statistical analysis. A descriptive study of tick infestation in the animals sampled was performed. To establish possible relationships between infestation, type of domestic animal, area of origin, and municipality, Pearson's Chi-square test was used, using Excel (Microsoft) and Epi-info (CDC).

Ethical aspects. To obtain the sample, the owner of the animal or the administrator of the farm was asked to sign an informed consent form; a survey was filled out with each animal sampled in which the demographic data mentioned above were obtained. The research project was submitted for review by the Bioethics Committee of the Universidad de Caldas, with the approval for the development of the project, by means of act 006 of 2014. The researchers involved in the development of the project are aware of the universal declaration of animal rights proclaimed by the International League for Animal Rights, Geneva, Switzerland, the guide for the care and use of laboratory animals (NRC, 1996) and the ethical principles of animal experimentation enunciated by ICLAS, International Council for Laboratory Animal Science.

RESULTS AND DISCUSSION

A total of 593 domestic animals were examined, collecting 713 adult ticks in the seven municipalities sampled (Table 1). According to the animal-tested, 40 % corresponded to bovines (*Bos taurus*), 33 % to equines (*Equus caballus*), and 27 % to canines (*Canis lupus*

familiaris) (Table 2). Most of the animals were females (71 %) and came from rural areas (567 animals, 96 %). Of the total bovines, 92 % were infested, with high statistical significance (Table 2). The most frequently found tick species was *R. microplus*, followed by *Amblyomma* sp. and *R. sanguineus* (Table 3). The number of infested equines was low, corresponding to 12.3 % of the total number of animals in this group (Table 2). Unlike bovines, the most frequent tick species was *Demacantor nitens*, found in 10.7 % of this group of animals (Table 3). Four of the seven municipalities had no infested equines, while Filadelfia and La Merced had the highest percentages of infestation, 25 and 44 %, respectively (Table 1).

The percentage of infestation of canines was 13 % (Table 2); the most frequent species was *R. sanguineus* s.l. (57.1 % of the infested animals); the presence of *Amblyomma* sp. in this group is highlighted, finding high statistical significance for this type of tick (Table 3).

The frequency found of *Amblyomma* sp. in this research is very low compared to other studies conducted in Colombia. In a survey conducted in ten Colombia departments, Rivera-Páez *et al.* (2018) found a high frequency of *Amblyomma*. Eleven percent of the ticks were infected with different species of rickettsiae; none of them corresponded to *R. rickettsii* (Rivera-Páez *et al.* 2018). In the study conducted by Faccini-Martínez *et al.* (2017) in the municipality of Villeta (Cundinamarca), a high frequency of different species of the genus *Amblyomma* was also found; 1.7 % of the ticks had rickettsiae, identifying *R. rickettsii* in adults of *D. nitens*, in nymphs and larvae of *A. cajennense* s.l. and *Amblyomma* spp. In adults of *A. cajennense* s.l. and *R. microplus*, the rickettsia species could not be identified (Faccini-Martínez *et al.* 2017). Several factors could

explain the low frequency of *Amblyomma* in our study: much of the sampling was conducted at altitudes above 1,000 m a.s.l.; *Amblyomma cajennense* prefers lower altitudes (average 472.9 m a.s.l.), although they have been found at altitudes of 1,100 m a.s.l.; additionally, it prefers dry climates, with minimum temperatures of 20.9 °C and maximum temperatures of 31 °C and is not very resistant to sudden temperature changes (Acevedo-Gutiérrez *et al.* 2018); the factors mentioned above are not found in the geographic areas sampled.

The predominant tick species in this study was *R. microplus*. This finding is compatible with authors who state that this species is the most frequent in Colombia and Latin America, in cattle and other domestic and wild animals that are in contact with their habitats (Benavides & Romero, 2001; Estrada-Peña *et al.* 2006; Rodríguez-Vivas *et al.* 2016). Cortés Vecino *et al.* (2010) described *R. microplus* as the most frequent tick in regions such as Caldas, Antioquia and Meta and geographical areas with altitudes ranging from 2,000 to 2,903 m a.s.l. Its role in rickettsial transmission is controversial (Bermúdez *et al.* 2009; Oteo *et al.* 2014; Pesquera *et al.* 2015; Monje *et al.* 2016; Faccini-Martínez *et al.* 2017; Quintero V. *et al.* 2017); co-infestation with infected ticks or ingestion of blood from a carrier host may be factors for this tick to present in its DNA the presence of rickettsial genome (Beeler *et al.* 2011; Merhej *et al.* 2014). It has also been demonstrated in vitro that infection with *R. parkeri* generates a negative effect on oviposition; in addition, this tick loses the ability to transmit this rickettsia to experimental animals (Cordeiro *et al.* 2018). The above evidence could explain the absence of rickettsiae in this species in the present study since no multiple infestation was found in the animals studied, which is also associated with the possible harmful effect of rickettsiae on this particular species.

Table 1. Distribution of ticks by group of domestic animals and municipalities in the northern region of Caldas-Colombia department.

Municipality	Animal Group	Number of infested-value animals according to the different tick species				NI	TI	TNIN	TM	Pv	OR	IC
		<i>R. microplus</i>	<i>D. nitens</i>	<i>R. sanguineus</i>	<i>Amblyomma</i> sp.							
Aguadas	Cattle	23				5	29	53	82	0,03	0,65	0,39 -1,05
	Equines	1	2			24						
	Canines	3				24						
Aránzazu	Cattle	27				0	27	37	64	0,35	0,9	0,53-1,53
	Equines					27						
	Canines					10						
Filadelfia	Cattle	26		1		0	34	50	84	0,44	0,83	0,53-1,53
	Equines		7			20						
	Canines					30						
La Merced	Cattle	26				1	55	25	80	<0,0001	3,22	1,96-5,04
	Equines	2	11			14						
	Canines			10	6	10						
Neira	Cattle	58			11	2	69	62	131	0,03	1,54	1,04-2,27
	Equines					30						
	Canines					30						
Pácora	Cattle	25				2	27	45	72	0,11	0,73	0,43 -1,20
	Equines		1	1		26						
	Canines					17						
Salamina	Cattle	21				9	22	58	80	0,01	0,43	0,25-0,71
	Equines					30						
	Canines			1		19						
Total		212	21	13	17	330						

NI: Not infested; TI: Total infested; TNIN: Total not infested; TM: Total of animals sampled; Pv: P value; OR: odds ratio; IC: confidence interval

Table 2. Frequency and statistical analysis of tick infestation in bovines, equines, and canines in the northern region of Caldas-Colombia department.

Domestic animal	Infested (%)	Total (%)	P	OR	IC
Cattle	218 (92)	237 (100)	<0,00001	82.1	47.1-148.2
Equines	24 (12.3)	196 (100)	<0,00001	0.086	0.052-0.13
Canines	21 (13)	160 (100)	<0,00001	0.092	0.049-0.16
Total	263	593			

P: P-value; OR: odds ratio; IC: confidence interval.

Table 3. Frequency and statistical analysis of tick species found in cattle, equines and canines in the northern region of Caldas-Colombia department.

Tick species	Cattle	Equines	Canines	Total
<i>R. microplus</i> (N)	206	3	3	212
P	<0,00001	<0,00001	<0,00001	
OR	106,3	0,021	0,026	
IC	39,42-325,9	0,004-0,069	0,006-0,08	
<i>D. nitens</i> (N)	0	21	0	21
P	NA	NA	NA	
OR	NA	NA	NA	
IC	NA	NA	NA	
<i>R. sanguineus</i> s.l. (N)	1	0	12	13
P	NA	NA	NA	
OR	NA	NA	NA	
IC	NA	NA	NA	
<i>Amblyomma</i> sp. (N)	11	0	6	17
P	0,05	NA	<0,00001	
OR	0,34	NA	8,26	
IC	0,12-1,06	NA	2,52-25,65	

P: P-value; OR: odds ratio; IC: confidence interval.

The percentage of infestation in the municipalities ranged from 27.5 to 69 %, with a higher frequency found in the municipality of La Merced (55 of the 80 infested animals); when analyzing the frequency of infestation against the municipalities sampled, it was found that La Merced and Neira presented high statistical significance (Table 1). In a study of the frequency of active rickettsial disease in 2012 in municipalities in the northern part of the department, it was found that of 26 people with acute febrile illness, five presented an increase of 4-fold or greater in IgG titer against *R. rickettsii* in the sample taken at convalescence; this finding is compatible with a rickettsial disease of the spotted fever group; the vast majority of these patients came from the municipality of Salamina (Hidalgo *et al.* 2013). A high proportion of ticks associated with rickettsial transmission (19 of 21 *D. nitens*, 12 of 13 *R. sanguineus* s.l., and 6 of 17 *Amblyomma* sp.) came from Salamina or nearby municipalities (Filadelfia, La Merced and Pácora). *Amblyomma* samples from the municipality of La Merced were obtained from dogs, an animal group that has more significant contact with humans. Therefore, there is a greater probability of infestation. This is evidence that these municipalities could have a higher risk of rickettsial disease;

therefore, future studies could be focused on this area of the region to clarify the type or types of rickettsiae circulating not only in vectors but also in people, domestic and wild animals.

When molecular tests for the detection of the *gltA* gene were performed, it was found that none of the DNA samples obtained was positive for this gene; this result demonstrates the absence of rickettsial genetic material in the ticks collected. With the results obtained, it is concluded that there are ticks associated with the transmission of rickettsiae; however, for the period in which this sampling was done, the role of ticks obtained from domestic animals in the transmission of these diseases is not evident and, therefore, further studies are required to clarify how rickettsiae of the SFG group are acquired in the region.

Acknowledgments. To the directors and administrative staff of the Universidad Católica de Manizales, Pontificia Universidad Javeriana and Universidad de Caldas, for contributing with the human, technical and financial resources necessary for the execution of this research project. To the veterinarians of the UMATAS of

the seven municipalities, to the owners and administrators of the farms sampled for their support in the collection of samples for this study and to all the support personnel of the BIOSALUD laboratory of the Universidad de Caldas for their collaboration in the preparation of reagents and working supplies. Conflict of interest: The manuscript was prepared and reviewed by all authors. The authors declare that there is no conflict of interest for the publication of this manuscript that would jeopardize the validity of the results obtained. Funding: This project was funded by the Catholic University of Manizales, through agreement N°100 of the academic council of December 18, 2014, by the University of Caldas, project code: 0766914 and by Colciencias, project code: 112765740609, contract 684 of 2014.

REFERENCES

1. ACEVEDO-GUTIÉRREZ, L.Y.; PATERNINA, L.E.; LONDOÑO, A.F.; PARRA-HENAO, G.; RODAS, J.D. 2018. Modelos potenciales de distribución geográfica y climática del complejo *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae); potencial vector de *Rickettsia rickettsii* en Colombia. *Biomédica*. 38(4):534-544. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i4.3916>
2. ACOSTA, J.; URQUIJO, L.; DIAZ, A.; SEPULVEDA, M.; MANTILLA, G.; HEREDIA, D.; ACOSTA, J. DE S.J.; DE LA ROCHA QUEVEDO, A.; SEPÚLVEDA, M.S.; HEREDIA, D.J.; ACOSTA-CABRONERO, J.; HARRERA-ESTRELLA, A. 2006. Brote de rickettsiosis en Necoclí, Antioquia, febrero-marzo de 2006. *Inf Quinc Epidemiol Nac*. 11(12):177-192.
3. BARROS-BATTESTI, D.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. 2006. Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. Instituto Butantan (Brasil). 233p.
4. BEELER, E.; ABRAMOWICZ, K.F.; ZAMBRANO, M.L.; STURGEON, M.M.; KHALAF, N.; HU, R.; DASH, G.A.; EREMEEVA, M.E. 2011. A focus of dogs and *Rickettsia massiliae*-infected *Rhipicephalus sanguineus* in California. *Am J Trop Med Hyg*. 84(2):244-249. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2011.10-0355>
5. BENAVIDES, E.; ROMERO, A. 2001. Consideraciones para el control integral de parásitos externos del ganado. En: Federación Colombiana de Ganaderos-FEDEGAN. (ed). Manejo integrado de plagas y enfermedades en explotaciones ganaderas 7. Anexo Coleccionable. Carta Fedegan. p.64-86.
6. BERMÚDEZ, S.E.; EREMEEVA, M.E.; KARPATY, S.E.; SAMUDIO, F.; ZAMBRANO, M.L.; ZALDIVAR, Y.; MOTTA, J.A.; DASCH, G.A. 2009. Detection and identification of rickettsial agents in ticks from domestic mammals in eastern Panama. *J. Med. Entomol. (Estados Unidos)* 46(4):856-861. <https://doi.org/10.1603/033.046.0417>
7. BLACK, W.C.; PIESMAN, J. 1994. Phylogeny of hard- and soft-tick taxa (Acari: Ixodida) based on mitochondrial 16S rDNA sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91(21):10034-10038. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.21.10034>
8. BLANTON, L.S. 2013. Rickettsial infections in the tropics and in the traveler. *Curr Opin Infect Dis*. 26(5):435-440. <https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e328363811b>
9. BREMER, W.G.; SCHAEFER, J.J.; WAGNER, E.R.; EWING, S.A.; RIKIHISA, Y.; NEEDHAM, G.R.; JITTAPALAPONG, S.; MOORE, D.L.; STICH, R.W. 2005. Transstadial and intrastadial experimental transmission of *Ehrlichia canis* by male *Rhipicephalus sanguineus*. *Vet. Parasitol.* 131:95-105. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.04.030>
10. CORDEIRO, M.D.; DE AZEVEDO BAËTA, B.; CEPEDA, P.B.; TEIXEIRA, R.C.; RIBEIRO, C.C.D.U.; DE ALMEIDA VALIM, J.R.; PINTER, A.; DA FONSECA, A.H. 2018. Experimental infection of *Rickettsia parkeri* in the *Rhipicephalus microplus* tick. *Ticks Tick Borne Dis. (Holanda)*. 9(1):93-96. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.10.003>
11. CORTÉS VECINO, J.; BETANCOURT ECHEVERRI, J.A.; CÁRDENAS, J.; PULIDO HERRERA, L. 2010. Distribución de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en bovinos y incas del Altiplano cundiboyacense (Colombia). *Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu.* 11(1):73-84. https://doi.org/10.21930/rcta.vol11_num1_art:197
12. DUMLER, J.S.; WALKER, D.H. 2005. Rocky Mountain spotted fever—changing ecology and persisting virulence. *N Engl. J. Med.* 353(6):551-553. <https://doi.org/10.1056/NEJMp058138>
13. ESTRADA-PEÑA, A.; BOUATTOUR, A.; CAMICAS, J.L.; GUGLIELMONE, A.; HORAK, I.; JONGEJAN, F.; LATIF, A.; PEGRAM, R.; WALKER, A.R. 2006. The known distribution and ecological preferences of the tick subgenus *Boophilus* (Acari: Ixodidae) in Africa and Latin America. *Exp Appl Acarol.* 38:219-235. <https://doi.org/10.1007/s10493-006-0003-5>
14. FACCINI-MARTÍNEZ, Á.; RAMÍREZ-HERNÁNDEZ, A.; BARRETO, C.; FORERO-BECERRA, E.; MILLÁN, D.; VALBUENA, E.; SÁNCHEZ-ALFONSO, A.C.; IMBACUÁN-PANTOJA, W.O.; CORTÉS-VECINO, J.A.; POLO-TERÁN, L.J.; YAYA-LANCHEROS, N.; JÁCOME, J.; PALOMAR, A.M.; SANTIBÁÑEZ, S.; PORTILLO, A.; OTEO, J.A.; HIDALGO, M. 2017. Epidemiology of Spotted Fever Group Rickettsioses and Acute Undifferentiated Febrile Illness in Villeta, Colombia. *Am J Trop Med Hyg*. 97(3):782-788. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0442>

15. GILLESPIE, J.J.; BEIER, M.S.; RAHMAN, M.S.; AMMERMAN, N.C.; SHALLOM, J.M.; PURKAYASTHA, A.; SOBRAL, B.S.; AZAD, A.F. 2007. Plasmids and rickettsial evolution: insight from *Rickettsia felis*. PLoS One. 2(3):e266. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000266>
16. GUGLIELMONE, A.; ESTRADA-PENÑA, A.; KEIRANS, J.; ROBBINS, R. 2003. Ticks (Acari: Ixodida) of the Neotropical Zoogeographic Region. International Consortium on Ticks and Tick-borne Diseases (ICTTD-2). (Holanda). 173p.
17. GUGLIELMONE, A.A.; ROBBINS, R.G. 2018. Hard ticks (Acari: Ixodida: Ixodidae) parasitizing humans: a global overview. Springer. 331p.
18. HACKSTADT, T. 1996. The biology of rickettsiae. Infect Agents Dis. 5(3):127-143.
19. HIDALGO, M.; MIRANDA, J.; HEREDIA, D.; ZAMBRANO, P.; VESGA, J.F.; LIZARAZO, D.; MATTAR, S.; VALBUENA, G. 2011. Outbreak of Rocky Mountain spotted fever in Córdoba, Colombia. Mem Inst Oswaldo Cruz. 106(1):117-118. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762011000100019>
20. HIDALGO, M.; MONTOYA, V.; MARTÍNEZ, A.; MERCADO, M.; DE LA OSSA, A.; VÉLEZ, C.; ESTRADA, G.; PÉREZ, J.E.; FACCINI-MARTÍNEZ, A.A.; LABRUNA, M.B.; VALBUENA, G. 2013. Flea-borne rickettsioses in the north of Caldas province, Colombia. Vector Borne Zoonotic Dis. 13(5):289-294. <https://doi.org/10.1089/vbz.2012.1173>
21. HIDALGO, M.; OREJUELA, L.; FUYA, P.; CARRILLO, P.; HERNANDEZ, J.; PARRA, E.; KENG, C.; SMALL, M.; OLANO, J.P.; BOUYER, D.H.; CASTANEDA, E.; WALKER, D.; VALBUENA, G. 2007. Rocky Mountain spotted fever, Colombia. Emerg. Infect. Dis. 13:1058-1060. <https://dx.doi.org/10.3201/eid1307.060537>
22. JONES, E.K.; CLIFFORD, C.M.; KEIRANS, J.E.; KOHLS, G.M. 1972. The ticks of Venezuela (Acarina: Ixodoidea) with a key to the species of *Amblyomma* in the western hemisphere. Brigham Young Univ. Sci. Bull. Biol. Ser. 17(4):1-47.
23. JONGEJAN, F.; UILENBERG, G. 2004. The global importance of ticks. Parasitology. 129(Suppl):S3-14. <https://doi.org/10.1017/s0031182004005967>
24. LABRUNA, M.B. 2009. Ecology of *Rickettsia* in South America. Ann NY Acad Sci. 1166:156-166. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04516.x>
25. LABRUNA, M.B.; WHITWORTH, T.; HORTA, M.C.; BOUYER, D.H.; MCBRIDE, J.W.; PINTER, A.; POPOV, V.; GENNARI, S.M.; WALKER, D.H. 2004. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the state of São Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. J Clin Microbiol. 42(1):90-98. <https://doi.org/10.1128/jcm.42.1.90-98.2004>
26. LABUDA, M.; NUTTALL, P.A. 2004. Tick-borne viruses. Parasitology. 129(Suppl 1):S221-245. <https://doi.org/10.1017/s0031182004005220>
27. MARTINS, T.F.; ONOFRIO, V.C.; BARROS-BATTESTI, D.M.; LABRUNA, M.B. 2010. Nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) of Brazil: descriptions, redescrptions, and identification key. Ticks Tick Borne Dis. 1(2):75-99. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2010.03.002>
28. MATSUMOTO, K.; BROUQUI, P.; RAOULT, D.; PAROLA, P. 2005. Experimental infection models of ticks of the *Rhipicephalus sanguineus* group with *Rickettsia conorii*. Vector Borne Zoonotic Dis. 5(4):363-372. <https://doi.org/10.1089/vbz.2005.5.363>
29. MEHLHORN, H. 2008. Tick Genus Diagnosis. In: Mehlhorn, H. (Ed). Encyclopedia of Parasitology. Springer (Berlin). p.1383-1383.
30. MERHEJ, V.; ANGELAKIS, E.; SOCOLOVSKI, C.; RAOULT, D. 2014. Genotyping, evolution and epidemiological findings of *Rickettsia* species. Infect Genet Evol. 25:122-137. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.03.014>
31. MO BIO LABORATORIES. 2019. UltraClean® Tissue & Cells DNA Isolation Kit Sample. Instruction Manual.
32. MONJE, L.D.; COSTA, F.B.; COLOMBO, V.C.; LABRUNA, M.B.; ANTONIAZZI, L.R.; GAMIETEA, I.; NAVA, S.; BELDOMENICO, P.M. 2016. Dynamics of Exposure to *Rickettsia parkeri* in Cattle in the Paraná River Delta, Argentina. J Med Entomol. 53(3):660-665. <https://doi.org/10.1093/jme/tjv250>
33. NATIONAL RESEARCH COUNCIL, NRC. 1996. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington, DC: The National Academies Press. p.124. <https://doi.org/10.17226/5140>
34. NAVA, S.; BEATI, L.; LABRUNA, M.B.; CÁCERES, A.G.; MANGOLD, A.J.; GUGLIELMONE, A.A. 2014. Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelli* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. and *Amblyomma patinoi* n. sp., and reinstatement of *Amblyomma mixtum*, Typhus and *Amblyomma sculptum* (Ixodida: Ixodidae). Ticks Tick Borne Dis. 5(3):252-276. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2013.11.004>

35. NAVA, S.; VENZAL, J.M.; GONZÁLEZ-ACUÑA, D.; MARTINS, T.F.; GUGLIELMONE, A.A. 2017. Morphological Keys for Genera and Species of Ixodidae and Argasidae. In: Nava, S.; Venzal, J.; González-Acuña, M.D.; Martins, T.F.; Guglielmo, A.A. (Eds). Ticks of the Southern Cone of America. Academic Press (New York). p.323-336.
36. NOGUEIRA-ANGERAMI, R.; NUNES, E.M.; MENDES NASCIMENTO, E.M.; RIBAS FREITAS, A.; KEMP, B.; FELTRIN, A.F.C.; PACOLA, M.R.; PERECIN, G.E.C.; SINKOC, V.; RIBEIRO RESENDE, M.; KATZ, G.; JACINTHO DA SILVA, L. 2009. Clusters of Brazilian spotted fever in São Paulo State, southeastern Brazil. A review of official reports and the scientific literature. Clin Microbiol Infect. 15(Suppl 2):202-204. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02637.x>
37. OTEO, J.A.; NAVA, S.; DE SOUSA, R.; MATTAR, S.; VENZAL, J.M.; ABARCA, K.; LABRUNA, M.B.; ZAVALA-CASTRO, J. 2014. Guías Latinoamericanas de la RIICER para el diagnóstico de las rickettsiosis transmitidas por garrapatas. Rev. chil. Infectol. 31(1):54-65. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182014000100009>
38. PACHECO-GARCÍA, O.; GIRALDO, M.; HIDALGO, M.; GALEANO, A.; ECHEVERRI, I.; ECHAVARRÍA-RODRÍGUEZ, L.; PARRA, E.; REY, G. 2008. Estudio de brote febril hemorrágico en el corregimiento de Alto de Mulatos - Distrito Especial Portuario de Turbo, Antioquia, enero de 2008. Inf Quinc Epidemiol Nac. (Colombia). 13(10):145-160.
39. PADDOCK, C.D.; FERNÁNDEZ, S.; ECHENIQUE, G.A.; SUMNER, J.W.; REEVES, W.K.; ZAKI, S.R.; REMONDEGUI, C.E. 2008. Rocky Mountain spotted fever in Argentina. Am J Trop Med Hyg. 78(4):687-692.
40. PAROLA, P.; PADDOCK, C.D.; RAOULT, D. 2005. Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. Clin Microbiol Rev. 18(4):719-756. <https://doi.org/10.1128/CMR.18.4.719-756.2005>
41. PAROLA, P.; RAOULT, D. 2001. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. Clin Infect Dis. 32(6):897-928. <https://doi.org/10.1086/319347>
42. PESQUERA, C.; PORTILLO, A.; PALOMAR, A.M.; OTEO, J.A. 2015. Investigation of tick-borne bacteria (*Rickettsia* spp., *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp. and *Borrelia* spp.) in ticks collected from Andean tapirs, cattle and vegetation from a protected area in Ecuador. Parasit Vectors. 8:46. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0662-3>
43. QUINTERO V, J.C.; PATERNINA T, L.E.; URIBE Y, A.; MUSKUS, C.; HIDALGO, M.; GIL, J.; CIENFUEGOS G., A.V.; OSORIO Q, L.; ROJAS A., C. 2017. Eco-epidemiological analysis of rickettsial seropositivity in rural areas of Colombia: A multilevel approach. PLoS Negl Trop Dis. 11(9):e0005892. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005892>
44. RAOULT, D.; PAROLA, P. 2007. Rickettsial diseases. CRC press (Estados Unidos). 400p.
45. REGAN, J.J.; TRAEGER, M.S.; HUMPHERYS, D.; MAHONEY, D.L.; MARTINEZ, M.; EMERSON, G.L.; TACK, D.M.; GEISSLER, A.; YASMIN, S.; LAWSON, R.; WILLIAMS, V.; HAMILTON, C.; LEVY, C.; KOMATSU, K.; YOST, D.A.; MCQUISTON, J.H. 2015. Risk factors for fatal outcome from rocky mountain spotted Fever in a highly endemic area-Arizona, 2002-2011. Clin Infect Dis. 60(11):1659-1666. <https://doi.org/10.1093/cid/civ116>
46. RIVERA-PÁEZ, F.A.; LABRUNA, M.B.; MARTINS, T.F.; PEREZ, J.E.; CASTAÑO-VILLA, G.J.; OSSA-LÓPEZ, P.A.; GIL, C.A.; SAMPIERI, B.R.; ARICAPA-GIRALDO, H.J.; CAMARGO-MATHIAS, M.I. 2018. Contributions to the knowledge of hard ticks (Acari: Ixodidae) in Colombia. Ticks Tick Borne Dis. 9(1):57-66. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.10.008>
47. RODRÍGUEZ-VIVAS, R.I.; APANASKEVICH, D.A.; OJEDA-CHI, M.M.; TRINIDAD-MARTÍNEZ, I.; REYES-NOVELO, E.; ESTEVE-GASSENT, M.D.; PÉREZ DE LEÓN, A.A. 2016. Ticks collected from humans, domestic animals, and wildlife in Yucatan, Mexico. Vet Parasitol. 215:106-113. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.11.010>
48. STOTHARD, D.R.; FUERST, P.A. 1995. Evolutionary analysis of the spotted fever and Typhus groups of *Rickettsia* using 16S rRNA gene sequences. Systematic and Applied Microbiology. 18(1):52-61. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(11\)80448-0](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(11)80448-0)



Reproductive and fertility parameters of ewes from the Colombian tropical highlands

Parámetros reproductivos y de fertilidad de ovejas en el trópico alto de Colombia

Félix González¹ ; Romulo Campos^{2*} 

¹Federal University of Rio Grande do Sul, Faculty of Veterinary. Porto Alegre, Brazil; e-mail: felix.gonzalez@ufrgs.br

²National University of Colombia, Campus Palmira, Animal Science Department. Palmira - Valle del Cauca; Colombia; e-mail: rcamposg@unal.edu.co

*corresponding author: rcamposg@unal.edu.co

How to cite: González, F.; Campos, R. 2022. Reproductive and fertility parameters of ewes from the Colombian tropical highlands. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 25(1):e1464. <http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1464>

Open access article published by Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, under Creative Commons License CC BY-NC 4.0

Official publication of the Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, University, Accredited as a High-Quality Institution by the Colombian Ministry of Education.

Received: October 18, 2020

Accepted: May 26, 2022

Edited by: Helber Adrián Arévalo Maldonado

ABSTRACT

Two studies were conducted on sheep in the high tropics of Colombia to study reproductive and fertility parameters associated with animal growth in this ecological zone. In the first trial, 1,389 records were used to analyze, through descriptive statistics, the fertility parameters, the birth rate, and the yield per multiple births of three genetic groups of sheep: the native Criolla and Manchada Paramuna breeds, and they were compared with the imported race Blackface. In the second study, the duration of the estrous cycle was determined and serum progesterone values were determined during the estrous cycle in 19 Criolla x Romney Marsh crossbred ewes, in this experiment, five moments of the cycle were analyzed. The fertility rates found in the Criolla and Manchada Paramuna breeds were 73.1 and 72 %, respectively, and were higher than those of the Blackface sheep (65 %). Blackface ewes showed the highest incidence of multiple births (29 %) and Manchada Paramuna ewes had the highest birth rates (93.7 %). Criolla x Romney Marsh crossbred ewes recorded a mean duration of the estrous cycle of 17.8 d. The highest progesterone secretion (11.5 nmol/L) occurred on day 9 of the estrous cycle, while in the estrus phases, its value was 0.32 nmol/L. This study contributes to the knowledge of the reproductive aspects of Colombian native sheep.

Keywords: Estrous cycle; Ovine; Native breeds; Progesterone; Reproductive performance.

RESUMEN

Se realizaron dos estudios en ovejas en el trópico alto de Colombia, para estudiar los parámetros reproductivos y de fertilidad asociados con el crecimiento animal, en esta zona ecológica. En el primer ensayo, se utilizaron 1.389 registros para analizar, a través de estadísticas descriptivas, los parámetros de fertilidad, la tasa de natalidad y el rendimiento por parto múltiple, de tres grupos genéticos de ovejas: las razas nativas Criolla y Manchada Paramuna y se compararon con la raza importada Blackface. En el segundo estudio, se determinó la duración del ciclo estral y se determinaron valores de progesterona sérica durante el ciclo estral, en 19 ovejas cruzadas Criolla x Romney Marsh; en este experimento, se analizaron cinco momentos del ciclo. Las tasas de fertilidad encontradas en las razas Criolla y Manchada Paramuna fue de 73,1 y 72 %, respectivamente, superior a la de las ovejas Blackface (65 %). Las ovejas Blackface mostraron la mayor incidencia de partos múltiples (29 %) y las ovejas Manchada Paramuna tuvieron las tasas de parto más altas (93,7 %). Las ovejas cruzadas Criolla x Romney Marsh registraron una duración media del ciclo estral de 17,8 d. La mayor secreción de progesterona (11,5 nmol/L) ocurrió

el día 9 del ciclo estral, mientras que en las fases del estro, su valor fue de 0,32 nmol/L. Este estudio contribuye con el conocimiento de los aspectos reproductivos de las ovejas nativas colombianas.

Palabras clave: Ciclo estral; Ovinos; Progesterona; Razas nativas; Rendimiento reproductivo.

INTRODUCTION

The ovine population in Colombia is approximately 1,629,000 animals. From this population, 87.57 % is distributed in the departments of La Guajira 41.38 %, Magdalena 11.56 %, Boyacá 7.75 %, Cesar 7.69 %, Córdoba 6.42 %, Santander 3.33 %, Sucre 2.57 %, Bolívar 2.35 %, Meta 2.34 % and Cundinamarca 2.20 % (ICA, 2019). Predominant breeds are Criolla 64 %, followed by European breeds and native crossbred sheep 31.3 %. Only 5 % of the wool sheep are of pure breeds like Romney Marsh, Corriedale, Blackface, Merino-Rambouillet, and Cheviot (Caja Agraria, 1986; Moreno & Grajales, 2017).

The information on sheep production systems in the high tropics of Colombia is scarce. Given the current dynamics of the sector, it is important to know studies and current and historical references,

as a way of promoting the adaptation and importance of heterosis studies in native ewes' breeds, reproductive performance and biotechnologies use for improvement projects (Payares-Luna *et al.* 2018; Conde Silva *et al.* 2017).

In this context, is important to mention the difference between breeds' seasonal polyestrous activity associated with photoperiod. Ewes of European origin show activity linked to a decreased photoperiod (Gavojdian *et al.* 2015). In Colombia, the maximum daily photoperiod variation is about 35 minutes (McNutt *et al.* 2019), Romney Marsh ewes at 3000 m a.s.l. have sexual activity throughout the year (Lozano-González *et al.* 2012).

In the past decades, different studies conducted on ewes in the tropics have shown that there is not a clear-cut anestrus period and that the sexual activity of these animals is mainly affected by other factors such as health, nutrition, temperature, and rainfall (Rodríguez, 1989; Luna-Palomera *et al.* 2019). Studies on the reproductive performance of different breeds of ewes in Colombia have shown that Criolla and Criolla x European crossbred ewes have better rates of fertility and lambing than European breeds (Table 1).

Table 1. Fertility and lambing rates in ewes from Colombian tropical highlands reported in several studies.

Breed	Fertility (%)	Birth rate (%)	Reference
Blackface	60.8	80.9	Fernández & Useche (1981)
Cheviot	84.0	-	Pastrana (1975)
Romney Marsh	80.4	83.0	Alderson <i>et al.</i> (1988)
Corriedale	-	78.0	Alderson <i>et al.</i> (1988)
Rambouillet	-	70.0	Alderson <i>et al.</i> (1988)
Manchada Paramuna	79.2	93.0	Pérez & Pulido (1989)
Criolla	84.7	89.5	Fernández & Useche (1981)
Blackface x Criolla	96.0	88.0	Pérez & Pulido (1989)

Most sheep breeds' in this region have estrous cycle lengths between 14 and 19 days (Gavojdian *et al.* 2015). Wool sheep, like Merino and Rambouillet, have cycles one day longer than other breeds (Ferguson *et al.* 2011). Also, in those breeds, 5 to 10 % of the animals may have estrous cycles longer than 21 days (Quirke *et al.* 1985).

For the study of the estrous cycle, it has also been analyzed in addition to progesterone, and estrogens in feces, giving good information about the reproductive behavior in sheep (Amaral *et al.* 2019).

This study aims to assess historical reproductive performance (fertility, birth, and multiple lambing rates) in ewes of European origin and native breeds of the tropical highlands of Colombia, and to determine estrous cycle length and progesterone secretion in crossbred ewes.

MATERIALS AND METHODS

For this study, two types of analysis were performed: in the first work, data on the ovine creoles breeds Manchada Paramuna, and Criolla were employed. Additionally, this information was compared with ewe's Black face an imported breed. In the second work, an experimental process for determining blood progesterone concentration and duration of the estrus cycle in crossbred ewes was done.

First Study. Records of reproductive performance of two ovine flocks during three years were used. The farms are located in the Eastern Cordillera of Colombian Andes highlands, at 3200 m a.s.l. with a mean annual temperature of 10 °C. The mean annual rainfall in this area varies from 1.000 to 1.500 mm and the relative humidity ranges from 80 to 85 %. The animals grazed extensive pasture year-round. The predominant forages were *Pennisetum clandestinum* Hoehst Ex Chiov (Correa C. *et al.* 2008) and *Holcus lanatus* L. in 80 % of the cases, with variable proportions of *Anthoxanthum*

odoratum L., *Dactylis glomerata* L. and *Trifolium repens* L. Water and mineralized salt were supplied *ad libitum*.

Reproductive records from 913 Blackface ewes (three years), 383 Manchada Paramuna ewes (one year), and 93 Criolla ewes, (one year) were utilized, to determine the following parameters: fertility rate (number of lambing/ewes exposed to rams); lambing rate (number of lambs born /ewes exposed to rams); multiple lambing rate (number of twin lambing/number of total lambing). Also, it was considered the bodyweight of the ewes, the newborn, and the weaned lambs, as well as the lamb mortality rate recorded at weaning (3,5-month-old lambs). Bodyweight data of Manchada Paramuna ewes were not available. Reproductive husbandry included a single mating period of 51 days starting in November. Lambing occurred in March-April, weaning in June-July, shearing in August, and selection of ewes for next mating in September.

All data were analyzed using descriptive statistics measures of central tendency and dispersions. Analysis of variance was used to determine differences in rates (fertility, lambing, multiple lambing, and lamb mortality) among breed groups and body weights.

Second study. This work was conducted at the Eastern Cordillera of Colombian Andes highlands in the Sabana de Bogotá zone, located at 2.640 m above sea level, with an annual mean temperature of 12 °C, relative humidity of 79 %, and a mean annual rainfall of 938 mm.

Nineteen crossbred Criolla x Romney Marsh ewes 12 to 36 -month-old were used. Ewes grazed pastures of *Pennisetum clandestinum* from July to February. The ewes received mineralized salt *ad libitum*

and 150 g/day of a concentrate containing 14 % protein and 65 % TDN. All ewes were observed daily (in a total of 23 estrous cycles) for estrous behavior in two,30-minute periods at 07:00 and 18:00 using a vasectomized ram and an androgenized ewe.

Blood samples were obtained of the jugular vein on five days: 0 (estrous), 4, 9, 14, and 17 day of the estrous cycles using *vacutainer* plain tubes. Blood samples were centrifuged after 4h of collection for obtaining serum, which was frozen (-20 °C) until progesterone analysis (solid-phase radioimmunoassay, Diagnostic Products Co., Los Angeles, CA). The progesterone concentration calculated was realized by RiaCalc of Guelph University. Mean and standard deviation of serum progesterone values were determined for the entire estrous period.

RESULTS AND DISCUSSION

The study developed in the Colombian highlands, involving two ovine flocks, showed that the Criolla ewes had a higher fertility rate when compared to breeds like Manchada Paramuna and Blackface; this contrasted with the lambing rate that was higher in Manchada Paramuna. This depicts similar results presented in previous studies on the subject, as it usually presents one adaptation characteristic in native species in tropical conditions (Marai *et al.* 2007).

The fertility rate product of climatic adaptation was higher in Criolla ewes and Manchada Paramuna ewes than in Blackface ewes. The lambing rate was greater in Manchada Paramuna ewes than in the other two breeds of ewes. Multiple lambing rate was similar in Manchada Paramuna and Blackface ewes and greater than in Criolla ewes (Table 2).

Table 2. Productive and reproductive performance of native ewes' Manchada Paramuna and Criolla, compare with the imported breed Blackface, in the Colombian tropical highlands.

Parameter	Manchada Paramuna	Criolla	Blackface
N° of ewes	383	93	913
Fertility rate (%)	72.0 ^a	73.1 ^a	65.0 ^b
Lambing rate (%)	93.7 ^a	82.8 ^b	82.7 ^b
Multiple lambing rate (%)	29.0 ^a	11.7 ^b	28.6 ^a
Body weight of ewes at mating (kg)	-	34.1 ^b ±6.8	52.1 ^a ± 15
Body weight of lambs at lambing (kg)	-	3.8 ^b ±0.6	4.4 ^a ± 0.8
Body weight of lambs at weaning (kg)	-	22.3±3.1	25.7 ± 6,9
Mortality rate of lambs at weaning* (%)	5.6 ^c	13.0 ^a	7.4 ^b

* 3-3,5-month-old, Values with different letters among breeds differ significantly (P <0,05).

Regarding body weight, some authors mention that the highest weights for adult females are found in purebreds (Pérez & Pulido, 1989). The present study showed that the Criolla ewes and lambs had lower body weight than Blackface, reinforcing the concept that the Criolla ewe is considered a small breed (Ocampo *et al.* 2017) (Table 2).

The mean length of the estrous cycle in Criolla x Romney Marsh ewes was 17.8 ± 1.7 days with a range of 15 to 21 days. Serum

progesterone levels were 0.35 ± 0.16 nmol/L an estrous day (day 0 of the cycle), then raised to 3.2 ± 0.64 nmol/L on day 4 of the cycle, 11.52 ± 5.12 nmol/L on day 9, 10.9 ± 4.48 on day 14, in the day 17 of the cycle the progesterone concentration was 0.32 ± 0.13 nmol/L.

The occurrence of multiple births found in this study was nearly 29 %, which was similar to that described by Pérez & Pulido (1989), in Manchada Paramuna and Blackface breeds. Values of

this parameter for Criolla ewes was 11.7 %, which is higher than the value reported by Pérez & Pulido (1989) of about 5 %. Other studies reported similar values in the Sabana of Bogotá ecological zone (Cuéllar-Gamboa *et al.* 2015).

The present results concur with other authors such as Fernández & Useche (1981), who suggested that native Colombian breeds (Criolla and Manchada Paramuna) are more adapted to the tropical conditions and that this adaptation is reflected in better fertility rates. Several works compiled by Fernández & Useche (1981) showed a mean fertility rate of 61 % in Blackface ewes and 85 % in Criolla ewes. The Blackface breed was developed in Scotland at 200 to 800 m a.s.l. and is well adapted to adverse environments. Blackface and Criolla breeds were the base for developing the Manchada Paramuna breed (Scott *et al.* 1990).

Skea & Pastrana (1980) reported that the body weight of Criolla ewes at their adult age is about 33 kg, whereas crossbred Blackface x Criolla ewes reach 45 kg. The lesser body weight of Criolla ewes is probably related to the natural selection process when there is a decrease in body weight to reduce nutritional requirements with limited feed (Hulet, 1979; Moreno Meneses *et al.* 2013).

Pérez & Pulido (1989) reported a mean body weight at birth of 3.2 kg in Criolla lambs. The mean body weight at weaning in Criolla lambs of the present work was higher than that reported by those authors. Probably the lesser body weight at birth influenced the mortality rate of lambs at weaning, which was higher in Criolla than in Blackface and Manchada Paramuna (Table 2). Pérez & Pulido (1989) reported a mean the mortality rate at weaning of 20 % in Criolla lambs and 7.2 % in Manchada Paramuna lambs.

The results obtained in the present study showed that Colombian crossbred ewes had longer cycles (17.8 days) than European breeds, which are 16.7 days' length (Hulet & Shelton, 1980) and are similar to other native breeds, such as Pelibuey in México (Aké-Villanueva *et al.* 2019). Other studies in Colombia show that the average duration of estrous cycles was 17,3 days in pure Romney Marsh ewes (Obando Correa *et al.* 1988) and 16.8 days in Criolla x Romney Marsh crossbred ewes (Gaviria & Hernández, 1994). The estrous cycle length in ewes seems to be affected by breed (Quirke *et al.* 1985). Different lengths of estrous cycles in ewes were reported by (Coelho *et al.* 2006) in the template zone and attributed to the effect of photoperiod on the hormonal control of reproductive seasonality. Currently, the endocrine values for progesterone around the estrous are used in ewes to synchronize the estrus cycle (Maksimović *et al.* 2017).

The progesterone values of Colombian crossbred ewes were obtained in the present study with a mean of 11.52 nmol/L. The literature reports lower values in different breeds and latitudes, for example, Bass *et al.* (2017) reported serum progesterone at estrus of European ewes under different planes of nutrition, between 0.2 and 0.87 nmol/L, which agree with the values obtained in the present experiment (0.19 to 0.51 nmol/L). Arroyo-Ledezma *et al.* (2013) reported maximum values of progesterone on days 9 and 10 of the estrous cycle in Mexican ewes of 5.12 nmol/L.

Gaviria & Hernández (1994) informed maximum mean values of progesterone on day 12 of the estrous cycle in crossbred ewes in Colombia of 15 nmol/L, which are higher than the observed values in this study on day 14 (mean 10.9 nmol/L). Progesterone levels normally drop on day 14 of the ovine estrous cycle (Bass *et al.* 2017), which agrees with the present work. Balara *et al.* (2015) reported progesterone profiles of Santa Ines ewes in winter and summer under the tropical conditions of the state of Rio de Janeiro (Brazil) They found that about 50 % of the ewes had mean progesterone concentrations under 3.2 nmol/L, confirming the low reproductive seasonality in Santa Ines ewes.

These types of studies on native sheep are necessary for knowing reproductive physiology and for establishing development programs for conservation, use, and promotion with rural farmers as economic and production alternatives (Shrestha, 2005).

The information on hormonal determinations showed that the duration of the estrous cycle and the progesterone profile in Criolla x Romney crossbred ewes in Colombian tropical highlands have similar patterns to those observed in other ovine breeds of different latitudes.

The progesterone levels in the native breed presented little variation related to breeds European for the day of peak and time duration of secretion (luteal phase).

Since sheep breeding is increasing in Colombia, its production and profitability depend on the knowledge and management of the physiology of reproduction, therefore this area of knowledge requires further research in tropical highlands conditions.

Conflicts of interest: The manuscript was prepared and revised by all authors, who declare the absence of any conflict which can put the validity of the presented results at risk.

REFERENCES

1. AKÉ-VILLANUEVA, J.R.; AKÉ-LÓPEZ, J.R.; MAGAÑA-MONFORTE, J.G.; SEGURA-CORREA, J.C. 2019. Reproductive behavior in hair sheep rams under tropical conditions. *Tropical animal health and production*. 51(6):1627-1635. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01856-8>
2. ALDERSON, A.; NARANJO, A.; KRESS, D.D.; BURFENING, P.J.; BLACKWELL, R.L.; BRADFORD, G.E. 1988. Comportamiento comparativo de las razas ovinas Rambouillet, Corriedale, Romney Marsh y Criolla en Colombia. *Producción Ovina en Colombia*, Instituto Colombiano Agropecuario (Bogotá). p.9-32.
3. AMARAL, R. DE S.; FERREIRA, M.F.; NUNES, B.L.; GOMES, L.A.; MELO, A.N. 2019. Monitoring of progesterone and estrone fecal metabolites throughout gestation in ewes. *Ciência Animal Brasileira Medicina Veterinaria*. 20:1-10. <https://doi.org/10.1590/1809-6891v20e-5408>

4. ARROYO-LEDEZMA, J.; DE LA TORRE-BARRERA, J.; ÁVILA-SERRANO, N.Y. 2013. Respuesta reproductiva de ovejas de pelo sincronizadas con progesterona o prostaglandinas. *Agrociencia*. 47(7):661-670.
5. BALARO, M.F.A.; BRANDÃO, F.Z.; PENEIRAS, A.B.V.; OBA, E.; DA FONSECA, J.F.; ALMOSNY, N.R.P.; DA CRUZ CARDOSO, E. 2015. Reproductive performance, metabolic and hormonal profiles of Santa Inês ewes in winter and summer under tropical conditions. *Tropical Animal Health and Production*. 47:627-631.
<https://doi.org/10.1007/s11250-015-0757-z>
6. BASS, C.S.; REDMER, D.A.; KAMINSKI, S.L.; GRAZUL-BILSKA, A.T. 2017. Luteal function during the estrous cycle in arginine-treated ewes fed different planes of nutrition. *Reproduction*. 153(3):253-265.
<https://doi.org/10.1530/REP-16-0526>
7. CAJA AGRARIA. 1986. La Caja Agraria ante el sector rural colombiano. Tomo II. Ministerio de Agricultura (Bogotá).
8. COELHO, L.A.; RODRIGUES, P.A.; NONAKA, K.O.; SASA, A.; BALIEIRO, J.C.C.; VICENTE, W.R.R.; CIPOLLANETO, J. 2006. Annual pattern of plasma melatonin and progesterone concentrations in hair and wool ewe lambs kept under natural photoperiod at lower latitudes in the southern hemisphere. *Journal of pineal research*. 41(2):101-107.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.2006.00333.x>
9. CONDE SILVA, E.; RIVERA RINCÓN, W.E.; BÁEZ SANDOVAL, G.M.; GRAJALES LOMBANA, H. 2017. Evaluación de la calidad espermática bajo un sistema computarizado de análisis seminal en ovinos criollos, Romney Marsh y Hampshire en condiciones de trópico alto. IV semana internacional y xii semana de ciencia tecnología e innovación. Universidad Francisco Paula Santander. p.146-151. Disponible desde Internet en:
https://ww2.ufps.edu.co/public/archivos/oferta_academica/1029a085ddda85913ebbbf9e90692b5c.pdf#page=146
10. CORREA C., H.J.; CARULLA F., J.E.; PABÓN R., M.L. 2008. Valor nutricional del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hoechst Ex Chiov.) para la producción de leche en Colombia (Una revisión): I Composición química y digestibilidad ruminal y posruminal. *Livestock Research for Rural Development*. 20(4).
11. CUÉLLAR-GAMBOA, G.A.; JIMÉNEZ-ROBAYO, L.M.; GRAJALES-LOMBANA, H.A.; MENDOZA-MORALES, L.F.; LEAL-GUTIÉRREZ, J.D.; SÁNCHEZ-ISAZA, C.A. 2015. Factores que influyen la prolificidad en ovinos del centro agropecuario marenco, Colombia. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal AICA*. 6:460-465.
12. FERGUSON, M.B.; THOMPSON, A.N.; GORDON, D.J.; HYDER, M.W.; KEARNEY, G.A.; OLDHAM, C.M.; PAGANONI, B.L. 2011. The wool production and reproduction of Merino ewes can be predicted from changes in live-weight during pregnancy and lactation. *Animal Production Science*. 51(9):763-775.
<https://doi.org/10.1071/AN10158>
13. FERNÁNDEZ, D.; USECHE, M. 1981. Comportamiento productivo de las ovejas Blackface, Cheviot, Criolla y sus cruces en Obonuco, Nariño. Trabajo de grado. Facultad de Medicina Veterinaria y Ciencias Animales. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
14. GAVIRIA, M.T.; HERNÁNDEZ, A. 1994. Morphometry of implantation in sheep I. Trophoblast attachment, Modification of the uterine lining, conceptus size and embryo location. *Theriogenology*. 41(5):1139-1149.
[https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(05\)80036-6](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(05)80036-6)
15. GAVOJDIAN, D.; BUDAI, C.; CZISZTER, L.T.; CSIZMAR, N.; JAVOR, A.; KUSZA, S. 2015. Reproduction efficiency and health traits in Dorper, White Dorper, and Tsigai sheep breeds under temperate European conditions. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 28(4):599-603.
<http://dx.doi.org/10.5713/ajas.14.0659>
16. HULET, C.V. 1979. Improving reproduction efficiency in sheep. In: Hawk, H.W.; Beltsville Agricultural Research Center. (eds.). *Animal Reproduction: Invited Papers*. Vol.3. Allanheld Osmun. p.31-40.
17. HULET, C.V.; SHELTON, M. 1980. Sheeps and Goats. In: Hafez, E.S.E. (Ed.). *Reproduction in Farm Animals*. 4th ed. Lea and Febiger. p.346-357.
18. INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO, ICA. 2019. Censo Ovino en Colombia. Disponible desde internet en:
<https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/epidemiologia-veterinaria/censos-2016/censo-2018>
19. LOZANO-GONZÁLEZ, J.F.; URIBE-VELÁSQUEZ, L.F.; OSORIO, J.H. 2012. Control hormonal de la reproducción en hembras ovinas (*Ovisaries*). *Veterinaria y Zootecnia (Colombia)*. 6(2):134-147.
20. LUNA-PALOMERA, C.; OJEDA-ROBERTOS, N.F.; PERALTA-TORRES, J.A.; MACÍAS-CRUZ, U.; SÁNCHEZ-DÁVILA, F.; SEGURA-CORREA, J.C. 2019. Evaluation of some reproductive traits of Pelibuey ewes under humid tropical conditions of Mexico. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 48:e20180209.
<http://dx.doi.org/10.1590/rbz4820180209>

21. MAKSIMOVIĆ, N.; MILOVANOVIĆ, A.; BARNA, T.; DELIĆ, N.; STEFANOV, R.; PANTELIĆ, V.; TAUSHANOVA, P. 2017. Effects of prostaglandin and hCG on out of season oestrous synchronization and fertility and assessment of progesterone concentration for early pregnancy diagnosis in ewes. *Comptes Rendus de l' Academie Bulgare des Sciences*. 70(6):885-894.
22. MARAI, I.F.M.; EL-DARAWANY, A.A.; FADIEL, A.; ABDEL-HAFEZ, M.A.M. 2007. Physiological traits as affected by heat stress in sheep - a review. *Small ruminant research*. 71(1-3):1-12.
<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.10.003>
23. MCNUTT, J.W.; GROOM, R.; WOODROFFE, R. 2019. Ambient temperature provides an adaptive explanation for seasonal reproduction in a tropical mammal. *Journal of Zoology*. 309(3):153-160.
<https://doi.org/10.1111/jzo.12712>
24. MORENO, D.C.; GRAJALES, H.A. 2017. Caracterización de los sistemas de producción ovinos de trópico alto en Colombia: manejo e indicadores productivos y reproductivos. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*. 64(3):36-51.
<https://doi.org/10.15446/rfmvz.v64n3.68693>
25. MORENO MENESES, J.; MONTES VERGARA, D.; UCROS PORRAS, J.; FERNÁNDEZ QUINTERO, A.; CARDONA ÁLVAREZ, J. 2013. Variabilidad morfoestructural de la hembra ovina de pelo criollo colombiana. *Livestock Research for Rural Development*. 25(83).
26. OBANDO CORREA, H.; PASTRANA BONILLA, R.; GIL PEDRAZA, A.; CASTRO HERNANDEZ, A. 1988. Perfiles de progesterona por RIA en ovejas sometidas a diferentes regímenes alimenticios. *Instituto Colombiano Agropecuario*. p.6-21.
27. OCAMPO, R.J.; MARTINEZ, R.A.; ROCHA, J.F.; CARDONA, H. 2017. Genetic characterization of Colombian indigenous sheep. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 30(2):116-125.
<http://dx.doi.org/10.17533/udea.rccp.v30n2a03>
28. PASTRANA, R. 1975. Programa Nacional de ovinos. Informe anual 1974. Instituto Colombiano Agropecuario, ICA. 35p. Disponible desde internet en:
https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/30792/59428_45634.pdf?sequence=1
29. PAYARES-LUNA, L.; HERNÁNDEZ-GOMEZ, W.; RUGELLES-PINTO, C.; VERGARA-GARAY, O. 2018. Edad a la pubertad, desarrollo corporal y testicular del ovino criollo (*Ovis aries*) de pelo en Córdoba-Colombia. *Revista Científica (Venezuela)*. 28(2):139-145.
30. PÉREZ, J.; PULIDO, E. 1989. Parámetros productivos y reproductivos logrados en la oveja Manchada Paramuna. Trabajo de grado. Facultad de Medicina Veterinaria y Ciencias Animales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
31. QUIRKE, J.F.; STABENFELDT, G.H.; BRADFORD, G.E. 1985. Onset of puberty and duration of the breeding season in Suffolk, Rambouillet, Finnish Landrace and Finn-Dorset ewes lambs. *Journal of Animal Science*. 60(6):1463-1471.
<https://doi.org/10.2527/jas1985.6061463x>
32. RODRÍGUEZ, O. 1989. Otros aspectos reproductivos. En: Castellanos, A.; Arellano, C. (Eds.). *Tecnología para la Producción de Ovejas Tropicales*. SARH/FAO.
33. SCOTT, H.M.; OSPINA, O.; WILLIAMS, H.L. 1990. The development of a new breed of sheep in Colombia. *British Veterinary Journal*. 146(2):106-112.
[https://doi.org/10.1016/0007-1935\(90\)90002-K](https://doi.org/10.1016/0007-1935(90)90002-K)
34. SHRESTHA, J.N.B. 2005. Conserving domestic animal diversity among composite populations. *Small Ruminant Research*. 56(1-3):3-20.
<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2004.06.014>
35. SKEA, I.; PASTRANA, R. 1980. Guía para el Manejo de un Rebaño. Instituto Colombiano Agropecuario. 108p.



Effect of incorporation of aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) on the physicochemical and bromatological characteristics and shelf-life of buffalo milk yogurt

Efecto de la incorporación de Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) en las características fisicoquímicas, bromatológicas y vida útil de un yogurt de leche de búfala

Alba Montalvo-Puente¹ ; Piedad Montero-Castillo^{2*} ; Beatriz Alvarez-Badel³ 

¹Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias Básicas, Grupo de Investigación en Desarrollo y Aplicación de nuevos materiales (DANM). Montería - Córdoba, Colombia; e-mail: montalvopuente@hotmail.com

²Universidad de Cartagena, Facultad de Ingeniería, Grupo de Investigación en Innovación y Desarrollo Agropecuario y Agroindustrial (IDAA). Cartagena - Bolívar, Colombia; e-mail: pmonteroc@unicartagena.edu.co

³Universidad de Córdoba, Facultad de Ingeniería, Grupo de investigación en procesos agroindustriales. Montería - Córdoba, Colombia; e-mail: bealvarez@correo.unicordoba.edu.co

*corresponding autor: pmonteroc@unicartagena.edu.co

How to cite: Montalvo-Puente, A.; Montero-Castillo, P.; Alvarez-Badel, B. 2022. Effect of incorporation of aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) on the physicochemical and bromatological characteristics and shelf-life of buffalo milk yogurt. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 25(1):e2019. <http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.2019>

Open access article published by Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, under Creative Commons License CC BY-NC 4.0

Official publication of the Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, University, Accredited as a High-Quality Institution by the Colombian Ministry of Education.

Received: July 6, 2021

Accepted: May 18, 2022

Edited by: Helber Adrián Arévalo Maldonado

ABSTRACT

In the dairy industry, fermented products are traditionally made with cow's milk, however, recently other ingredients have been used that give different qualities to the final product; among them is buffalo milk, which has distinctive characteristics and is rarely utilized industrially in Colombia, for this reason, the present study aimed to evaluate the effect of adding aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) on the physicochemical and bromatological properties and shelf-life of buffalo milk yogurt. First, an aloe vera sauce was made, which was added to buffalo milk yogurt in three percentages (5, 10, and 15 %), and one was chosen using a preference ordering test. Subsequently, the selected product was evaluated for physicochemical and bromatological parameters and mineral content. The shelf-life was also calculated using an accelerated shelf-

life study at temperatures of 5, 15, 25, and 35 °C. According to the sensory panel the best yogurt was the sample with 15 % of aloe vera sauce. For the bromatological analysis, it was found that the final product had 2.57 % protein, 5.87 % fat, 0.49 % ash, and 74.9 % moisture. Shelf-life calculations yielded an average of 28.6 days. It is concluded that aloe vera positively impacted the bromatological parameters and mineral content of buffalo milk yogurt.

Keywords: Buffalo milk; Microminerals; Probiotics; Sensory evaluation; Bromatology.

RESUMEN

En la industria láctea, se elaboran productos fermentados, tradicionalmente, con leche de vaca; sin embargo, en los últimos

tiempos, se han utilizado otros ingredientes, que dan diferentes cualidades al producto final; entre ellos, se encuentra la leche de búfala, que tiene características únicas y además es poco utilizada industrialmente en Colombia. La presente investigación tuvo por objetivo evaluar el efecto de la adición de aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller), en las características fisicoquímicas, bromatológicas y vida útil de un yogurt de leche de búfala. Primeramente, se realizó una salsa de aloe vera, la que se le agregó al yogurt de leche de búfala, en tres porcentajes (5, 10 y 15 %) y se escogió uno, mediante una prueba de preferencia por ordenación. Posteriormente, al producto seleccionado, se le evaluaron los parámetros fisicoquímicos, bromatológicos y contenido de minerales. También fue calculada la vida útil del yogurt, utilizando un estudio de vida útil, acelerado a temperaturas de 5, 15, 25, y 35 °C. De acuerdo con el panel sensorial, se estableció que la mejor muestra de yogurt fue aquella que tenía 15 % de salsa de aloe vera. En cuanto al análisis bromatológico, se encontró que el producto final tuvo 2,57 % de proteína, 5,87 % de grasa, 0,49 % de cenizas y 74,9 % de humedad. Los cálculos de vida útil arrojaron 28,6 días en promedio. Se concluye que el aloe vera impactó positivamente los parámetros bromatológicos y el contenido de minerales del yogurt de leche de búfala.

Palabras clave: Bromatología; Evaluación sensorial; Leche de búfala; Microminerales; Probióticos.

INTRODUCTION

Yogurt is a highly nutritional food that originates from the fermentation of milk by the action of lactic acid bacteria (LAB) (Bai *et al.* 2020; Yang *et al.* 2021). This milk by-product is widely consumed because of its healthy, nutritious, and sensorial properties. In addition, it has nutraceutical, therapeutic, and anticancer properties and reduces cholesterol. From a chemical perspective, yogurt is made of a complex gel system that incorporates proteins, polysaccharides, and lipids into its structure. It and other dairy by-products (cheese, fermented milk drinks, butter) are mainly made from cow's milk, although milk from other mammals is also used, resulting in different sensory and physicochemical characteristics because of differences in the composition of the milk (Tamime & Robison, 2007).

As a result of its composition and optimal yield, buffalo milk has become an alternative raw material to increase the variety of dairy products with qualities different from those traditionally made with cow milk (Andrade P. *et al.* 2009; Patiño, 2011; Simões Da Silva *et al.* 2020). Buffalo milk has its characteristics compared to other kinds of milk. These qualities contribute to its identification from a nutritional point of view (higher fat, protein, lactose, lower cholesterol level, and some minerals such as calcium, iron, magnesium, and phosphorus) and sensory (Andrade *et al.* 2010). Furthermore, buffalo milk by-products have better gel consistency and higher creaminess thanks to their higher casein content and high-fat content, respectively (Sfakianakis & Tzia, 2014).

The food industry has become increasingly interested in finding new plant sources that provide high nutrient content and health

benefits. Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) is a plant used in traditional medicine, but recently its gel has been used for cosmetics and functional foods for its diversity of components such as carbohydrates, proteins, fibers, vitamins, minerals, amino acids, and phenolic compounds (Maan *et al.* 2018; 2021; Ghafoor *et al.* 2016; Eshun & He 2004). Aloe vera as an ingredient confers to a final product the extension of its shelf life, improvement in antimicrobial properties, and textural characteristics, among others (Das *et al.* 2011; Benítez *et al.* 2015; Shahrezaee *et al.* 2018).

Aloe has been used in products such as beverages, ice cream, nuggets, meat products (Soltanizadeh & Ghiasi-Esfahani, 2015; Shahrezaee *et al.* 2018; Sharma *et al.* 2021), in dairy products such as yogurt (Gutiérrez-Álzate *et al.* 2021; Ikram *et al.* 2021) and cheese (El-Sayed & El-Sayed, 2020). Therefore, the present research aimed to evaluate the effect of the addition of aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) on the physicochemical and bromatological characteristics and shelf life of a buffalo milk yogurt.

MATERIALS AND METHODS

Raw material. Buffalo milk was obtained from a dairy company located in Planeta Rica (Córdoba, Colombia). The Aloe vera gel and remaining raw material (sugar, lactic culture, liquid glucose, stabilizer (pectin), citric acid) were acquired in a local market in the city of Montería.

Preparation of the aloe vera sauce. The aloe vera gel was cut into cubes of 1.5 x 1.5 x 1.5 cm. The formulation to prepare the aloe vera sauce was water 50 %, aloe vera cubes 50 %, tablet sugar (sucrose) 8 %, liquid glucose 2 %, stabilizer (xanthan gum) 1 %, and citric acid 0.1 %. The water and glucose were heated at 50 ± 0.5 °C for 5 min. Then, stabilizer and sugar were added and mixed until obtaining a gelatinous and translucent consistency. Afterward, cubes of aloe vera were added. Subsequently, the mixture was pasteurized at 65 ± 0.5 °C for 30 min (The mixture was put into 1 L glass bottles and placed in a water bath) and left to stand for 10 min, and then, citric acid was added. Percentages and materials were determined through preliminary tests.

Sensorial analysis of the aloe vera sauce and yogurt. To select the best formulation of sauce, a group of 30 potential untrained panelists, men, and women between 20 and 30 years, was assembled. A higher (3)- to lower (1) preference ordering test was used to select the best aloe vera sauce formulation (Ramírez-Navas, 2012). Also, a 9-point hedonic test was carried out on all yogurt samples, ranging from "I like it extremely" to "I dislike it extremely", and the parameters of smell, color, appearance, taste, and texture.

Yogurt preparation. The components used to make the buffalo milk yogurt and the aloe vera sauce were buffalo milk 100 %, lactic culture 2 % (*Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgarius* starter cultures), sugar 2 %, aloe vera sauce 5, 10 or 15 % (the percentage chosen was made according to the results of the sensory evaluation) and stabilizer (pectin) 1 %. The milk was subjected to quality analysis such as titratable acidity (% lactic

acid) (197.05 AOAC), fat (NTC 5860) (Icontec, 2011), and density (15.015 AOAC). Subsequently, pre-heating was done at 37 ± 0.1 °C and homogenized using an Ultra Turrax (IKA, Merck, Germany) at 14000 r.p.m. Then, sugar was added to the milk, and it was pasteurized at 90 ± 0.5 °C for 5 min. This mixture was allowed to cool to 44 ± 0.5 °C to inoculate the lactic cultures. Then, the aloe vera sauce was added for fermentation at 44 ± 0.5 °C for 4 h. Finally, the mixture was stored at 5 °C.

Physicochemical and bromatological characterization. The titratable acidity (% lactic acid) (197.05 AOAC) and pH (945.27 AOAC) were determined for the physicochemical analyses. For the bromatological characterization of the product, the following analyses were carried out: protein (920.152 AOAC), fat (NTC 5860) (Icontec, 2011), reducing sugars (Mulgrave method), ash (942.05 AOAC), moisture (934.06 AOAC) and minerals (nitrogen, sulfur, phosphorus, calcium, magnesium, potassium, sodium, copper, zinc, manganese, boron) (Atomic Absorption Method) (Amellal-Chibane & Benamara, 2011).

Determination of shelf-life as a function of temperature. 120 samples were obtained, which were separated into four groups of 30 samples and stored in sterile recipients in a stabilization chamber at four different temperatures: 5, 15, 25 and 35 °C, for an accelerated shelf-life study for 30 days.

To determine the shelf-life of the yogurt, current regulations for yogurt and kumis in refrigerated hermetic containers were used (Resolución 2310 de 1986 - MinSalud, 1986), which indicate a shelf-life of 21 days. A sample was analyzed on the day of production to establish the initial parameters of the product. Then, each group of samples was analyzed until deterioration, varying the

frequency of analysis by considering the preliminary tests: 35 °C, measured every three hours; 25 °C, measured every 12 h; 15 °C, measured every 24 h; and 5 °C measured every four days. Each group of samples was measured in triplicate for pH and titratable acidity (% lactic acid).

Statistical Analysis. Tukey multiple comparison tests were performed to establish whether there were any significant differences. The sensory analysis results of the aloe vera sauce were subjected to Friedman's order sum test was used to verify if there were differences between the 3 Aloe vera sauce formulations. The shelf-life of the food in days was calculated and predicted with the analytical data using a kinetic/mathematical model known as the Arrhenius equation. Finally, Excel was used for the data, where the linear regression equation was obtained and plotted, obtaining the slope (m), the k0 intercept, and the regression of the line, resulting in the shelf-life in days. All tests were performed in triplicate.

RESULTS AND DISCUSSION

Sensorial analysis of the aloe vera sauce. After assigning a score of 1 to 3 to each sample, the results showed that the preference for the sample with 5 % aloe vera sauce was 56; for the 10 % sample was 57 and for the 15 % sample was 69. According to the results of the Friedman test, the concentration with the highest score (15 % aloe vera) was selected because it had significant differences from the other concentrations ($p < 0.05$). The panelists perceived a more accentuated and balanced flavor in the yogurt with the 15 % aloe concentration.

Physicochemical and bromatological characterization. The acidity and pH values for the incubation, obtained during the

Table 1. Physicochemical analysis for the incubation of the buffalo milk yogurt with aloe vera.

Time (hours)	Titratable acidity (% lactic acid)	pH
0	0.17 ± 0.005	6.73 ± 0.06
1	0.37 ± 0.03	6.27 ± 0.15
2	0.52 ± 0.02	5.33 ± 0.21
3	0.76 ± 0.04	4.8 ± 0.1
4	0.89 ± 0.03	4.37 ± 0.05

Values are the mean of the triplicate analyses \pm standard deviation.

formation of the buffalo milk yogurt with aloe vera, are shown in table 1.

The pH decreased from the beginning of fermentation to the end (4 hours). The final value was similar to that reported by Romeih *et al.* (2014), who obtained averages of 4.4 for buffalo milk yogurt. The acidity of the yogurt increased as the incubation time increased, as indicated in table 1. This increase was due to the activity of lactic acid bacteria that convert lactose to lactic acid during the fermentation process (Ikram *et al.* 2021) and might be affected by different conditions, including growth conditions, specific growth rate, fermentation time, and consumption of sugars or amino acids, of which aloe vera is a rich source (Wang *et al.* 2012).

The results of the bromatological characterization are shown in table 2. The values are the average of triplicate analyses \pm the standard deviation. All analyses were done on a dry basis.

As shown in table 2, the protein value was 2.57 %, lower than that reported by Akgun *et al.* (2018), who obtained a percentage of 4.2 for a buffalo milk yogurt with different combinations of probiotics. (*Bifidobacterium* BB-12[®], *Lactobacillus acidophilus* LA-5[®], *Streptococcus thermophilus*, and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*). The ash percentage was also lower than obtained by Romeih *et al.* (2014), who obtained 0.78 % to 0.96 %. These lower values may have been due to various conditions, such as breed, season, feed, and lactation stages, which could have affected some

Table 2. Bromatological characterization of the buffalo milk yogurt with aloe vera.

Parameter	Concentration
Protein (%)	2.57±0.15
Fat (%)	5.88±0.016
Reducing sugars (%)	6.58±0.019
Ash (%)	0.49±0.03
Moisture (%)	74.90±0.04

Values are the mean of the triplicate analyses \pm standard deviation. All analyses were taken on a dry basis.

parameters in buffalo milk (Patiño, 2004; Ikram *et al.* 2021). The fat content was 5.88, higher than that reported by previous studies on Greek yogurt made from cow milk, 3.25 % (Serafeimidou *et al.* 2012). This higher value was because buffalo milk has higher fat values (Granados *et al.* 2014). The moisture percentage was similar to that reported by Mahmood *et al.* (2008), who made yogurt based on buffalo milk, apples, and bananas. The mineral content in the yogurt sample is shown in table 3. It can be said that the amount of minerals is due to the added aloe vera because some authors (Miranda *et al.* 2009; El-Sayed & El-Sayed, 2020; Gutiérrez-Álzate *et al.* 2021) indicate that this plant is rich in minerals (Na, Ca, Mg, Zn, K, among others), and can provide levels of these minerals to products where aloe vera is used.

Table 3. Minerals in the buffalo milk yogurt with aloe vera.

Minerals	Concentration
N (%)	0.40±0.024
S (%)	0.01±0.002
P (%)	0.07±0.001
Ca (%)	0.1±0.01
Mg (%)	0.01±0.005
K (%)	3.45±0.04
Na (%)	0.021±0.001
Cu (mg/kg)	0
Fe (mg/kg)	3.73±0.03
Zn (mg/kg)	3.22±0.11
Mn (mg/kg)	21.7±0.34
B (mg/kg)	1.52±0.077

Values are the mean of the triplicate analyses \pm standard deviation.

because of their chemical composition (Contreras-Pinzón *et al.* 2007).

The Na-K ratio obtained with the bromatological characterization of the yogurt was 0.0061 (0.021/3.45), which is a very low value and is favorable since a high Na-K ratio has been related to high blood pressure, heart disease, and strokes (Drewnowski *et al.* 2014). Likewise, the K-Na ratio of the yogurt was 164.285 (3.45/0.021). Previous studies have reported that isolated populations with a predominance of natural foods, fruits, and vegetables, where the individual intake of potassium exceeds sodium with a potassium-sodium ratio greater than 3, have a very low prevalence of arterial hypertension, which is lower than 3 %.

Studies have shown that adding aloe vera to fermented milk drinks produces an increase in zinc (1.37 times), iron (1.24 times), calcium (1.35 times) and magnesium (1.59 times) (Hernández & Romagosa, 2014). Patiño *et al.* (2005) reported Zn, Fe, Mn, and K values in average buffalo milk of 1.468, 2.457, 0.607, and 0.101 mg/kg, respectively, lower than found here, confirming the contribution of aloe vera.

On the other hand, the presence of microminerals such as Mn, 21.7 (\pm 0.34) mg/kg, and Fe, 3.73 (\pm 0.03), facilitate the growth of bacteria of the *Lactobacillus* genus (Hernández & Romagosa, 2014). Furthermore, previous studies have indicated that both aloe vera juice and pulp promote the development of probiotic bacteria

Determination of shelf-life as a function of temperature. Table 4 shows the results of the inferential analysis for % acidity and pH at each temperature.

After ANOVA, there were significant differences in each of the measurements for temperature (p-value <0.05), as shown in table 2. These variables did not indicate product deterioration since the values obtained to time were not outside the ranges permitted by Government Resolution 2310 (MinSalud, 1986). The stability of the acidity and pH variables was related to the presence of multiple bioactive substances in aloe, such as phenols, triterpenoids, and steroid saponins (Akbari *et al.* 2021).

Table 4. Result for the % acidity and pH at different measurements in the buffalo milk yogurt with aloe vera.

Measurements	35 °C		25 °C		15 °C		5 °C	
	Acidity	pH	Acidity	pH	Acidity	pH	Acidity	pH
0	0.9a	4.4a	0.9a	4.3a	0.9a	4.4a	0.9a	4.4a
1	0.9a	4.4a	0.9a	4.3a	0.9a	4.4a	0.9a	4.4a
2	0.9a	4.4a	0.9a	4.2b	0.9a	4.3b	0.9a	4.3b
3	0.8b	4.3b	0.8b	4.2b	0.9a	4.3b	0.9a	4.3b
4	0.8b	4.1c	0.8b	4.2b	0.8b	4.2c	0.8b	4.3b
5							0.8b	4.3b
6							0.8b	4.3b

The same letter in the same column indicates no difference according to Tukey's test.

Dairy products with aloe vera vary in terms of acidity and pH content during several weeks of storage, such as in the case of soft cheese with 15 % aloe vera that decreased its pH from 6.76 to 6.21 and increased its acidity from 0.12 to 0.28 % lactic acid at the fourth week (El-Sayed & El-Sayed, 2020). In contrast, yogurt with aloe vera only varied in acidity between 0.7 to 1.2 % and pH from 4.55 to 4.63 after 5 hours of incubation (Parra Huertas, 2014). The buffalo milk yogurt with aloe vera as a fat substitute reached acidity

values between 1.12 and 1.67 % in the third week of storage, and the pH remained between 4.6 and 4.05 (Ikram *et al.* 2021).

The inferential analysis for the sensory profile at each of the temperatures based on the measurements is presented in table 5. The statistical analysis revealed that the panelists perceived statistically significant differences in the product concerning the days, with the higher scores on day zero that decreased over time.

Table 5. Sensory scores for each temperature in the buffalo milk yogurt with aloe vera.

Temperature 35 °C					
Measurements	Smell	Color	Appearance	Texture	Taste
0	6.03a	7.23a	7.20a	6.50a	6.37a
1	5.43a	6.10b	6.07ab	5.57b	5.17b
2	4.30b	5.03c	5.23b	5.07c	4.40b
3	3.03c	3.90d	4.17c	3.67d	2.93c
4	2.40c	3.06e	3.30d	2.90e	2.30c
Temperature 25 °C					
Measurements	Smell	Color	Appearance	Texture	Taste
0	7.50a	7.03a	7.20a	7.50a	7.23a
1	6.33b	6.60a	6.07b	6.47b	6.47b
2	4.90c	5.37b	5.23c	5.60c	5.47c
3	3.00d	4.43c	4.17d	3.97d	3.37d
4	2.27e	3.63d	3.30e	3.27e	2.33e
Temperature 15 °C					
Measurements	Smell	Color	Appearance	Texture	Taste
0	7.53a	7.57a	6.90a	6.90a	7.50a
1	7.0ab	7.47a	6.88a	6.83a	6.70a
2	6.17b	7.07a	6.47a	6.67a	6.40a
3	4.30c	5.60b	5.07b	5.47b	4.90b
4	3.47c	5.23b	4.97b	4.48b	4.37b
Temperature 5 °C					
Measurements	Smell	Color	Appearance	Texture	Taste
0	7.47a	7.97a	7.97a	7.77a	7.67a
1	7.23a	7.47ab	7.37a	7.23a	7.93a
2	7.23a	7.77a	7.80a	7.40ab	7.70a
3	7.63a	7.77a	8.23a	7.97ab	8.17a
4	7.37a	7.60a	7.80a	7.67ab	8.13a
5	7.40a	7.67a	7.33a	7.70ab	7.87a
6	6.23b	6.57b	6.17b	6.80b	6.37b

The same letter in the same column indicates no difference according to Tukey's test.

The highest smell, color, appearance, texture, and taste values were observed at 5 °C temperature. While the lowest smell, texture, and taste were recorded at 35 °C because the recommended storage temperature for dairy products is less than 6 °C according to Government Resolution 2310 (MinSalud, 1986). At 35 °C, scores of 5 were observed from the second and third measurements of smell, appearance, texture, and taste (3 and 6 hours), which are equivalent on the hedonic scale to a rating of indifference, a rejection criterion for our study, evidencing that, at this temperature, a shelf-life of one day was not reached (Hough & Fiszman, 2005).

For all temperatures, color, appearance, and texture had the highest score. The only ones with the lowest score were taste and smell. The latter presented the most critical score because a fermented product such as yogurt is made with a mixed culture of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp., *Bulgaricus* contains lactic acid and acetaldehyde, which add the characteristic aroma to the product. For each temperature, the shelf-life in days was estimated using the Arrhenius equation. Table 6 summarizes these results.

Table 6. Accelerated shelf-life study in the buffalo milk yogurt with aloe vera.

Temperature (°C)	Shelf life (days)				
	Smell	Color	Appearance	Texture	Taste
5	28.6	36.2	34.0	32.1	29.6
15	2.2	2.9	2.9	2.7	2.4
25	0.2	0.3	0.3	0.3	0.2
35	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

For consumer safety, the smell sensory variable was used to check the shelf life of buffalo milk yogurt with aloe vera because it had the lowest score. Since the temperature of 5 °C was closest to the recommendation for the storage and consumption of yogurt in Resolution 2310, the product's shelf-life was 28 days.

The combination of buffalo milk yogurt with aloe vera can be considered beneficial since the levels of minerals such as Zn, Fe, Mn, and K were increased and parameters such as fat. Likewise, the formulation with 15 % aloe sauce can be established as very good for the industry since the product's shelf life averaged 28.6 days.

Conflicts of interest: The manuscript was prepared and revised by all authors, who declare the absence of any conflict, which can put the validity of the presented results at risk.

REFERENCES

- AKBARI, S.; ABDURAHMAN, N.H.; YUNUS, R.M.; ALSAGGAF, A.H.A.; AHMED, N. 2021. LC-QTOF-MS analysis of phenolics and saponins extracted from Aloe vera leaves via microwave technology in optimal condition. *South African Journal of Botany* (Netherlands). 139:362-373. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.02.027>
- AKGUN, A.; YAZICI, F.; GULEC, H.A. 2018. The combined effect of probiotic cultures and incubation final pH on the quality of buffalo milk yogurt during cold storage. *Food Science & Nutrition* (United Kingdom). 6(2):492-502. <https://doi.org/10.1002/fsn3.580>
- AMELLAL-CHIBANE, H.; BENAMARA, S. 2011. Total contents of major minerals in the nature yoghurt and in the yoghurts with the date powder of three dry varieties. *American Journal of Food and Nutrition* (United States). 1:74-78. <https://doi.org/10.5251/abjna.2011.1.2.74.78>
- ANDRADE, R.D.; ARTEAGA, M.R.; SIMANCA, M.M. 2010. Efecto del salvado de trigo en el comportamiento reológico del yogurt de leche de búfala. *Información Tecnológica* (Chile). 21(5):117-124. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642010000500015>
- ANDRADE P, R.D.; VÉLEZ H., G.I.; ARTEAGA M., M.R.; DÍAZ Q., Y.S.; SÁNCHEZ S., S.S. 2009. Efecto de la neutralización y adición de edulcorante en las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales del Arequipe de leche de búfala. *Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*. 16(2):201-209.
- BAI, M.; HUANG, T.; GUO, S.; WANG, Y.; WANG, J.; KWOK, L.Y.; DAN, T.; ZHANG, H.; BILIGE, M. 2020. Probiotic *Lactobacillus casei* Zhang improved the properties of stirred yogurt. *Food Bioscience* (United Kingdom). 37:100718. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100718>
- BENÍTEZ, S.; ACHAERANDIO, I.; PUJOLÀ, M.; SEPULCRE, F. 2015. Aloe vera as an alternative to traditional edible coatings used in fresh-cut fruits: A case of study with kiwifruit slices. *LWT-Food Science and Technology* (United States). 61(1):184-193. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.11.036>
- CONTRERAS-PINZÓN, M.E.; DOMÍNGUEZ-ESPINOSA, R.M.; GONZÁLEZ-BURGOS, A. 2007. Proceso de biotransformación láctica del jugo de *Aloe vera*. *Tecnología Ciencia Educación* (México). 22(1):35-42.
- DAS, S.; MISHRA, B.; GILL, K.; ASHRAF, M.S.; SINGH, A.K.; SINHA, M.; SHARMA, S.; XESS, I.; DALAL, K.; SINGH, T.P.; DEY, S. 2011. Isolation and characterization of novel protein with anti-fungal and anti-inflammatory properties from Aloe vera leaf gel. *International Journal Biological*

- Macromolecules (Netherlands). 48(1):38-43.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.09.010>
10. DREWNOWSKI, A.; REHM, C.; MAILLOT, M.; MONSIVAIS, P. 2014. The relation of potassium and sodium intakes to diet cost among US adults. *Journal of Human Hypertension (United Kingdom)*. 29(1):14-21.
<https://doi.org/10.1038/jhh.2014.38>
 11. EL-SAYED, S.; EL-SAYED, H. 2020. Production of UF-soft cheese using probiotic bacteria and Aloe vera pulp as a good source of nutrients. *Annals of Agricultural Sciences (Egypt)*. 65(1):13-20.
<https://doi.org/10.1016/j.aos.2020.05.002>
 12. ESHUN, K.; HE, Q. 2004. Aloe vera: a valuable ingredient for the food, pharmaceutical and cosmetic industries-a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition (United Kingdom)*. 44(2):91-96.
<https://doi.org/10.1080/10408690490424694>
 13. GHAFLOOR, B.; ALI, M.N.; ANSARI, U.; BHATTI, M.F.; MIR, M.; AKHTAR, H.; DARAKHSHAN, F. 2016. New biofunctional loading of natural antimicrobial agent in biodegradable polymeric films for biomedical applications. *International Journal of Biomaterials (United States)*. 2016:6964938.
<https://doi.org/10.1155/2016/6964938>
 14. GRANADOS, C.; MEZA, L.A.; PABA, S.R.; ACEVEDO, D. 2014. Elaboración de queso de capa a partir de leche de búfala del Municipio Carmen de Bolívar (Colombia). *Información Tecnológica (Chile)*. 26(6):39-44.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642014000600006>
 15. GUTIÉRREZ ÁLZATE, K.; BELTRÁN COTTA, L.A.; GRANADOS CONDE, C. 2021. Industrial use of whey in the production of a yogurt-type fermented milk drink with *Aloe vera* L. (Asphodelaceae) crystals and *Passiflora ligularis* Juss. (Passifloraceae). *Ciencia & Tecnología Agropecuaria (Colombia)*. 22(2):e1489.
https://doi.org/10.21930/rcta.vol22_num2_art:1489
 16. HERNÁNDEZ, A.; ROMAGOSA, S. 2014. Desarrollo de una leche fermentada probiótica con jugo de Aloe vera. *Tecnología Química (Cuba)*. 35(1):81-97.
 17. HOUGH G.; FISZMAN, S. 2005. Estimación de la vida útil sensorial de alimentos. Ed. CYTED (Spain). p.83-95.
 18. IKRAM, A.; QASIM RAZA, S.; SAEED, F.; AFZAAL, M.; MUNIR, H.; AHMED, A.; BIN ZAHID, M.B.; MUHAMMAD ANJUM, F. 2021. Effect of adding Aloe vera jell on the quality and sensory properties of yogurt. *Food Science & Nutrition (United Kingdom)*. 9(1):480-488.
<https://doi.org/10.1002/fsn3.2017>
 19. INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN, ICONTEC. 2011. Norma técnica colombiana-NTC. 5860. Determinación del contenido de grasa. (Bogotá, Colombia).
 20. MAAN, A.A.; AHMED, Z.F.R.; IQBAL KHAN, M.K.; RIAZ, A.; NAZIR, A. 2021. *Aloe vera* gel, an excellent base material for edible films and coatings. *Trends in Food Science & Technology*. 116:329-341.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.07.035>
 21. MAAN, A.A.; NAZIR, A.; IQBAL KHAN, M.K.I.; AHMAD, T.; ZIA, R.; MURID, M.; ABRAR, M. 2018. The therapeutic properties and applications of *Aloe vera*: A review. *Journal of Herbal Medicine (Germany)*. 12:1-10.
<https://doi.org/10.1016/j.hermed.2018.01.002>
 22. MAHMOOD, A.; ABBAS, N.; GILANI, A. 2008. Quality of stirred buffalo milk yogurt blended with apple and banana fruits. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences (Pakistan)*. 45(2):275-279.
 23. MINISTERIO DE SALUD DE COLOMBIA, MINSALUD. 1986. Resolución 2310 de 1986, Por la cual se reglamenta parcialmente el Título V de la Ley 09 de 1979, en lo referente a procesamiento, composición, requisitos, transporte y comercialización de los Derivados Lácteos. Disponible desde Internet en:
http://201.217.193.253/labpalma/docs/resolucion_minsalud_2310_1986.htm (con acceso 04/05/2021).
 24. MIRANDA, M.; MAUREIRA, H.; RODRIGUEZ, K.; VEGA-GÁLVEZ, A. 2009. Influence of temperature on the drying kinetics, physicochemical properties, and antioxidant capacity of Aloe Vera (*Aloe Barbadosensis* Miller) gel. *Journal of Food Engineering (United Kingdom)*. 91(2):297-304.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.09.007>
 25. PARRA HUERTAS, R.A. 2014. Encapsulación de sábila (*Aloe vera*) y su efecto durante la incubación de yogur. *Cultura Científica (Colombia)*. 12:66-73.
 26. PATIÑO, E.M. 2004. Factores que afectan las propiedades físicas y la composición química de la leche de búfalas (*Bubalus bubalis*) en Corrientes, Argentina. *Revista Veterinaria (Argentina)*. 15(1):21-25.
 27. PATIÑO, E.M. 2011. Producción y calidad de la leche bubalina. *Tecnología en Marcha (Costa Rica)*. 24(5):25-35.
 28. PATIÑO, E.M.; FAISAL, E.L.; CEDRES, J.F.; MENDEZ, F.I.; GUANZIROLI STEFANI, C. 2005. Contenido mineral de leche de búfalas (*Bubalus bubalis*) en Corrientes, Argentina. *Revista Veterinaria (Argentina)*. 16(1):40-42.

29. RAMÍREZ-NAVAS, J. 2012. Análisis sensorial: pruebas orientadas al consumidor. *ReciteIA* (Colombia). 12(1):89-102.
30. ROMEIH, E.A.; ABDEL-HAMID, M.; AWAD, A.A. 2014. The addition of buttermilk powder and transglutaminase improves textural and organoleptic properties of fat-free buffalo yogurt. *Dairy Science & Technology* (United States). 94(3):297-309.
<https://doi.org/10.1007/s13594-014-0163-8>
31. SERAFEIMIDOU, A.; ZLATANOS, S.; LASKARIDIS, K.; SAGREDOS, A. 2012. Chemical characteristics, fatty acid composition and conjugated linoleic acid (CLA) content of traditional Greek yogurts. *Food Chemistry* (United States). 134(4):1839-1846.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.102>
32. SFAKIANAKIS, P.; TZIA, C. 2014. Conventional and innovative processing of milk for yogurt manufacture; development of texture and flavor: A review. *Foods* (Switzerland). 3(1):176-193.
<https://doi.org/10.3390/foods3010176>
33. SHAHREZAEI, M.; SOLEIMANIAN-ZAD, S.; SOLTANIZADEH, N.; AKBARI-ALAVIJEH, S. 2018. Use of Aloe vera gel powder to enhance the shelf life of chicken nugget during refrigeration storage. *LWT* (United States). 95:380-386.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.066>
34. SHARMA, R.; BURANG, G.; KUMAR, S.; SHARMA, Y.P.; KUMAR, V. 2021. Optimization of apricot (*Prunus armeniaca* L.) blended Aloe vera (*Aloe barbadensis* M.) based low-calorie beverage functionally enriched with aonla juice (*Phyllanthus emblica* L.). *Journal of Food Science and Technology* (India). 1-12.
<https://doi.org/10.1007/s13197-021-05216-z>
35. SIMÕES DA SILVA, T.M.; MEIRELLES PIAZENTIN, A.C.; NÓBREGA MENDOÇA, C.M.; CONVERTI, A.; BITTENCOURT BOGSAN, C.S.; MORA, D.; PINHEIRO DE SOUZA, R.P. 2020. Buffalo milk increases viability and resistance of probiotic bacteria in dairy beverages under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Dairy Science* (United States). 103(9):7890-7897.
<https://doi.org/10.3168/jds.2019-18078>
36. SOLTANIZADEH, N.; GHIASI-ESFAHANI, H. 2015. Qualitative improvement of low meat beef burger using Aloe vera. *Meat Science* (Netherlands). 99:75-80.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.09.002>
37. TAMIME, A.; ROBISONS, R. 2007. *Tamime and Robinson's Yogurt: Science and Technology*. 3rd ed. Woodhead Publishing LTD (United Kingdom). p.11-118.
38. WANG, W.; BAO, Y.; HENDRICKS, G.M.; GUO, M. 2012. Consistency, microstructure and probiotic survivability of goats' milk yoghurt using polymerized whey protein as a co-thickening agent. *International Dairy Journal* (Netherlands). 24(2):113-119.
<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.09.007>
39. YANG, S.; YAN, D.; ZOU, Y.; MU, D.; LI, X.; SHI, H.; LUO, X.; YANG, M.; YUE, X.; WU, R.; WU, J. 2021. Fermentation temperature affects yogurt quality: A metabolomics study. *Food Bioscience* (United Kingdom). 42:101104.
<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101104>



Prototipo de alimento deshidratado con base en harina de auyama enriquecido con fuentes proteicas no convencionales

Prototype of dehydrated food based on butternut squash flour enriched with non-conventional protein sources

Magda Piedad Valdés-Restrepo^{1*} ; Liliana Londoño-Hernández¹ ; Sanín Ortiz-Grisales² ; Beatriz Guevara-Guerrero¹ 

¹Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Palmira - Valle del Cauca, Colombia; e-mail: magda.valdes@unad.edu.co; liliana.londono@unad.edu.co; beatriz.guevara@unad.edu.co

²Universidad Nacional de Colombia. Palmira - Valle del Cauca, Colombia; e-mail: sortizg@unal.edu.co

*autor de correspondencia: magda.valdes@unad.edu.co

Cómo citar: Valdés-Restrepo, M.P.; Londoño-Hernández, L.; Ortiz-Grisales, S.; Guevara-Guerrero, B. 2022. Prototipo de alimento deshidratado con base en harina de auyama enriquecido con fuentes proteicas no convencionales. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 25(1):e1844. <http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1844>

Artículo de acceso abierto publicado por Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, bajo una Licencia Creative Commons CC BY-NC 4.0

Publicación oficial de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Institución de Educación Superior Acreditada de Alta Calidad por el Ministerio de Educación Nacional.

Recibido: febrero 1 de 2021

Aceptado: marzo 31 de 2022

Editado por: Rita María Ávila G. de Hernández

RESUMEN

Debido al contenido de macronutrientes, micronutrientes y antioxidantes, la ingesta de hortalizas y de legumbres en la dieta puede reducir el riesgo de enfermedades, por tanto, el objetivo de esta investigación fue desarrollar un prototipo de alimento deshidratado con base en harina de auyama (*Cucurbita moschata* Duchense), enriquecido con fuentes proteicas, provenientes de granos. Se establecieron seis tratamientos empleando nueve materias primas, variando el porcentaje de cada una de ellas, donde la mayor proporción correspondió a la harina de auyama, se realizó un análisis bromatológico para cada materia prima y tratamiento. Posteriormente, se adelantó el análisis de carotenos totales, carbohidratos y calorías; para las variables materia seca (MS), cenizas, grasa, proteína cruda (PC), fibra detergente ácida (FDA) y fibra detergente neutra (FDN), se empleó un análisis de varianza y para la prueba sensorial, se aplicó la prueba Friedman, con 60 jueces. Al emplear los factores de conversión Atwater, los resultados indicaron que los materiales seleccionados para formular

un prototipo de alimento deshidratado presentan bajo contenido de fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente ácida (FDA). La prueba de Friedman estableció que el mejor tratamiento para los 60 evaluadores fue el 6 seguido del 1, con la inclusión de harina de auyama del 15 y 20 %, respectivamente. Se concluye que, a partir de la inclusión de harina de hortaliza y de leguminosas es posible obtener un producto deshidratado con alto contenido de macronutrientes.

Palabras clave: Análisis bromatológico; Alimento enriquecido; Análisis sensorial; Proteína vegetal; Zapallo.

ABSTRACT

Due to the content of macronutrients, micronutrients, and antioxidants, the intake of vegetables and legumes in the diet can reduce the risk of diseases, therefore, the objective of this research was to develop a prototype of dehydrated food based on butternut squash (*Cucurbita moschata* Duchense) enriched with protein

sources from grains. six treatments were established using nine raw materials, varying the percentage of each of them, where the highest proportion corresponded to butternut squash, a bromatological analysis was carried out for each raw material and treatment. Subsequently, the analysis of total carotenoids, carbohydrates, and calories was carried out; for the variables dry matter (DM), ashes, fat, crude protein (CP), acid detergent fiber (ADF), and neutral detergent fiber (NDF), an analysis of variance was used and for the sensory test the Friedman test was performed with 60 judges. When using the Atwater conversion factors, the results indicated that the materials selected to formulate a dehydrated food prototype have a low content of neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF). The Friedman test established that the best treatment for the 60 evaluators was 6 followed by 1, with the inclusion of butternut squash at 15 and 20 %, respectively. It is concluded that, from the inclusion of vegetable and legume flour, it is possible to obtain a dehydrated product with a high content of macronutrients.

Keywords: Bromatological analysis; Enrich food; Sensorial analysis; Vegetable protein; Butternut squash.

INTRODUCCIÓN

La presión que se ejerce en el aumento de la productividad agrícola sumado a la necesidad de brindar a la población bienestar nutricional, ha hecho que se oferten nuevos productos cambiando los hábitos alimenticios (Kumar & Pandey, 2020). Las personas consumen más comida instantánea que, en su mayoría, son alimentos deshidratados, con altos contenidos en azúcar, glutamato monosódico, grasa y bajo valor nutritivo de vitaminas, minerales, proteína y fibras (Kaushik *et al.* 2014).

El reto del siglo XXI es mejorar la calidad de vida desde la nutrición, en donde la introducción de materias primas de calidad en un producto alimenticio podría disminuir el riesgo de enfermedades (Morais *et al.* 2018); es así, como la incorporación de carotenoides, proteínas o compuestos fenólicos en un producto proporcionaría un alimento potencialmente funcional, con destacables beneficios para la salud (Siró *et al.* 2008). Esto es posible, siempre que se cuente con biodisponibilidad de compuestos activos (Betoret *et al.* 2016); sin embargo, las plantas, en especial hortalizas y legumbres, contienen elementos que, por su origen, brindan requerimientos nutricionales en abundancia. En este sentido, la auyama o zapallo posee una pulpa destacada por su alto contenido de carotenoides, en especial, alfa y betacaroteno (Ortiz Grisales *et al.* 2015; Rodríguez *et al.* 2018).

Para lograr la incorporación de nutrientes en un producto, se requiere secar la materia prima y la posterior reducción de tamaño en partículas finas; es por ello, que el secado es una de las operaciones unitarias más empleadas en la agroindustria, para prolongar la vida útil de un producto (Moreno *et al.* 2014), debido a que al disminuir la humedad se reduce la actividad microbiana (Junqueira *et al.* 2021), las reacciones químicas y la actividad enzimática y oxidativa (Farzana *et al.* 2017; Barbosa-Cánovas *et al.* 2020).

La molienda es, generalmente, la operación unitaria posterior al secado, donde la reducción de partícula es fundamental para obtener alimentos blandos y, por ende, fáciles de masticar y de palatabilizar (Okamoto *et al.* 2015); es así, como las sopas instantáneas se convierten en la mejor alternativa para nutrir, permitiendo incorporar frutos, hortalizas y verduras, como fuentes de macro y de micronutrientes en la dieta diaria (Islam *et al.* 2018; Mohamed *et al.* 2020).

Para la formulación y el desarrollo de productos, ya sean nuevos o mejorados, es posible incorporar materias primas deshidratadas, como vegetales, frutos, hortalizas o legumbres de fácil cocción, mejorando la calidad, mediante la introducción de fuentes no convencionales, ricas en proteínas, minerales, vitaminas y carotenoides, que sean adecuadas para todo tipo de persona, bajo los preceptos de una dieta balanceada.

Por tanto, el objetivo de la presente investigación fue desarrollar un prototipo de alimento deshidratado con base en harina de auyama (*Cucurbita moschata* Duchense), del cultivar Unapal Abanico-75, enriquecido con fuentes proteicas provenientes de granos, tendientes a generar un nuevo producto alimenticio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización. El acondicionamiento de las materias primas, las pruebas de secado y los análisis de la valoración macromolecular, se realizaron en el laboratorio de semillas de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira, en convenio con la Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD, Palmira; las pruebas de proteína cruda (PC), fibra detergente ácida (FDA) y fibra detergente neutra (FDN) fueron realizadas por la empresa Confía Control S.A., ubicada Bogotá, Colombia. Se emplearon frutos de auyama en madurez de cosecha (MACO), del cultivar Unapal Abanico 75, como materia prima principal, además de harina de maíz (*Zea mays* L.), caupí (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), grano de habichuela (*Phaseolus vulgaris* L.), lenteja (*Lens culinaris* Medik.), soya (*Glycine max* (L.) Merr.), garbanzo (*Cicer arietinum* L.), morera (*Morus alba* L.) y moringa (*Moringa oleifera* Lam.) y especias (cebolla y ajo en polvo). Estas mezclas, se realizaron con el objetivo de incorporar en el prototipo de alimento deshidratado, el mayor contenido de nutrientes, especialmente, de proteína y de carotenos totales, en donde los granos de leguminosas y la auyama son una excelente alternativa, como fuente nutricional.

Acondicionamiento de materias primas. Los frutos de auyama fueron lavados y sumergidos en una solución de hipoclorito al 1 %, por 10 segundos; se extrajo la semilla y la matriz (cavidad placentaria, donde se almacena la semilla) y se redujo manualmente la pulpa en rebanadas de 0,5 cm de espesor. Para mejorar el secado del material, se realizó un pretratamiento de choque con aire frío, el cual, se efectuó en un cuarto de refrigeración, con temperatura de 8 °C, por 48 horas; posteriormente, se adelantó un secado convectivo en horno, marca BINDER, modelo ED 115, a una temperatura de 50 °C, por 12 horas, evitando la menor pérdida de carotenos totales. Luego, se efectuó una reducción de tamaño de partícula y se

almacenó en bolsas negras y bidones de cierre hermético. Las demás materias primas, maíz, caupí, grano de habichuela, lenteja, soya, garbanzo, morera y moringa se acondicionaron, según su naturaleza hasta harina (secado y molido) y para obtener una granulometría fina, se pasaron todas las harinas por el equipo de molino analítico, marca Kitchenaid y, posteriormente, se pasaron por una malla tyller número 60 y se obtuvo una partícula de 0,025 cm.

Variables a evaluar. Se realizó un análisis proximal o bromatológico y Van soest por cada materia prima (Tabla 1) y para determinar el comportamiento de partícula en medio líquido, se efectuó una exploración a diferentes temperaturas (20, 40, 60 y 80 °C), en 200 mL de agua.

Tabla 1. Análisis proximal realizado a cada harina (auyama, maíz, caupí, grano de habichuela, lenteja, soya, garbanzo, morera y moringa).

Componente	Componente determinado	Método empleado
Materia seca (MS)	Humedad	Humedad, AOAC 925.09 -1995
Cenizas	Minerales	Calcinación, AOAC 923.03
Extracto etéreo (EE)	Grasa cruda	Extracción etérea, Soxhlet, AOAC 960.39. 21st. Edición 2019.
Proteína	Nitrógeno x 6.25	Kjeldahl, AOAC 981.10. 21st. Edición 2019.
Fibra	Fibra detergente neutra	Gravimetría, AOAC 2002.04
	Fibra detergente ácida	Gravimetría, AOAC 973.18
Extracto Libre de Nitrógeno	Carbohidratos	(100 - % de los otros componentes)

Se realizaron pruebas exploratorias, para identificar el sabor de cada materia prima, las cuales, se sometieron de forma individual a diferentes temperaturas de 20, 40, 60 y 80 °C, en 200 mL de agua y se observó su consistencia, sabor y textura en la partícula, para

así establecer los porcentajes de las diferentes mezclas, empleando seis tratamientos y determinar la proporción ideal, según los requerimientos nutricionales de una dieta balanceada (Tabla 2); para cada tratamiento, se empleó una base de cálculo de un 1 kg.

Tabla 2. Formulación de tratamientos para un alimento deshidratado.

Tratamientos	Auyama %	Caupí %	Garbanzo %	Grano de habichuela %	Maíz %	Lenteja %	Soya %	Moringa %	Morera %	CMC %	Cebolla en polvo %	Ajo en polvo %	Glutamato monosodico (%)	Goma Xantica (%)
T1	20	12	10	10	15	10	15	3	5	0,2	0,5	0,5	0,3	0,3
T2	20	10	13	10	15	10	15	4	3	0,2	0,5	0,5	0,3	0,3
T3	18	12	12	12	12	12	15	2	5	0,2	0,5	0,5	0,3	0,3
T4	18	12	12	10	12	12	15	5	4	0,2	0,5	0,5	0,3	0,3
T5	15	12	12	11	15	12	15	3	5	0,2	0,5	0,5	0,3	0,3
T6	15	15	12	10	15	10	15	4	4	0,2	0,5	0,5	0,3	0,3

Análisis por tratamiento. Para valorar la calidad final del producto deshidratado, se realizaron los análisis de materia seca, cenizas, extracto etéreo y proteína, descritos en la tabla 1; adicionalmente, se cuantificó la cantidad de calorías, carbohidratos y carotenos totales (Tabla 3) y se efectuó una prueba sensorial.

Evaluación sensorial. Se realizó una prueba sensorial, con base en preferencia hedónica por ordenamiento, según la Guía Técnica Colombiana GTC 165:2014 (ICONTEC, 2014) y la Norma Técnica Colombiana NTC 3930:2015 (ICONTEC, 2015), que consiste en que los evaluadores ordenen las muestras, de acuerdo con un criterio específico, en este caso, sabor. Se emplearon evaluadores

no entrenados, con edades comprendidas entre los 20 y 65 años y de ambos géneros; las muestras fueron codificadas, empleando tres números por referencia, para un total de seis muestras por catador. Estas pruebas, se realizaron en las instalaciones de la Universidad Nacional Abierta y a distancia, cuyo salón estuvo provisto de cubículos a 1,5 metros de distancia, iluminado con luz led.

Análisis estadístico. Se realizó un análisis de varianza, con un nivel de confianza del 95 % para cada variable, con un diseño completamente al azar, con tres repeticiones, bajo el modelo matemático $Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$, donde: Y_{ij} = variable de respuesta; μ = Promedio general; T_i = Efecto del tratamiento sobre la variable de

respuesta y E_{ij} = Error experimental. Se compararon las medias de tratamientos con la prueba Duncan al 5 %.

Para el análisis sensorial por ordenamiento, se empleó la prueba de Friedman, según la ecuación:

$$F_{test} = \frac{12}{j * p(p + 1)} (R_1^2 + \dots + R_p^2) - 3j(p + 1)$$

En donde: j = número de evaluadores; p = productos; R_1, R_2, \dots, R_p = rangos de las muestras p sobre los j evaluadores. Se empleó el software minitab 18 para el análisis estadístico.

Tabla 3. Análisis realizados a los tratamientos.

Análisis	Componente determinado	Método empleado
Calorías	Proteína 4 kcal/g + carbohidratos 4 kcal/g + grasa 9 kcal/g + fibra 2 kcal/g	Determinación indirecta factor Atwater
Carbohidratos	---	Cálculos por diferencia
Fibra cruda o bruta	Fibra - Van soest	Digestión Ácida-Alcalina calcinación, AOAC 962.09. 21st.Edition 2019.
Carotenos totales	Carotenoides	Extracción éter de petróleo-acetona desarrollado por HarvestPlus

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características de las materias primas empleadas en el alimento deshidratado. Los resultados del análisis bromatológico (Tabla 4) realizados a los nueve materiales, muestran la composición nutricional, en donde el contenido de materia seca (MS) fue similar en los nueve materiales en estudio. Los resultados están concordantes con los publicados por diferentes investigadores; Ubaque *et al.*

(2015) reportaron 87,11 y 87,76 % de materia seca para auyama y maíz, respectivamente; Rodríguez *et al.* (2020), en soya, un contenido de MS de 89 %; Mamiro *et al.* (2011) y Oppong & Germain (2018) reportaron en caupí, una MS de 89,1 %, similar al material en estudio; sin embargo, Valdiviá-Navarro *et al.* (2020) consiguieron 82,03 % de MS en moringa; Imran *et al.* (2010), una MS de 81,72 %, en morera y Prolla *et al.* (2010), en grano de habichuela, 86,67 % de MS, inferiores a los reportados en la tabla 4.

Tabla 4. Contenidos de materia seca (MS), cenizas, grasa, proteína cruda (PC), fibra detergente ácida (FDA), fibra detergente neutra (FDN) en nueve (9) harinas.

Componente	MS (%)	Cenizas (%)	Grasa (%)	PC (%)	FDA (%)	FDN (%)
Auyama	87,97	12,70	3,40	7,40	8,10	14,90
Caupí	88,63	4,00	1,80	22,30	22,60	31,20
Garbanzo	88,78	3,20	6,80	20,30	5,75	23,80
Grano de habichuela	87,97	5,10	1,50	24,70	8,80	37,30
Maíz	87,71	0,50	1,50	7,30	5,00	13,00
Lenteja	88,00	2,80	1,30	25,30	7,00	31,00
Soya	89,43	5,30	18,40	34,90	22,60	17,80
Moringa	89,01	13,4	4,10	30,10	16,80	11,90
Morera	89,99	16,6	4,20	21,40	25,80	19,60
Promedio	88,61	7,07	4,78	21,52	13,61	22,28
DMS (5%)	0,82	6,02	5,77	9,83	8,87	0,82
CV (%)	0,87	79,95	113,38	42,86	61,13	40,74

El contenido de minerales totales, representados en cenizas, constituye una fuente esencial para minimizar el déficit nutricional. De las materias primas estudiadas, la auyama, la moringa y la morera, constituyen la fuente más alta de minerales (Tabla 4). Dari & Yaro (2017) reportan 9,9 % de cenizas para auyama; Valdiviá-Navarro *et al.* (2020), para moringa, 10,31 % e Imran *et al.* (2010), para morera, 3,9 g 100 g⁻¹, inferior a lo reportado en la presente

investigación. Esto es razonable, si se tiene en cuenta que el fruto de auyama utilizado en la presente investigación proviene de un cultivar mejorado genéticamente (Unapal Abanico 75). En cuanto a los datos reportados para morera y moringa pueden variar, debido a la fase fenológica en la que se tomó la muestra, la fertilización y el ambiente.

La soya, se destacó por tener el contenido de grasa más alto, con 18,40 %, seguido de garbanzo, 6,80 % (Tabla 4), siendo superior a lo reportado por Rodríguez *et al.* (2020), quienes determinaron para soya un contenido de grasa de 2,1 2 % y Nosworthy *et al.* (2020), quienes reportaron para garbanzo un contenido de grasa de 2,22 %. Otros autores reportan para los materiales en estudio los siguientes datos: Dari & Yaro (2017), un contenido de grasa en auyama de 0,13 g; Oppong & Germain (2018) y Mamiro *et al.* (2011), 1 % de grasa en caupí; Maxin *et al.* (2013), en maíz, 3,1 % de grasa; Joshi *et al.* (2017) reportan un contenido de grasa entre 0,7-4,3 %, en lenteja; Valdivié-Navarro *et al.* (2020), un contenido de grasa en moringa, 3,10 % y Prolla *et al.* (2010), para grano de habichuela, un contenido de grasa, 1,90 %. Lo anterior indica que los datos de una materia prima para una determinada variable pueden cambiar, dependiendo de la variedad, cultivar o muestra empleada en los diferentes experimentos.

El caupí, el garbanzo, la habichuela, la lenteja y la soya, al igual que otros granos leguminosos, suministran un alto nivel de proteína, por lo que son considerados extremadamente valiosos para las personas que no pueden obtener la proteína de fuentes de origen animal (Oppong & Germain, 2018). En la presente investigación, todos los materiales superaron el 20 % de proteína; salvo auyama y maíz, el contenido de proteína cruda en auyama fue similar al reportado por Ubaque *et al.* (2015), con 8,26 %, pero inferior a maíz, con 12,20 % de proteína. Upadhyay *et al.* (2017) afirman que las leguminosas en sopas instantáneas aumentan sensorialmente la carga nutricional, en especial, la proteína. Esto indica que, aunque la auyama tiene baja contenido en proteína, no es una limitante, ya que los demás materiales leguminosas compensan esta variable (Tabla 4).

La fracción fibrosa está representada en fibra detergente neutra (FDN) que, en general, controla llenado físico del estómago

glandular y fibra detergente ácida (FDA); estas fibras marcan la digestibilidad burda de un material, por tanto, a menor contenido de fibras (FDN y FDA), mayor calidad de los materiales, mayor digestibilidad y más consumo. En los datos reportados, se observa que los contenidos son muy bajos para ambas fibras (Tabla 4), lo que indica que todos los materiales son apropiados para su consumo y de fácil digestibilidad, presentándose promedios de 13,61 %, de FDA y 22,28 %, de FDN.

En la tabla 5, se observa el contenido nutricional de los tratamientos, en donde no se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) para las variables MS, cenizas, grasa, proteína, fibra y calorías; sin embargo, sí se encontraron diferencias significativas entre carbohidratos y carotenos totales ($p < 0,05$). Aunque cada tratamiento está formado por diferentes porcentajes de materia prima, el balance bromatológico se conservó, siendo evidente el alto contenido de carotenos totales, aún en forma de harina, es decir, conserva un alto contenido de carotenos totales habiendo sido sometida la pulpa a temperatura para su secado. Según Jiang *et al.* (2014), los tres principales nutrientes (proteínas, grasas y carbohidratos), contenidos en un alimento, al ser metabolizados, liberan energía; bajo esta consideración, se ha realizado la restricción de ingesta de energía por persona a 2.000 kcal día⁻¹, (Camacho & Ruppel, 2017). Con base en lo anterior, las calorías de los 6 tratamientos en promedio fueron de 345 kcal 100g⁻¹, lo que indica que pueden ser incorporados en un alimento deshidratado, preferiblemente, en forma de sopa, por su fácil preparación.

Análisis sensorial. Aunque los datos nutricionales no muestran diferencias entre algunos de los componentes de los tratamientos, al realizar el análisis sensorial, empleando la prueba de Friedman con 60 evaluadores no entrenados, sí se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos (Fc 58,01: Ft 3,79), por lo que

Tabla 5. Componentes nutricionales de los tratamientos.

Componente	MS	Cenizas	Grasa	Proteína	Fibra cruda	Carbohidratos	Calorías Kcal 100g ⁻¹	Carotenos totales %
	g 100g ⁻¹							
Tratamiento 1	89,5a*	4,6a	3,9a	20,6a	2,2a	58,2b	350a	125,44
Tratamiento 2	89,7a	4,5a	3,8a	19,6b	2,4a	59,4a	350a	100,64
Tratamiento 3	89,4a	4,9a	3,3a	20,4a	2,8a	58,0b	343a	93,47
Tratamiento 4	89,5a	4,8a	3,3a	21,5a	2,6a	57,3c	345a	105,52
Tratamiento 5	89,7a	4,6a	2,8b	21,4a	2,8a	58,1b	343a	111,48
Tratamiento 6	89,5a	5,2b	3,6a	20,6a	2,7a	57,4c	344a	127,51
Promedio	89,55	4,77	3,45	20,68	2,58	58,07	345,83	110,68
DMS (5%)	0,17	0,36	0,57	0,98	0,33	1,06	4,67	19,21
CV (%)	0,13	5,41	11,7	3,38	9,29	1,29	0,95	12,28

*Valores en la misma columna con letras iguales no difieren ($P < 0,05$).

se realizó una prueba de diferencias mínimas significativas (DMS). Con la prueba de DMS, se pudo detectar que el mejor tratamiento es el sexto seguido del primero; estos dos tratamientos presentan los contenidos más altos de carotenos totales, lo que indica que sí es posible obtener un producto con base en harina de auyama, del cultivar Unapal Abanico-75 y enriquecido con fuentes proteicas no convencionales.

Conflictos de intereses: El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados. **Financiación:** Esta investigación fue llevada a cabo en la Universidad Nacional Abierta y a Distancia y la Universidad Nacional de Colombia-Palmira.

REFERENCIAS

1. BARBOSA-CÁNOVAS, G.V.; FONTANA JR, A.J.; SCHMIDT, S.J.; LABUZA, T.P. 2020. Water activity in foods: Fundamentals and applications. Second edition. John Wiley & Sons, Inc. 640p.
<https://doi.org/10.1002/9781118765982>
2. BETORET, E.; CALABUIG-JIMÉNEZ, L.; BARRERA, O.; DALLA ROSA, M. 2016. Sustainable drying technologies for the development of functional foods and preservation of bioactive compounds. En: Olvera, J.D.R. (ed). Sustainable Drying Technologies. IntechOpen.
<https://doi.org/10.5772/64191>
3. CAMACHO, S.; RUPPEL, A. 2017. Is the calorie concept a real solution to the obesity epidemic? *Global Health Action*. 10(1):1289650.
<https://doi.org/10.1080/16549716.2017.1289650>
4. DARI, L.; YARO, S.N. 2017. Nutritional composition and storage of Butternut squash. *Ghana J. Horticulture (JHORT)*. 12(1):25-31.
5. FARZANA, T.; MOHAJAN, S.; SAHA, T.; HOSSAIN, N.; HAQUE, Z. 2017. Formulation and nutritional evaluation of a healthy vegetable soup powder supplemented with soy flour, mushroom, and moringa leaf. *Food Sci. Nutr*. 5(4):911-920.
<https://doi.org/10.1002/fsn3.476>
6. IMRAN, M.; KHAN, H.; SHAH, M.; KHAN, R.; KHAN, F. 2010. Chemical composition and antioxidant activity of certain *Morus* species. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*. 11:973-980.
<https://doi.org/10.1631/jzus.B1000173>
7. INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS, ICONTEC. 2014. GTC 165:2014. Análisis sensorial. Metodología. Guía general. 26p.
8. INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS, ICONTEC. 2015. NTC 3930:2015. Análisis sensorial. metodología. ordenamiento de acuerdo con un criterio específico (Ranking). 24p.
9. ISLAM, M.; SARKER, M.; ISLAM, M.; PRABAKUSUMA, A.; MAHMUD, N.; FANG, Y.; YU, P.; XIA, W. 2018. Development and quality analysis of protein enriched instant soup mix. *Food and Nutrition Sciences*. 9(6):663-675.
<https://doi.org/10.4236/fns.2018.96050>
10. JIANG, B.; TSAO, R.; LI, Y.; MIAO, M. 2014. Food safety: Food analysis technologies/Techniques. En: Van Alfen, N.K. (ed). *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*. Academic Press. p.273-288.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52512-3.00052-8>
11. JOSHI, M.; TIMILSENA, Y.; ADHIKARI, B. 2017. Global production, processing, and utilization of lentil: A review. *Journal of Integrative Agriculture*. 16(12):2898-2913.
[https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61793-3](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61793-3)
12. JUNQUEIRA, J.R.DE.J.; CORRÊA, J.L.G.; MENDONÇA, K.S.; MELLO JUNIOR, R.E.DE.; SOUZA, A.U. 2021. Modeling mass transfer during osmotic dehydration of different vegetable structures under vacuum conditions. *Food Science and Technology*. 41(2):439-448.
<https://doi.org/10.1590/fst.02420>
13. KAUSHIK, R.; SACHDEVA, B.; ARORA, S.; WADHWA, B.K. 2014. Development of an analytical protocol for the estimation of vitamin D-2 in fortified toned milk. *Food Chemistry*. 151:225-230.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.085>
14. KUMAR, S.; PANDEY, G. 2020. Biofortification of pulses and legumes to enhance nutrition. *Heliyon*. 6(3):e03682.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03682>
15. MAMIRO, P.; MBWAGA, A.M.; MAMIRO, D.; MWANRI, A.; KINABO, J. 2011. Nutritional quality and utilization of local and improved cowpea varieties in some regions in Tanzania. *African J. Food, Agriculture, Nutrition and Development*. 11:4490-4506.
16. MAXIN, G.; OUELLET, D.R.; LAPIERRE, H. 2013. Ruminant degradability of dry matter, crude protein, and amino acids in soybean meal, canola meal, corn, and wheat dried distillers grains. *J. Dairy Science*. 96(8):5151-5160.
<https://doi.org/10.3168/jds.2012-6392>
17. MOHAMED, R.S.; ABOZED, S.S.; EL-DAMHOUGY, S.; SALAMA, M.F.; HUSSEIN, M.M. 2020. Efficiency of newly formulated functional instant soup mixtures as dietary supplements for elderly. *Heliyon*. 6(1):e03197.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03197>

18. MORAIS, R.M.S.C.; MORAIS, A.M.M.B.; DAMMAK, I.; BONILLA, J.; SOBRAL, P.J.A.; LAGUERRE, J.-C.; AFONSO, M.J.; RAMALHOSA, E.C.D. 2018. Functional dehydrated foods for health preservation. *J. Food Quality*. 1-29.
<https://doi.org/10.1155/2018/1739636>
19. MORENO, D.C.; SIERRA, H.M.; DÍAZ MORENO, C. 2014. Evaluación de parámetros de calidad físico- química, microbiológica y sensorial en tomate deshidratado comercial (*Lycopersicon esculentum*). *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 17(1):131-138.
<https://doi.org/10.31910/rudca.v17.n1.2014.948>
20. NOSWORTHY, M.G.; MEDINA, G.; FRANCZYK, A.J.; NEUFELD, J.; APPAH, P.; UTIOH, A.; FROHLICH, P.; TAR'AN, B.; HOUSE, J.D. 2020. Thermal processing methods differentially affect the protein quality of Chickpea (*Cicer arietinum*). *Food Science & Nutrition*. 8(6):2950-2958.
<https://doi.org/10.1002/fsn3.1597>
21. OKAMOTO, N.; MORIKAWA, M.; YANAGI, M.; AMANO, N.; TOMIOKA, K.; HAZAKI, K.; HARANO, A.; KURUMATANI, N. 2015. Association of tooth loss with development of swallowing problems in community-dwelling independent elderly population: The Fujiwara-kyo Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 70(12):1548-1554.
<https://doi.org/10.1093/gerona/glv116>
22. OPPONG, D.; GERMAIN, K.A. 2018. Comparative studies on proximate composition of cowpea, maize and soft wheat flours in Ghana. *Nutrition and Food Toxicology*. 680-685.
23. ORTIZ GRISALES, S.; VALDÉS RESTREPO, M.P.; VALLEJO CABRERA, F.A.; BAENA GARCÍA, D. 2015. Genetic correlations and path analysis in butternut squash *Cucurbita moschata* Duch. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín*. 68(1):7399-7409.
<https://doi.org/10.15446/rfnam.v68n1.47827>
24. PROLLA, I.R.D.; BARBOSA, R.G.; VEECK, A.P.L.; AUGUSTI, P.R.; DA SILVA, L.P.; RIBEIRO, N.D.; EMANUELLI, T. 2010. Cultivar, harvest year, and storage conditions affecting nutritional quality of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Sci. Technol.* 30(Suppl. 1):96-102.
<https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000500016>
25. RODRÍGUEZ, D.A.; LEE, S.A.; DE GODOY, M.R.C.; STEIN, H.H. 2020. Extrusion of soybean hulls does not increase digestibility of amino acids or concentrations of digestible and metabolizable energy when fed to growing pigs. *Transl. Anim. Sci.* 4(3):1-9.
<https://doi.org/10.1093/tas/txaa169>
26. RODRÍGUEZ, R.A.R.; VALDÉS, R.M.P.; ORTIZ, G.S. 2018. Características agronómicas y calidad nutricional de los frutos y semillas de zapallo *Cucurbita* sp. *Rev. Col. Ciencia Animal - RECIA*. 10(1):86-97.
<https://doi.org/10.24188/recia.v10.n1.2018.636>
27. SIRÓ, I.; KÁPOLNA, E.; KÁPOLNA, B.; LUGASI, A. 2008. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance-a review. *Appetite*. 51(3):456-467.
<https://doi.org/10.1016/j.appet.2008.05.060>
28. UBAQUE, C.C.; OROZCO, L.V.; ORTIZ, G.S.; VALDÉS, M.P.; VALLEJO, F.A. 2015. Sustitución del maíz por harina integral de zapallo en la nutrición de pollos de engorde. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 18(1):137-146.
<https://doi.org/10.31910/rudca.v18.n1.2015.462>
29. UPADHYAY, S.; TIWARI, R.; KUMAR, S.; KOHLI, D. 2017. Production and evaluation of instant herbal mix soup. *International Journal of Agricultural*. 7(3):37-42.
30. VALDIVIÉ-NAVARRO, M.; MARTÍNEZ-AGUILAR, Y.; MESA-FLEITAS, O.; BOTELLO-LEÓN, A.; BETANCUR HURTADO, C.; VELÁZQUEZ-MARTÍ, B. 2020. Review of *Moringa oleifera* as forage meal (leaves plus stems) intended for the feeding of non-ruminant animals. *Animal Feed Science and Technology*. 260:114338.
<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114338>



Fortalecimiento empresarial en asociaciones apícolas: estudio de caso Asociación “Panaldemiel” del municipio de Fortul-Arauca

Business development in beekeeping associations: Case study Association “Panaldemiel” of the municipality of Fortul-Arauca

Dairo Burgos-Cañas^{1*} ; Fabio Eleazar Lozano-Suarez¹ ; Dora Esther Fonseca-Pinto¹ 

¹Universidad pedagógica y tecnológica de Colombia-UPTC, Seccional Duitama, Administración empresas agropecuarias, grupo de investigación GIGASS. Duitama - Boyacá, Colombia; e-mail: dairo.burgos@uptc.edu.co; fabilos53@hotmail.com; dora.fonseca@uptc.edu.co

*autor de correspondencia: dairo.burgos@uptc.edu.co

Cómo citar: Burgos-Cañas, D.; Lozano-Suarez, F.E.; Fonseca-Pinto, D.E. 2022. Fortalecimiento empresarial en asociaciones apícolas: estudio de caso Asociación “Panaldemiel” del municipio de Fortul-Arauca. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 25(1):e2203. <http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.2203>

Artículo de acceso abierto publicado por Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, bajo una Licencia Creative Commons CC BY-NC 4.0

Publicación oficial de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Institución de Educación Superior Acreditada de Alta Calidad por el Ministerio de Educación Nacional.

Recibido: agosto 24 de 2021

Aceptado: marzo 2 de 2022

Editado por: Helber Adrián Arévalo Maldonado

RESUMEN

La apicultura, a nivel mundial, es de gran importancia, por el desempeño que realizan las abejas, como agentes polinizadores del 75 % de los cultivos, que garantizan la seguridad alimentaria de millones de personas. En Colombia, el sector apícola contribuye al fortalecimiento de la economía campesina y promueve la conservación de diferentes ecosistemas estratégicos. Respecto al municipio de Fortul, Arauca, cuenta con una importante zona de reserva forestal y una amplia variabilidad de ecosistemas, aptos para el desarrollo de la apicultura, actividad que, actualmente, se desarrolla por la asociación “Panaldemiel”, la cual, requiere un acompañamiento y fortalecimiento de las capacidades organizacionales y gerenciales. Es así, que el objeto de la presente investigación es “fortalecer la gestión administrativa de la Asociación de Apicultores “Panaldemiel”, del municipio de Fortul, Arauca”, estudio soportado en el método de investigación Acción-participación, bajo la estrategia de estudio

de caso, que permite analizar la problemática en un contexto real, facilitando la obtención de información necesaria, para la formulación de herramientas estratégicas, encaminadas a dinamizar el proceso productivo y competitivo de la asociación, en el ámbito local y regional. Se concluye, que la asociación cuenta con un alto porcentaje de aspectos positivos internos y externos que la respalda, de manera significativa; sin embargo, se requiere de un compromiso gubernamental para mitigar la coyuntura de orden público que se vive en esta región.

Palabras claves: Asociatividad empresarial; Apicultura; Diagnostico estratégico; Fortalecimiento empresarial; *Apis mellifera*.

ABSTRACT

Beekeeping worldwide is of great importance for the performance of bees as pollinating agents of 75 % of the crops that guarantee the

food security of millions of people. In Colombia, the beekeeping sector contributes to the strengthening of the peasant economy and promotes the conservation of different strategic ecosystems. With respect to the municipality of Fortul-Arauca has an important forest reserve area and wide variability of ecosystems suitable for the development of beekeeping, an activity that is currently developed by the association “Panaldemiel”, which requires an accompaniment and strengthening of organizational and managerial capacities, so the purpose of this research is “to strengthen the administrative management of the Association of Beekeepers “Panaldemiel” of the municipality of Fortul-Arauca” study supported by the Action-participation research method, under the case study strategy, which allows analyzing the problem in a real context, facilitating the obtaining of information necessary for the formulation of strategic tools aimed at boosting the productive and competitive process of the association at the local and regional level. It is concluded that the association has a high percentage of internal and external positive aspects that support it significantly, however, a government compromise is required to mitigate the situation of public order that is lived in this region.

Keywords: Business partnerships; Beekeeping; Strategic diagnosis; Administrative process; *Apis mellifera*.

INTRODUCCIÓN

La asociación de productores constituye una de las estrategias fundamentales para la organización de personas, con el objetivo de sumar esfuerzos para maximizar la productividad y llegar a ser competitivos en los diferentes mercados locales, nacionales e internacionales (Landini, 2016). Según la Agencia Presidencial de Cooperación Internacional de Colombia (APC-COLOMBIA, 2017) expresa que la asociatividad se constituye como una estrategia de desarrollo rural sostenible para los pequeños productores y campesinos, quienes buscan mejorar sus economías locales y regionales.

Como se mencionó, la asociatividad se concibe como una estrategia para dar solución a la problemática existente, como la falta de tecnificación de la producción agropecuaria, bajos estándares de calidad, exigidos por los mercados y bajos niveles de competitividad, a nivel general (Landini, 2016). Vélez Bernal *et al.* (2019) afirman que la asociatividad resuelve problema, crea oportunidades e incorpora tecnologías que mejoran la productividad, fortalece la economía de escala y fomenta el desarrollo de capacidades empresariales, donde se incluye todos los eslabones de la cadena productiva, la cual, se enmarca en uno de los retos fundamentales para el sector agropecuario colombiano y busca una rentabilidad económica y ambiental de los sectores, como el apícola, que se acogen a este mecanismo (Burgos-Cañas & Fonseca-Pinto, 2020).

En lo referente al sector apícola en Colombia, se encuentra la Cadena Productiva de las Abejas y la Apicultura-CPAA, que tiene como objetivo mejorar la competitividad del sector apícola. En su plan estratégico 2011-2025, una de las líneas estratégicas es el fortalecimiento organizacional y entre las principales actividades

a desarrollar es la realización de diagnósticos administrativos, que permitan formular estrategias encaminadas a fortalecer la gestión y administración de las asociaciones, buscando mejorar la competitividad del sector apícola (Minagricultura, 2011).

Es necesario recalcar que en Colombia, en el primer trimestre del 2020, el sector apícola generó más de 3.000 empleos fijos para el desarrollo de labores de revisión y mantenimiento de, aproximadamente, 4.070 apiarios y 6.000 empleos ocasionales, para trabajos de cosecha y envasado, de una producción cercana a 3.838 toneladas de miel de abejas, distribuidas en diferentes regiones, como la Andina, con un 49 %, desarrollando una apicultura altamente tecnificada; la región Caribe, con el 31 % y la Orinoquia, con el 18 % de producción nacional (Minagricultura, 2020). La región Orinoquia cuenta con una amplia oferta de flora melífera adecuada para el desarrollo de la apicultura; sin embargo, este potencial no se aprovecha, por razones asociadas a la baja cultura de conservación de la abeja *Apis mellifera*, al bajo nivel organizativo, al uso indiscriminado de agroquímicos, a la ganadería extensiva y a la deforestación que causan la pérdida del hábitat y productividad de las abejas (Montoya *et al.* 2016).

La participación de la producción de miel de la Orinoquia esta soportada en los departamentos del Meta, con un 67 %; Vichada, con el 18,4 %; Casanare, con el 11 % y Arauca, con el 3 %. En lo referente al municipio de Fortul, Arauca, objeto de estudio de la presente investigación, aporta el 0,35 %, un porcentaje muy bajo para todas las bondades que tiene este territorio, para el desarrollo de la actividad apícola; sin embargo, es de resaltar el trabajo de las comunidades que buscan alternativas de desarrollo para superar las barreras de la pobreza rural y los problemas de conflicto armado que persiste en el territorio, lo que conlleva grandes limitaciones técnicas, tecnológicas, administrativas e investigativas (Minagricultura, 2020; PNUD, 2019; Alcaldía Municipal de Fortul, 2020).

Según el plan de desarrollo departamental de Arauca “Construyendo futuro” y el plan de desarrollo municipal “Nuestro compromiso es Fortul 2020-2023”, los sectores productivos se encuentran articulados en asociaciones ganaderas, agrícolas y de producción de especies menores, que se caracterizan por tener una baja capacidad administrativa (Alcaldía Municipal de Fortul, 2020; Asamblea Departamental de Arauca, 2020). Con ello, se evidencia que las organizaciones, con o sin ánimo de lucro, requieren desarrollar diagnósticos administrativos, que permitan identificar la problemática y formular las diferentes estrategias enfocadas al fortalecimiento administrativo (Sánchez Otero, 2012).

Investigando, bajo un contexto nacional, se puede decir que las asociaciones enfrentan dificultades relacionadas con la baja aplicación del proceso administrativo, carencia en el liderazgo gerencial, deficiencia de indicadores de gestión empresarial, baja aceptación de respuesta al cambio, limitada innovación tecnológica, situación que se evidencia en diferentes estudios nacionales, conforme lo presentan Ospina Penagos & Alzate Castaño (2018).

Las asociaciones requieren de un acompañamiento enfocado a fortalecer sus capacidades organizacionales, gerenciales, formación de capital humano, trabajo en equipo, liderazgo, manejo de las tecnologías, herramienta de publicidad y ventas; estos son algunos de los requerimientos para alcanzar las metas y los objetivos propuestos y acceder a nuevos mercados y sistemas productivos (Escobar Cazal & Escobar Reyes, 2017).

Según estudios realizados por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y la Cadena Productiva de las Abejas y la Apicultura (CPAA & Minagricultura, 2018), se determinó que la actividad apícola en Colombia es objeto de inversión por parte del Gobierno Nacional, debido a las características y los beneficios que brinda, a nivel económico, social, ambiental y el constante incremento de la cultura de consumo de productos naturales, como los provenientes de la apicultura que, además de sus aportes, contribuye a la polinización del 75 % de los cultivos para consumo humano.

Morelos Gómez & Fontalvo Herrera (2012) determinaron que el diagnóstico administrativo es un estudio sistemático, exhaustivo y periódico, que tiene como finalidad destacar y analizar los factores externos e internos, permitiendo generar alternativas de solución a problemáticas específicas y propias de la organización, de tal forma

que la empresa utilice al máximo los recursos humanos, financieros, económicos, tecnológicos y ambientales, a fin de dar cumplimiento a las metas propuestas, para permanecer y crecer en los mercados (Padilla Puerta *et al.* 2018; Vásquez & Espinosa Pérez, 2015).

La presente investigación esta soportada en el desarrollo de diferentes matrices, como la matriz de evaluación de factores Internos (MEFI), de evaluación de factores externos (MEFE), de debilidades oportunidades fortalezas y amenazas (DOFA) y matriz estratégica, que se centra en identificar las estrategias para aprovechar las oportunidades, contrarrestar las amenazas, acumular y proteger las fortalezas de la organización y erradicar las debilidades; además, se formula la matriz interna y externa (MIME) (Figura 1), la cual, permite conocer la posición actual de la organización, tomar decisiones y formular el plan de acción estratégico, como herramienta de gestión, que incluye, de forma ordenada y concreta, las actividades a desarrollar a corto, mediano y largo plazo y, por último, se construye el mapa de procesos, definido como una herramienta que permite visualizar fácilmente cuáles son y cómo se relacionan los procesos de una organización, identificando las fortalezas, las debilidades y facilitando el mapeo de procesos, logrando soluciones a problemas habituales, que surgen en las organizaciones (Ayara Leandro, 2017; Burckhardt Leiva *et al.* 2016).

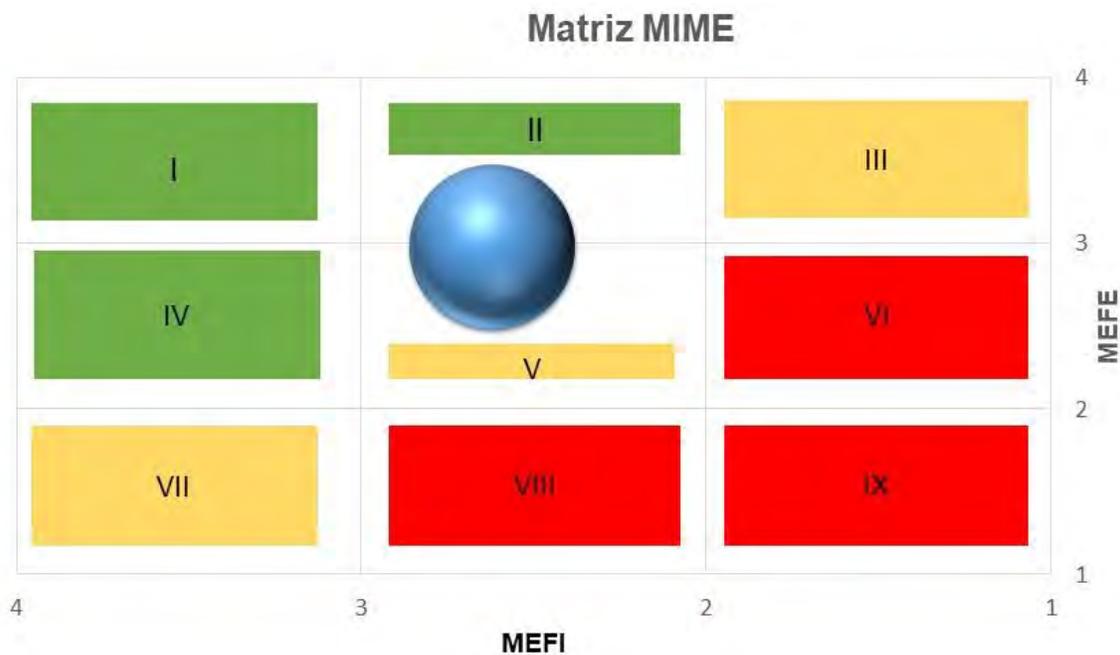


Figura 1. Matriz MIME de la Asociación de Apicultores “Panaldemiel”.

En lo referente a la revisión de estudios previos con casos similares, se puede mencionar aquellos de fortalecimiento empresarial del sector apícola en Yucatán, concluyendo, que la capitalización de la apicultura favorecerá su modernización tecnológica y empresarial, lo que se traduciría en una mayor competitividad (Contreras & Magaña Magaña, 2018); asimismo, se menciona el estudio caso

empresarial Agrícola Naranjas San José SAS., que permitió detectar gestiones realizadas por la compañía para sortear dificultades y generar una diferenciación de las demás productoras de cítricos (Arias & Vélez, 2018); otro caso fundamental es el Análisis de la Política Nacional de Competitividad y Productividad (2008-2014) en Colombia, de Rincón Yara (2019), que busca analizar e identificar

posibles oportunidades para el sector apícola colombiano. Estos son casos que vislumbran el auge que ha tenido el sector apícola, como estrategia de conservación, desarrollo y asociatividad, en los últimos años. De igual manera, se referencia el estudio desarrollado por Ospina Penagos & Alzate Castaño (2018), enfocado a la asociatividad como estrategia para gestionar los procesos de desarrollo empresarial y solución a problemáticas sociales; entre los principales hallazgos, mencionados por los autores, se evidencia las diferentes estrategias de asociatividad, aplicadas para la construcción y el mantenimiento de los lazos de confianza entre los asociados y la comunidad.

De acuerdo con lo expuesto, la presente investigación tiene como objeto fortalecer la gestión administrativa de la Asociación de Apicultores “Panaldemiel”, del municipio de Fortul, Arauca”, asociación pionera, constituida por 22 asociados, que buscan aprovechar el potencial apícola existente en el territorio y, a su vez,

invitar a la comunidad, en general, a ser partícipes en proyectos productivos que contribuyen al cuidado y la conservación del medio ambiente.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en el municipio de Fortul - Arauca, Colombia, zona que se caracteriza por su amplia diversidad biológica y ecosistemas estratégicos, favorables para el desarrollo de las actividades agropecuarias y que, pese a la difícil situación social y de orden público, los campesinos buscan aprovechar, en su totalidad, cada uno de los recursos ofertados. La población objeto de estudio es la Asociación de Apicultores “Panaldemiel”, del municipio de Fortul, conformada por 22 asociados, oriundos de las diferentes veredas del municipio (Figura 2), quienes se dedican a la producción agropecuaria, entre ella, la actividad apícola.

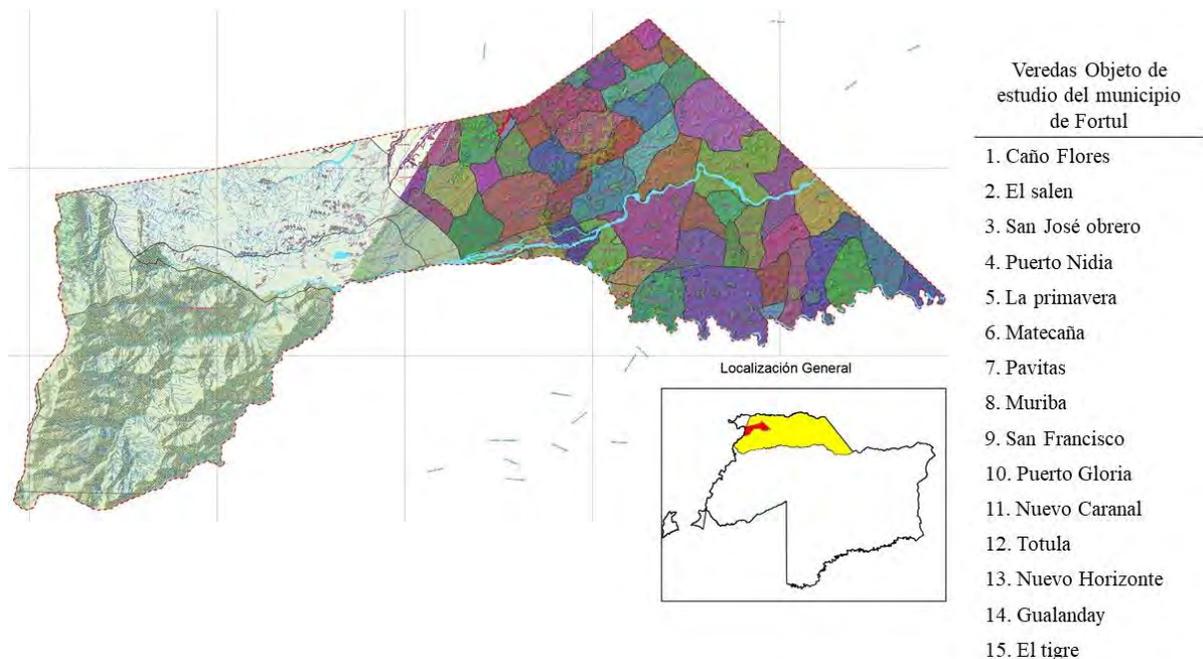


Figura 2. Ubicación geográfica del municipio de Fortul (CIDEA, 2011).

Esta investigación siguió un enfoque mixto, soportado en un conjunto de procesos sistemáticos, empíricos y críticos; en lo referente a la modalidad cuantitativa, se aplicó una encuesta a los socios; en cuanto a la investigación cualitativa, se desarrolló bajo la estrategia encaminada a la toma de decisiones, como es el estudio de caso, que se caracteriza por abordar, de forma intensiva, al grupo objeto de investigación (Asociación Panaldemiel) (Stake, 1994; Arias & Vélez, 2018; Wang, 2016).

El estudio de caso permite analizar la problemática en un contexto de la vida real (Jimenez Chaves & Comet Weiler, 2016), además y, de acuerdo con Villareal Larrinaga & Landeta Rodríguez (2010), facilita la combinación de técnicas para obtener de forma descriptiva información, como revisión documental, cuestionarios, notas de campo, grabaciones de video y la observación participativa que,

para el presente estudio, se realizó por investigadores oriundos del municipio de Fortul, Arauca y, de esta manera, facilitar el desarrollo de la investigación de acción participación, proporcionando una mayor aproximación del contexto y del tiempo

La IAP es una forma de hacer ciencia desde lo social, donde la participación de la población, en el desarrollo de la investigación, aporta al logro de varios objetivos, como es la generación de conocimiento colectivo y crítico; fortalece los procesos de enseñanza y aprendizaje grupal; empodera a la organización social y transforma la realidad (Sirvent & Rigal, 2012). La investigación acción participación IAP, se ha constituido como opción metodológica de acercamiento e interacción con los miembros de la asociación (Colmenares, 2012), enfocada al cambio social, que incluye la participación y el empoderamiento de diferentes

personas, en cuanto al conocimiento y la experiencia de la situación real de la organización, busca mejorar la calidad de vida y el entorno de la comunidad investigada (Zapata & Rondán, 2016).

Con lo expuesto anteriormente, la estructura del estudio se fundamentó en el modelo analítico de formulación estratégica, que se desarrolla en tres etapas. La primera, de recolección de datos, se llevó a cabo por la aplicación de una encuesta diseñada en Google Form, dirigida a los miembros de la organización; cabe mencionar que a causa de la pandemia del COVID-19, se utilizaron varias estrategias de comunicación, como llamadas telefónicas, WhatsApp y Google Meet; además, cuando las medidas de confinamiento y de restricción en la movilidad lo permitieron, un grupo de investigadores se desplazó hasta el municipio de Fortul, donde se desarrollaron talleres participativos y, de esta manera, se obtuvo la información necesaria y suficiente, para la discusión y la formulación de las matrices MEFI, MEFE y DOFA.

En la segunda etapa de comparación, se realizó el cruce de información de las matrices, previamente definidas, obteniendo la Matriz MIME, conformada por nueve cuadrantes, que determinan, de manera gráfica, la posición que se encuentra la organización y permita a los socios tomar decisiones generales, según quede la ubicación estratégica de la asociación en los cuadrantes: I, II y IV, representa el crecimiento y desarrollo; los cuadrantes III, V y VII, significa conservar y mantener o cosechar; los cuadrantes VI y VIII, reducir y el IX, eliminar. Por último, se formuló la matriz estratégica como acción encaminada a mejorar la situación de la asociación, definiendo estrategias FA, DA, DO y FO (Londoño Montoya & Gómez Bayona, 2019). La tercera etapa de decisión se desarrolló con la realización de talleres participativos con los socios, donde se socializó la matriz estratégica y se debatieron los factores claves a tener en cuenta en el plan de acción y, de esta manera, asegurar su viabilidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados se presentan acorde con las tres etapas enunciadas

Recolección de datos: con el desarrollo de dos talleres participativos con los 22 asociados y la aplicación del cuestionario, se logró obtener información relevante, para la construcción de la matriz DOFA, permitiendo la formulación de la matriz MEFI, donde se evaluaron las fortalezas y las debilidades más relevantes de la Asociación de Apicultores “Panaldemiel”, dando como resultado 2,62 % (Tabla 1); los factores internos ponderados son superiores a 2,5 %, indicando que la posición interna de la asociación es fuerte, que puede contrarrestar los efectos de las debilidades y, a su vez, generar alternativas de desarrollo, aprovechando eficientemente cada uno de los recursos.

En lo referente a la matriz MEFE, el resultado de la ponderación de los factores fue de 2,98 % (Tabla 1), logrando una ubicación por encima de la media (2,50), lo que significa, que se puede aplicar

diferentes estrategias encaminadas a aprovechar las oportunidades externas y contrarrestar las amenazas; dicho de otra manera, las oportunidades de la asociación (2,13) identificadas en el estudio, son mayores que las amenazas (0,85), dejando en claro, que la apicultura en el municipio de Fortul es una excelente opción de aprovechamiento de los diferentes recursos, siempre y cuando se pueda contrarrestar la mayor amenaza identificada, la presencia de grupos armados en el territorio.

Etapas de comparación: se puede decir que la Matriz MIME permitió analizar los factores internos (2,62 % eje Y) y factores externos (2,98 % eje X); la asociación Panaldemiel quedó ubicada entre los cuadrantes II, que corresponde a crecimiento y desarrollo, lo que significa que la asociación se ubicó en una posición medianamente estratégica, donde los asociados deben aplicar estrategias encaminadas a fortalecer el producto, el mercado y la imagen corporativa; además, en lo referente a la posición del cuadrante V, que corresponde a mantener y cosechar, la organización debe enfocar estrategias encaminadas a la mejora de la calidad de los productos y a la excelencia del servicio, para ser más competitiva en el mercado.

Con base en la información recolectada, sistematizada y analizada en las etapas anteriores, se formuló la matriz estrategia (Tabla 2), la cual, busca generar estrategias que coadyuven en mejorar las condiciones de la asociación “Panaldemiel”, del municipio de Fortul, buscando lograr ubicarse en una posición más estratégica y competitiva frente a los mercados locales, regionales y nacionales, aprovechando cada una de las variables de las fortalezas y oportunidades.

Etapas de decisión: teniendo en cuenta la información de la matriz estratégica, se formuló el plan de acción, que busca generar alternativas de desarrollo que fomenten la actividad apícola, el cuidado del medio ambiente, el aprovechamiento de la flora melífera de la región y el desarrollo organizacional y administrativo, como herramienta fundamental para la consecución de metas y objetivos de la Asociación de Apicultores

El plan de acción propuesto se realizó con la participación de los socios quienes, a través de un proceso analítico, definieron las actividades a desarrollar, a nivel estratégico, táctico y operativo, a corto y mediano plazo, el cual, se presenta gráficamente en el mapa de procesos estratégicos (Figura 3). Algunas de las actividades estratégicas de corto plazo están encaminadas a formular la concepción de la asociación, como es la identificación de la misión, los valores directivos, los objetivos, las metas, las estrategias visibles, las políticas y los planes de la organización; asimismo, se formularon actividades, a nivel táctico, de mediano plazo, que buscan crear un impacto favorable para la organización, como son la programación de capacitaciones, identificar líneas de crédito, participar en convocatorias, proyectar apertura de mercados, establecer convenios (mejorar canales de comercialización). En lo referente a algunas actividades del nivel operativo, a corto plazo: desarrollar capacitaciones en manejo técnico, uso de las TIC, planes de contingencia, estandarizar la producción, por citar algunas.

Tabla 1. Matriz MEFI y MEFE de la Asociación “Panaldemiel”.

Factores determinantes de éxito		Peso	Calificación	Ponderado
N°	Fortalezas			
F1	Capacitación técnica.	0,08	4	0,32
F2	Alto interés capacitación	0,04	3	0,12
F3	Conocimiento de las funciones directivas.	0,07	4	0,28
F4	Participación en el Plan de Desarrollo Municipal	0,06	4	0,24
F5	Disponibilidad de espacio físico	0,04	3	0,12
F6	Espacio físico con cualidades corporativas.	0,04	3	0,12
F7	Buena organización estructural.	0,09	4	0,36
F8	Página web como estrategia de publicidad y venta.	0,04	3	0,12
F9	Comercialización de productos Apícolas.	0,03	3	0,09
F10	Respaldo económico para acceder a crédito	0,08	4	0,32
Subtotal de Fortalezas				2,09
N°	Debilidades			
D1	Bajo nivel escolaridad de los asociados.	0,06	1	0,06
D2	Baja conocimiento en procesos administrativos.	0,05	1	0,05
D3	Poca participación de los asociados	0,02	2	0,04
D4	Baja comunicación con actores externos.	0,05	1	0,05
D5	Deficientes habilidades gerenciales.	0,05	1	0,05
D6	Falta de cultura de asociatividad	0,03	2	0,06
D7	Centralización en la toma de decisiones	0,06	1	0,06
D8	Baja tecnificación de la actividad apícola.	0,01	2	0,02
D9	Deficiente canal de comercialización.	0,04	2	0,08
D10	Altos costos de insumos	0,06	1	0,06
Subtotal de Debilidades				0,53
Total de Factores Internos		1		2,62
N°	Oportunidades			
O1	Políticas de gobierno favorables en asociatividad	0,05	3	0,15
O2	Crecimiento y demanda de productos apícolas.	0,08	4	0,32
O3	Políticas públicas orientadas a zonas de conflicto	0,03	3	0,09
O4	Disponibilidad de flora melífera (apicultura)	0,02	3	0,06
O5	Mercado apícola por explorar	0,08	4	0,32
O6	Conservación del medio ambiente.	0,05	3	0,15
O7	Introducción de nuevas tecnologías	0,06	4	0,24
O8	La apicultura como factor productivo agrícola	0,05	4	0,2
O9	Estrategia de sustitución de cultivos de uso ilícitos	0,07	4	0,28
O10	Iniciativas para el mejoramiento empresarial	0,08	4	0,32
Subtotal de Oportunidades				2,13
N°	Amenaza			
A1	Variación de los precios en productos Apícolas	0,05	2	0,10
A2	Competidores tecnificados.	0,03	1	0,03
A3	Altos estándares Agroindustriales (apícola)	0,04	2	0,08
A4	Presencia de grupos armados en el territorio	0,08	2	0,16
A5	Normatividad poco clara y dispersa.	0,01	1	0,01
A6	Mal estado de vías de acceso	0,06	2	0,12
A7	Variaciones en el cambio climático.	0,06	2	0,12
A8	Plagas y enfermedades que afectan a las Abejas	0,03	1	0,03
A9	Deserción de los jóvenes rurales	0,06	2	0,12
A10	Uso indiscriminado de agroquímicos	0,04	2	0,08
Subtotal de Amenazas				0,85
Total, de Factores Externos		1,00		2,98

Tabla 2. Matriz estratégica de la Asociación “Panaldemiel”.

<p>Estrategia FA</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. F 2, 4, 6, 7; A 1, 2, 3: Formular proyectos productivos, a través de las entidades locales que incentiven la producción tecnificada de la apicultura y a la obtención de productos apícolas, con estándares de calidad, exigidos por los mercados nacionales e internacionales. 2. F 6, 7, 9, 10; A 3, 5, 6: Acceder a líneas de créditos agropecuarios, orientados a fortalecer a las asociaciones en la obtención de maquinaria y de equipos necesarios para la extracción, almacenamiento y transformación de materia prima (productos apícolas). 3. F 6, 8; A 1, 5: Incrementar la actividad apícola y establecer convenios directos de comercialización con diferentes empresas distribuidoras y procesadoras de los productos apícolas. 4. F 4; A 6: Gestionar el mejoramiento de la infraestructura vial como factor de desarrollo para la región y facilidad de transportar los productos agropecuarios. 	<p>Estrategia DA</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. D 2, 3, 5; A 1, 3, 4: Acompañar el fortalecimiento empresarial y administrativo de la asociación de Apicultores “Panaldemiel”, promoviendo la participación en proyectos productivos e investigativos, generados por instituciones y entidades, como la Agencia de Desarrollo Rural, el Ministerio de Agriculturas, Instituciones Académicas y demás entidades encargadas en promover alternativas de desarrollo rural y que enfatizan en zonas de conflicto armado. 2. D 9,10; A 7, 8: Establecer políticas de crédito con los proveedores de insumos que le permita a los miembros de la asociación de apicultores “Panaldemiel” tener facilidades de pago y, a su vez, incrementar las unidades de producción apícolas, lo cual, generara mejores estándares de calidad e incremento en los volúmenes de productos apícolas.
<p>Estrategia DO</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. D 1, 2, 5; O 1, 03: Promover programas de capacitación enfocados en fortalecer las habilidades administrativas de la asociación, lo cual, generará las herramientas necesarias para darle un manejo eficiente y eficaz a los recursos económicos, financieros, ambientales y sociales de la organización. 2. D 3, 7; O 1, 4: Fortalecer el uso de tecnologías como factor eficiente de comunicación en tiempo real, al igual que el intercambio de conocimiento entre actores, generando mayor dinámica en el desarrollo de actividades, planes, programas de la organización y mayor participación en el proceso de tomas de decisiones. 	<p>Estrategia FO</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. F 2, 6, 9; O 4, 6: Intercambio de conocimientos empíricos y técnicos, como estrategia que promueva e intensifique el desarrollo de la actividad apícola en la región y que permita el aprovechamiento de la amplia oferta de flora melífera y a la protección de los bosques, que se encuentra en el territorio. 2. F 7, 9; O 2, 5: Diseñar canales de comercialización que permitan el acceso a nuevos mercados nacionales e internacionales donde exista una tendencia de consumo de productos saludables y naturales.

Los resultados que se obtienen con la presente investigación no son ajenos a estudios previos referenciados, donde aplicaron metodologías similares, buscando diagnosticar y fortalecer las organizaciones, identificando los factores internos y externos, que permitieron la formulación de estrategias encaminadas a dinamizar el proceso productivo, buscando ser más competitivas en el mercado apícola.

El análisis y la formulación estratégica desarrollada en el presente estudio permitió a los socios tomar decisiones a corto y mediano plazo, identificando elementos de juicio, para replantear la gestión realizada a la fecha, buscando la sostenibilidad y la competitividad; de esta forma, los socios identificaron caminos alternativos para mejorar ingresos y crecimiento en el mercado.

Concluyendo, se puede decir, que el análisis endógeno realizado a la Asociación Panaldemiel permitió reconocer las fortalezas y las debilidades de la organización, identificando factores competitivos relevantes que los socios ignoraban y que son de gran importancia para su crecimiento y organización. En cuanto al análisis exógeno, uno de los factores más preocupantes es la injerencia que tienen los grupos al margen de la ley en el municipio de Fortul, lo que dificulta el desarrollo de algunas actividades encaminadas a potencializar el sector apícola en la economía, tanto regional como nacional.

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.

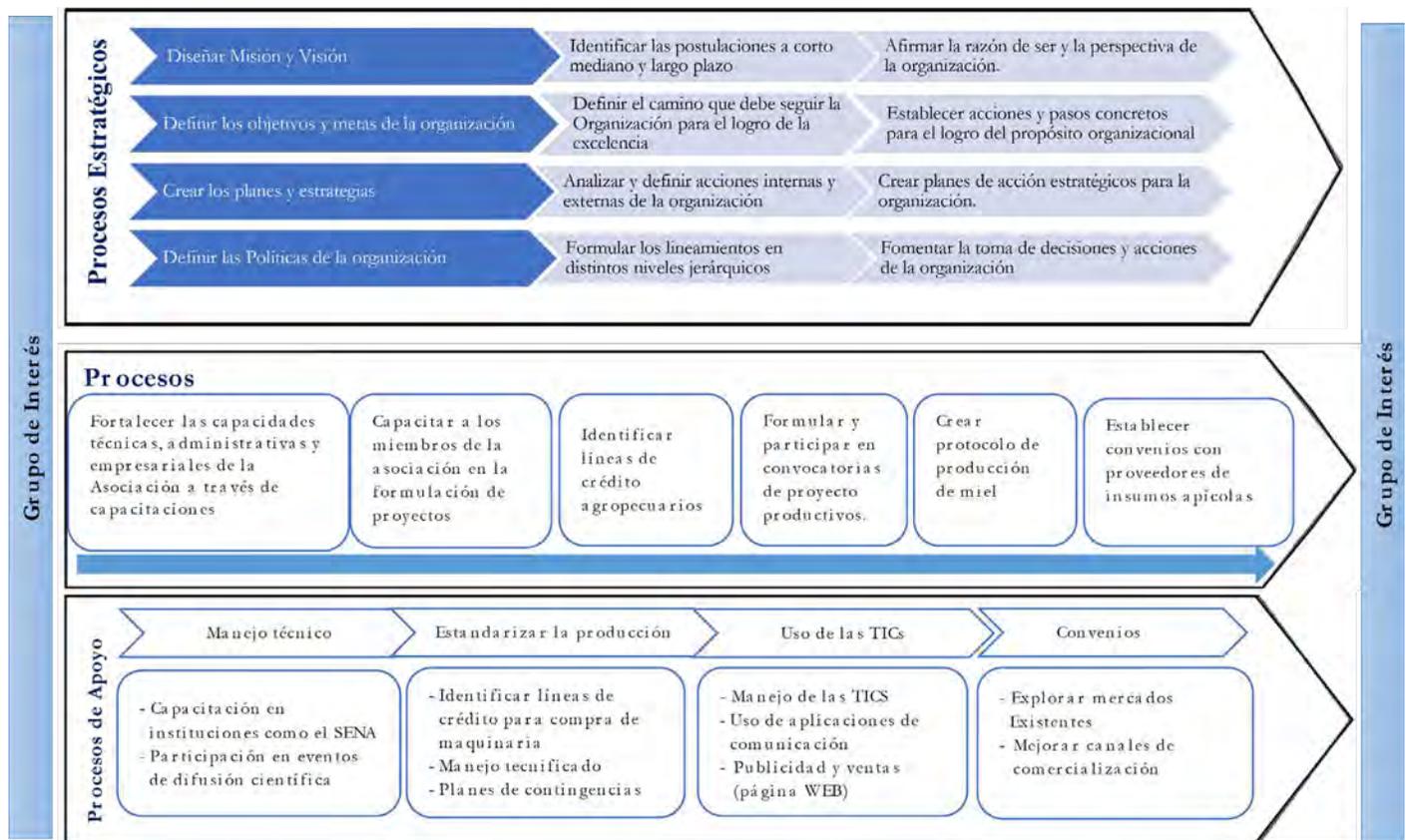


Figura 3. Mapa de procesos estratégicos de la Asociación “Panaldemiel” del municipio de Fortul.

REFERENCIAS

1. ALCALDÍA MUNICIPAL DE FORTUL. 2020. Diagnóstico y propuesta Estratégica. En: Plan de Desarrollo Municipal. “Nuestro compromiso es Fortul” 2020-2023. p.42-264. https://fortularauca.micolombiadigital.gov.co/sites/fortularauca/content/files/000613/30641_nuestro-compromiso-es-fortul-vfinal--proyecto-de-acuerd.pdf
2. APC-COLOMBIA. 2017. Balance de la cooperación internacional en asociatividad 2010-2016. En: Asociatividad. Balance de las experiencias de cooperación internacional en Colombia. p.6-11.
3. ARIAS, F.; VÉLEZ, O. 2018. Caso empresarial Agrícola Naranjas San José SAS. En: Echeverry Gutiérrez, C.A. (Ed.). Fortalecimiento empresarial: investigación y aplicaciones. Coruniamericana. p.71-89.
4. ASAMBLEA DEPARTAMENTAL DE ARAUCA. 2020. Ordenanza No. 09 de 2020 por la cual se adopta el plan participativo de desarrollo departamental “Construyendo Futuro 2020-2023”. Gobernación de Arauca. 354p. Disponible desde Internet en: https://www.arauca.gov.co/images/plandesarrollo/PDD_CONSTRUYENDO_FUTURO_2020-2023.pdf
5. AYARA LEANDRO, A. 2017. Modelos de planeación estratégica en las empresas familiares. Tec Empresarial. 11(1):23-34.
6. BURCKHARDT LEIVA, V.; GISBERT SOLER, V.; PÉREZ MOLINA, A.I. 2016. Estrategia y desarrollo de una guía de implementación de la norma ISO 9001: 2015: Aplicación PYMES de la comunidad Valenciana. 3ciencias. 87p.
7. BURGOS-CAÑAS, D.; FONSECA-PINTO, D.E. 2020. Asociatividad empresarial: una estrategia para las organizaciones del sector cacaotero del municipio de Fortul Arauca. Revista investig. adm. Ing. 8(1):91-100. <https://doi.org/10.15649/2346030x.621>
8. CADENA PRODUCTIVA DE LAS ABEJAS Y LA APICULTURA, CCAA; MINAGRICULTURA. 2018. Informe sectorial. 37p. Disponible desde Internet: https://drive.google.com/file/d/1V3R1SMI3iuQJFE33g_f3irKmSkkyYdJG/view
9. COLMENARES, A.M. 2012. Investigación-acción participativa: una metodología del conocimiento y la acción. Voces y silencios: Revista Latinoamericana de Educación. 3(1):102-115.

10. COMITÉ TÉCNICO INTERINSTITUCIONAL DE EDUCACIÓN AMBIENTAL, CIDEA. 2011. Municipio de Fortul. Disponible desde Internet en: <http://www.corporinoquia.gov.co/cidea/index.php/pages/arauca/category/34-fortul>
11. CONTRERAS, L.; MAGAÑA MAGAÑA, M.A. 2018. Análisis FODA de la apicultura a pequeña escala en el Litoral Centro de Yucatán. *Revista de El Colegio de San Luis*. 8(16):295-310. <https://doi.org/10.21696/rcsl9162018771>
12. ESCOBAR CAZAL, E.A.; ESCOBAR REYES, G. 2017. Diagnóstico y capacitación a entidades sin ánimo de lucro. Provincia del Sumapaz, Colombia. *Pensamiento & Gestión*. 43:219-239. <https://doi.org/10.14482/pege.43.10591>
13. JIMENEZ CHAVES, V.E.; COMET WEILER, C. 2016. Los estudios de casos como enfoque metodológico. *Revista de Investigación en Ciencias Sociales y Humanidades*. 3(2):5.
14. LANDINI, F. 2016. Problemas de la extensión rural en América Latina. *Perfiles Latinoamericanos*. 24(47):47-68. <https://doi.org/10.18504/pl2447-005-2016>
15. LONDOÑO MONTOYA, E.M.; GÓMEZ BAYONA, L.T. 2019. Empresa, gestión y desarrollo sostenible: Casos y estudios organizacionales. Editorial Bonaventuriana. 171p.
16. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL, MINAGRICULTURA. 2011. Acuerdo de competitividad (2011-2025): Organización de la cadena productiva de las abejas y la apicultura en Colombia. 10p. Disponible desde Internet en: <https://sioc.minagricultura.gov.co/Apicola/Normatividad/Acuerdodecompetitividad.pdf>
17. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL, MINAGRICULTURA. 2020. Cadena de las Abejas y la Apicultura. 24p. Disponible desde Internet en: <https://sioc.minagricultura.gov.co/Apicola/Documentos/2020-03-31CifrasSectoriales.pdf>
18. MONTOYA, P.; LEÓN, D.; CHAMORRO, F.; NATES-PARRA, G. 2016. Capítulo 6: Apis mellifera como polinizador de cultivos en Colombia. En: Nates Parra, G. (Ed.). *Iniciativa Colombiana de Polinizadores Capítulo Abejas*. ICPA, Corpoamazonia, Conservación Internacional Colombia, Universidad Nacional. p.97-112.
19. MORELOS GÓMEZ, J.; FONTALVO HERRERA, T.J. 2012. Evaluación de la empresa energética estatal de servicios públicos en Colombia. *DAAPGE: Documentos y Aportes en Administración Pública y Gestión Estatal*. 18:89-116.
20. OSPINA PENAGOS, A.; ALZATE CASTAÑO, J.D. 2018. La asociatividad como estrategia para gestionar los procesos de desarrollo empresarial y solución a problemáticas sociales. *Revista Loginn: Investigación Científica y Tecnológica*. 2(1):80-91. <https://doi.org/10.23850/25907441.1669>
21. PADILLA PUERTA, A.C.; MONTOYA-RESTREPO, L.A.; MONTOYA-RESTREPO, I.A. 2018. Herramientas estratégicas para la propuesta de modelo de cadena productiva forestal para Arauca, Colombia. *Orinoquia*. 22(2):172-188.
22. PROGRAMA DE LAS NACIONES UNIDAS PARA EL DESARROLLO, PNUD. 2019. De apicultor a apicultor. Disponible desde Internet en: <https://www.co.undp.org/content/colombia/es/home/pr esscenter/articles/2019/05/20/de-apicultor-a-apicultor.html>
23. RINCÓN YARA, D.F. 2019. Análisis de la Política Nacional de Competitividad y Productividad (2008-2014): oportunidades para el sector apícola colombiano. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 14(2):87-107. <https://doi.org/10.21615/cesmvz.14.2.8>
24. SÁNCHEZ OTERO, M. 2012. Diagnóstico estratégico de las Juntas de Acción Comunal. *Económicas CUC*. 33(1):65-80.
25. SIRVENT, M.; RIGAL, L. 2012. Investigación Acción Participativa. Un desafío de nuestros tiempos para la construcción de una sociedad democrática. *Proyecto paramo andino*. 187p.
26. STAKE, R. 1994. Case studies. En: Denzin, N.K.; Lincoln, Y.S. (eds). *Handbook of qualitative research*. SAGE Publications, Inc. p.236-247.
27. VÁSQUEZ, Á.W.; ESPINOSA PÉREZ, J.R. 2015. El diagnóstico como un elemento administrativo para el mejoramiento organizacional en el sector público mexicano. *XX Congreso Internacional de Contaduría, Administración e Informática (México)*. 16p. Disponible desde Internet en: <http://congreso.investiga.fca.unam.mx/docs/xx/docs/17.02.pdf>
28. VÉLEZ BERNAL, O.I.; BELTRÁN RIOS, J.A.; LÓPEZ GIRALDO, J.A.; ARIAS VARGAS, F.J. 2019. Asociatividad empresarial y liderazgo ambidiestro como generadores de innovación. *Revista de Ciencias Sociales*. 25(2):51-72. <https://doi.org/10.31876/rcs.v25i2.27333>
29. VILLAREAL LARRINAGA, O.; LANDETA RODRÍGUEZ, J. 2010. El estudio de casos como metodología de investigación científica en dirección y economía de la empresa. *Investigaciones europeas de dirección y economía*

- de la empresa. 16(3):31-52.
[https://doi.org/10.1016/S1135-2523\(12\)60033-1](https://doi.org/10.1016/S1135-2523(12)60033-1)
30. WANG, Y.-Y. 2016. Discussion on the Application Problems of Case Teaching Method. DEStech Transactions on Social Science, Education and Human Science. 2nd International Conference on Social, Education and Management Engineering.
<https://doi.org/10.12783/dtssehs/sem2016/5428>
31. ZAPATA, F.; RONDÁN, V. 2016. La investigación acción participativa: Guía conceptual y metodológica del Instituto de Montaña. Instituto de Montaña (Lima). Disponible desde Internet en:
<https://mountain.pe/recursos/attachments/article/168/Investigacion-Accion-Participativa-IAP-Zapata-y-Rondan.pdf>



Valoración del servicio ecosistémico regulación hídrica en el Piedemonte Amazónico, Caquetá, Colombia

Evaluation of the ecosystem service protection of water sources in Amazon Piedemont, Caquetá, Colombia

Yelly Yamparli Pardo-Rozo ¹

¹Universidad de la Amazonia, Florencia -Caquetá, Colombia; e-mail: y.pardo@udla.edu.co

Cómo citar: Pardo-Rozo, Y.Y. 2022. Valoración del servicio ecosistémico regulación hídrica en el Piedemonte Amazónico, Caquetá, Colombia. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 25(1):e1608. <http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1608>

Artículo de acceso abierto publicado por Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, bajo una Licencia Creative Commons CC BY-NC 4.0

Publicación oficial de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Institución de Educación Superior Acreditada de Alta Calidad por el Ministerio de Educación Nacional.

Recibido: junio 22 de 2020

Aceptado: enero 24 de 2022

Editado por: Helber Adrián Arévalo Maldonado

RESUMEN

Belén de los Andaquíes, Caquetá, ubicado en el piedemonte amazónico, es reconocido como municipio verde de Colombia, por su riqueza hídrica y paisajística. Es una zona con experiencia y potencial en la instauración de pagos por servicios ambientales PSA, como instrumento económico para incentivar la conservación de bosques, en la zona de influencia directa a la quebrada la Mono, una de las fuentes hídricas de relevancia en el suministro de agua, para el consumo humano en la población. Se empleó el método de valoración contingente, para hallar la disponibilidad a pagar DAP de los habitantes del área urbana, por la conservación de los bosques, para la protección del servicio ecosistémico de regulación hídrica. La DAP fue positiva y esto evidencia que la comunidad puede experimentar aumentos en el bienestar económico, a raíz de una medida de protección ambiental. Existe viabilidad económica y relevancia social al implementar estos instrumentos de política ambiental, para proteger servicios ecosistémicos importantes, en la mitigación y en la adaptación al cambio climático.

Palabras clave: Disponibilidad a pagar; Política ambiental; Valor ambiental; Valoración contingente; Servicios ambientales.

ABSTRACT

Belén de los Andaquíes, Caquetá, located in the Amazon piedmont, is recognized as a green municipality of Colombia, for its wealth of water and landscapes. It is an area with experience and potential in the establishment of payments for environmental services PES, as an economic instrument to encourage the conservation of forests in the area of direct influence of the Mono stream, one of the most important sources of water for human consumption in the population. The contingent valuation method was used to find the willingness to pay WTPs of the inhabitants of the urban area for the conservation of forests for the protection of the ecosystem service of water regulation. The WTP was positive value, and this is evidence that the community can experience increases in economic welfare as a result of an environmental protection measure. There is economic viability and social relevance in implementing these environmental policy instruments to protect ecosystem services important for climate change mitigation and adaptation.

Keywords: Contingent valuation; Environmental policy; Ecosystem Services; Environmental value; Willingness to pay.

INTRODUCCIÓN

Belén de los Andaquíes es un municipio del departamento de Caquetá que, por su ubicación, tamaño, estructura y composición de la vegetación, posee ecosistemas con áreas de alta diversidad florística y fauna silvestre, que cumplen funciones reguladoras del componente hídrico (Alcaldía de Belén de los Andaquíes, 2016). El potencial ambiental de la zona hace que sea pertinente conocer, desde la perspectiva de la sociedad, cuáles son los beneficios que experimentaría la población, si se instaurara un instrumento de política pública, como, por ejemplo, un Pago por Servicios Ambientales PSA, Decreto Ley 1007 de 2018 (MinAmbiente, 2018). La aplicación de este instrumento de política ambiental permitiría garantizar la protección de la cuenca hídrica de la quebrada la Mono, la cual, genera abastecimiento de agua para el consumo humano de la cabecera municipal y parte de la rural; de esta forma, se incorporan los beneficios económicos derivados de los servicios ecosistémicos que la naturaleza provee. El piedemonte amazónico es uno de los paisajes con la mayor tasa de deforestación en Colombia y en Suramérica, situación que puede comprometer el balance hídrico, con impactos a escala local y regional.

Los servicios ecosistémicos son externalidades positivas generadas por la existencia de los recursos naturales y ambientales que, a partir de sus dinámicas y procesos, garantizan la disponibilidad de materiales, de energía y de ciclos biogeoquímicos, necesarios para el desarrollo de las distintas formas de vida (Constanza *et al.* 1997; UNEP, 2005); estos servicios generan valor agregado a otros sistemas del orden económico y social. Se pueden agrupar en cuatro categorías: servicios ecosistémicos de regulación, de aprovisionamiento, de apoyo y servicios culturales (Van Riper *et al.* 2017). Los servicios ecosistémicos de apoyo son aquellos ciclos biogeoquímicos o naturales, como la regulación del clima, la creación de nutrientes, la fotosíntesis, mantenimiento y composición de la atmósfera, la biodiversidad, la formación de suelo y agua y todos aquellos procesos, que permiten la resiliencia del equilibrio ecosistémico, en un tiempo natural (Daily, 1997; Zúñiga González *et al.* 2015).

Los servicios ecosistémicos de aprovisionamiento provienen de la capacidad de los ecosistemas para proporcionar recursos utilizados, como insumos, materias primas, bienes de consumo directo, recursos genéticos, bioquímicos y farmacéuticos. En la categoría de los servicios de regulación, se encuentran aquellos que brindan soporte a la vida y a los procesos productivos, tales como la regulación hídrica y del clima; producción de alimentos, el ciclo de los elementos, regulación de la erosión, purificación y tratamiento de aguas de desecho; regulación de enfermedades, plagas y desastres naturales (MEA, 2005). Finalmente, los servicios culturales son aquellos que se asocian con los valores religiosos, estéticos, investigativos e históricos, relativos a especies, paisajes, belleza escénica, uso potencial recreativo y ecoturístico (Chan *et al.* 2012).

Entre las externalidades negativas en el mercado de tierras en América Latina, en Colombia y en el piedemonte amazónico, se

encuentra la destrucción y la degradación de los recursos naturales y, por ende, un impacto en la dinámica de los ecosistemas (Álvarez *et al.* 2012). El mercado de tierras rurales no toma en cuenta el potencial que pueden ofrecer los servicios ecosistémicos, debido a la complejidad de su valoración y al desconocimiento de la importancia de estos (Martin-Ortega *et al.* 2019; Frey *et al.* 2021).

La naturaleza pública de los servicios ambientales hace difícil la cuantificación de valoración económica entre beneficios y daños (Ruiz-Agudelo & Bello, 2014); no obstante, es posible estimar los beneficios económicos de los servicios ecosistémicos, mediante las metodologías de valoración ambiental (VEA) (Toledo *et al.* 2018), que se fundamentan en la microeconomía y en la econometría, para construir las curvas de oferta y demanda, para luego calcular las medidas de bienestar económico, como la disponibilidad a pagar, el excedente del consumidor y la valoración compensada (Freeman III *et al.* 2014).

La VEA, se considera como una rama de la economía ambiental, que permite estimar los beneficios de naturaleza económica para bienes que no cuentan con mercado o sistema de precios convencional, como es el caso de los servicios ambientales o ecosistémicos. El objetivo de la VEA es evidenciar cómo los impactos en el ambiente, propiciados por el sistema económico, inciden en los costos de oportunidad del uso de los recursos naturales y su eficiente aprovechamiento (Freeman III *et al.* 2014).

La valoración de los ecosistemas, se enmarca en el concepto de valor económico total (VET), entendido como la asignación dada por las personas a un recurso o un servicio ecosistémico, ya sea por el uso que se le da o por el uso potencial. El VET, se encuentra conformado por tres componentes: un valor de uso directo VUD, un valor de uso indirecto VUI y el valor de no uso (VNU) (Azqueta Oyarzun *et al.* 2007); como ejemplo, se puede citar el bosque, el cual, puede ser visto con potencial de explotación maderera (es decir, un VUD), o como corredor ecológico y el hábitat de especies, que tiene una función estratégica para el hombre (un VUI), o el bosque, visto como protección a la conservación de una cuenca y su regulación hídrica, para generaciones futuras (VNU).

El servicio ecosistémico de regulación hídrica, se produce cuando el ecosistema almacena agua en los periodos lluviosos y la libera lentamente en los periodos secos, donde a mayor capacidad de regulación existe un mayor caudal (Chan *et al.* 2006). La regulación hídrica permite el abastecimiento de agua para el consumo humano, que tiene un valor de uso directo (VUI) y al bosque o los ecosistemas asociados, que garantizan este proceso, se les puede otorgar un valor por su uso indirecto (VUI). Pensar en la protección de estos bosques para garantizar la regulación hídrica y el agua para las futuras generaciones, es un ejemplo del VNU (Uribe *et al.* 2003).

Para estudiar estos procesos, se desarrollaron los métodos de VEA, tales como la valoración contingente, costo de viaje, precios hedónicos, la función de producción de salud, entre otros; algunos son considerados como métodos directos y otros como indirectos. El método directo consiste en la construcción de mercados

hipotéticos a partir de los beneficiarios o demandantes del recurso o servicios ecosistémicos, debido a que no existen mercados asociados ni un sistema de precios; el más conocido y aplicado es el método de valoración contingente (Carson *et al.* 2003). Los métodos indirectos, se sustentan en mercados ya existentes, que cuentan con un sistema de precios asociados al uso del recurso o al servicio ambiental, entre ellos, el costo de viaje, precios hedónicos y función de daño (Uribe *et al.* 2003).

El método directo de valoración contingente sirve para estimar los cambios en el bienestar económico de los consumidores o beneficiarios, cuando estos cambios involucran bienes ambientales o servicios públicos, que no tienen precios en el mercado (Carson *et al.* 2003; Chan *et al.* 2006). Pardo Rozo & Sanjinés (2014) mencionan que la valoración contingente es usada por agencias internacionales, como el BID y la CEPAL, para valorar inversiones en transporte, en saneamiento, en salud, en artes, en educación y para bienes del medio ambiente, como calidad del aire, calidad del agua, seguridad en autopistas y derrames de petróleo. En Colombia, el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible incorporó estos métodos en el manual para evaluación de impacto, para el desarrollo y posterior solicitud de licencias ambientales.

En este sentido, la valoración contingente tiene como objetivo evaluar los beneficios de políticas o proyectos relacionado con bienes y servicios ambientales, que no tienen un mercado definido y lo hace a partir de la estimación de las medidas de bienestar propuestas por la teoría económica: la disposición a pagar (DAP), la disposición a aceptar (DAA), la variación compensada y la variación equivalente.

De acuerdo con Toledo *et al.* (2018), la Valoración Contingente es un método que supone la maximización de la utilidad de los individuos por participar en un mercado hipotético del servicio ambiental, sujeta al presupuesto de los individuos, representado por el ingreso disponible. El modelo econométrico, que se plantea, tiene como variable dependiente, la probabilidad de que un individuo esté dispuesto a pagar por acceder a los beneficios que le genera el recurso natural o el SA y como variables explicativas, el valor de la disponibilidad a pagar (VrDAP) y otras características

socioeconómicas (como edad, género, estrato, ingreso, gastos, entre otros).

Los estudios de valoración contingente dependen de la calidad de la recolección de información. Es importante considerar los sesgos que se puedan generar a partir de las preguntas relacionadas con las disponibilidades a pagar, al momento de la realización de la encuesta. Para ello, se pueden emplear preguntas abiertas, tipo subasta, tipo referéndum o la combinación de las anteriores. La pregunta abierta ¿Está dispuesto a pagar por acceder a los beneficios del proyecto (servicio ecosistémico regulación hídrica)? Y ¿Cuál sería el valor de su disponibilidad a pagar? (Barzev, 2002). Freeman III *et al.* (2014) indican que estas herramientas están validadas para la toma de decisiones en evaluación de proyectos, dado que permiten evidenciar y estimar impactos económicos para el diseño de políticas ambientales (Kolstad, 2010; Tietenberg & Lewis, 2014).

El objetivo de esta investigación fue estimar la disponibilidad a pagar de los hogares del piedemonte amazónico, por la conservación de los bosques aledaños a la quebrada la Mono (para garantizar el servicio ecosistémico de regulación hídrica que este provee). Con ello, se valoraron los beneficios económicos asociados al servicio ambiental, desde la perspectiva económica.

MATERIALES Y MÉTODOS

El área de estudio es la zona urbana del municipio de Belén de los Andaquíes, Caquetá, Colombia (1°25'20,9" - 1°24'50,3" N y 75°52'41" - 75°52'02,9" O) (Figura 1). La población urbana del municipio registra cerca de 11.541 (próximamente, 2.885 hogares) (DANE, 2018). La muestra de estudio fue de cien (100) personas, denotadas como jefes de hogar, según muestreo no probabilístico por conveniencia. La colecta de información primaria empleó la técnica de encuesta. Para el análisis de datos, se empleó estadística descriptiva e inferencial. Se propuso el siguiente modelo econométrico, fundamentado en el método de valoración contingente, para obtener la disponibilidad a pagar total DAP_{Total} , como argumento económico (Freeman III *et al.* 2014). El modelo empírico de Valoración contingente se presenta en la ecuación 1.



Figura 1. Ubicación municipio Belén de los Andaquíes, Caquetá, Colombia.

$$DAP = \beta_0 + \beta_1 * VrDAP + \beta_2 * GE + \beta_3 * Edad + \beta_4 * Educacion + \beta_5 * Ingreso + \beta_6 * Interes + e \quad \text{ecuación 1}$$

La variable dependiente fue la Disponibilidad a pagar DAP del beneficiario de los servicios ecosistémicos de regulación hídrica, la cual, es dicótoma y toma el valor de 1, si la persona está dispuesta a pagar por los beneficios del proyecto (proteger y conservar los servicios ambientales) o, de lo contrario, toma el valor de 0. Las Variables independientes fueron: VrDAP: valor de la disponibilidad a pagar anual del jefe de hogar por el servicio ecosistémico regulación hídrica, medido en pesos colombianos de 2018. Género del encuestado: variable dicótoma que toma valor de 1 si es masculino y valor de 0, si es femenino. Nivel educativo: variable categórica ordenativa, que indica el nivel educativo del encuestado jefe de hogar; toma el valor de 0, si no tiene formación; 1, si terminó la primaria; 2, si es bachiller; 3, si es universitario o técnico y 4, si tiene posgrado. Edad: variable continua que representa los años de vida del encuestado. Ingreso: variable continua en pesos de 2018, que representa el ingreso mensual del encuestado. Interés en el proyecto: variable independiente escalonada, que muestra el interés del encuestado en la realización de un proyecto de conservación de bosques, para garantizar la protección de fuentes hídricas, en el área de influencia microcuenca la Mono, en Belén de los Andaquíes; empleó una valoración desde: demasiado (5), mucho (4), moderadamente (3), poco (2) e indiferente (1). El término e corresponde al error del modelo.

Luego, se emplea la forma funcional Tobit (debido a la existencia de datos censurados) y se calcula la DAP, como medida de bienestar a partir de la ecuación 2.

$$DAP = \frac{\beta_0}{\beta_1} = \frac{[\beta_0 + \sum \beta_i(SE)]}{\beta_1} \quad \text{ecuación 2}$$

Donde, β_0 es el intercepto o constante que representa el punto de corte con el eje vertical; β_1 es el coeficiente del valor de la disponibilidad a pagar y β_i son los parámetros del modelo que acompaña las variables socioeconómicas (género, edad, nivel educativo, ingreso e interés), con $i=5$. Para estimar los beneficios económicos totales, se halló la DAP, obtenida en la media de los datos y luego se multiplicó este resultado por el número de individuos de la muestra, para inferir cuáles serían los beneficios para la población. Los estudios de valoración económica constituyen una línea base en la determinación de políticas ambientales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características socioeconómicas y percepción de los habitantes frente al servicio ecosistémico regulación hídrica (proveniente de la conservación del bosque). De las 100 personas jefes de hogar encuestadas en la zona urbana del municipio de Belén de los Andaquíes, el 53 % fueron hombres y el 47 %, mujeres. El 46 % de los encuestados tienen edades entre 21 a 40 años y el 32 %, entre 41 a 60 años, con un promedio de edad de 40 años. El 68 % de los encuestados son casados o en unión libre y el 32 %, solteros. El promedio de personas en el hogar fue de cuatro. En cuanto a su nivel educativo, el 38 % son bachilleres; un 36 % culminaron la primaria; el 13 % tienen especialización, el 8 % no tienen ningún nivel de estudio y el 3 % son universitarios. En lo laboral, el 72 % son trabajadores independientes y el 28 % son empleados. En materia de ingresos (Tabla 1), las medidas de tendencia central indican que el ingreso mensual se aproxima al salario mínimo legal vigente a 2018 (\$781.242 pesos colombianos). El valor máximo fue \$3'000.000 y el mínimo de \$200.000.

A la comunidad se le indagó sobre su conocimiento sobre los servicios ambientales y solo el 40 % conocen la importancia de los

Tabla 1. Comportamiento del ingreso mensual del jefe de hogar en pesos colombianos, en Belén de los Andaquíes, Caquetá, Colombia, zona urbana.

Ingreso mensual	Frecuencia	Porcentaje relativo
\$1 a \$700.000	69	69
\$700.001 a \$1'500.000	21	21
\$1'500.001 a \$3'000.000	10	10
Total	100	100

Tabla 2. Interés del jefe de hogar en un proyecto de conservación de bosques para servicio ecosistémico regulación hídrica en el piedemonte amazónico.

Interés en el proyecto de conservación	Frecuencia	Porcentaje relativo
Demasiado	25	25
Mucho	29	29
Moderadamente	22	22
Poco	13	13
Le es indiferente	11	11
Total	100	100

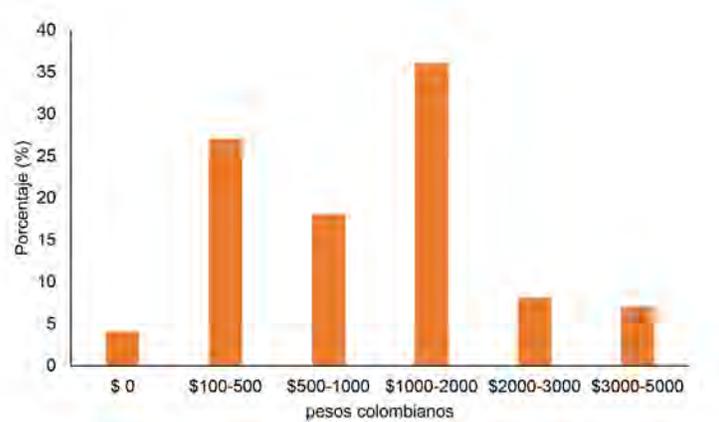


Figura 2. Porcentaje de los valores de la disponibilidad a pagar anual de los jefes de hogar por conservar el servicio ecosistémico regulación hídrica.

servicios ecosistémicos para los seres vivos y solo el 26 % de los jefes de hogar saben qué es la regulación hídrica. Las respuestas de los encuestados frente al nivel de interés del jefe de hogar por un proyecto hipotético de conservación de bosques (para mantener el servicio ambiental regulación hídrica de la cuenca de la quebrada la Mono) fueron diferentes (Tabla 2).

Se observó que el 76 % tienen interés por el proyecto, frente a un 13 %, que los considera como poco importante y para un 11 % es indiferente. Luego, se preguntó si estarían dispuestos a pagar por el proyecto y solo el 32 % contestó que sí. Las personas que dieron respuesta negativa arguyen que esto le corresponde al Estado, es decir, que su DAP es \$0. Luego, se obtuvieron las respuestas cuando al encuestado se le propusieron unos valores anuales para conservar el servicio ecosistémico (Figura 2).

Determinación de beneficios económicos por protección de bosques para garantizar servicios ecosistémicos. Se obtuvieron las estimaciones de los parámetros del modelo econométrico estimado a partir de máxima verosimilitud, bajo la forma funcional Tobit, por contar con valores censurados en algunas variables (Tabla 3).

Tabla 3. Determinantes de la Disponibilidad para pagar DAP, Modelo Logit estimado por método de máxima verosimilitud.

Variable	Coficiente	Error estándar	p[z >z]	Media
Constante	-0,21780	0,21216352	0,3046	
Valor DAP	-0,711425 × 10-4	0,41480596 × 10-4	0,0863	1474,50
Genero	1,60248 x 10-1	0,96260876 × 10-1	0,0960	0,53
Edad	-0,414582 × 10-2	0,33329810 × 10-2	0,2135	42,47
Educación	0,641059 × 10-1	0,52797205 × 10-1	0,2247	1,79
Ingreso	0,187865 × 10-7	0,83320101 × 10-7	0,8216	706.000,20
Interés	1,858070 × 10-1	1,14146960 × 10-1	0,1035	2,44

Las variables relevantes estadísticamente fueron: el género (al 10 % de significancia), el interés y el Valor de la DAP, es decir, de estas variables depende la probabilidad de que el jefe de hogar esté dispuesto a pagar por beneficiarse del proyecto que protege los bosques de la cuenca, para mantener el servicio ecosistémico regulación hídrica. Estos resultados se interpretan de la siguiente forma: existe una mayor DAP en los hombres respecto de las mujeres. También, se observó una DAP mayor en los jefes de hogar

que están interesados en la conservación del bosque, respecto de los que no están interesados. A mayor valor de la DAP de los jefes de hogar, disminuye la probabilidad de que esté dispuesto a pagar. Este comportamiento es esperado conforme con la literatura, pues el signo negativo en el VrDAP representa la disminución del ingreso del encuestado al estar dispuesto a pagar dicho valor, para acceder al proyecto que garantizaría la conservación del bosque. Por otro lado, las variables educación e ingreso no fueron relevantes en el comportamiento de la DAP. Para estimar la DAP, se reemplaza en la ecuación 1, el valor estimado de los parámetros y los valores medios de las variables (Tabla 3), obteniéndose:

$$DAP = -0,21780136 - 0,0000711425 * 1474 + 0,1602486 * 0,53 - 0,0041458 * 42 + 0,06411 * 1,79 + 0,1878 \exp(-0,7) * 706.000 + 0,1858 * 0,68$$

$$DAP = \$2.214$$

La DAP total anual para los encuestados en este estudio fue de \$2.214. Para una población de 11.541, en esta zona del piedemonte amazónico, los beneficios económicos por conservación se estimarían en cerca de \$25'553.411. Este valor evidencia la existencia de un reconocimiento monetario por los servicios ambientales.

Los valores de este estudio fueron muy bajos respecto a los hallados en Ruiz-Agudelo & Bello (2014), quienes valoraron diversos servicios ecosistémicos en los Andes de Colombia; sin embargo, los resultados de la investigación se aproximaron a los valores de DAP por persona, obtenidos en García (2013), cuyo promedio fueron \$3.000 anuales, por conservación de servicios de regulación, en el páramo de Santurbán. El estudio de Rueda (2004) halló una DAP de \$1.423 anuales, por la conservación del

parque natural nacional Chingaza en Cundinamarca, un ecosistema que en el país y en el mundo es uno de los mayores productores de agua.

Aunque valorar los recursos naturales y servicios ecosistémicos es una labor compleja, es posible, mediante los métodos de valoración económica. Con estos métodos, se ha realizado valoración a servicios ecosistémicos en los bosques colombianos, como protección a la disponibilidad de agua y regulación, conservación de suelos, almacenamiento de carbono, entre otros, como se observa en Constanza *et al.* (2017). Tal como fue concluido en el estudio de Nieto *et al.* (2015), en la investigación de servicios ecosistémicos en los páramos colombianos, los datos obtenidos en los estudios de valoración contingente, brindan orientaciones que respaldan la construcción de política y la gestión ambiental, como es el caso de los pagos por servicios ambientales PSA, en coherencia con las políticas de gestión ambiental, de conformidad con las directrices contempladas en la Política de Crecimiento Verde, para Colombia y los objetivos de desarrollo sostenible, como política mundial.

De los resultados de la presente investigación, se podría concluir, que existe un reconocimiento por parte de la mayoría de los hogares urbanos, sobre la importancia de los servicios ecosistémicos y la conservación de bosques. Ya que el modelo econométrico demostró que el nivel de interés aumenta la disponibilidad a pagar, un programa local de sensibilización sobre la importancia de la conservación de bosques aumentaría la disponibilidad a pagar y, así, los beneficios económicos que de ellos se derivan.

La identificación de un valor de disponibilidad a pagar en la comunidad urbana del piedemonte amazónico colombiano evidencia que la instauración en la zona de un instrumento económico, como un PSA por Regulación hídrica, es viable, porque generaría beneficios económicos en la comunidad y, con ello, se protegen ecosistemas estratégicos en la mitigación de cambio climático desde la Amazonia colombiana.

Agradecimientos. Al Doctor Fernando Casanoves, Profesor del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza CATIE (Costa Rica), por sus aportes al documento. A cada uno de los hogares de la zona urbana del municipio de Belén de los Andaquíes, que participaron en la encuesta. **Conflictos de intereses:** 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 los resultados presentados.

REFERENCIAS

1. ALCALDÍA DE BELÉN DE LOS ANDAQUÍES. 2016. Plan de Desarrollo Municipal Belén Centenario y Sostenible 2016 - 2019. Alcaldía Municipal (Belén de los Andaquíes, Caquetá, Colombia). 331p.
2. ÁLVAREZ, E.; DUQUE, A.; SALDARRIAGA, J.; CABRERA, K.; DE LAS SALAS, G.; DEL VALLE, I.; LEMA, A.; MORENO, F.; ORREGO, S.; RODRÍGUEZ, L. 2012. Tree above-ground biomass allometries for carbon stocks estimation in the natural forest of Colombia. *Forest Ecology and Management*. 267:297-308. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2011.12.013>
3. AZQUETA OYARZUN, D.; ALVIAR RAMÍREZ, M.; DOMÍNGUEZ VILLALOBOS, L.; O'RYAN, R. 2007. Introducción a la economía ambiental. Segunda edición. Mc Graw Hill (Madrid, España). 469p.
4. BARZEV, R. 2002. Guía metodológica de valoración económica de bienes y servicios e impactos ambientales. Corredor biológico Mesoamericano. Corredor biológico Mesoamericano (Managua, Nicaragua). 149p.
5. CARSON, R.T.; MITCHELL, R.C.; HANEMANN, M.; KOPP, R.J.; PRESSER, S.; RUUD, P.A. 2003. Contingent valuation and lost passive use: damages from the Exxon Valdez oil spill. *Environ. Resour. Econ.* 25(3):257-286. <https://doi.org/10.1023/A:1024486702104>
6. CHAN, K.M.A.; GUERRY, A.D.; BALVANERA, P.; KLAIN, S.; SATTERFIELD, T.; BASURTO, X.; BOSTROM, A.; CHUENPAGDEE, R.; GOULD, R.; HALPERN, B.S.; HANNAHS, N.; LEVINE, J.; NORTON, B.; RUCKELSHAUS, M.; RUSSELL, R.; TAM, J.; WOODSIDE, U. 2012. Where are cultural and social in ecosystem services? A framework for constructive engagement. *BioScience*. 62(8):744-756. <https://doi.org/10.1525/bio.2012.62.8.7>
7. CHAN, K.M.A.; SHAW, M.R.; CAMERON, D.R.; UNDERWOOD, E.C.; DAILY, G.C. 2006. Conservation planning for ecosystem services. *PLoS Biol.* 4(11):e379. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040379>
8. CONSTANZA, R.; D'ARGE, R.; DE GROOT, R.; FARBER, S.; GRASSO, M.; HANNON, B.; LIMBURG, K.; NAEEM, S.; O'NEILL, R.V.; PARUELO, J.; RASKIN, R.G.; SUTTON, P.; VAN DEN BELT, M. 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature*. 387(15):253-260. <https://doi.org/10.1038/387253a0>
9. CONSTANZA, R.; DE GROOT, R.; BRAAT, L.; KUBISZEWSKI, I.; FIORAMONTI, L.; SUTTON, P.; FARBER, S.; GRASSO, M. 2017. Twenty years of ecosystem service: How far have we come and how far do we still need to go? *Ecosystem Services*. 28:1-16. <https://doi.org/10.1016/j.ecoser.2017.09.008>

10. DAILY, G.C. 1997. Introduction: What are ecosystem services? In: Daily, G.C. (ed). *Nature's Services: Societal dependence on natural ecosystems*. Island Press (Washington D.C.). p.1-10.
11. DEPARTAMENTO ADMINISTRATIVO NACIONAL DE ESTADÍSTICA, DANE. 2018. Proyección de la población por departamentos en Colombia. Disponible desde Internet en: <https://www.dane.gov.co/index.php/estadisticas-por-tema/de-mografia-y-poblacion/proyecciones-de-poblacion> (con acceso el 22/6/2020).
12. FREEMAN III, A.M.; HERRIGES, J.A.; KLING, C.L. 2014. *The measurement of environmental and resources values. Third edition. Resources for the future. United States of América*. 478p. <https://doi.org/10.4324/9781315780917>
13. FREY, G.E.; KALLAYANAMITRA, C.; WILKENS, P.; JAMES, N.A. 2021. Payments for forest-based ecosystem services in the United States: Magnitudes and trends. *Ecosystem Services*. 52:101377. <https://doi.org/10.1016/j.ecoser.2021.101377>
14. GARCÍA, H. 2013. Valoración de bienes y servicios ambientales provistos por el Páramo de Santurbán. Fedesarrollo, centro de investigación económica y social. Disponible desde Internet en: https://repository.fedesarrollo.org.co/bitstream/handle/11445/332/Repor_Febrero_2013_Garcia.pdfsequence=7&isAllowed=y (con acceso 08/08/2020).
15. KOLSTAD, C.H. 2010. *Environmental economics. Second edition*. Oxford University Press (United States). 480p.
16. MARTIN-ORTEGA, J.; DEKKER, T.; OJEA, E.; LORENZO-ARRIBAS, A. 2019. Dissecting price setting efficiency in payments for ecosystem services: A meta-analysis of payments for watershed services in Latin America. *Ecosystem Services*. 38:100961. <https://doi.org/10.1016/j.ecoser.2019.100961>
17. MILLENNIUM ECOSYSTEM ASSESSMENT, MEA. 2005. *Evaluación de los ecosistemas del milenio. Informe de Síntesis. Millennium Ecosystem Assessment (Washington, DC)*. 43p. Disponible desde Internet en: <https://www.millenniumassessment.org/documents/document.439.aspx.pdf> (con acceso el 22/6/2020).
18. MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE, MINAMBIENTE. 2018. Decreto 1007 del 14 de junio de 2018. Relativo a los Pagos por Servicios Ambientales. 13p. Disponible desde Internet en: <https://www.minambiente.gov.co/wp-content/uploads/2021/08/decreto-1007-de-2018.pdf> (con acceso el 22/6/2020).
19. NIETO, M.; CARDONA, L.F.; AGUDELO, C. 2015. Análisis de servicios ecosistémicos. Provisión y regulación hídrica. En: Ungar, P. (ed.) *Hojas de ruta. Guías para el estudio socioecológico de la alta montaña en Colombia*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. (Bogotá). p.1-97.
20. PARDO ROZO, Y.Y.; SANJINÉS TUDELA, G.N. 2014. Valoración Económica de servicios ambientales en sistemas agroforestales en América Latina. *Revista FACCEA*. 4(2):141-150.
21. RUEDA HAIDER, J. 2004. Valoración económica de una mejora en la seguridad y la conservación del Parque Nacional Natural Chingaza. *Revista Desarrollo y sociedad*. 54:51-86. <https://doi.org/10.13043/dys.54.2>
22. RUIZ-AGUDELO, C.A.; BELLO, L.C. 2014. ¿El valor de algunos servicios ecosistémicos en los Andes colombianos? Transferencia de beneficios por meta análisis. *Universitas Scientiarum*. 19(3):301-322. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.SC19-3.vase>
23. TIETENBERG, T.; LEWIS, L. 2014. *Environmental economics and policy. Sixth edition*. Pearson Prentice Hall (United States). 488p.
24. TOLEDO, D.; BRICEÑO, T.; OSPINA, G. 2018. Ecosystem service valuation framework applied to a legal case in the Anchicaya region of Colombia. *Ecosystem Services*. 29:352-359. <https://doi.org/10.1016/j.ecoser.2017.02.022>
25. UNITED NATIONS ENVIRONMENTAL PROGRAM, UNEP. 2005. Key Questions in the millennium ecosystem assessment. In: Hassan, R.; Scholes, R.; Ash, N. (Eds.). *Eco-system and human well-being: Current status and trends*. Island Press (Washington D.C.). 25-102p.
26. URIBE, E.; MENDIETA, J.C.; JAIME, H.; CARRIAZO, F. 2003. Introducción a la valoración ambiental, y estudios de caso. *Uniandes (Bogotá)*. 220p.
27. VAN RIPER, C.J.; LANDON, A.C.; KIDD, S.; BITTERMAN, P.; FITZGERALD, L.A.; GRANEK, E.F.; IBARRA, S.; IWANIEC, D.; RAYMOND, C.M.; TOLEDO, D. 2017. Incorporating sociocultural phenomena into ecosystem service valuation: the importance of critical pluralism. *BioScience*. 67(3):233-244. <http://dx.doi.org/10.1093/biosci/biw170>
28. ZÚÑIGA GONZÁLEZ, C.A.; BLANCO, N.E.; BERRIOS, R.; MARTÍNEZ AVENDAÑO, J.; NAVAS CALDERÓN, J. 2015. Green Economies impact with methane reduction in livestock production systems on Latin America. *Revista Científica de la UNAN-León*. 6(1):1-18. <https://doi.org/10.22004/ag.econ.232905>



Actividad antioxidante y cuantificación de fenoles y flavonoides de plantas colombianas empleadas en infecciones urinarias

Antioxidant activity and quantification of phenols and flavonoids of Colombian plants used in urinary tract infections

Lida Vanessa Hernández-Moreno^{1*} ; Juan Rodrigo Salazar² ; Ludy C. Pabón¹ ; Patricia Hernández-Rodríguez¹

¹Universidad de La Salle. Bogotá - Cundinamarca, Colombia; e-mail: lidavhernandez00@unisalle.edu.co; lupabon@unisalle.edu.co; phernandez@unisalle.edu.co

²Universidad La Salle. México D.F., México; e-mail: juan.salazar@lasalle.mx

*autor para correspondencia: lidavhernandez00@unisalle.edu.co

Cómo citar: Hernández-Moreno, L.V.; Salazar, J.R.; Pabón, L.C.; Hernández-Rodríguez, P. 2022. Actividad antioxidante y cuantificación de fenoles y flavonoides de plantas colombianas empleadas en infecciones urinarias. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 25(1):e1690. <http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1690>

Artículo de acceso abierto publicado por Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, bajo una Licencia Creative Commons CC BY-NC 4.0

Publicación oficial de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Institución de Educación Superior Acreditada de Alta Calidad por el Ministerio de Educación Nacional.

Recibido: agosto 25 de 2020

Aceptado: febrero 7 de 2022

Editado por: Helber Adrián Arévalo Maldonado

RESUMEN

Las plantas medicinales son de interés farmacéutico, debido a que tienen diferentes propiedades biológicas, entre las que se destaca, la actividad antioxidante y, de la cual, se conoce que existe una relación con la concentración de los compuestos fenólicos, por su capacidad de reducir los radicales libres. Es así, que se propuso evaluar la actividad antioxidante y la cuantificación de fenoles y flavonoides totales, de 11 extractos etanólicos de plantas, empleadas en la medicina tradicional, para el tratamiento de infecciones urinarias (IU). Se evaluó la actividad antioxidante, por los métodos de DPPH y FRAP y se cuantificó el contenido fenólico y de flavonoides, por el método Folin-Ciocalteu y tricloruro de aluminio, respectivamente. Se encontró que, de los 11 extractos evaluados, los que presentaron el mayor contenido de estos metabolitos y de potencial antioxidante fueron: *Uncaria*

tomentosa, *Sedum praealtum* y *Kobleria hirsuta*. Este trabajo permitió contribuir al conocimiento fitoquímico y antioxidante de plantas, usadas para tratar IU y se sugiere que *U. tomentosa*, *S. praealtum* y *K. hirsuta* sean objeto de futuros estudios biodirigidos, así como la evaluación de otras actividades biológicas.

Palabras clave: Capacidad antioxidante; Etnobotánica; Metabolitos secundarios; Medicina tradicional; Plantas medicinales.

ABSTRACT

Medicinal plants are of pharmaceutical interest because they possess different biological properties, among which their antioxidant activity stands out, and therefore it is known that there is a relationship with the concentration of phenolic compounds due to their ability to reduce free radicals. Therefore, it was

proposed to evaluate the antioxidant activity and the quantification of phenols and flavonoids of 11 ethanolic extracts of plants used in traditional medicine for the treatment of urinary infections (UI). The antioxidant activity was evaluated by the DPPH and FRAP methods and the phenolic and flavonoid content was quantified by the Folin-Ciocalteu and aluminum trichloride method, respectively. It was found that of the 11 extracts evaluated, those with the highest content of these metabolites and antioxidant potential were three: *Uncaria tomentosa*, *Sedum praealtum* and *Kobleria hirsuta*. This work made it possible to contribute to the phytochemical and antioxidant knowledge of the plants used for the treatment of UI and it is suggested that *U. tomentosa*, *S. praealtum* and *K. hirsuta* be the object of future bio-directed studies, as well as the evaluation of other activities biological.

Keywords: Antioxidant capacity; Ethnobotany; Medicinal plants; Secondary metabolites; Traditional medicine.

INTRODUCCIÓN

Frente a un proceso infeccioso causado por un agente patógeno es necesario fortalecer la defensa celular, para contrarrestar el daño ocasionado por el estrés oxidativo y controlar el desbalance del sistema antioxidante que causa la enfermedad, mediante el uso de antioxidantes (Castillo-Velarde, 2019). De esta manera, se ha relacionado que una dieta rica en antioxidantes estimula el sistema inmune y reduce la aparición de enfermedades infecciosas (Castillo-Velarde, 2019), neurodegenerativas y crónicas y de otros de efectos adversos, ocasionados por las especies reactivas de oxígeno (EROs), sobre diferentes funciones fisiológicas.

Las plantas medicinales son una fuente de principios activos antioxidantes, que presentan un efecto positivo frente a una amplia gama de enfermedades, debido a que tienen compuestos, como polifenoles, flavonoides, esteroides, esterolés y terpenos. Estos compuestos cumplen diversas funciones de protección, como mecanismo de defensa frente a factores bióticos y abióticos adversos, facilitando la supervivencia de las plantas (Pérez-Alonso & Jiménez, 2011; Borchardt *et al.* 2009).

Los compuestos fenólicos corresponden a un grupo de metabolitos muy diverso y ampliamente distribuido en plantas superiores, que comprende moléculas sencillas, como los ácidos fenólicos, taninos y ligninas, además de los flavonoides, que presentan importantes propiedades biológicas (Bahmani *et al.* 2015; Martín, 2018; Retuerto-Figueroa *et al.* 2020). Estos compuestos son interesantes, desde el punto de vista farmacológico, ya que poseen una gran diversidad estructural (Cerón-Carrillo *et al.* 2014), además de tener diferentes mecanismos de acción antioxidante, los cuales, pueden estar mediados por reacciones de óxido-reducción o por captación de radicales libres (Coronado *et al.* 2015).

En este sentido, se reporta la necesidad de realizar evaluaciones de la capacidad antioxidante de los compuestos de una muestra de forma independiente, como la interacción de los diferentes compuestos con su microambiente. Por tal razón, es importante

combinar más de un método para la evaluación antioxidante, ya que se sabe que ningún método refleja, por sí solo, la capacidad antioxidante total de una muestra, ya que no expresa la capacidad de antioxidantes de compuestos lipofílicos e hidrofílicos (Pérez-Jiménez & Saura-Calixto, 2007).

Algunos usos etnomedicinales de las plantas pueden ser de tipo antimicrobiano, antirreumático, anticancerígeno, antifúngico, para tratar enfermedades degenerativas y renales (Sierra, 2016; Retuerto-Figueroa *et al.* 2020; Piluzza & Bullitta, 2011).

En Colombia, el conocimiento tradicional sobre el uso de plantas trasciende por generaciones, a través de prácticas tradicionales (González *et al.* 2001). En estudios previos de etnomedicina en Colombia, se encuentran plantas que se usan de manera tradicional para el tratamiento de infecciones urinarias (IU), por ejemplo: ortigón (*Urera caracasana* (Jacq.) Griseb), cola de caballo (*Equisetum bogotense* [Kunth.]), parietaria (*Parietaria officinalis* L.), vira vira (*Achyrocline bogotensis* [Kunth.]), caracola (*Kobleria hirsuta* [Kunth.] Regel), diente de león (*Taraxacum officinale* (F.H. Wigg), siempre viva (*Sedum praealtum* [A.DC.]), verdolaga (*Portulaca oleracea* L.), perejil (*Petroselinum sativum* [Hoffm]), jengibre (*Zingiber officinale* [Roscoe]) y uña de gato (*Uncaria tomentosa* [Schult. DC.]) (Pabón *et al.* 2017). En algunas de estas plantas, no se conoce su potencial antioxidante, ni sus compuestos fenólicos; sin embargo, a partir de la información sobre las aplicaciones medicinales, se evidencia su uso potencial como antioxidante.

Por lo anterior, es importante aportar a este conocimiento tradicional, debido a que pueden ser fuente de principios activos, que benefician la salud. En este sentido, el objetivo de este estudio fue realizar la cuantificación de polifenoles y de flavonoides y determinar su relación con la actividad antioxidante de estas 11 plantas usadas en la medicina tradicional colombiana, para tratar IU.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección y adquisición del material vegetal. La selección de las plantas para el tratamiento de IU se realizó según Pabón *et al.* (2017) y fueron adquiridas en la plaza de mercado principal del municipio de Soacha, Cundinamarca. El material fresco proviene de diferentes municipios, teniendo en cuenta la información dada por los vendedores. Un ejemplar de cada especie, previamente identificado, reposa en el Herbario del Museo de La Universidad de La Salle Bogotá, Colombia (Tabla 1).

Obtención de extractos. Los extractos vegetales fueron obtenidos, principalmente, de hojas y de tallos, en la mayoría de las plantas, de rizoma (caracola y jengibre) y corteza (uña de gato). Se tomaron 600 g de material fresco, secado y molido para la maceración, con etanol al 96 %, a temperatura ambiente, que se mantuvo protegido de la luz. La solución filtrada fue concentrada por destilación a presión, reducida en un Rotavapor IKA RV10 (Sanabria Galindo, 1983).

Tabla 1. Plantas medicinales adquiridas en la plaza de mercado de Soacha, Cundinamarca.

Familia	Nombre científico	Nombre común	Procedencia	Código Herbario
Asteraceae	<i>Achyrocline bogotensis</i>	vira vira	Cundinamarca, Choachí	15417
Asteraceae	<i>Taraxacum officinale</i>	diente de león	Cundinamarca, Bogotá	15431
Apiaceae	<i>Petroselinum sativum</i>	perejil	Cundinamarca, Bogotá	15429
Crassulaceae	<i>Sedum praealtum</i>	siempre viva	Cundinamarca, Sabana de Bogotá	15428
Equistaceae	<i>Equisetum bogotense</i>	cola de caballo	Cundinamarca, Municipio de Chipaque	15418
Gesneriaceae	<i>Kohleria hirsuta</i>	caracola	Cundinamarca, Cachipay	15427
Portulacaceae	<i>Portulaca oleracea</i>	verdolaga	No determinado	15434
Rubiaceae	<i>Uncaria tomentosa</i>	uña de gato	No determinado	Identificada sin código de colección
Urticaceae	<i>Urera caracasana</i>	ortigón	Cundinamarca, Municipio de San Antonio del Tequendama	15416
Urticaceae	<i>Parietaria officinalis</i>	parietaria	Cundinamarca, Municipio de Chipaque	15419
Zingiberaceae	<i>Zingiber officinale</i>	jengibre	No determinado	Identificada sin código de colección

Cuantificación de compuestos fenólicos y flavonoides

Método de Folin-Ciocalteu para la cuantificación de fenoles totales. Se preparó una curva patrón de ácido gálico, con una solución estándar de 0,1 mg/mL y se realizaron 10 diluciones seriadas, completando el volumen de cada una a 500 μ L con agua destilada. Posteriormente, 10 mg de extracto se disolvió en 1 mL etanol y se diluyó en una proporción 1:5 con agua destilada. A cada una de las muestras, previamente preparadas, se les adicionó 250 μ L del reactivo de Folin-Ciocalteu 1 N, se dejó actuar por 5 minutos y luego 1250 μ L de Na_2CO_3 al 20 %. Las muestras, se dejaron reposar por 2 h y la absorbancia fue medida a 760 nm. Todas las muestras, se realizaron por triplicado y los resultados fueron expresados en mg de ácido gálico por g de extracto (mgEAG/g extracto) (Blainski *et al.* 2013).

Método de Tricloruro de aluminio para la cuantificación de flavonoides. Se realizó una curva patrón de catequina con una solución estándar (1,5 mg/mL en metanol al 10 %), de la cual, se tomó un volumen de 106,6 μ L, para la primera concentración; se agregaron 1893,4 μ L de MeOH al 10 % y, posteriormente, se realizaron diluciones seriadas (79, 39, 19, 9 y 5 mg/L). El ensayo, se realizó en una microplaca de 96 pozos; a cada pozo, se le

adicionaron 75 μ L de cada una de las soluciones de la muestra a 10 mg/mL, 75 μ L de NaNO_2 a 6 mg/mL, 75 μ L de $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ a 22 mg/mL y 75 μ L de NaOH 0,8 M. Inmediatamente, se leyó la absorbancia a 510 nm, en un lector de placa (Biotec, EPOCH), usando el Software Gen 5 (Biotec); como control negativo, se usó metanol al 10 %. Todos los ensayos, se realizaron por triplicado y los resultados fueron expresados como mg de catequina por gramo de extracto (mg ECT/ g extracto) (Magalhães *et al.* 2012).

Evaluación de la actividad antioxidante

Método DPPH (2,2-difenil-picril-hidrazilo). Las pruebas, se realizaron en microplacas de 96 pozos. En cada pozo, se adicionó 140 μ L de DPPH (0,06 mg/mL) y 50 μ L de extracto (10 mg/mL); después de 30 min, se midió la absorbancia a 515 nm, en un microlector de placa (Biotec, EPOCH), usando el Software Gen 5 (Biotec). Como controles positivos, se utilizaron ácido gálico (0,075 mg/mL), catequina y quercetina (5 mg/L) (Shalaby & Shanab, 2013). Los ensayos, se realizaron por triplicado y los resultados fueron expresados como porcentaje de inhibición del radical libre DPPH (ecuación 1), donde Ac es la absorbancia de la solución metanólica DPPH y At es la absorbancia de la muestra.

$$\text{Actividad antioxidante \%} = \left(\frac{Ac-At}{Ac} \right) * 100 \quad \text{ecuación 1}$$

Ensayo del potencial reductor férrico (FRAP). El poder antioxidante de reducción férrica se realizó siguiendo la metodología descrita por Benzie & Devaki (2018). Se midió la absorbancia a 593 nm y se preparó una curva patrón de una solución de trolox (0 – 0,139 mM). El ensayo, se ejecutó por triplicado y los resultados fueron expresados como mmol equivalentes a trolox (ET)/g extracto.

Análisis estadístico. Todos los resultados fueron expresados como el promedio de los ensayos por triplicado, con su respectiva desviación estándar. Para determinar la relación entre cada una de las variables, se determinó el coeficiente de correlación de Pearson, con un intervalo de confianza del 95 % y un nivel de significancia de $p < 0,0001$. Los datos fueron analizados usando el programa estadístico InfoStat y Excel.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuantificación de fenoles y flavonoides. Se cuantificó el contenido de fenoles y flavonoides de once plantas, usadas en la medicina tradicional colombiana, para tratar infecciones urinarias (Tabla 2). Se encontró que el extracto etanólico *U. tomentosa* fue el que presentó el mayor contenido fenólico, con un valor de 90,87 mgEAG/g, siendo inferior a lo reportado en la literatura, para este mismo tipo de extracto, con valores entre 196-321 mgEAG/g (Navarro-Hoyos *et al.* 2018). Asimismo, las especies *P. oleracea* y *T. officinale* presentaron valores de 28,30 mgEAG/g y 19,47 mgEAG/g, respectivamente, que se encuentran acordes con los reportados para el extracto etanólico de *P. oleracea* (21,08 mgEAG/g) (Kim *et*

al. 2018) y superior al metanólico (17,88 mgEAG/g) (Ercisli *et al.* 2008). Igualmente ocurre para *T. officinale*, con valores reportados que oscilan entre 22,3-32 mg EAG/g (Ivanov, 2014).

El extracto de *Z. officinale* presentó un valor de 16,83 mg EAG/g, resultado inferior al reportado previamente para el extracto etanólico (137,5 mgEAG/g), similar a los extractos metanólicos (1-13 mgEAG/g) (Nassrullah, 2015; Tohma *et al.* 2017) y superior al de acetato de etilo (8 mgEAG/g) (Asimi *et al.* 2013). De manera similar ocurrió con *P. officinalis*, se obtuvo un valor de 5,84 mgEAG/g, cercano al reportado previamente (2,8 mgEAG/g), para el extracto metanólico e inferior al reportado para el de acetona-agua (20,71 mgEAG/g) (Piluzza & Bullitta, 2011).

Las diferencias que se presentan al contrastar con la literatura, tanto en el contenido de compuestos fenólicos como en los flavonoides, muchas veces, dependen de las condiciones ambientales donde se encuentre la planta, siendo la temperatura, las precipitaciones, el tipo de suelo, la humedad relativa y la exposición a los rayos UV del sol, algunos fenómenos que afectan la producción de este tipo de metabolitos (Soto-Vásquez, 2015). También, las diferencias en el contenido de compuestos fenólicos se pueden atribuir a los diversos tipos de solventes utilizados en el proceso de extracción, la temperatura y el tiempo de exposición. Cabe resaltar que, dependiendo del tipo de solvente utilizado en el proceso de extracción, va a depender la polaridad de los compuestos extraídos, siendo así, un solvente de alta polaridad, como el etanol, el que va a provocar el rompimiento de la membrana celular, permitiendo que se extraigan la mayor cantidad de compuestos fenólicos, por su naturaleza polar (Garrido *et al.* 2013).

Tabla 2. Actividad antioxidante y cuantificación de compuestos de extractos de 11 plantas por los métodos DPPH y FRAP.

Nombre científico	DPPH (%)	FRAP (mM ET/g)	Fenoles totales (mg AG/g extracto)	Flavonoides (mg ECT/g extracto)
<i>Achyrocline bogotensis</i>	56,63 ± 0,02	202,11 ± 0,05	17,74 ± 0,01	13,14 ± 0,13
<i>Equisetum bogotense</i>	46,41 ± 0,03	76,69 ± 2,31	11,76 ± 0,01	19,85 ± 0,10
<i>Kobeleria hirsuta</i>	71,53 ± 0,00	214,77 ± 1,41	21,10 ± 0,01	21,91 ± 0,04
<i>Parietaria officinalis</i>	52,48 ± 0,01	51,27 ± 0,17	5,84 ± 0,01	8,70 ± 0,08
<i>Petroselinum sativum</i>	61,42 ± 0,00	75,07 ± 0,02	26,43 ± 0,01	3,65 ± 0,02
<i>Portulaca oleracea</i>	54,57 ± 0,01	121,16 ± 0,11	28,30 ± 0,08	3,26 ± 0,01
<i>Sedum praealtum</i>	82,57 ± 0,00	175,09 ± 0,54	20,53 ± 0,10	7,01 ± 0,01
<i>Uncaria tomentosa</i>	79,42 ± 0,00	608,94 ± 1,52	90,87 ± 0,06	14,57 ± 0,09
<i>Urera caracasana</i>	51,59 ± 0,01	26,32 ± 0,20	3,27 ± 0,09	7,97 ± 0,11
<i>Taraxacum officinale</i>	62,57 ± 0,00	68,62 ± 0,10	19,47 ± 0,01	6,05 ± 0,02
<i>Zingiber officinale</i>	81,57 ± 0,00	144,17 ± 0,90	16,83 ± 0,02	2,60 ± 0,01
Ácido gálico	90,11 ± 0,00	ND	ND	ND
Quercetina	89,98 ± 0,00			
Catequina	78,02 ± 0,00			

Los valores representan la media de tres repeticiones ± la desviación estándar. ND: No determinado

Este trabajo contribuye al conocimiento químico, en cuanto a la cuantificación de compuestos fenólicos del extracto etanólico de las especies *E. bogotense*, *A. bogotensis*, *K. hirsuta*, que presentaron un contenido fenólico intermedio (28,30-11,76 mgEAG/g) y para la especie *U. caracasana*, ya que ninguna de ellas presenta reportes de este tipo de cuantificaciones. Para otras especies, como *P. sativum* y *P. officinalis*, se presentan reportes de cuantificación para otro tipo de solventes (Piluzza & Bullita, 2011); sin embargo, este es el primer reporte del extracto etanólico.

Teniendo en cuenta que los compuestos fenólicos corresponden a un grupo de metabolitos muy diverso, que comprende moléculas sencillas, como los ácidos fenólicos, taninos y ligninas, además de los flavonoides, se cuantificó el contenido de flavonoides de las especies de estudio. De esta manera, se encontró que *K. hirsuta* fue la especie que presentó mayor contenido de flavonoides (21,91 mgECT/g), en comparación con las otras especies (Tabla 2). Este trabajo aporta al conocimiento sobre la cuantificación de flavonoides para las especies *U. caracasana*, *K. hirsuta*, *A. bogotensis*, y *E. bogotense*. Para otras especies, como *Z. officinale*, *P. oleraceae*, *P. officinalis*, *U. tomentosa*, *S. praealtum*, *P. sativum* y *T. officinale*, no fue posible hacer una comparación, ya que los reportes se presentan en otras unidades como mg, equivalentes a quercetina (mgEQ/g) o mg, equivalentes a rutina o están para otro tipo de extractos (Ghasemzadeh *et al.* 2010; Piluzza & Bullita, 2011; Kim *et al.* 2018).

Actividad antioxidante. Sobre los resultados de la actividad antioxidante evaluada en este estudio permitieron identificar que las especies que tienen alta capacidad antioxidante, en los dos métodos evaluados (FRAP y DPPH), fueron *U. tomentosa*, *S. praealtum*, *Z. officinale* y *K. hirsuta*, siendo este potencial muy cercano a la actividad de compuestos con actividad antioxidante, como lo son el ácido gálico, catequina y quercetina (Coronado *et al.* 2015). De esta manera, estas especies son promotoras para ampliar los estudios y es importante que sean consideradas en los futuros tratamientos de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, como ejemplo, enfermedades degenerativas o tratar infecciones urinarias, por sus propiedades antimicrobianas y antifúngicas (Piluzza & Bullita, 2011; Sierra, 2016; Retuerto-Figueroa *et al.* 2020). Los resultados de estas especies sugieren que la actividad antioxidante puede estar determinada por dos mecanismos diferentes: el de donar átomos de hidrógenos o de electrones, de esta manera, proporciona protección contra el daño oxidativo y la estabilización radicales libres (Coronado *et al.* 2015).

En resultados previos de *U. tomentosa*, se reportó este potencial en otras unidades o para otro tipo de extractos (hidroalcohólicos de la corteza), por lo que, a pesar de no poder ser comparados, sí se puede verificar el potencial antioxidante de esta especie (Doroteo *et al.* 2013). Asimismo, se corroboró el potencial de *S. praealtum*, que presentó alta actividad antioxidante en el ensayo de DPPH y que, de acuerdo con reportes previos, el extracto etanólico de hojas a una concentración de 1 mg/mL, presenta un porcentaje de inhibición del 70,85 % e, incluso, su potencial antioxidante también se ha corroborado por otros métodos (Márquez Rosales *et al.* 2012).

De la misma manera, ocurrió para la especie *Z. officinale*, de la cual, se reportó su alto potencial antioxidante, por su capacidad de captar radicales libres del DPPH, con valores por encima del 50 % (Ghasemzadeh *et al.* 2010; Asimi *et al.* 2013; Nassrullah, 2015); sin embargo, los resultados obtenidos de esta especie por el método FRAP, no pudieron ser comparados por este método, debido a que en los reportes previos se expresan en otras unidades de concentración y para otros solventes de extracción (Nassrullah, 2015; Tohma *et al.* 2017).

Por otra parte, *A. bogotensis* (202,11 mMET/g, 56,63 %), *P. oleraceae* (121,16 mMET/g, 54,57 %) y *E. bogotense* (76,69 mMET/g, 46,41 %) presentaron alta actividad en la capacidad de reducir el ion férrico al estado ferroso (FRAP) y una actividad intermedia en DPPH, por lo que su potencial esta dado, principalmente, por la capacidad reductora del ion férrico al ion ferroso, debido a la transferencia de electrones. La especie *P. oleraceae*, en este trabajo, presentó un valor superior al reportado para este mismo tipo de extractos 27,85 % (1 mg/mL) (Kim *et al.* 2018) e inferiores a los acuosos que presentan un mayor potencial (45-80 %) (Oliveira *et al.* 2009). Los resultados obtenidos en el método de FRAP fueron consistentes con lo reportado por Kim *et al.* (2018), para la cual, se ha encontrado que, aunque es bajo su potencial para la eliminación de radicales hidroxilos, es mayor su capacidad para la quelación de hierro (Hinneburg *et al.* 2006).

En cuanto a las especies que tuvieron una actividad intermedia en el método DPPH y baja en FRAP fueron *T. officinale*, *P. sativum*, *P. officinalis* y *U. caracasana* (Tabla 2). Para *T. officinale*, el resultado obtenido en el método FRAP fue superior a lo reportado por Ivanov (2014), para este mismo tipo de extracto, mientras que en el ensayo de DPPH, solo tiene reportes para el extracto acuoso, con un porcentaje 32,8 % (0,5 mg/mL) (Favari *et al.* 2013) y para el extracto metanólico, entre el 60-80 % (1-4 mg/mL) (Pădureț *et al.* 2016). Para *P. sativum*, solo se tienen reportes para el extracto acuoso (4,09 mMET/g) y se ha establecido, para esta especie, mayor eficiencia de la acción antioxidante, en mecanismos que generan aniones superóxido frente a radicales hidroxilos (Troncoso & Guija 2005; Wojdyło *et al.* 2007).

Cabe aclarar que los resultados de actividad antioxidante pueden variar dependiendo del tipo de extracto, del método de extracción, del lugar de crecimiento de la planta y de la concentración de compuestos fenólicos, a los cuales, se les atribuye esta actividad (Chiapetti *et al.* 2019).

Este estudio contribuye en el conocimiento de actividad antioxidante por los métodos de FRAP y DPPH, así como en la cuantificación de fenoles y flavonoides para las especies *U. caracasana*, *K. hirsuta* y *E. bogotense*. Además, es el primer reporte para la especie *A. bogotensis*, *P. officinalis*, *U. tomentosa* y *S. praealtum*, de su potencial de actividad antioxidante, por el método de FRAP.

Correlación de actividad antioxidante y contenido de fenoles y flavonoides. Garrido *et al.* (2013) indican que la actividad antioxidante tiene una fuerte relación con el contenido de

compuestos fenólicos de los extractos de plantas, por lo que se espera que, si un extracto tiene mayor contenido fenólico, también sea mayor su capacidad antioxidante. En este sentido, se realizó la correlación entre la cuantificación de compuestos fenólicos, flavonoides y la actividad antioxidante, obtenida por los métodos FRAP y DPPH, se determinó que solo los compuestos fenólicos presentaron una alta correlación positiva ($R = 0,93$, $p < 0,001$), con el método antioxidante de FRAP (Tabla 3). En este trabajo, se

corroboró esta hipótesis, en donde se evidencia que las especies que tuvieron un alto contenido de compuestos fenólicos también tuvieron alto potencial en el ensayo de FRAP, como *U. tomentosa*, *K. hirsuta*, *A. bogotensis*, *S. praealtum* y *Z. officinale* y *P. oleraceae*.

Esta hipótesis además es consistente con reportes de Palomino *et al.* (2009) y Parikh & Patel (2017). Adicionalmente, se encontró una baja correlación entre el contenido fenólico y los flavonoides ($R = 0,15$,

Tabla 3. Coeficientes de correlación de Pearson y probabilidad entre el contenido fenólico y actividad antioxidante.

	Flavonoides r^2	Polifenoles r^2	DPPH r^2	FRAP r^2
Flavonoides	1	0,63	0,73	0,27
Polifenoles	0,15	1	0,1	9,6E-06***
DPPH	-0,11	0,49	1	-
FRAP	0,34	0,93	0,57	1

Significancia *: $p < 0,0001$ ***

$p > 0,05$), por lo que se sugiere que compuestos fenólicos diferentes a los flavonoides, por ejemplo, derivados del ácido caféico, también juegan un papel importante en la actividad antioxidante (Palomino *et al.* 2009), por lo que es importante ampliar los estudios en la cuantificación e identificación y correlación de otros metabolitos.

Es importante tener en cuenta que las correlaciones no son completamente lineales, ya que si bien el método de cuantificación de fenoles totales Folin-Ciocalteu es específico para este tipo de metabolitos, también existen otro tipo de metabolitos no fenólicos que pueden afectar la actividad antioxidante o por interacciones antagonistas o sinérgicas (Palomino *et al.* 2009).

Este estudio permitió evidenciar que las especies *U. tomentosa*, *S. praealtum* y *K. hirsuta* fueron las que tuvieron mayor potencial antioxidante y un alto contenido de polifenoles; sin embargo, hay que tener en cuenta que los métodos para evaluar la capacidad antioxidante nos dan una idea aproximada de lo que podría suceder en un ensayo *in vivo* y que la capacidad antioxidante de una muestra viene dada por la interacción sinérgica entre diferentes compuestos y su microambiente, así como por el mecanismo de acción, de cada uno de ellos (Pérez-Jaramillo *et al.* 2017).

Este trabajo, también permitió aportar nuevo conocimiento para la mayoría de las especies que contaban con pocos estudios de cuantificación de polifenoles y potencial antioxidante. Se sugiere que, para estas plantas, se evalúe su potencial en otras actividades biológicas relacionadas con sus usos etnomedicinales, que pueden estar relacionados con la actividad antioxidante y, de esta manera, puedan ser consideradas como una fuente potencial de principios activos.

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:** El presente trabajo fue financiado por la Universidad de La Salle.

REFERENCIAS

- ASIMI, O.A.; SAHU, N.; PAL, A.K. 2013. Antioxidant activity and antimicrobial property of some Indian spices. Internal J. Scientific and Research Publications. 3(3).
- BAHMANI, M.; SAKI, K.; SHAHSAVARI, S.; RAFIEIAN-KOPAEI, M.; SEPAHVAND, R.; ADINEH, A. 2015. Identification of medicinal plants effective in infectious diseases in Urmia, northwest of Iran. Asian Pacific J. Tropical Biomedicine. 5(10):858-864. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.06.004>
- BENZIE, I.F.F.; DEVAKI, M. 2018. The Ferric reducing/antioxidant capacity (FRAP) assay for non-enzymatic antioxidant capacity: concepts, procedures, limitations and applications. En: Apak, R.; Capanoglu, E.; Shahidi, F. (eds). Measurement of Antioxidant Activity & Capacity: Recent Trends and Applications. Ed. John Wiley & Sons Ltd. p.77-106. <https://doi.org/10.1002/9781119135388.ch5>
- BLAINSKI, A.; LOPES, G.C.; PALAZZO DE MELLO, J.C. 2013. Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. Molecules. 18(6):6852-6865. <https://doi.org/10.3390/molecules18066852>
- BORCHARDT, J.R.; WYSE, D.L.; SHEAFFER, C.C.; KAUPPI, K.L.; FULCHER, R.G.; EHLKE, N.J.; BIESBOER, D.D.; BEY, R.F. 2009. Antioxidant and antimicrobial activity of seed from plants of the Mississippi river basin. J. Medicinal Plants Research. 3(10):707-718.
- CASTILLO-VELARDE, E.R. 2019. Vitamin C in health and disease. Rev. Facultad de Medicina Humana. 19(4):95-100. <http://dx.doi.org/10.25176/RFMH.v19i4.2351>

7. CERÓN-CARRILLO, T.; MUNGUÍA-PÉREZ, R.; GARCÍA, S.; SANTIESTEBAN-LÓPEZ, A. 2014. Actividad antimicrobiana de extractos de diferentes especies de chile (*Capsicum*). Rev. Iberoamericana de Ciencias. 1(2):213-221.
8. CHIAPETTI, T.P.; MALAVASI, U.C.; COSTA, G.; MATOS, M. 2019. Effects of the extraction method and chromatographic separation solvent in the antioxidant activity of different species of "espinheira-santa". J. Food Science and Technology. 56(11):5056-5062.
<https://doi.org/10.1007/s13197-019-03978-1>
9. CORONADO, M.; VEGA, S.; GUTIÉRREZ, L.R.; VÁZQUEZ, M.; RADILLA, C. 2015. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. Rev. chilena de nutrición. 42(2):206-212.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182015000200014>
10. DOROTEO, V.H.; DÍAZ, C.; TERRY, C.; ROJAS, R. 2013. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante in vitro de 6 plantas peruanas. Rev. Soc. Quím. Perú. 79(1):13-20.
11. ERCISLI, S.; CORUH, I.; GORMEZ, A.; SENGUL, M. 2008. Antioxidant and antibacterial activities of *Portulaca oleracea* L. grown wild in Turkey. Ital. J. Food Sci. 20(4):533-542.
12. FAVARI, L.; ARCE-DÍAZ, C.; ORTÍZ-MARTÍNEZ, J.; PABLO-PÉREZ, S.; SOTO, C.; MELÉNDEZ-CAMARGO, M.E. 2013. Hepatoprotective and antioxidant effects of *Taraxacum officinale* against carbon tetrachloride induced acute hepatic damage in the rat. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. 44(4):53-61.
13. GARRIDO, G.; ORTIZ, M.; POZO, P. 2013. Fenoles y flavonoides totales y actividad antioxidante de extractos de hojas de *Lampaya medicinalis* F. Phil. J. Pharmacy & Pharmacognosy Research. 1(1):30-38.
14. GHASEMZADEH, A.; JAAFAR, H.; RAHMAT, A. 2010. Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids content in two varieties of malaysia young ginger (*Zingiber officinale Roscoe*). Molecules. 15(6):4324-4333.
<https://doi.org/10.3390/molecules15064324>
15. GONZÁLEZ, B.; MORA, M.; CLAVIJO, M. 2001. Estudio etnobotánico de las plantas medicinales empleadas por la comunidad rural de Zaque-municipio de Gachetá, Cundinamarca. Tecné, episteme y didaxis: TED. 9:35-43.
<https://doi.org/10.17227/ted.num9-5621>
16. HINNEBURG, I.; DAMIEN DORMAN, H.J.; HILTUNEN, R. 2006. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. Food Chemistry (Países Bajos). 97(1):122-129.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.028>
17. IVANOV, I.G. 2014. Polyphenols content and antioxidant activities of *Taraxacum officinale* F.H Wigg (Dandelion) leaves. Internal J. Pharmacognosy and Phytochemical Res. 6(4):889-893.
18. KIM, D.G.; SHIN, J.H.; KANG, M.J. 2018. Antioxidant and anti-inflammatory activities of water extracts and ethanol extracts from *Portulaca oleracea* L. The Korean Society of Food Preservation. 25(1):98-106.
<https://doi.org/10.11002/kjfp.2018.25.1.98>
19. MAGALHÃES, L.; ALMEIDA, I.; BARREIROS, L.; REIS, S.; SEGUNDO, M. 2012. Automatic aluminum chloride method for routine estimation of total flavonoids in red wines and teas. Food Analytical Methods (Estados Unidos). 5:530-539.
<https://doi.org/10.1007/s12161-011-9278-1>
20. MÁRQUEZ ROSALES, J.; GALVÁN VALENCIA, M.; DURÓN TORRES, S.; FLORES MORALES, V. 2012. Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de extractos de siempreviva. Investigación Científica. 6(2):2-7.
21. MARTÍN, D.A. 2018. Los compuestos fenólicos: Un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica. Revista de Investigación Agraria y Ambiental. 9(1):81-104.
<https://doi.org/10.22490/21456453.1968>
22. NASSRULLAH, S. 2015. Evaluation of antibacterial and antioxidant activity of ginger rhizome and ziziphus leaves salma. Internal J PharmTech Research. 7(4):554-559.
23. NAVARRO-HOYOS, M.; ALVARADO-CORELLA, D.; MOREIRA-GONZALEZ, I.; ARNAEZ-SERRANO, E.; MONAGAS-JUAN, M. 2018. Polyphenolic composition and antioxidant activity of aqueous and ethanolic extracts from *Uncaria tomentosa* bark and leaves. Antioxidants. 7(5):65.
<https://doi.org/10.3390/antiox7050065>
24. OLIVEIRA, I.; VALENTÃO, P.; LOPES, R.; ANDRADE, P.B.; BENTO, A.; PEREIRA, J.A. 2009. Phytochemical characterization and radical scavenging activity of *Portulaca oleraceae* L. leaves and stems. Microchemical J. 92(2):129-134.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2009.02.006>
25. PABÓN, L.C.; RODRÍGUEZ, M.F.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, P. 2017. Plantas medicinales que se comercializan en Bogotá (Colombia) para el tratamiento de enfermedades infecciosas. Bol. Latinoam. y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 16(6):529-546.
26. PĂDUREȚ, S.; AMARIEI, S.; GUTT, G.; PISCUC, B. 2016. The evaluation of dandelion (*Taraxacum officinale*) properties as a valuable food ingredient. Romanian Biotechnological Letters. 21(3):11569-11575.

27. PALOMINO, L.R.; GARCÍA, C.M.; GIL, J.H.; ROJANO, B.A.; DURANGO, D.L. 2009. Determination of phenolic content and evaluation of antioxidant activity of propolis from antioquia (Colombia). *Vitae*. 16(3):388-395.
28. PARIKH, B.; PATEL, V.H. 2017. Quantification of phenolic compounds and antioxidant capacity of an underutilized Indian fruit: Rayan [*Manilkara hexandra* (Roxb.) Dubard]. *Food Science and Human Wellness*. 6(1):10-19. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2016.11.002>
29. PÉREZ-ALONSO, N.; JIMÉNEZ, E. 2011. Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo in vitro. *Biotecnología vegetal*. 11(4):195-211.
30. PÉREZ-JARAMILLO, C.C.; SÁNCHEZ-PERALTA, W.F.; MURILLO-ARANGO, W.; MÉNDEZ-ARTEAGA, J.J. 2017. Acción antioxidante conjunta de extractos etanólicos de *Mollinedia lanceolata*, *Croton leptostachyus* y *Siparuna sessiliflora*. *RACCEFYN*. 41(158):64-70 <http://dx.doi.org/10.18257/raccefyn.425>
31. PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. 2007. Metodología para la Evaluación de Capacidad Antioxidante en Frutas y Hortalizas. V Congr Iberoam Tecnol postcosecha y agroexportaciones. 1150-1160.
32. PILUZZA, G.; BULLITTA, S. 2011. Correlations between phenolic content and antioxidant properties in twenty-four plant species of traditional ethnoveterinary use in the Mediterranean area. *Pharmaceutical Biology*. 49(3):240-247. <https://doi.org/10.3109/13880209.2010.501083>
33. RETUERTO-FIGUEROA, M.G.; RAMOS-LICA, E.; GORRITI-GUTIÉRREZ, A.R.; GALLARDO-JUGO, T.; ORTEGA-ROMERO, E.; CALIXTO-COTOS, M.; COSQUILLO-RAFAEL, M.; FUERTES-RUITON, C.; QUISPE-JACOBO, F.; VILLAFUERTE-MONTES, U. 2020. Estudio farmacognóstico, antioxidante y citotóxico de *Sinningia warmingii* "papa madre". *Revista de Toxicología*. 37(1):6-10.
34. SANABRIA GALINDO, A. 1983. Análisis Fitoquímico Preliminar: metodología y su aplicación en la evaluación de 40 plantas de la familia compositae. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 113p.
35. SHALABY, E.; SHANAB, S. 2013. Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*. *Indian J. Geo-Marine Sciences*. 42(5):556-564.
36. SIERRA, L. 2016. Estrategias de investigación para el tratamiento de Alzheimer con antioxidantes polifenólicos. *Revista de la academia colombiana de ciencias exactas, físicas y naturales*. 40(157):608-620. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.408>
37. SOTO-VÁSQUEZ, M.R. 2015. Metabolitos secundarios, cuantificación de fenoles y flavonoides de extractos etanólicos de propóleos de tres localidades del Perú. *In Crescendo (Perú)*. 6(2):22-32.
38. TOHMA, H.; GÜLÇİN, İ.; BURSAL, E.; GÖREN, A.C.; ALWASEL, S.H.; KÖKSAL, E. 2017. Antioxidant activity and phenolic compounds of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) determined by HPLC-MS/MS. *J. Food Measurement and Characterization*. 11(2):556-566. <https://doi.org/10.1007/s11694-016-9423-z>
39. TRONCOSO, L.; GUIJA, E. 2005. Propiedades antioxidantes del perejil (*Petroselinum sativum*). *Rev. Sociedad Química del Perú*. 71(2):99-106.
40. WOJDYŁO, A.; OSZMIANŚKI, J.; CZEMERYŚ, R. 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*. 105(3):940-949. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.038>



Prioridades de atención en zonas rurales en escenarios posconflicto: un análisis de minería de texto

Attention priorities in rural areas in post-conflict scenarios: a text mining analysis

Diana María Gutiérrez-Zapata¹ ; Mario Fernando Cerón-Muñoz^{1*} ; Rolando Barahona-Rosales² 

¹Universidad de Antioquia-UdeA, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación Agrociencias, Biodiversidad y Territorio - GAMMA. Medellín - Antioquia, Colombia; e-mail: dianam.gutierrez@udea.edu.co; mario.ceron@udea.edu.co

²Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo CIPAV. Medellín - Antioquia, Colombia; e-mail: rbarahonar@unal.edu.co

*autor de correspondencia: mario.ceron@udea.edu.co

Cómo citar: Gutiérrez-Zapata, D.M.; Cerón-Muñoz, M.F.; Barahona-Rosales, R. 2022. Prioridades de atención en zonas rurales en escenarios posconflicto: un análisis de minería de texto. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 25(1):e1947. <http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1947>

Artículo de acceso abierto publicado por Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, bajo una Licencia Creative Commons CC BY-NC 4.0

Publicación oficial de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Institución de Educación Superior Acreditada de Alta Calidad por el Ministerio de Educación Nacional.

Recibido: mayo 4 de 2021

Aceptado: junio 2 de 2022

Editado por: Helber Adrián Arévalo Maldonado

RESUMEN

Las herramientas automatizadas de análisis de texto resumen grandes volúmenes de información y permiten generar, de forma eficiente, conocimiento a partir de datos desestructurados, como las opiniones. El objetivo de este trabajo fue identificar prioridades en comunidades afectadas por el conflicto armado, utilizando ejercicios participativos de 13 municipios de Antioquia, Colombia. Se analizaron 15.534 opiniones, de 9.765 personas; tras una limpieza de texto, se describió el uso, la asociación, la diferenciación y la importancia de los términos, según los enfoques temáticos y tipos de opinión expresados, utilizando minería de texto en R. Se encontró que las prioridades giraban en torno a la disponibilidad de infraestructuras, dotación e insumos, ya que eran las problemáticas más mencionadas por las comunidades y correspondía con la realidad territorial; por otra parte, las oportunidades estaban representadas, principalmente, por los recursos naturales y humanos. El análisis de minería de texto del ejercicio participativo permitió identificar las prioridades de las comunidades, a nivel socioeconómico, de forma

satisfactoria; sin embargo, la preparación de la información requiere mucho trabajo y los resultados se deben revisar cuidadosamente, para asegurar su coherencia. Que la información pueda ser analizada por agentes externos a la colección de datos, representa otra ventaja de esta herramienta.

Palabras clave: Minería de texto; Participación ciudadana; Comunidades; Desarrollo rural; Territorio.

ABSTRACT

Automated text analysis tools summarize large volumes of information and allow efficient generation of insights from unstructured data such as opinions. The objective of this work was to identify priorities in communities affected by the armed conflict using participatory exercises in 13 municipalities of Antioquia, Colombia. 15,534 opinions from 9,765 people were analyzed. After a text cleaning, the use, association, differentiation and importance of the terms were described according to the

thematic approaches and types of opinion expressed using text mining in R. It was found that the priorities revolved around the availability of infrastructures, endowment and inputs, since they were the most mentioned problems by the communities, and that this corresponded to the territorial reality. On the other hand, the opportunities were mainly represented by natural and human resources. The text mining analysis of the participatory exercise allowed to identify the priorities of the communities at the socio-economic level in a satisfactory way. However, the preparation of the information is labor intensive and the results must be carefully reviewed to ensure consistency. Another advantage of this tool is that the information can be analyzed by external agents to the data collection.

Keywords: Text mining; Citizen participation; Communities; Rural development; Territory.

INTRODUCCIÓN

En la era moderna existe tal cantidad de información disponible que se requiere, cada vez, mayor capacidad de procesamiento y de eficiencia en el análisis, de modo que se pueda extraer la parte valiosa, para convertirla en una herramienta útil, que permita mejorar procesos de toma de decisiones en diferentes ámbitos, ya sea gubernamental, empresarial, ciencia y comunicación y otros (Kaushik & Naithani, 2016; Marcano Aular & Talavera Pereira, 2007); sin embargo, la eficiencia de análisis se vería comprometida si dependiera únicamente del factor humano, ya que estaría sujeta a limitaciones de tiempo y de capacidad, para detectar patrones y correlaciones o sesgos de interpretación (Humhpreys & Wang, 2018). De ahí, la importancia de contar con métodos automatizados, que permitan generar conocimiento a partir de grandes volúmenes de datos, de forma imparcial, incluso, si se presentan en formato de texto.

En las ciencias sociales, aunque el análisis automatizado de texto no puede reemplazar el entendimiento humano producto de una lectura profunda y consciente, es una herramienta de asistencia esencial para los investigadores (Grimmer & Stewart, 2013; Németh & Koltai, 2021; Nguyen *et al.* 2020). Por ejemplo, la minería de texto es una técnica que permite resumir rápidamente información en lenguaje natural, con poca o nula estructura, como discusiones o reflexiones, en elementos cuantificables más estructurados, permitiendo observar relaciones e identificar patrones existentes en esta (Feldman & Sanger, 2006; Jae-Hyuck *et al.* 2022). Esto permite suponer que sería una opción adecuada para el análisis de información derivada de procesos participativos, como los diagnósticos comunitarios o la planificación rural, donde la información relevante u objetivo, se encuentra inmersa en diversidad de opiniones y reflexiones de estructura incipiente.

Los ejercicios participativos permiten conocer la realidad social desde la reflexión y el análisis por parte de los individuos que la vivencian (Muñoz Wilches, 2012). Incluir a la población en la identificación de sus problemas y en la elaboración de estrategias de solución es fundamental para la satisfacción de sus necesidades (Lagunas-Vázquez *et al.* 2008). El proceso participativo es importante ya que, según Irvin & Stansbury (2004), promueve el aprendizaje, la construcción

de confianza y de alianzas estratégicas entre gobierno y ciudadanos, la disminución de la hostilidad y la obtención de la legitimidad de las decisiones.

Levantar información, a través de un proceso participativo, requiere, tanto de recursos humanos como financieros; sin embargo, en ciertas situaciones, un limitante importante puede ser el acceso a los territorios y, especialmente complejo, en regiones afectadas por conflictos armados, donde los espacios participativos y la información relacionada con éstos, son escasos o coartados (Dajer Barguil, 2017; Muñoz Wilches, 2012). Este es el caso de muchas zonas rurales en Colombia, un país que ha vivido el conflicto armado por más de 50 años y que, en 2016, observó cómo el gobierno y uno de los principales grupos revolucionarios firmaron un acuerdo para la terminación del conflicto y la construcción paz (Gobierno de la República de Colombia & FARC-EP, 2016). Esto habilitó el ingreso a los territorios para involucrar a los pobladores en un gran proceso participativo rural de orden nacional, con el propósito de aportar información para el diseño de las estrategias y planes de implementación, que permitieran cumplir los compromisos de desarrollo pactados en el acuerdo (ART, 2020).

Participación ciudadana en el posconflicto en Colombia. En Colombia, la administración centralizada de los recursos y los problemas estructurales del sector rural han puesto en desacuerdo a comunidades y gobierno, coartando la participación de las primeras, en la toma de decisiones, en la construcción de políticas públicas y distanciándolas cada vez más del Estado (Madrdejos Ormilla & Salinas Coy, 2018). Por ello, para la reactivación económica y social de las zonas más afectadas por el conflicto armado en el país, como indica el acuerdo, era necesario entender las necesidades de las comunidades desde enfoques basados en las experiencias y las perspectivas que tienen estas de sus territorios, de modo que fuera posible brindarles soluciones efectivas (Maldonado, 2016).

Se planteó un escenario de participación permanente y activa de la población en la elaboración de los planes y los programas locales de desarrollo rural en el marco del pos-acuerdo, de modo tal, que esta dejaría de ser un beneficiario pasivo y se convertiría en uno con capacidad de gestionar su propio avance. La planificación participativa iniciada de abajo hacia arriba se haría realidad, a través de la construcción de los Programas de Desarrollo con Enfoque Territorial (PDET), eje central para la construcción de paz en los territorios más afectados por el conflicto (Decreto 893 de 2017 del MADR, 2017). La Agencia de Renovación del Territorio ART guio el ejercicio participativo, que incluyó, además de los pobladores, entidades territoriales, autoridades étnicas, organizaciones sociales o comunales y el sector privado (ART, 2018)

Más de 200 mil personas participaron en la totalidad del proceso (fases veredal, municipal y subregional), a lo largo del país, entre 2017 y 2019 (ART, 2020) y 9.765, durante la fase veredal en la subregión PDET Bajo Cauca y Nordeste Antioqueño (ART & Presidencia de la República, 2018). En un escenario de diálogo, de reflexión y de reconocimiento de la realidad de los territorios, durante la fase veredal, las comunidades exteriorizaron sus opiniones en torno a las oportunidades y las problemáticas existentes, en relación con temáticas,

como educación, salud, producción agropecuaria, ordenamiento territorial, infraestructura y vivienda, así como la construcción de una nueva visión territorial e iniciativas para alcanzarla (Chavarría *et al.* 2017).

Esas opiniones son la fuente de información de este trabajo, que es importante no solo porque brinda la oportunidad a esas voces de trascender la barrera institucional y ser escuchadas por el resto de la sociedad, sino porque constituye información necesaria para determinar la articulación entre las necesidades y prioridades de una comunidad y los planes y estrategias de atención planteados y ejecutados, en el gobierno de turno. El objetivo de este trabajo fue identificar las prioridades de comunidades afectadas por el conflicto armado, utilizando, para ello, un análisis de minería de texto y tomando, como caso de estudio, los ejercicios participativos realizados en una subregión de Antioquia, Colombia, durante 2018. Este trabajo sirve de insumo para el diseño de políticas públicas de

desarrollo rural en el periodo del pos-acuerdo en el país.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se depuraron, mediante una limpieza de texto, 15.534 opiniones, de 9.765 habitantes, de 13 municipios de la subregión PDET Bajo Cauca y Nordeste Antioqueño (Figura 1), utilizando, principalmente, el paquete tm (Feinerer & Hornik, 2018), del software R (R Core Team, 2020). Las opiniones se encontraban previamente divididas en 3 tipos: Problemática (PRO), Oportunidad (OPO) y Preiniciativa (PRE) y estaban focalizadas en 8 pilares de atención PDET: 1) Educación y primera infancia rural (ERPI); 2) Infraestructura y adecuación de tierras (IAT); 3) Ordenamiento social de la propiedad y uso del suelo (OTUS); 4) Reconciliación, convivencia y paz (RCCP); 5) Reactivación económica y producción agropecuaria (REPA); 6) Salud rural (SR); 7) Sistema de garantía del derecho a la alimentación (SGDA) y 8) Vivienda, agua potable y saneamiento (VAS).

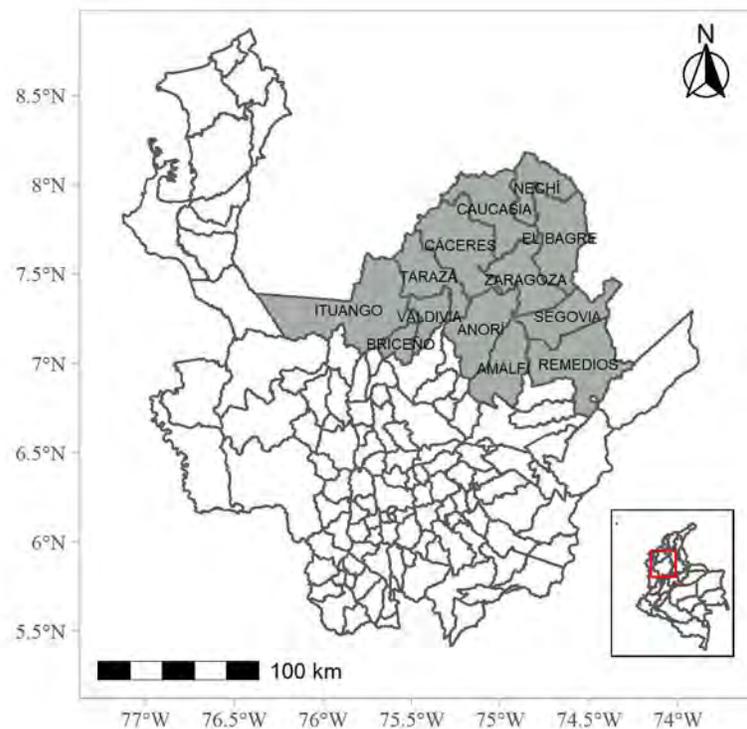


Figura 1. Municipios priorizados para su atención en la subregión PDET Bajo Cauca y Nordeste Antioqueño.

La información relevante contenida en las opiniones se describió utilizando minería de texto (Feinerer & Hornik, 2018), mediante el análisis del uso, importancia, asociación y diferenciación de los términos (palabras), teniendo en cuenta una agrupación que incluía el pilar y tipo de opinión. Se realizó una lectura pormenorizada del contenido para contextualizar, de forma más precisa, los resultados. Para analizar el uso de los términos, se calcularon sus frecuencias relativas y, con base en esto, se seleccionaron los cinco primeros por pilar y tipo de opinión, sin tener en cuenta palabras vacías (por ejemplo, artículos, preposiciones o conjunciones), nombres propios, números o adjetivos; variantes de una misma palabra (por

ejemplo, variantes de género, morfología, número o tiempo verbal); se representaron mediante un solo término. El tamaño del ranking (5) se definió con base en la adecuada visualización de los datos.

En el análisis de asociación, se utilizó la matriz documentos-términos (representación matricial de los documentos de un texto y los términos existentes en él) y se calculó la correlación de Pearson de las cinco palabras más frecuentes con el resto de los términos en el texto, por medio de la función `findAssocs` del paquete tm (Feinerer & Hornik, 2018). Para cada palabra frecuente, se seleccionó un máximo de cinco palabras asociadas (aquellas con

las correlaciones más altas en un rango de 0,1 a 1), en cada tipo de opinión observado.

El análisis de términos diferenciados se hizo mediante el cálculo del logaritmo de la razón de posibilidades (LOR, por sus siglas en inglés), siguiendo la ecuación presentada por Silge & Robinson (2020):

$$\text{LOR} = \ln \left(\frac{\left[\frac{n+1}{\text{total}+1} \right]_{\text{grupo 1}}}{\left[\frac{n+1}{\text{total}+1} \right]_{\text{grupo 2}}} \right)$$

Donde, n es el número de veces que un término es usado por cada grupo (OPO o PRO) y total es el número total de términos que usa cada grupo. Un valor de LOR > 0 indica que hay mayor probabilidad de que el término sea usado en OPO, mientras que con LOR < 0 hay mayor probabilidad de ser usado en PRO.

La importancia de los términos en el texto (p), se calculó mediante el método frecuencia del término-frecuencia inversa del documento o TF-IDF, por sus siglas en inglés, como lo indicaron Montiel Soto *et al.* (2009):

$$p(t_j) = f_{ij} \times \ln \left(\frac{N}{n_j} \right)$$

Donde, la importancia de un término en un documento, es el producto entre la frecuencia relativa del término en el documento y el logaritmo natural de la razón entre el número de documentos en el conjunto de datos y el número de documentos donde aparece el término. La ponderación TF-IDF asigna un alto peso a un término, si se produce con frecuencia, en un documento específico, pero, rara vez, en la colección completa; sin embargo, si el término ocurre pocas veces en el documento o aparece prácticamente en todos ellos, disminuye el peso asignado por la ponderación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 15.534 opiniones expresadas en los ejercicios participativos, 37,01 % (5.749) fueron tipo PRO; 24,06 % (3.738), OPO y 38,93 % (6.047), PRE. Debido a que las PRE se formulaban con base en las PRO expresadas, ambas proporciones son más cercanas, al igual que sus resultados, ya que solo se pasó de la manifestación de una situación o condición a la proposición de acciones para su solución. Por ello, el tipo de opinión PRE solo será abordado directamente en la discusión.

Las palabras más frecuentemente mencionadas en cada pilar por tipo de opinión (top 5), se observan en las figuras 2 y 3. Algunos términos, como **educar**, **tierra**, **alimentación**, **salud** y **vivienda**, sobresalen entre los 5 términos más frecuentes en todos los tipos de opinión, porque se refieren directamente al foco temático de los pilares; sin embargo, al evaluar la importancia de los términos,

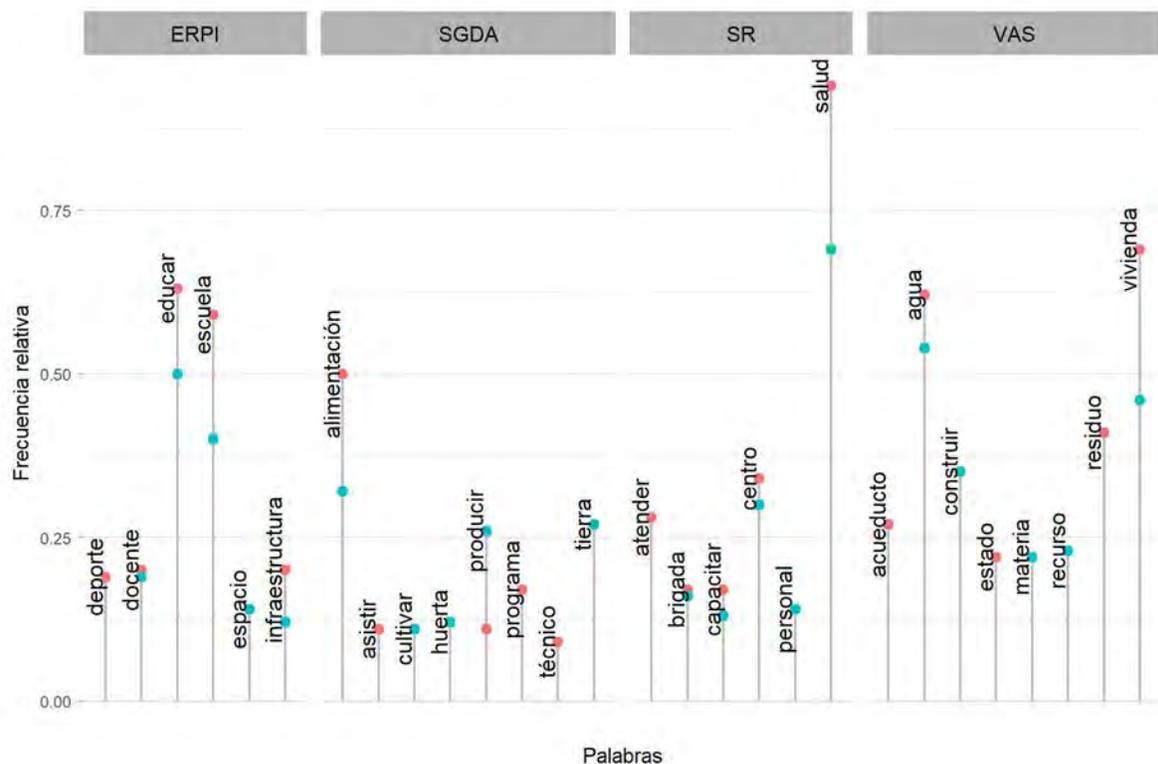


Figura 2. Palabras más frecuentes en oportunidad (OPO, puntos azules) y problemática (PRO, puntos rojos) para los pilares del PDET: educación y primera infancia rural (ERPI), sistema de garantía del derecho a la alimentación (SGDA), salud rural (SR) y vivienda, agua potable y saneamiento (VAS), en las subregiones Bajo Cauca y Nordeste Antioqueño.

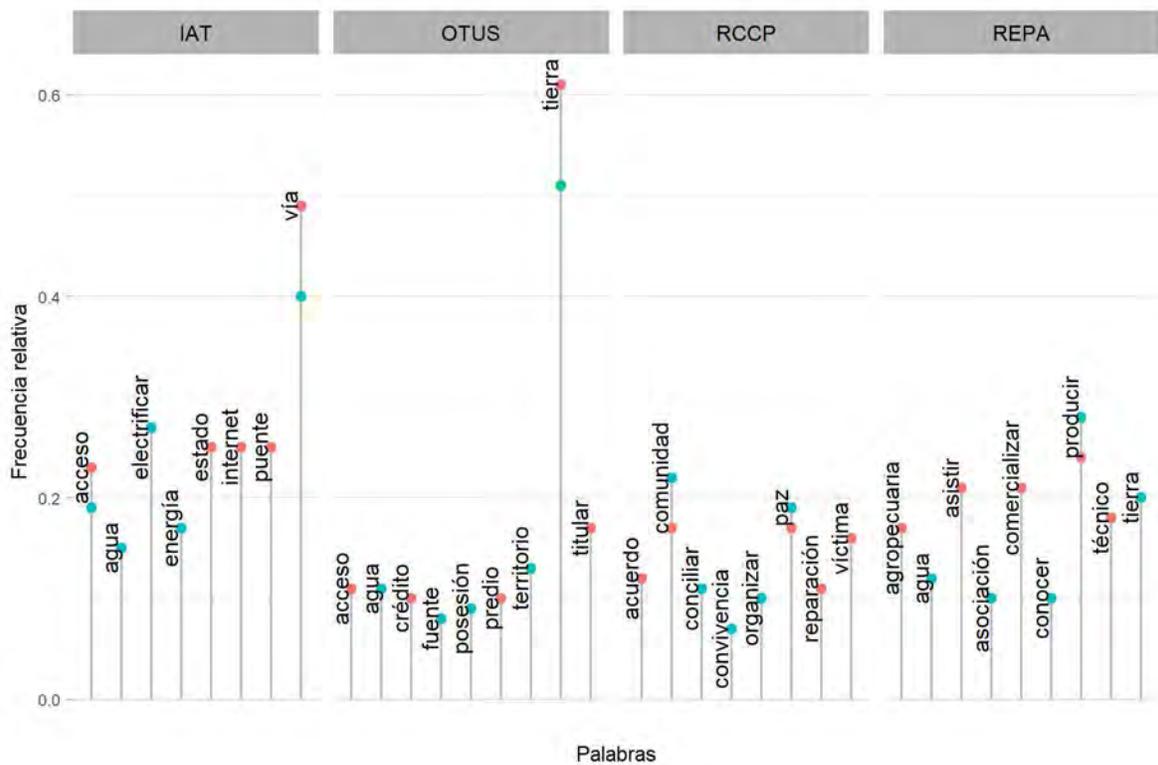


Figura 3. Palabras más frecuentes en oportunidad (OPO, puntos azules) y problemática (PRO, puntos rojos) para los pilares de atención PDET: infraestructura y adecuación de tierras (IAT), ordenamiento social de la propiedad y uso del suelo (OTUS), reconciliación, convivencia y paz (RCCO) y reactivación económica y producción agropecuaria (REPA), en las subregiones Bajo Cauca y Nordeste Antioqueño.

aqueños con presencia en varios pilares, como **agua**, **tierra** o **asistir**, muy frecuentes en IAT, OTUS, REPA, SGDA y VAS, fueron menos importantes, mientras que otros más específicos, como **educar**, **salud**, **alimentación** o **paz**, se conservaron en los 5 primeros lugares. Las frecuencias, según el tipo de opinión, indican la connotación más positiva o negativa de ciertas temáticas en los pilares, como es el caso de **agua** en IAT, OTUS y REPA; **conciliar** y **convivencia**, en RCCP; **asociación** y **conocer**, en REPA versus **acceso**, en IAT y OTUS; **víctima** y **reparación**, en RCCP y **estado**, en IAT y VAS.

Al unir las palabras más frecuentes y sus términos asociados, se forma un panorama más claro de las ideas expresadas por las comunidades. Es así, como se pudieron identificar prioridades, a nivel social, en educación, paz, alimentación, salud y vivienda, debido a las PRO, como baja calidad de la educación y deficiente estado de la infraestructura educativa; desconocimiento del Acuerdo Final y falta de reconocimiento y reparación de víctimas; políticas y programas de seguridad alimentaria ineficientes; deficiente atención en salud y pobre estado de infraestructuras, dotación y funcionalidad; necesidades en cuanto a tratamiento, calidad y disponibilidad de agua, deficiente estado de las viviendas y carencia de saneamiento básico, entre otras.

En el aspecto económico, las prioridades identificadas fueron el deficiente estado de la infraestructura vial y la falta de conectividad

para las comunicaciones; la escasa formalidad en la posesión de tierras, así como el poco acceso a créditos y subsidios para la producción; la falta de canales de comercialización, puntos de acopio o la existencia de intermediarios; escasez o imposición de proyectos productivos; limitantes económicas y poca asistencia técnica, permanente e integral.

Al observar indicadores que evalúan aspectos indispensables para el bienestar humano y el desarrollo social, como la alimentación, la educación y la salud (PNUD & ONU Mujeres, 2016), es claro que estos resultados son coherentes con las PRO expuestas por las comunidades; por ejemplo, según información de la Gobernación de Antioquia (2017), los puntajes para el área rural del índice multidimensional de condiciones de vida y el índice de calidad de vida fueron entre bajos y moderados, variando entre 23,94 (Remedios) y 32,09 (Briceño), para el primer índice y entre 41,7 (El Bagre) y 59,59 (Segovia), para el segundo. Las mejores condiciones o calidad de vida se representan con valores cercanos a 100.

Asimismo, según el censo de población y vivienda de 2018 (DANE, 2019), el único municipio del área de estudio que estuvo por debajo del 60 % de personas en situación de pobreza multidimensional fue Remedios, con 49,4 %, el resto de ellos variaron entre 62 % (Tarazá) y 71,1 % (El Bagre). Remedios fue el único municipio con un porcentaje de personas en necesidades básicas insatisfechas (NBI) <30% (28,69 %), mientras que para el resto varió entre 30,16

% (Valdivia) y 67,3 % (Nechí). Estos resultados no sorprenden si se tiene en cuenta que la priorización de los municipios PDET incluyó criterios, como altos niveles de pobreza y grado de afectación por el conflicto.

En cuanto a las OPO más mencionadas, a nivel social, se identificaron la disponibilidad de espacios para escenarios de recreación y deporte, presencia de entidades educativas, gratuidad y personal docente calificado; el deseo y la voluntad de los pobladores para trabajar por la conciliación y buena convivencia; la disposición de tierras fértiles para la producción de autoabastecimiento y de pequeña escala; la presencia de personal calificado o en proceso de capacitación para la atención de los servicios de salud básicos; la abundancia de recursos naturales y humanos para construcción y mejora de viviendas e infraestructuras de saneamiento básico.

En el aspecto económico, las OPO estuvieron especialmente concentradas en los recursos naturales y humanos. Las comunidades de los núcleos veredales consideraron su riqueza hídrica, como uno de los bienes más importantes con los que cuentan, ya sea como materia prima para la adecuación, producción de las tierras o la construcción. La posesión de tierras fértiles (aun si no es formalmente) y las capacidades y conocimientos necesarios para trabajarlas, así como el reconocimiento de la importancia de tener, crear o fortalecer las asociaciones productivas, también fueron resaltadas.

Nuevamente, lo manifestado por las comunidades concuerda con lo observado en el territorio, ya que 35,72 % de este son bosques

naturales y hay más de 450 mil hectáreas en áreas protegidas; existe, tanto variedad agroclimática como de suelos y gran potencial forestal y de turismo ecológico y rural (DANE, 2016; Gobernación de Antioquia, 2018; ADR *et al.* 2019). La riqueza y oferta hídrica es alta, por lo que más del 68 % del Departamento es poco vulnerable al desabastecimiento de agua (Secretaría del Medio Ambiente de la Gobernación de Antioquia & EPM, 2018). A nivel humano, los pobladores se caracterizan por su solidaridad y mayor inclinación a la acción colectiva y a confiar en los demás, de lo que se observa, a nivel nacional y en Latinoamérica (Méndez Méndez & Casas-Casas, 2017). En las áreas rurales, sobresale la cultura de organización social y comunitaria y la resiliencia de los pobladores (ADR *et al.* 2019).

La divergencia entre lo que se resaltó, generalmente, como OPO y PRO (Figuras 4 y 5), fue aún más evidente en el análisis de las palabras más diferenciadas (top 5). Las palabras de OPO hacían referencia a atributos de los pobladores, como la disposición, el deseo, el interés o la capacidad para realizar alguna actividad y a características de la región, como diversidad, riqueza, fertilidad y materia prima, entre otras. Mientras que en el tipo PRO, los términos más diferenciados indicaban necesidades específicas, como fue el caso de analfabeta en el pilar ERPI, desnutrición en el SGDA, medicamento en el pilar SR y violencia en el RCCP, entre otros. Esto quiere decir, que los pobladores ven sus oportunidades de forma general, a través de todos los pilares, pero pueden identificar sus problemáticas con nombre propio en cada uno de ellos.

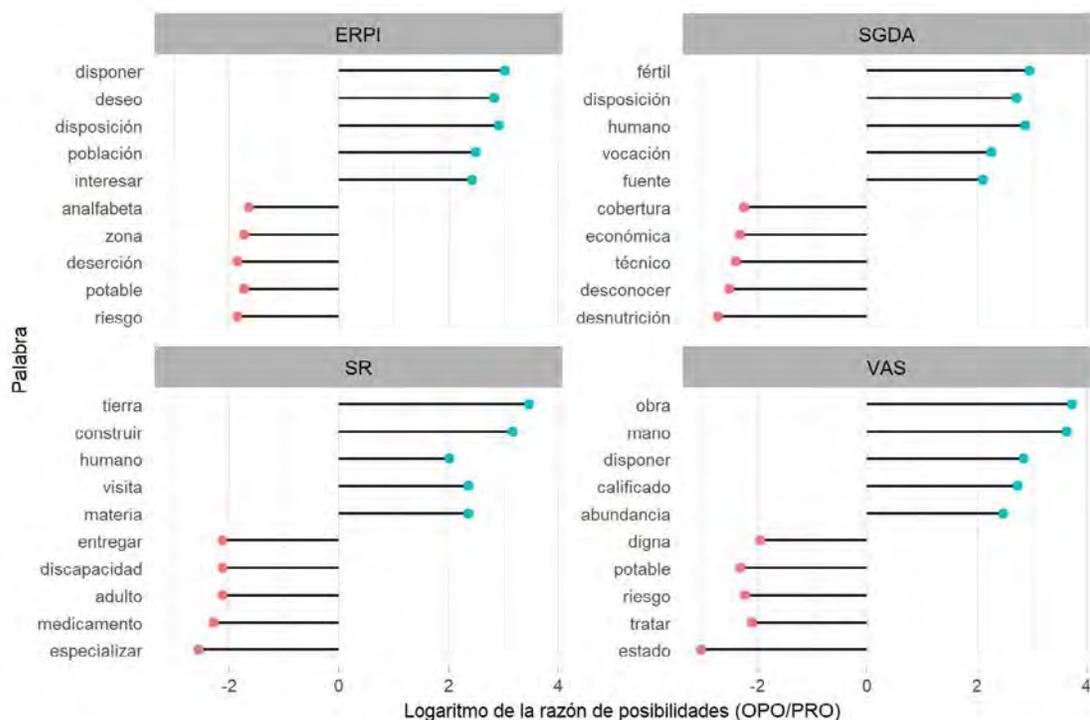


Figura 4. Palabras más diferenciadas como oportunidades (OPO, puntos azules) y problemáticas (PRO, puntos rojos) en los pilares PDET: educación y primera infancia rural (ERPI), sistema de garantía del derecho a la alimentación (SGDA), salud rural (SR) y vivienda, agua potable y saneamiento (VAS), en las subregiones Bajo Cauca y Nordeste Antioqueño.

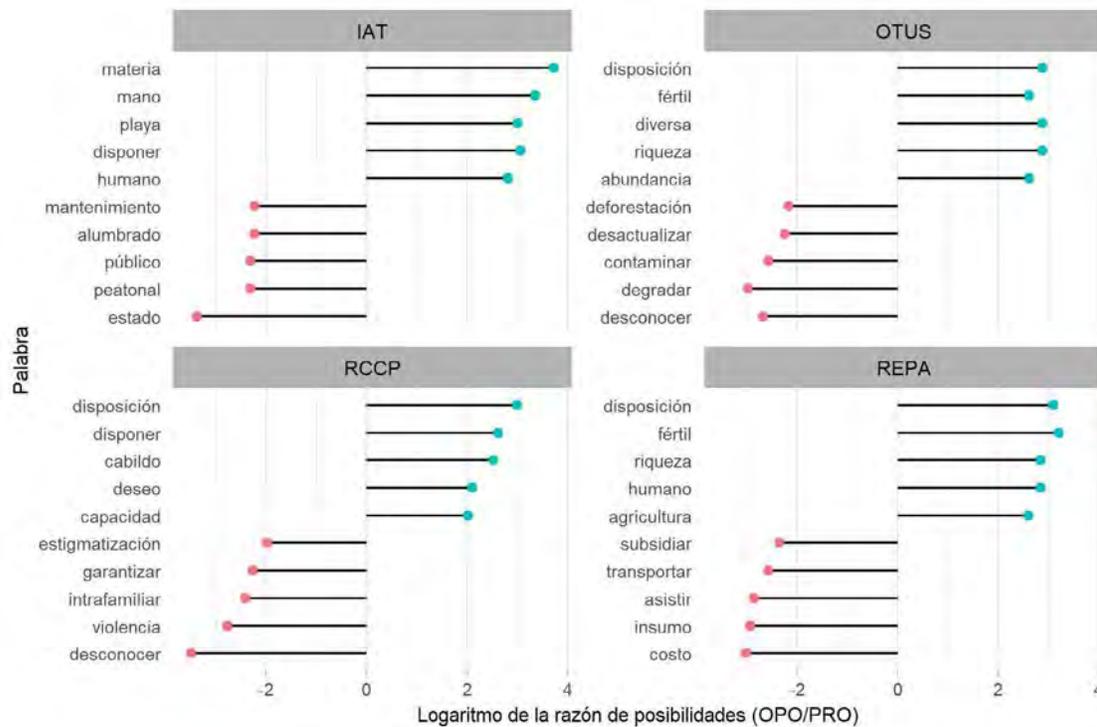


Figura 5. Palabras más diferenciadas como oportunidades (OPO, puntos azules) y problemáticas (PRO, puntos rojos) en los pilares del PEDET: infraestructura y adecuación de tierras (IAT), ordenamiento social de la propiedad y uso del suelo (OTUS), reconciliación, convivencia y paz (RCCP) y reactivación económica y producción agropecuaria (REPA), en las subregiones Bajo Cauca y Nordeste Antioqueño.

A partir de este trabajo, se observó que, durante la fase veredal, las comunidades sí identificaron problemáticas concretas y no solo generales, como indica Ramírez Sarmiento (2021), aunque, ciertamente, muchos de estos planteamientos fueron generalizados en las iniciativas del Plan de Acción para la Transformación Regional (PATR). El PATR es el producto final de todos los ejercicios de participación en la construcción de los PDET y condensa el tipo de opinión PRE en 86 iniciativas, para los 13 municipios de la subregión (ART & Presidencia de la República, 2018).

De forma general, las iniciativas del PATR abarcaron, en el aspecto económico, la construcción y el mejoramiento de vías, puentes y medios fluviales, propuestas para el acceso y la formalización de tierras, la generación y financiación de proyectos productivos, el fortalecimiento de asociaciones y cadenas productivas, proyectos de conservación y fomento de los bienes naturales, entre otros. En el aspecto social, entre muchos otros, se tuvo en cuenta el acceso a servicios públicos, la conectividad (Internet), la atención en salud (urgencias y especializaciones), la educación superior y los programas de atención a primera infancia, madres gestantes y al adulto mayor.

El PATR, también priorizó el fortalecimiento institucional, la protección y garantía de derechos para líderes sociales, defensores de derechos humanos, niños, mujeres y población LGBTI, el fortalecimiento de la justicia y de los mecanismos de conciliación, así como de los programas de reparación a víctimas y desminado (ART & Presidencia de la República, 2018). En las distintas

iniciativas, se distinguieron enfoques étnicos, diferenciales y de género.

Valencia Agudelo & Restrepo-Cano (2020) observaron que en los 16 PATR generados, a nivel nacional, se priorizaron, principalmente, iniciativas relacionadas con infraestructura, lo que indica que, al igual que en el área de estudio, estas problemáticas también están entre las más mencionadas por los habitantes de las diferentes subregiones y esto corresponde con su situación de vulnerabilidad.

En cuanto a la implementación, para el primer semestre de 2020, se habían gestionado menos del 10 % de las iniciativas priorizadas en la subregión; se observan avances en la conectividad a Internet, la ejecución de proyectos productivos y formalización de tierras, pero preocupa la situación de seguridad (ART, 2020; ART, 2021b). A nivel nacional, se ha identificado mayor avance en pequeñas obras de infraestructura que en aquellas que puedan marcar la diferencia en la calidad de vida de las personas, como infraestructura vial, hospitalaria o de servicios públicos básicos; esto obedece, principalmente, a la falta de recursos o a la ambigüedad sobre el origen y destino específicos de las fuentes de financiación (García Giraldo, 2020).

Aunque involucrar a las comunidades en la planeación territorial resulta favorable y deseable para el desarrollo, el no cumplir con las expectativas de éstas o relegar su participación a una de carácter simbólico, puede tener un efecto negativo en las relaciones y la confianza, ya de por sí frágiles, con el gobierno (Madrídejos

Ornilla & Salinas Coy, 2018; Velásquez *et al.* 2021). A pesar de que en general existe un propósito común en los diferentes niveles de gobierno para la construcción de paz e intervención de los territorios más afectadas por el conflicto en Colombia (DNP, 2019; Gobernación de Antioquia, 2020), no existía articulación de las políticas, planes y programas para el desarrollo de los territorios. Esta situación se está corrigiendo actualmente, con la construcción de una hoja de ruta, que permita dicha articulación y con la que se espera dar claridad sobre asuntos, como financiación, cronograma, responsabilidades y seguimiento (ART, 2021a).

Velásquez *et al.* (2021) convienen en que se puso sobre los PDET y las comunidades a cargo de su deliberación, toda la responsabilidad transformadora, ignorando que los procesos participativos, por sí solos, no cuentan con tal capacidad y que depende, en gran parte, de la voluntad política del Estado, para intervenir los problemas estructurales. En este sentido, Ramírez Sarmiento (2021) indica que la capacidad de los PDET para transformar los territorios se ha visto limitada por debilidades en su diseño y la falta de voluntad política y de acción sobre problemas estructurales. A pesar de ello, con los avances actuales y un mayor impulso del Estado, sí es posible llegar a reducir la desigualdad en estos territorios (Naciones Unidas, 2021).

La lectura que las comunidades hacen de su situación en los territorios no parece estar alejada de sus condiciones prevalentes. Aunque se observan deficiencias en la satisfacción de necesidades básicas y calidad de vida de los pobladores, existe conciencia sobre el valor actual y potencial de los territorios, a nivel físico y humano, lo que representa ventajas significativas para el impulso de las economías y el desarrollo de los aspectos sociales, necesarios para el progreso de la región.

En conclusión, el análisis de minería de texto aplicado a la información derivada de ejercicios participativos realizados en el marco del posconflicto en Colombia facilitó encontrar la información relevante contenida en las numerosas opiniones estudiadas y permitió identificar las prioridades de las comunidades, a nivel socioeconómico; sin embargo, la preparación de la información requiere mucho trabajo y los resultados se deben revisar cuidadosamente, para asegurar su coherencia. Una ventaja adicional observada fue la posibilidad de que este tipo de información pueda ser analizada por agentes externos a la colección de datos, lo cual, es importante cuando se desea analizar información antigua, o donde no se cuenta con el apoyo de los operadores logísticos y facilitadores de estos procesos.

Agradecimientos. Los autores agradecen, especialmente, a los habitantes de los municipios de Antioquia, quienes participaron en la construcción de los Programas de Desarrollo con Enfoque Territorial, así como a la Agencia de Renovación del Territorio, que lideró el proceso participativo en los diferentes municipios y puso a disposición de los autores la información analizada en este trabajo. **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 por Minciencias, convocatoria Doctorados Nacionales 757 de 2016.

REFERENCIAS

1. AGENCIA DE DESARROLLO RURAL, ADR; ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA, FAO; SECRETARIA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. 2019. Plan integral de desarrollo agropecuario y rural con enfoque territorial. Departamento de Antioquia. Disponible desde Internet en: https://www.adr.gov.co/wp-content/uploads/2021/07/ANTIOQUIA-TOMO-1_compressed.pdf (con acceso el 22/04/2021)
2. AGENCIA DE RENOVACIÓN DEL TERRITORIO, ART. 2018. ABC de los Programas de Desarrollo con Enfoque Territorial -PDET. Disponible desde Internet en: https://serviceweb.renovacionterritorio.gov.co/artdev/media/files/2021-06-07_235103_130306312.pdf (con acceso el 22/06/2021).
3. AGENCIA DE RENOVACIÓN DEL TERRITORIO, ART. 2020. Informe de seguimiento a la implementación de los PDET 2019. Disponible desde Internet en: http://serviceweb.renovacionterritorio.gov.co/artdev/filedownload?ContextMedia@=files@@Media@=2021-06-03_223309_1431162155.pdf (con acceso el 20/08/2021).
4. AGENCIA DE RENOVACIÓN DEL TERRITORIO, ART. 2021a. Hoja de Ruta PDET. Disponible desde Internet en: <https://www.renovacionterritorio.gov.co/especiales/hoja-ruta-pdet/index.html#INICIO> (con acceso el 20/08/2021)
5. AGENCIA DE RENOVACIÓN DEL TERRITORIO, ART. 2021b. Informe de seguimiento a la implementación de los PDET. Primer semestre 2020. Disponible desde Internet en: http://serviceweb.renovacionterritorio.gov.co/artdev/filedownload?ContextMedia@=files@@Media@=2021-06-03_222637_938301587.pdf (con acceso el 20/08/2021)
6. AGENCIA DE RENOVACIÓN DEL TERRITORIO, ART; PRESIDENCIA DE LA REPÚBLICA. 2018. Plan de Acción para la Transformación Regional – PATR; Subregión Bajo cauca y Nordeste antioqueño. Disponible desde Internet en: <https://www.mdartesanosdepaz.org/wp-content/uploads/2019/12/PATR-Bajo-Cauca-y-Nordeste-Antioqueno.pdf> (con acceso el 22/04/2021).
7. CHAVARRÍA, A.; PINEDA, T.; HOME, A. 2017. El diálogo en los núcleos veredales. Caja de herramientas metodológicas para facilitadores(as) de diálogo en el marco de los Programas de Desarrollo con Enfoque Territorial (PDET). Agencia de

- Renovación del Territorio. 190p. Disponible desde Internet en:
<https://berghof-foundation.org/library/el-di%C3%A1logo-en-los-n%C3%BAcleos-veredales> (con acceso el 18/04/2022)
8. DAJER BARGUIL, D. 2017. Charting uncharted waters: participatory budgeting as a novel transitional justice guarantee of non-recurrence of the conflict in Colombia? GIGAPP Estudios Working Papers. 66:197-230.
 9. DEPARTAMENTO ADMINISTRATIVO NACIONAL DE ESTADÍSTICA, DANE. 2016. Tercer Censo Nacional Agropecuario 2014. Disponible desde Internet en:
http://microdatos.dane.gov.co/index.php/catalog/MICRODATOS/about_collection/30/3 (con acceso el 22/04/2021)
 10. DEPARTAMENTO ADMINISTRATIVO NACIONAL DE ESTADÍSTICA, DANE. 2019. Censo Nacional de Población y Vivienda -CNPV- 2018. Disponible desde Internet en:
http://microdatos.dane.gov.co/index.php/catalog/643/get_microdata (con acceso el 22/04/2021)
 11. DEPARTAMENTO NACIONAL DE PLANEACIÓN, DNP. 2019. Bases del Plan Nacional de Desarrollo 2018-2022: Pacto por Colombia, pacto por la equidad. Disponible desde Internet en:
<https://colaboracion.dnp.gov.co/CDT/Prensa/BasesPND2018-2022n.pdf> (con acceso el 22/04/2021)
 12. FEINERER, I.; HORNIK, K. 2018. tm: Text mining package. (Version 0.7-5).
 13. FELDMAN, R.; SANGER, J. 2006. Introduction to text mining. En: *The text mining handbook: Advanced approaches in analyzing unstructured data*. Cambridge University Press. p.1-18.
<https://doi.org/10.1017/CBO9780511546914.002>
 14. GARCÍA GIRALDO, J.P. 2020. Implementación de los Programas de Desarrollo con Enfoque Territorial y construcción de paz territorial en Colombia: avances y desafíos. *Rev. Facultad de Derecho y Ciencias Políticas*. 50(133):454-481.
<https://doi.org/10.18566/rfdcp.v50n133.a10>
 15. GOBERNACIÓN DE ANTIOQUIA. 2017. Encuesta de Calidad de Vida ECV 2017. Disponible desde Internet en:
<https://antioquia.gov.co/index.php/encuesta-calidad-de-vida-2017> (con acceso el 22/04/2021)
 16. GOBERNACIÓN DE ANTIOQUIA. 2018. Anuario estadístico de Antioquia 2017. Medio ambiente. Disponible desde Internet en:
<http://www.antioquiadatos.gov.co/index.php/medio-ambiente-2017> (con acceso el 22/04/2021)
 17. GOBERNACIÓN DE ANTIOQUIA. 2020. Plan de desarrollo unidos por la vida 2020 – 2023. Disponible desde Internet en:
https://plandesarrollo.antioquia.gov.co/archivo/PlanDesarrolloUNIDOS_VF-comprimido-min.pdf (con acceso el 22/04/2021)
 18. GOBIERNO DE LA REPÚBLICA DE COLOMBIA; FUERZAS ARMADAS REVOLUCIONARIAS DE COLOMBIA-FARC-EP. 2016. Acuerdo final para la terminación del conflicto y la construcción de una paz estable y duradera. Disponible desde Internet en:
<https://www.jep.gov.co/Normativa/Paginas/Acuerdo-Final.aspx> (con acceso el 15/04/2022)
 19. GRIMMER, J.; STEWART, B.M. 2013. Text as data: The promise and pitfalls of automatic content analysis methods for political texts. *Political analysis*. 21(3):267-297.
<https://doi.org/10.1093/pan/mps028>
 20. HUMPHREYS, A.; WANG, R. 2018. Automated text analysis for consumer research. *Journal of Consumer Research*. 44(6):1274-1306.
<https://doi.org/10.1093/jcr/ucx104>
 21. IRVIN, R.A.; STANSBURY, J. 2004. Citizen participation in decision making: Is it worth the effort? *Public Administration Review*. 64(1):55-65.
<https://doi.org/10.1111/j.1540-6210.2004.00346.x>
 22. JAE-HYUCK, L.; KYUNG-HEE, S.; JONG-MUN, P.; CHOONG-GON, K.; KONGJANG, C. 2022. Communication problems and alternatives in the process of collecting resident opinions for environmental impact assessment through text mining: A case study of the Dangjin landfill in Korea. *Environmental Impact Assessment Review*. 95:106781.
<https://doi.org/10.1016/j.eiar.2022.106781>
 23. KAUSHIK, A.; NAITHANI, S. 2016. comprehensive study of text mining approach. *International Journal of Computer Science and Network Security*. 16(2):69-76.
 24. LAGUNAS-VÁZQUEZ, M.; BELTRÁN-MORALES, L.F.; URCIAGA-GARCÍA, J.; ORTEGA-RUBIO, A. 2008. Evaluación rural participativa: uso de los recursos naturales en la reserva de la biosfera El Vizcaíno, BCS, México. *Economía, Sociedad y Territorio*. 8(26):451-476.
<https://doi.org/10.22136/est002008213>
 25. MADRIDEJOS ORNILLA, C.; SALINAS COY, Y. 2018. Nuevos Territorios de Paz. Aportes y recomendaciones para la territorialización de los acuerdos y la implementación de la reforma rural integral. *OPERA*. 22:5-27.
<https://doi.org/10.18601/16578651.n22.02>

26. MALDONADO, D.F. 2016. La participación ciudadana en la construcción de la paz territorial en Colombia. En: Botero, S. (Ed.). *Construcción de desarrollo y paz: aprendizajes y recomendaciones desde los territorios*. Editorial Redprodepaz (Bogotá, Colombia). p.109-128
27. MARCANO AULAR, Y.J.; TALAVERA PEREIRA, R. 2007. Minería de datos como soporte a la toma de decisiones empresariales. *Opción (Venezuela)*. 23(52):104-118.
28. MÉNDEZ MÉNDEZ, N.; CASAS-CASAS, A. 2017. Capital social y territorio: una aproximación multi-métodos a los aspectos microsociales del cambio social en contextos subregionales. *Economía & Región*. 11(2):45-79.
29. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL – MADR. 2017. Decreto 893 de 2017. “Por el cual se crean los Programas de Desarrollo con Enfoque Territorial-PDET”.
30. MONTIEL SOTO, R.; GARCÍA-HERNÁNDEZ, R.A.; LEDENEVA, Y.; CRUZ REYES, R. 2009. Comparación de tres modelos de texto para la generación automática de resúmenes. *Procesamiento del Lenguaje Natural*. 43:303-311.
31. MUÑOZ WILCHES, E. 2012. Diagnósticos participativos territoriales para el desarrollo humano integral y sustentable. *Revista Tendencias & Retos*. 17(1):69-80.
32. NACIONES UNIDAS. 2021. Misión de verificación de las Naciones Unidas en Colombia. Informe del Secretario General. Naciones Unidas. Disponible desde Internet en: <https://colombia.unmissions.org/sites/default/files/2103819s.pdf> (con acceso el 20/08/2021)
33. NÉMETH, R.; KOLTAL, J. 2021. The potential of automated text analytics in social knowledge building. En: Rudas, T.; Péli, G. (eds). *Pathways between social science and computational social science*. Springer, Cham. p.49-70. https://doi.org/10.1007/978-3-030-54936-7_3
34. NGUYEN, D.; LIAKATA, M.; DEDEO, S.; EISENSTEIN, J.; MIMNO, D.; TROMBLE, R.; WINTERS, J. 2020. How we do things with words: analyzing text as social and cultural data. *Frontiers in Artificial Intelligence*. 3:62. <https://doi.org/10.3389/frai.2020.00062>
35. PROGRAMA DE LAS NACIONES UNIDAS PARA EL DESARROLLO, PNUD; ONU MUJERES. 2016. *Antioquia; Retos y prioridades del departamento 2016-2019*. Disponible desde Internet en: <https://www.undp.org/content/dam/colombia/docs/Gobernabilidad/undp-co-antioquianueva-2016.pdf> (con acceso el 2/04/2021)
36. R CORE TEAM. 2020. R: A language and environment for statistical computing. Versión 4.0.3. R Foundation for Statistical Computing.
37. RAMÍREZ SARMIENTO, D.M. 2021. Hacia una participación ciudadana transformadora en Colombia. Análisis de los Programas de Desarrollo con Enfoque Territorial (PDET). *Estudios políticos*. 61:73-96. <https://doi.org/10.17533/udea.espo.n61a04>
38. SECRETARÍA DEL MEDIO AMBIENTE DE LA GOBERNACIÓN DE ANTIOQUIA; FUNDACIÓN EMPRESAS PÚBLICAS DE MEDELLÍN, EPM. 2018. *Antioquia un territorio para proteger. Actualización y monitoreo del estado del recurso hídrico*. Fundación EPM; Gobernación de Antioquia. 258p.
39. SILGE, J.; ROBINSON, D. 2020. Case study: comparing Twitter archives. En: *Text Mining with R; A Tidy Approach*. Ed. O'Reilly Media. Disponible desde internet en: <https://www.tidytextmining.com/> (con acceso el 22/04/2021)
40. VALENCIA AGUDELO, G.D.; RESTREPO-CANO, D. 2020. Democracia participativa y planeación del desarrollo en los Programas de Desarrollo con Enfoque Territorial. *Campos en Ciencias Sociales*. 8(1):115-142. <https://doi.org/10.15332/25006681/5260>
41. VELÁSQUEZ, M.; ÁVILA, N.; VILLOTA, M.; QUINTERO, F.; ARBELÁEZ, S. 2021. Largely on their own: Dealing with the rural legacies of conflict through local participatory peacebuilding. *J. Agrarian Change*. 21(2):313-331. <https://doi.org/10.1111/joac.12395>



Evaluation of working conditions in coffee farms in the department of Quindío (Colombia)

Evaluación de las condiciones de trabajo en fincas cafeteras del departamento del Quindío (Colombia)

Milena E. Gómez^{1*} ; Rafael Humberto Villamizar¹ ; Lázaro V. Cremades² 

¹Universidad del Quindío, Facultad de Ciencias de la Salud, Programa de Seguridad y Salud Ocupacional. Armenia - Quindío, Colombia; e-mail: milenagomez@uniquindio.edu.co; rhvillamizar@uniquindio.edu.co

²Universitat Politècnica de Catalunya, Departament d'Enginyeria de Projectes i de la Construcció. Barcelona, España; e-mail: lazaro.cremades@upc.edu

*corresponding author: milenagomez@uniquindio.edu.co

How to cite: Gómez, M.E.; Villamizar, R.H.; Cremades, L.V. 2022. Evaluation of working conditions in coffee farms in the department of Quindío (Colombia). Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 25(1):e1923. <http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1923>

Open access article published by Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, under Creative Commons License CC BY-NC 4.0

Official publication of the Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, University, Accredited as a High-Quality Institution by the Colombian Ministry of Education.

Received: April 17, 2021

Accepted: March 3, de 2022

Edited by: Helber Adrián Arévalo Maldonado

INTRODUCTION

In Colombia, agriculture is categorized as one of the major sources of employment in the country. Coffee cultivation is one of the sectors that employ the largest number of peasant families. However, families dependent on this sector perform their work informally, without quality working conditions or links to social security and occupational risk system (Osorio-Quintero *et al.* 2019).

The agricultural and livestock sectors are exposed to various hazards derived from the activity, which can generate occupational events (occupational injuries and occupational diseases). Among the different hazards to which farmers are exposed are ergonomic hazards directly related to musculoskeletal disorders due to muscular and postural demands (Garzón Duque *et al.* 2017; Jankelova *et al.* 2017). In addition, there are skin disorders due to the use of pesticides, stings, and bites of poisonous animals, hazards of physical (UV), safety (mechanical), public (robberies, muggings), and psychosocial origin (drug addiction, alcoholism,

family violence), among others (López-Araújo & Osca Segovia, 2009; Gómez Yepes & Cremades Oliver, 2010; Ocampo & Osley Garzón, 2016).

The department of Quindío is a coffee production area with a diversity of crops, in addition to dairy and/or fattening cattle. It is the smallest department of the continental territory of Colombia, with a surface of 1,845 km². The department has 12 municipalities and 267 villages, of which 207 are coffee plantations with 6547 properties and approximately 5665 coffee growers, equivalent to 39 % of the rural area of the department (Paisaje Cultural Cafetero, 2021). The remaining area is distributed in other agricultural products, such as cocoa, beans, corn, bananas, sorghum, soybeans and yucca. Livestock farming also plays an important role in the regional economy, with breeding, raising, and fattening goats, sheep, pigs, and cattle.

According to the Food and Agriculture Organization of the United Nations-FAO, agriculture is one of the most hazardous sectors in terms of occupational fatalities and illnesses, and non-fatal

accidents. Daily workers face risks from activities such as operating heavy machinery and equipment, lifting loads, and working with animals. They are often exposed to extreme weather conditions, noise, excessive vibrations, chemicals, infectious agents, dust, and other organic substances. However, given the remote location of rural areas, agricultural workers often lack access to the health services, information, and training needed to adequately respond to such health risks. Vulnerable groups are most affected by this situation, including migrants, seasonal workers, the elderly, women, and children (FAO, 2022).

Based on this it can be stated that agriculture has three fundamental pillars: economic, environmental, and social (Hurst *et al.* 2007). Therefore, it is necessary not to unprotect this sector as part of the integral development of our department and country. The little concern for the working conditions and the vulnerability of the agricultural sector is reflected in the loss of capacity, injuries and health problems of the population. If these issues are not taken into account, they will continue to increase. Their consequences directly affect the productivity, and health of the population as its deterioration is greater compared to other productive sectors.

The objective of this research is to identify the occupational hazards to which farmworkers, who work in agricultural and livestock farms in the department of Quindío, are exposed.

MATERIALS AND METHODS

Due to the similarity of tasks of the farmworkers, they were organized into “groups of similar exposure” (GES). The grouping of the GES was done first by observational method (subjective/qualitative assessment) followed by sampling (quantitative characterization). Once the GES were formed, they were evaluated to identify those in which the potential for exposure to the agent represents a significant risk. In principle, the GES that have a higher risk potential will require immediate attention: these are the so-called critical GES, which will require complementary follow-ups, such as greater representativeness in sampling or administrative or technical controls to reduce exposure. Finally, all GES were prioritized (or ranked) based on their potential risk (Bullock *et al.* 2006).

A qualitative and quantitative observational descriptive study was carried out. Given the similarity of tasks in the agricultural sector, 82 farms were visited in 12 villages in 4 municipalities (Buenavista, Pijao, Calarcá and Armenia) and 139 workers were surveyed, most of them being farm managers or administrators (Table 1). The inclusion and exclusion criteria were voluntary participation. Data on the identification of occupational hazards were collected through a worker model survey (self-reporting of working conditions). Their workday was 12 hours a day from Monday to Saturday.

Table 1. Population characterization of farmworkers of Buenavista, Pijao, Calarcá and Armenia-Quindío.

Item	Number of workers
Gender:	
Male	95
Female	44
Age (years):	
Less than 25	27
25 - 35	17
36 - 45	60
46 - 55	18
More than 55	17
Grade of schooling:	
Elementary school	97
High school	40
University	2
TOTAL	139

The results analysis plan was taken from the GTC 45 guide. The inspections were carried out following the standard NTC 4114, as a control tool in the analysis of the information collected through the self-reporting of working conditions, and the guide GTC 45 for the identification of hazards and risk assessment (ICONTEC, 1997; ICONTEC, 2012).

The research was based on the regulations regarding occupational health and safety of the Decree 1072 of the Ministry of Labor

(Mintrabajo, 2015). Besides, informed consent was used as part of the suggestions of the Bioethics Committee of the University of Quindío.

RESULTS AND DISCUSSION

It was detected that 32 % of the workers surveyed were female head of household. All workers were economically active (18-55 years old); 43 % were between the ages of 36 and 45 years; 70 %

of the workers only attended primary school; 29 % attended secondary school and 1 %, studied at university.

The majority of workers did not own their own home (57 %) and 70 % had a marital union. Household expenses were equivalent to 70 % of their income and only rent was equivalent to 30 % of the income earned. 70 % earned the current legal minimum wage. As for the type of housing, only 29 % had their housing (property owners), 14 % lived in their family home (single) and the rest lived in rented housing.

All respondents said they were exposed to chemical agents typical of the agricultural sector (mainly pesticides, fungicides, and antiparasitic agents). 72 % were exposed to physical agents such as non-ionizing radiation (UV rays from outdoor work) and noise (handling scythes, tractors), and to anti-ergonomic conditions such as the stooped or bent back posture for many hours a day, as well as repetitive movements of the upper limbs and postural overload (handling heavyweights). 65 % were exposed to biological agents such as mosquito bites, ticks, and spiders; 61 % were exposed to dangerous energies such as mechanics (scythes and tractors), the use of hand tools (combs, spades, saws, hammers.). They reported having had incidents and even work accidents with moderate consequences (several days of incapacity). 56 % stated that they have no protection against theft and robbery (social risk), do not have emergency plans, fewer emergency brigades or training for emergency control and attention.

It was found that all the farms visited had sites for recreational activities. However, 80 % of the farms did not have an occupational health and safety management system or emergency plans.

The working population is exposed to inadequate safety conditions. The conditions of the work areas are precursors to generating work accidents. They also face the danger of operating machinery and tools in poor condition. In general, there is a lack of firefighting equipment and emergency plans. There is no evidence of first aid kits or fire extinguishers. In addition, the workers are constantly exposed to changes in temperature, heat, and cold, and non-ionizing radiation from sunlight is present in all work areas because they are working in open fields. Lighting is inadequate when night work is carried out on the farm, as there is a notable lack of sufficient lighting, which is directly related to the coffee processing activity. Noise in the environment is evident when using the pulping machines.

Regarding biological agents, it was found that in coffee crops workers are exposed to pests such as coffee berry borer and coffee rust. Likewise, workers involved in irrigation, fertilization, pruning, fumigation, and harvesting are exposed to diseases and discomfort due to exposure to these pests.

In all work areas, workers are constantly prone to physical and postural overexertion due to the different tasks they must perform. In general, their workday is monotonous. Working hours are long, especially during harvest time. There are no active breaks on the

farms, which could lead to low yields and poor performance on the part of the workers. Farmers and ranchers expressed the lack of efforts to improve their working conditions.

Workers usually lift and transport loads, especially in coffee harvesting, washing, and drying activities, repeatedly exceeding the permissible levels. The loads that are generally handled range between 60 and 70 kg in weight, with distances that vary between 100 and 500 meters from the harvesting site to the drying and harvesting site to the transport vehicles. In addition, the lack of knowledge of the correct way to handle loads causes the worker to do it inadequately. Mechanical aids for transporting loads are also very limited. The vast majority continue to handle them manually.

Fumigation activities, although not performed frequently, reflect a great lack of knowledge on the part of the working population regarding the handling of the substances used. This makes the handling of these chemicals an unsafe act that implies a high risk for the population.

The assessment and prioritization of the health and safety risks identified during the visits are listed below.

Tillage activities for land preparation, planting, and harvesting:

- Mechanical: by the use of manual tools such as a hoe, shovel, rake, plow, and machete, among others. Also, tools such as scythes and chainsaws expose the worker to possible accidents due to their handling.
- Physical: due to exposure to hot-cold temperatures, non-ionizing radiation, noise, and vibrations from the use of scythes and chainsaws.
- Biomechanical: posture (prolonged, maintained, forced). Standing, kneeling, stooping. Overexertion and repetitive movements. hyperextension, extension, rotation, flexion of extremities.
- Safety conditions: local conditions due to uneven topography of the terrain. Wet and slippery floors due to mud. Slopes due to mountainous terrain.
- Psychosocial: work stress due to repetitive and monotonous work. Long working hours. Poor job stability and low economic remuneration.
- Biological: possible stings and bites from poisonous animals, insects, and rodents. Exposure to fungi and bacteria present in the land chosen for cultivation. Intoxication due to the presence of stinging or allergic plants.
- Natural phenomena: exposure of the worker to gales, landslides, precipitations due to the performance of tasks in open fields.

- Chemical: due to the use of chemical fertilizers in the preparation of the soil.
- Physical-chemical: due to the possible combustion or oxidation reaction that chemical substances could have when exposed to physical phenomena at the time of performing the task outdoors.

Coffee processing:

- Mechanical: due to the use of machinery and tools required in the process, such as pulping equipment (traditional pulper).
- Physical: due to exposure to hot-cold temperatures and non-ionizing radiation during washing and drying tasks.
- Biomechanical: posture (prolonged, maintained, forced). Standing, kneeling, stooping. Overexertion and repetitive movements. hyperextension, extension, rotation, flexion of extremities. Unfavorable movements for the body.
- Safety conditions due to lack of signage: clutter and lack of cleanliness, inadequate storage, faulty work areas, inadequate ladders and ramps, unsafe or defective scaffolding and roofs, and loads improperly stacked, or stored in an unsafe or irresponsible manner.

In the assessment of chemical risks, no use of personal protective equipment (PPE) for handling pesticides was detected. Nor was the use of adequate PPE to deal with biological risks detected. Chemical and biological hazards are the most frequently encountered and

are present in the tasks of clearing the land, plotting, plowing, hollowing, fertilizing the soil, preparing the seedbed, transplanting to the planting site, irrigation, fertilization, pruning, fumigation, harvesting coffee, pulping the fruit, fermentation, washing, drying, packaging, and transport.

Physical hazards tend to occur with a moderate frequency. Ergonomic and psychosocial hazards are less frequent, although there is no significant difference between them. Chemical and physicochemical hazards are also present, although in a very low proportion. This can be related to the results obtained by other authors (Toro-Osorio *et al.* 2017), where only 5.5 % of coffee growers have suffered some type of intoxication by pesticides in their working life, receiving medical treatment for it. Most of the intoxications suffered by farmers were with toxicity Ia, Ib, and II pesticides, which are the most toxic categories.

Regarding the prioritization of these hazards (Table 2), exposure to chemical agents (agrochemicals), physical agents (UV rays, humidity), incorrect and prolonged postures (ergonomics), are unacceptable risks that require urgent and immediate controls (values between 600-4000). The locative hazard due to irregular topography of the land is the highest risk, being unacceptable as second level (value of 300) and it is present in most tasks. Mechanical hazards due to the use of manual tools such as scythes and chainsaws and machines such as the pulper are rated as unacceptable first level risk (value of 1000) but only occur in three tasks of the process (cleaning the land, pruning, and pulping the fruit). It is also necessary to mention the danger of fire and explosion, which, although it has a rating of not acceptable first level risk (value of 1000), is present only in land clearing.

Table 2. Priorization of hazards found. Risk assessment according to GTC 45 (ICONTEC, 2012).

Hazard	Risk value	Assessment
Chemical	3000	Critical situation, unacceptable, urgent correction. Risk level I
Physical agents	2000	Not acceptable, urgent correction. Risk level I
Ergonomics	1500	Not acceptable, urgent correction. Risk level I
Mechanical	1000	Not acceptable. Risk level I
Fire and explosion	1000	Not acceptable. Risk level I
Locative	300	Correct immediately. Risk level II
Biological agents	120	Improve existing control. Risk level III

In general, the farmworkers do not consider their work dangerous. Due to their daily exposure, they have generated a false concept of security in risk management. This attitude is a serious obstacle to preventing and controlling the unacceptable risks detected in this work.

Acknowledgments. The authors would like to thank the students and tutors of the research group on Occupational Safety and Health of the Universidad del Quindío for their great collaboration in the development of this research. **Conflicts of interest:** The manuscript was prepared and revised by all authors, who declare

the absence of any conflict which can put the validity of the presented results at risk.

REFERENCES

1. BULLOCK, W.H.; IGNACIO, J.S.; MULHAUSEN, J.R.; AMERICAN INDUSTRIAL HYGIENE ASSOCIATION, AIHA. 2006. A strategy for assessing and managing occupational exposures. 3rd edition. AIHA Press. 349p.

2. GARZÓN DUQUE, M.O.; VÁSQUEZ TRESPALACIOS, E.M.; MOLINA VÁSQUEZ, J.; MUÑOZ GÓMEZ, S.G. 2017. Condiciones de trabajo, riesgos ergonómicos y presencia de desórdenes músculo-esqueléticos en recolectores de café de un municipio de Colombia. *Rev. Asoc. Esp. Espec. Med. Trab.* 26(2):127-136.
3. GÓMEZ YEPES, M.E.; CREMADES OLIVER, L.V. 2010. Condiciones de trabajo de los aplicadores de plaguicidas del área cafetera municipio de Calarcá, Departamento del Quindío - Colombia. VIII Congreso Internacional de Prevención de Riesgos Laborales (Valencia, España). 13p.
4. HURST, P.; TERMINE, P.; KARL, M. 2007. Trabajadores agrícolas y su contribución a la agricultura y el desarrollo rural sostenibles. Organización Internacional Del Trabajo-OIT; Organización De Las Naciones Unidas Para La Agricultura Y La Alimentación -FAO; Unión Internacional De Los Trabajadores De La Alimentación, Agrícolas, Hoteles, Restaurantes, Tabaco Y Afines-UITA. 108p. Available from Internet in: <http://www.fao.org/3/a-bp976s.pdf> (with access 19/02/2021).
5. INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN, ICONTEC. 1997. Norma técnica colombiana NTC 4114. Seguridad industrial. Realización de inspecciones planeadas. ICONTEC. 19p.
6. INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN, ICONTEC. 2012. Guía técnica colombiana GTC 45. Guía para la identificación de los peligros y la valoración de los riesgos en seguridad y salud ocupacional. ICONTEC. 36p.
7. JANKELOVA, N.; MASAR, D.; MORICOVA, S. 2017. Risk factors in the agriculture sector. *Agric. Econ. – Czech.* 63(6):247-258. <https://doi.org/10.17221/212/2016-AGRICECON>
8. LÓPEZ-ARAÚJO, B.; OSCA SEGOVIA, A. 2009. El papel del malestar físico y psicológico en los accidentes laborales en la agricultura. *Ansiedad y Estrés.* 15(2-3):249-261.
9. MINISTERIO DEL TRABAJO, MINTRABAJO. 2015. Decreto número 1072 de 2015. República de Colombia. 326p. Available from Internet in: <http://www.mintrabajo.gov.co/documents/20147/0/dur+sector+trabajo+actualizado+a+15+de+abril++de+2016pdf/a32b1dcf-7a4e-8a37-ac16-c121928719c8> (with access 19/02/2021).
10. OCAMPO, J.G.; OSLEY GARZON, M. 2016. El sistema de riesgos laborales frente al trabajador del sector informal. *Opin. Juríd.* 15(30):183-204. <https://doi.org/10.22395/ojum.v15n30a9>
11. ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA, FAO. 2022. Empleo rural decente. Condiciones de trabajo. Available from Internet in: <http://www.fao.org/rural-employment/work-areas/workin-g-conditions/es/> (with access on 17/02/2022).
12. OSORIO-QUINTERO, L.; LOPERA-GARCÍA, L.D.; LÓPEZ-ARANGO, Y.L.; RENDÓN-OSPINA, I.D.; TABARES-LÓPEZ, J.C.; MEDINA-TAMAYO, M.; NIETO-LÓPEZ, E. 2019. Condiciones de trabajo y de seguridad social en asociaciones de pequeños y medianos agricultores campesinos con prácticas de economía solidaria en tres municipios del oriente antioqueño, Colombia, 2015. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública.* 37(2):36-48. <https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.v37n2a05>
13. PAISAJE CULTURAL CAFETERO. 2021. ¿Qué es el Paisaje Cultural Cafetero? Available from Internet in: <http://paisajeculturalcafetero.org.co/> (with access 19/02/2021).
14. TORO-OSORIO, B.M.; ROJAS-RODRÍGUEZ, A.E.; DÍAZ-ZAPATA, J.A. 2017. Niveles de colinesterasa sérica en caficultores del Departamento de Caldas, Colombia. *Revista de Salud Pública.* 19(3):318-324. <https://doi.org/10.15446/rsap.v19n3.52742>



Uso de plasma rico en plaquetas como coadyuvante en el tratamiento quirúrgico de la ruptura del tendón calcáneo común en gatos

Use of platelet-rich plasma as an adjuvant in the surgical treatment of common calcaneal tendon rupture in cats

Xavier Jaramillo-Chaustre¹ ; Johanna Fonseca-Matheus^{1*} ; Karen Delgado-Villamizar¹ ; Fernando Gómez-Parra¹ ; Jesús Mendoza-Ibarra¹

¹Universidad de Pamplona, Facultad de Ciencias Agrarias, Programa de Medicina Veterinaria. Pamplona - Norte de Santander, Colombia; e-mail: xavier.jaramillo@unipamplona.edu.co; johanna.fonseca@unipamplona.edu.co; karen.delgado@unipamplona.edu.co; fernando.gomez@unipamplona.edu.co; almendoza@unipamplona.edu.co

*autor de correspondencia: johanna.fonseca@unipamplona.edu.co

Cómo citar: Jaramillo-Chaustre, X.; Fonseca-Matheus, J.; Delgado-Villamizar, K.; Gómez-Parra, F.; Mendoza-Ibarra, J. 2022. Uso de plasma rico en plaquetas como coadyuvante en el tratamiento quirúrgico de la ruptura del tendón calcáneo común en gatos. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 25(1):e1878. <http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.1878>

Artículo de acceso abierto publicado por Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, bajo una Licencia Creative Commons CC BY-NC 4.0

Publicación oficial de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Institución de Educación Superior Acreditada de Alta Calidad por el Ministerio de Educación Nacional.

Recibido: febrero 25 de 2021

Aceptado: junio 3 de 2022

Editado por: Helber Adrián Arévalo Maldonado

INTRODUCCIÓN

El tendón del calcáneo común, también denominado tendón de Aquiles, está conformado por un grupo de componentes musculotendinosos, que convergen y se insertan en la tuberosidad calcánea; dichas estructuras son el tendón del gastrocnemio (TG), el tendón del flexor digital superficial (TFDS) y el tendón combinado (TC) del gracilis, el bíceps femoral y el del músculo semitendinoso (Cervi *et al.* 2010; Hermanson & Evans, 2013).

En perros y en gatos, con frecuencia, se puede observar una ruptura parcial o completa del tendón calcáneo común, lesión que puede corresponder a un episodio traumático agudo o debido a la influencia de fuerzas progresivas crónicas, ejercidas sobre el tendón (Cervi *et al.* 2010; Corr *et al.* 2010; Hayashi & Schulz, 2018). Durante la exploración clínica es común observar la hiperflexión tarsiana (Corr *et al.* 2010; Hayashi & Schulz, 2018). El paciente no apoya peso sobre la extremidad afectada, si la lesión es provocada por un traumatismo agudo; en el caso de que se encuentre afectado todo el complejo del tendón, el tarso se verá hiperflexionado, adoptando una posición plantígrada (Buttin *et al.* 2020).

Se reportan diversas técnicas quirúrgicas para realizar la tenorrafia, incluidos varios patrones de sutura, injertos, transposición de tendones, así como el uso de implantes biológicos y artificiales (Sivacolundhu *et al.* 2001). El plasma rico en plaquetas (PRP) es un producto biológico que se aplica como autoinjerto y que, con el tiempo, ha cobrado importancia, por su utilidad en el tratamiento de diferentes condiciones patológicas (Anitua *et al.* 2004). En el caso de las lesiones tendinosas, se reporta su uso terapéutico, observando ventajas de su aplicación, combinada con el tratamiento quirúrgico (Andia & Abate, 2018; Bianchi *et al.* 2021).

El PRP se puede considerar como un biofármaco, que contiene Factores de Crecimiento (FsC), principalmente, el Factor de Crecimiento Transformante Beta (TGF- β), el Factor de Crecimiento Similar a la Insulina tipo I (IGF-I), Factor de Crecimiento Fibroblástico (FGF), entre otros, todos ellos contenidos en los gránulos alfa (Dahlgren *et al.* 2001; Anitua *et al.* 2004; Carmona *et al.* 2009; Wang & Nirmala, 2016).

Dahlgren *et al.* (2002) reportan la acción positiva del IGF-I en un modelo equino de tendinitis del flexor digital superficial

(TFDS), inducida con colagenasa y, a su vez, McDougall *et al.* (2018) indican los efectos benéficos del PRP, en la tendinopatía del músculo supraespinoso del perro, mientras que Haupt *et al.* (2006) demostraron que el factor de crecimiento derivado de plaquetas BB (PDGF-BB) produce un incremento marcado de la expresión genética del colágeno tipo I.

El presente reporte tiene como propósito documentar los beneficios de implantar PRP, como coadyuvante en el tratamiento quirúrgico de la ruptura tendinosa en un felino gato (*Felis silvestris catus*), con sección traumática completa del tendón calcáneo común.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del caso. Se presentó a consulta pública de la Clínica Veterinaria de la Universidad de Pamplona una gata, mestiza, de 9 años, con herida abierta por objeto cortopunzante en el tercio distal de la superficie caudal de la pierna, en el miembro posterior derecho (MPD). Al examen clínico, se observó posición plantigrada y una herida 2 cm de longitud, con exposición de los fragmentos proximal y distal del tendón calcáneo común. Se decidió realizar tratamiento quirúrgico (tenorrafia), acompañado de terapia regenerativa con PRP. En el análisis prequirúrgico no se encontró anomalías en los resultados de la hematología, función hepática o renal. La estrategia anestésica consistió en la administración de acepromacina 0,05 mg/kg vía IM, tramadol 2 mg/kg vía IM y flunixin meglumine 1,1 mg/kg IV, como premedicación; para la inducción, se empleó propofol 4 mg/kg y ketamina a 5 mg/kg IV. Dentro de la fase de mantenimiento anestésico se utilizó isoflurano a 2 % CAM.

Procedimiento quirúrgico. Se realizó una tenorrafia, mediante la técnica del bucle cerrado (Cocca *et al.* 2019), con sutura de polipropileno calibre 3-0. La síntesis de los tejidos restantes se realizó con vicryl calibre 3-0. Por último, la piel fue suturada con nylon calibre 3-0.

Preparación y aplicación del PRP. Se obtuvo una muestra de 3 ml de sangre completa, en un tubo con citrato de sodio, mediante venopunción yugular. Para la obtención del PRP, se utilizó la técnica de doble centrifugación en tubo (López *et al.* 2012). El plasma obtenido fue separado y centrifugado en un tubo aparte; seguidamente, se procedió a coleccionar, con una jeringa estéril, la mitad inferior del plasma centrifugado, que corresponde al plasma rico en plaquetas, cuyo volumen fue 0,75 ml. Luego de realizar la tenorrafia, se procedió al implante del PRP, instilando dicho producto (0,75 ml), en la zona comprometida. Adicionalmente, se realizó un vendaje Robert Jones, modificado con una férula de Zimmer. Este vendaje fue cambiado a las 48 horas, para verificar el estado de la herida quirúrgica y luego se realizaron cambios cada 15 días. El tratamiento postquirúrgico consistió en cefalexina (25 mg/kg/12 horas), meloxicam (0,1 mg/kg/24 horas), omeprazol (0,7 mg/kg/24 horas), todos por vía oral.

Evaluación postquirúrgica. A las 48 horas del periodo postquirúrgico, se procedió a retirar el vendaje para la evaluación de la cicatriz; asimismo, se realizó evaluación ecográfica del tendón,

con un equipo de ultrasonido marca Mindray®, modelo DP-50Vet, con un transductor micro convexo de 6.5 MHz y se colocó nuevamente el vendaje. Esta evaluación también se realizó a los 15 y 30 días.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El procedimiento quirúrgico se realizó sin complicaciones; el tendón presentó un corte lineal transversal, lo que facilitó su síntesis. En la evaluación postquirúrgica, no se observó eritema ni inflamación y mediante ecografía, se observó una formación inicial de abundante tejido fibroso en la zona de la tenorrafia, el cual, fue disminuyendo con el tiempo.

Durante la evolución, también se observó un aumento del defecto residual hipoecoico dentro de la zona de tejido cicatrizal, en los días 15 y 30, posteriores a la intervención quirúrgica, en los cuales, también se evidenció una reaparición gradual de la línea que representa al epitendón (Figura 1).

En el estudio ecográfico realizado a los 6 meses, se observó una disminución considerable del tejido cicatrizal, así como la aparición parcial de continuidad en la ecotextura fibrilar intratendinosa con disposición longitudinal (Figura 1), lo que coincide con hallazgos reportados en caninos con lesión tendinosa, tratados con PRP (McDougall *et al.* 2018). La literatura reporta que las técnicas quirúrgicas de tenorrafia deberán ir acompañadas de una inmovilización de la articulación tibiotarsal, para obtener resultados consistentes y un retorno apropiado a la función locomotora (Sivacolundhu *et al.* 2001; Katayama, 2016).

La razón de este requerimiento es que, debido al pobre aporte sanguíneo del tejido tendinoso, el proceso de cicatrización es lento y la tensión que debe soportar el tendón durante la locomoción puede provocar la disrupción del tejido neoformado (Schenke & Del Sol, 2010; Bianchi *et al.* 2021). El tiempo de inmovilización utilizado en este caso fue de 4 semanas, luego, del cual, se retiró el vendaje y se mantuvo en reposo durante 15 días adicionales. La paciente presentó evolución favorable, con recuperación total de la función locomotora del MPD, lo que coincide con lo reportado en estudios realizados en perros, utilizando tenorrafia y PRP (Perinelli *et al.* 2020; Schulz *et al.* 2019). El tiempo de inmovilización reportado para este tipo de procedimiento es de 5,9 a 9 semanas (Norton *et al.* 2009); sin embargo, se decidió reducirlo a 4 semanas, debido a que se esperaba que la aplicación del PRP favoreciera el proceso de cicatrización, tal como se ha reportado en otro estudio (Perinelli *et al.* 2020), lo cual, se confirmó al observar la recuperación de la paciente.

Actualmente, se reporta el uso de PRP para el tratamiento de lesiones tendinosas (Andia & Abate, 2018; Mehrabani *et al.* 2019). El objetivo es favorecer el proceso de cicatrización, mediante la liberación de factores de crecimiento, contenidos en los gránulos alfa de las plaquetas y juegan un papel fundamental en la reparación de tejidos (Spaas *et al.* 2012; Andia & Abate, 2018). La producción de factores de crecimiento, como IGF-F y TGF- β , por parte de los

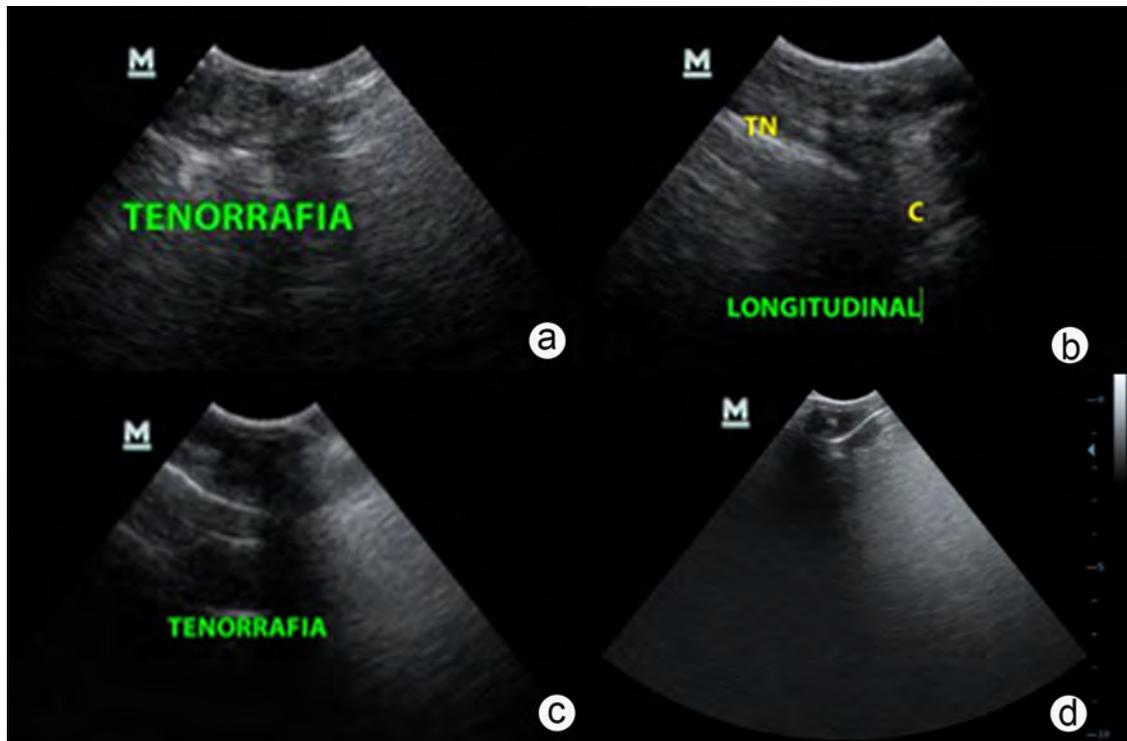


Figura 1. Evaluación ecográfica de la tenorrafia en una gata mestiza, de 9 años: ecógrafo marca Mindray®, modelo DP-50Vet, con un transductor micro convexo 6.5 MHz, colocado en la superficie caudal de la pierna, justo sobre el borde caudal del tendón calcáneo común. a) día 1 (día de la cirugía): se observa la zona de la tenorrafia con forma irregular, sin organización del tejido; b) día 14 postquirúrgico: se observa aún la tenorrafia con forma irregular, defecto residual hipoeicoico y comienza a evidenciarse la formación del epitendón; c) día 30 postquirúrgico: el epitendón continúa su desarrollo y aumenta el defecto residual hipoeicoico; d) 6 meses posquirúrgicos: se observa reducción del grosor de la tenorrafia, la formación del epitendón se ha completado y aparece la ecotextura fibrilar intratendinosa con disposición longitudinal.

tenocitos es baja, durante las dos primeras semanas posteriores a la lesión (Dahlgren *et al.* 2005). Por esta razón, se consideró beneficiosa la aplicación del implante durante el procedimiento quirúrgico, lo que garantiza la presencia de dichos factores, desde el comienzo del proceso de cicatrización, aumentando la respuesta de los tenocitos, en la reparación tisular (Dahlgren *et al.* 2005). La aplicación de factores de crecimiento, como el IGF-I y el TGF- β tiene efectos anabólicos sobre los tenocitos, estimulando la proliferación celular y la síntesis de matriz extracelular (colágeno) (Abrahamsson *et al.* 1991; Dahlgren *et al.* 2001; Dahlgren *et al.* 2005).

Adicionalmente, el factor TGF- β 1 es antagonista de la interleucina 1, lo que permite evitar sus efectos catabólicos y preservar la estructura tisular (Perrier *et al.* 2002). El factor de crecimiento PDGF-BB promueve un incremento marcado de la expresión genética del colágeno tipo I durante las primeras 48 horas, tras su aplicación (Haupt *et al.* 2006). La aplicación del PRP durante el procedimiento quirúrgico coincide con la fase ideal del proceso de reparación tendinosa, que ocurre durante los primeros 5 a 7 días de evolución (Schenke & Del Sol, 2010). Aunque el presente reporte corresponde a un solo caso en la especie felina, se pudo observar una cicatrización adecuada y funcional del tendón en menor tiempo, que lo reportado en la bibliografía (Sivacolundhu *et al.* 2001; Norton *et al.* 2009). Se requieren más estudios para validar este tipo de técnica dentro de los procesos terapéutico – quirúrgicos, en

la clínica de pequeños animales, especialmente, en gatos.

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.

REFERENCIAS

1. ABRAHAMSSON, S.-O.; LUNDBORG, G.; LOHMANDER, L.S. 1991. Recombinant human insulin-like growth factor-I stimulates in vitro matrix synthesis and cell proliferation in rabbit flexor tendon. *Journal Orthopaedic Research* (Estados Unidos). 9(4):495-502. <https://doi.org/10.1002/jor.1100090405>
2. ANDIA, I.; ABATE, M. 2018. Platelet-rich plasma: combinational treatment modalities for musculoskeletal conditions. *Frontiers of Medicine (China)*. 12:139-152. <https://doi.org/10.1007/s11684-017-0551-6>
3. ANITUA, E.; ANDIA, I.; ARDANZA, B.; NURDEN, P.; NURDEN, A.T. 2004. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thrombosis and Haemostasis* (Alemania). 91(1):4-15. <https://doi.org/10.1160/TH03-07-0440>

4. BIANCHI, E.; RUGGERI, M.; ROSSI, S.; VIGANI, B.; MIELE, D.; BONFERONI, M.C.; SANDRI, G.; FERRARI, F. 2021. Innovative strategies in tendon tissue engineering. *Pharmaceutics (Italia)*. 13(1):89. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13010089>
5. BUTTIN, P.; GOIN, B.; CACHON, T.; VIGUIER, E. 2020. Repair of tendon disruption using a novel synthetic fiber implant in dogs and cats: the surgical procedure and three case reports. *Veterinary medicine international*. 2020:4146790. <https://doi.org/10.1155/2020/4146790>
6. CARMONA, J.U.; PRADES, M.; ARGÜELLES, D. 2009. Concentrados autólogos de plaquetas como tratamiento de lesiones de tejidos blandos del aparato locomotor en caballos. *Archivos de Medicina Veterinaria (Chile)*. 41:77-82. <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2009000100011>
7. CERVI, M.; BREBNER, N.; LIPTAK, J. 2010. Short- and long-term outcomes of primary Achilles tendon repair in cats: 21 Cases. *Veterinary and comparative orthopaedics and traumatology (Alemania)*. 23(5):348-353. <https://doi.org/10.3415/VCOT-09-10-0109>
8. COCCA, C.J.; DUFFY, D.J.; KERSH, M.E.; KIM, W.; GROENEWOLD, A.; MOORE, G.E. 2019. Biomechanical comparison of three epitendinous suture patterns as adjuncts to a core locking loop suture for repair of canine flexor tendon injuries. *Veterinary Surgery (Canadá)*. 48(7):1245-1252. <https://doi.org/10.1111/vsu.13266>
9. CORR, S.A.; DRAFFAN, D.; KULENDRA, E.; CARMICHAEL, S.; BRODBELT, D. 2010. Retrospective study of Achilles mechanism disruption in 45 dogs. *VetRecord (Inglaterra)*. 167(11):407-411. <https://doi.org/10.1136/vr.c4190>
10. DAHLGREN, L.A.; MOHAMMED, H.O.; NIXON A.J. 2005. Temporal expression of growth factors and matrix molecules in healing tendon lesions. *Journal of Orthopaedic Research*. 23(1):84-92. <https://doi.org/10.1016/j.orthres.2004.05.007>
11. DAHLGREN, L.A.; NIXON, A.J.; BROWER-TOLAND, B.D. 2001. Effects of β -aminopropionitrile on equine tendon metabolism in vitro and on effects of insulin-like growth factor-I on matrix production by equine tenocytes. *American Journal of Veterinary Research*. 62(10):1557-1562. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2001.62.1557>
12. DAHLGREN, L.A.; VAN DER MEULEN, M.C.H.; BERTRAM, J.E.A.; STARRACK, G.S.; NIXON, A.J. 2002. Insulin-like growth factor-I improves cellular and molecular aspects of healing in a collagenase-induced model of flexor tendonitis. *Journal of Orthopaedic Research*. 20(5):910-919. [https://doi.org/10.1016/S0736-0266\(02\)00009-8](https://doi.org/10.1016/S0736-0266(02)00009-8)
13. HAUPT, J.L.; DONNELLY, B.P.; NIXON, A.J. 2006. Effects of platelet-derived growth factor-BB on the metabolic function and morphologic features of equine tendon in explant culture. *American Journal of Veterinary Research*. 67(9):1595-1600. <https://doi.org/10.2460/ajvr.67.9.1595>
14. HAYASHI, K.; SCHULZ, K.S. 2018. Management of Muscle and Tendon Injury or Disease. En: Welch Fossum, T. (ed.). *Small Animal Surgery*. 5° Ed. Elsevier (Philadelphia). p.1284-1285.
15. HERMANSON, J.; EVANS, H.E. 2013. The muscular system. En: Evans, H.E.; De Lahunta, A. (Eds). *Miller's Anatomy of the Dog*. 4° Ed. Saunders (Philadelphia). p.349-381.
16. KATAYAMA, M. 2016. Augmented repair of an achilles tendon rupture using the flexor digitorum lateralis tendon in a toy poodle. *Veterinary Surgery (Canadá)*. 45(8):1083-1086. <https://doi.org/10.1111/vsu.12565>
17. LÓPEZ, C.; GIRALDO, C.E.; CARMONA, J.U. 2012. Evaluación de un método de doble centrifugación en tubo para concentrar plaquetas bovinas: estudio celular. *Archivos de medicina veterinaria (Chile)*. 44:109-115. <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2012000200003>
18. MCDOUGALL, R.A.; CANAPP, S.O.; CANAPP, D.A. 2018. Ultrasonographic findings in 41 dogs treated with bone marrow aspirate concentrate and platelet-rich plasma for a supraspinatus tendinopathy: a retrospective study. *Frontiers in veterinary science*. 5:98. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00098>
19. MEHRABANI, D.; SEGATCHIAN, J.; ACKER, J.P. 2019. Platelet rich plasma in treatment of musculoskeletal pathologies. *Transfusion and Apheresis Science*. 58(6):102675. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2019.102675>
20. NORTON, J.; DECAMP, C.; YU, J.; ROOKS, R. 2009. Use of a single-ring transarticular fixator construct for immobilisation of the talocrural joint following common calcaneal tenorrhaphy. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*. 22(5):430-435. <https://doi.org/10.3415/VCOT-08-08-0072>
21. PERINELLI, D.R.; BONACUCINA, G.; PUCCIARELLI, S.; CESPI, M.; SERRI, E.; POLZONETTI, V.; TAMBELLA, A.M.; VINCENZETTI, S. 2020. Rheological properties and growth factors content of platelet-rich plasma: relevance in veterinary biomedical treatments. *Biomedicines (Italia)*. 8(10):429. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8100429>
22. PERRIER, S.; KHERRATIA, B.; DESCHAUMES, C.; UGHETTO, S.; KEMENY, J.L.; BAUDET-POMMEL,

- M.; SAUVEZIE, B. 2002. IL-1ra and IL-1 production in human oral mucosal epithelial cells in culture: differential modulation by TGF- β 1 and IL-4. *Clinical and Experimental Immunology* (Inglaterra). 127(1):53-59.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2249.2002.01685.x>
23. SCHENCKE, C.; DEL SOL, M. 2010. Cambios morfológicos en la regeneración del tendón calcáneo de rata (Sprague Dawley) por la aplicación de ultrasonido continuo. *International Journal of Morphology*. 28(2):601-608.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022010000200043>
24. SCHULZ, K.S.; ASH, K.J.; COOK, J.L. 2019. Clinical outcomes after common calcanean tendon rupture repair in dogs with a loop-suture tenorrhaphy technique and autogenous leukoreduced platelet-rich plasma. *Veterinary Surgery*. 48(7):1262-1270.
<https://doi.org/10.1111/vsu.13208>
25. SIVACOLUNDHU, R.K.; MARCHEVSKY, A.M.; READ, R.A.; EGER, C. 2001. Achilles mechanism reconstruction in four dogs Murdoch University Veterinary Hospital, Murdoch, WA, Australia. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*. 14(1):25-31.
<https://doi.org/10.1055/s-0038-1632669>
26. SPAAS, J.H.; GUEST, D.J.; VAN DE WALLE, G.R. 2012. Tendon regeneration in human and equine athletes: Ubi Sumus-Quo Vadimus (where are we and where are we going to)? *Sports Medicine* (Nueva Zelanda). 42(10):871-890.
<https://doi.org/10.1007/BF03262300>
27. WANG, J.H.-C.; NIRMALA, X. 2016. Application of tendon stem/progenitor cells and platelet-rich plasma to treat tendon injuries. *Operative Techniques in Orthopaedics*. 26(2):68-72.
<https://doi.org/10.1053/j.oto.2015.12.008>



Macroinvertebrados acuáticos en una quebrada andina con alteraciones antrópicas en Colombia

Aquatic macroinvertebrate in an Andean creek with anthropic alterations in Colombia

Vanesa Jaramillo-Rodríguez¹ , Jaime Polanía¹ , Néstor Javier Mancera-Rodríguez^{2*} 

¹Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Grupo de investigación Ecología y Conservación de Fauna Silvestre. Medellín - Antioquia, Colombia; e-mail: vjaramillor@unal.edu.co; jhpolaniav@unal.edu.co

²Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Departamento de Ciencias Forestales. Medellín - Antioquia, Colombia; e-mail: njmancer@unal.edu.co

*autor de correspondencia: njmancer@unal.edu.co

Cómo citar: Jaramillo-Rodríguez, V.; Polanía, J.; Mancera-Rodríguez, N.J. 2022. Macroinvertebrados acuáticos en una quebrada andina con alteraciones antrópicas en Colombia. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 25(1):e2023. <http://doi.org/10.31910/rudca.v25.n1.2022.2023>

Artículo de acceso abierto publicado por Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, bajo una Licencia Creative Commons CC BY-NC 4.0

Publicación oficial de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Institución de Educación Superior Acreditada de Alta Calidad por el Ministerio de Educación Nacional.

Recibido: agosto 7 de 2021

Aceptado: abril 1 de 2022

Editado por: Helber Adrián Arévalo Maldonado

INTRODUCCIÓN

Los ríos andinos se encuentran alterados por distintas actividades antrópicas, que tienen consecuencias negativas sobre la diversidad biológica y la calidad ecológica de los ecosistemas acuáticos (Chará *et al.* 2007; Giraldo *et al.* 2020). Factores como la deforestación (Bojsen & Jacobsen, 2003; Galeano-Rendón & Mancera-Rodríguez, 2018) y el cambio de uso del suelo hacia actividades agrícolas o ganaderas son las causas más comunes del empobrecimiento de las comunidades dulceacuícolas y la vegetación ribereña asociada (Chará *et al.* 2007; Villada-Bedoya *et al.* 2017; Giraldo *et al.* 2020).

La calidad hídrica de los ríos y las quebradas depende directamente del hábitat ribereño, por lo que, en ecosistemas degradados por actividades antrópicas, la disponibilidad y la calidad del agua es menor y la composición y la estructura del ensamblaje de macroinvertebrados acuáticos presenta algún grado de alteración (Bonada *et al.* 2006). En consecuencia, y ante la creciente transformación de los ecosistemas acuáticos y la pérdida de

diversidad por actividades antrópicas, es fundamental integrar diferentes índices, que permitan evaluar la calidad ecológica y generar información, para diseñar estrategias de conservación, de restauración y de protección de quebradas andinas (Galeano-Rendón *et al.* 2017), que vayan acompañadas del trabajo con las comunidades humanas, allí asentadas, para minimizar los efectos negativos de los impactos antrópicos.

Los objetivos de este trabajo fueron determinar la calidad ecológica y conocer los patrones de la estructura taxonómica del ensamblaje de macroinvertebrados acuáticos de una quebrada andina, con diferentes niveles de alteración antrópica, en el municipio de Zapatoca, Santander (Colombia). Se plantea que la quebrada tendrá mejor calidad ecológica y mayor diversidad taxonómica en la estación con mejor estado de conservación de sus márgenes y con menor alteración por actividades antrópicas. Este estudio es el primer acercamiento de evaluación sobre el efecto de las actividades antrópicas en la calidad ecológica y la diversidad de las comunidades bentónicas en la quebrada El Poleo, ubicada en el municipio de Zapatoca, Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio, se realizó en la quebrada El Poleo, ubicada en el municipio de Zapatoca (Santander, Colombia), que drena al río Sogamoso, cuenca del río Magdalena. La zona posee una temperatura media anual de 18,8 °C y precipitación media anual de 1314 mm, la altitud varía entre 1.600-2.300 m s.n.m. y según Holdridge, la zona de vida corresponde a Bosque Húmedo Premontano (bh-PM) (Martín Pérez *et al.* 2017).

Se realizaron dos muestreos en período seco, en junio de 2018 y abril de 2019, en un tramo de 100 m, en tres zonas de la quebrada, sometidas a diferentes niveles de alteración antrópica: Estación 1: Baja alteración antrópica (BA; 6°50'3,22"N 73°18'13,09"W, 1974 m s.n.m.), que corresponde al área de nacimiento de la quebrada, con bosque nativo conservado en ambos márgenes, en un estado de sucesión avanzada mayor a 50 años, una población relictual de palma de cera *Ceroxylon quinidiense* y presenta extracción de agua para uso doméstico. Estación 2: Media alteración antrópica (MA; 6°50'8,22"N 73°18'7,16"W, 1914 m s.n.m.), con bosque nativo, en estado de regeneración natural superior a 20 años con roble *Quercus humboldtii* y regeneración asistida desde 2017, en donde se plantaron plántulas de aliso (*Alnus acuminata* Kunth), guamo (*Inga* sp.), cedro de montaña (*Cedrela montana*), gague (*Clusia* sp.), tamarindo (*Tamarindus indica* L.) y estacas de higuerón (*Ficus* cf. *crocata* Miq.), caucho (*F. americana* Aubl.), cauchona (*Ficus* sp1 y sp2), búcaro (*Erythrina fusca* Lour.), anaco (*E. poeppigiana* Walp.), chachafruto (*E. edulis* Triana ex Micheli), aro (*Trichanthera gigantea* Bonpl.) y ciruelo (*Spondias purpurea* L.). Esta estación está alterada por caminos que atraviesan el cauce y en la parte alta del sitio de muestreo, por una poza artificial de mayor profundidad y anchura que el cauce actual. La Estación 3: Alta alteración antrópica (AA; 6°50'3,48"N 73°17'15,04"W, 1645 m s.n.m.), corresponde a un área alterada por cambios de uso de suelo hacia cultivos con irrigación y pastos, presencia de viviendas cercanas, vertimiento de residuos a la quebrada, extracción de agua para uso doméstico y aguas con presencia de aceites.

Para cada estación de muestreo, se tomaron registros *in situ* de temperatura superficial del agua (°C), pH, conductividad (μS/cm) y oxígeno disuelto (mg/L), con un dispositivo multiparamétrico Hanna (HI9828/4-01). El caudal, se calculó a partir del ancho de la quebrada medido, con un flexómetro; la profundidad, se midió cada 20 cm, con una vara graduada en cm y la velocidad del flujo, se determinó con un correntómetro Global Water FP111, a 10 cm de profundidad. Para las tres estaciones, se determinó el Índice de Calidad de la Vegetación de Ribera Andina (QBR-And) (Acosta *et al.* 2009), el Índice de Hábitat Fluvial (IHF) (Pardo *et al.* 2002), el índice Biological Monitoring Working Party, adaptado para Colombia (BMWP-Col) (Roldán Pérez, 2003), el puntaje promedio por taxón (Average Score per Taxon, ASPT) (Armitage *et al.* 1983) y el Índice de Porcentaje de Individuos de Ephemeroptera, Plecoptera y Trichoptera (EPT%) (Carrera Reyes & Fierro Peralbo, 2001).

La recolección de macroinvertebrados acuáticos, se realizó con una red Surber de 30,5 x 30,5 cm y ojo de malla de 250 μm, en 10 puntos al azar, a lo largo del tramo de 100 m en cada estación, según la metodología descrita por Roldán Pérez & Ramírez Restrepo (2008). Las 10 submuestras fueron tratadas como una sola e identificadas taxonómicamente, hasta nivel de familia, usando las claves de Roldán (1988), Domínguez & Fernández (2009) y Hamada *et al.* (2018). Para establecer diferencias significativas en los valores de las variables físicas, químicas e hidrológicas y en los valores de diversidad taxonómica entre las tres estaciones de muestreo, se aplicaron análisis de varianza unidireccionales (ANOVA) a cada variable, con un nivel de confianza del 95 %, previa validación de los supuestos de normalidad (prueba de Shapiro-Wilk) y homocedasticidad (prueba de Bartlett). Se realizaron comparaciones (*post hoc*), que fueron evaluadas mediante la prueba de Tukey o, cuando no se cumplieron los supuestos, con las pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney. Se determinaron el número de individuos y los números de Hill (q0, q1 y q2) (Hill, 1973) y se definieron los patrones de variación en la composición taxonómica del ensamblaje de macroinvertebrados entre estaciones y muestreos con respecto a las variables ambientales y a los valores de los Índices QBR-And y BMWP-Col, mediante un análisis de correspondencia canónica ACC, que se realizó sobre los taxones con una abundancia mayor al 1 % en cada estación, con el programa RWizard (Guisande, 2015).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La temperatura superficial del agua presentó diferencias significativas entre las tres estaciones (Kruskal-Wallis, $\chi^2=18,68$; $P < 0,001$), con mayores valores para la estación de alta alteración (AA) (Tabla 1). La mayor temperatura en esta estación puede estar asociada a que se ubicó en una altitud menor, presentó menos sombra en el cauce y, por lo tanto, una mayor radiación solar incidente, mientras que, en BA, la vegetación riparia ayuda a que disminuya la temperatura del agua, debido al mayor porcentaje de cobertura vegetal en los márgenes.

El valor promedio del oxígeno disuelto y la conductividad fueron significativamente menores en la estación con media alteración (MA), con relación a las otras dos (ANOVA, $F=19,49$; $P < 0,001$, Mann-Whitney, $P=0,029$, respectivamente), lo que puede ser debido a la poza artificial, ubicada aguas arriba del tramo muestreado que, al presentar menor velocidad de la corriente, permitiría que se acumule mayor cantidad de sedimentos y restos de vegetación, lo que causaría colmatación del lecho y disminución de la disponibilidad de oxígeno e incidiría en que se presente un menor número de familias de macroinvertebrados. El oxígeno disuelto puede variar por aumento en la temperatura, o la velocidad de la corriente, o por presencia de vertimientos, materia orgánica y mayor aporte de nutrientes (Oscos *et al.* 2006).

La estación BA presentó los mayores valores del índice IHF, seguida de MA, con valores mayores a 62 en los dos muestreos (Tabla 1). Por otra parte, las estaciones BA y MA mostraron valores altos del índice QBR-And (entre 95 y 75), mientras que AA tuvo entre 40

Tabla 1. Valores de los índices y características fisicoquímicas e hidrológicas en tres estaciones, con diferentes niveles de alteración antrópica (BA: baja alteración; MA: media alteración; AA: alta alteración), de la quebrada El Poleo, cuenca del río Magdalena, Colombia.

	Baja alteración (BA)		Media alteración (MA)		Alta alteración (AA)	
	BA1*	BA2*	MA1*	MA2*	AA1*	AA2*
Temperatura del agua (°C)	16,4	16,7	17,7	17,3	20,8	21,3
pH	7,3	7,3	6,8	7,1	7,2	7,5
Oxígeno disuelto (mg/L)	5,0	6,9	2,9	2,9	4,7	5,4
Conductividad (µS/cm)	46,8	65,3	38,8	25,7	53,3	49,0
Caudal (L/s)	6,6	2,8	10,6	6,9	12,6	8,8
QBR-And	90	95	75	85	45	40
IHF	76	62	62	62	67	55
BMWP/Col	157	160	110	96	183	125
ASPT**	7,1	7,0	6,9	6,4	6,8	6,6
EPT (%)	15,1	11,1	11,3	3,8	2,8	4,4
Número de individuos	677	942	773	879	1166	315
Número de familias (q0)	24	25	18	17	29	21
q1	6,65	4,17	5,06	1,99	4,79	7,23
q2	3,24	2,34	2,93	1,32	2,61	4,31

*Los números representan cada muestreo: (1= junio de 2018 y 2= abril 2019).

**ASPT (Average score per taxon): Puntaje promedio por taxón.

y 45 (Tabla 1). Los altos valores de QBR-And para las estaciones BA y MA indican una calidad de bosque de ribera buena, mientras que el bajo valor para AA, una alteración importante, a causa de actividades agrícolas y ganaderas e intervenciones antrópicas. El índice BMWP/Col presentó valores altos para las tres estaciones (Tabla 1) y el índice ASPT fue > 6,5 en todas las estaciones, lo que muestra una calidad aceptable, con agua ligeramente contaminada, a excepción de MA, en el segundo muestreo, que presentó un valor de 6,4, con aguas moderadamente contaminadas (ASPT entre 4,5 - 6,5) (Tabla 1). Resultados similares de disminución de calidad ecológica y diversidad de macroinvertebrados acuáticos en gradientes de bosques conservados hacia zonas perturbadas o alteradas por actividades agrícolas o ganaderas han sido registrados por Bojsen & Jacobsen (2003), Galeano-Rendón *et al.* (2017), Galeano-Rendón & Mancera-Rodríguez (2018) y Urdanigo *et al.* (2019).

Los mayores valores del índice EPT se presentaron en BA, con un gradiente de disminución hacia las zonas, son más alteradas (Tabla 1). Al respecto, De Paiva *et al.* (2021) encontraron que el aumento del impacto antrópico redujo la diversidad de EPT, órdenes que, generalmente, han sido asociados con una mayor heterogeneidad de hábitat. En ecosistemas alterados, la proporción de EPT se reduce por factores, como el incremento de la concentración de nutrientes (Townsend *et al.* 2008), el aumento de la temperatura, la conductividad y los sedimentos finos (Wahl *et al.* 2013), la pérdida de cobertura riparia (Bispo *et al.* 2006), el vertimiento de aguas residuales y la alteración del flujo (Oliveira *et al.* 2011).

En total, se recolectaron 4.752 individuos, correspondientes a cuatro filos, seis clases, 12 órdenes y 40 familias de macroinvertebrados acuáticos. Las estaciones BA y AA presentaron mayor riqueza de familias, en comparación con MA (Tabla 1). El orden Diptera fue el más abundante en las tres estaciones, con 3.304 individuos, que corresponden al 69,5 %, con predominancia de la familia Chironomidae. Resultados similares de predominio del orden Diptera fueron encontrados por Zúñiga *et al.* (2013), Giraldo *et al.* (2014), Montoya Moreno & Escobar Gutiérrez (2019) y Giraldo *et al.* (2020), en cuencas andinas alteradas por agricultura y por ganadería. La familia Chironomidae está principalmente asociada a intervención antrópica por ganadería (Giraldo *et al.* 2014) y altas concentraciones de materia orgánica. Villada-Bedoya *et al.* (2017) destacan que las actividades agrícolas impactan negativamente la diversidad de insectos acuáticos y, la pérdida de vegetación ribereña, se asocia a la presencia de las familias Simuliidae y Chironomidae, típicas de zonas perturbadas por su tolerancia a la contaminación y la sedimentación.

El Análisis de Correspondencia Canónica (ACC) mostró que la varianza acumulada de la relación entre la abundancia de macroinvertebrados y las variables ambientales fue explicada por los dos primeros ejes, en un 72,1 %. El primer eje separó los dos muestreos realizados en AA y se asoció con los taxones Tubificidae (Haplataxida), Planariidae (Tricladida), la clase Bivalvia, Elmidae (Coleoptera), Naucoridae (Hemiptera) y Libellulidae (Odonata), que se relacionaron, a su vez, con mayores valores de caudal y de temperatura del agua (Figura 1). Según Zúñiga *et al.* (2013), los bivalvos son comunes en zonas de predominancia agropecuaria

y Chará *et al.* (2007), registraron que aumentan su abundancia relativa en quebradas sin protección boscosa. Del mismo modo, los oligoquetos, *e.g.* familia Tubificidae, están íntimamente asociados al fondo fangoso de los cuerpos de agua, donde se concentra mayor cantidad de sedimentos finos, ricos en materia orgánica y detritus (Roldán, 1988) y tienen una alta capacidad de soportar sustancias tóxicas en altas concentraciones (Martins *et al.* 2008). Por su parte, el segundo eje separó los dos muestreos de BA, que se asociaron con mayor abundancia de los taxones Calamoceratidae (Trichoptera), Veliidae (Hemiptera), Polythoridae (Odonata), Ptilodactylidae (Coleoptera) y con mayores valores de

QBR-And (Figura 1) y los dos muestreos en MA, que se asociaron con mayor abundancia de Tipulidae (Diptera), Polycentropodidae (Trichoptera), Odontoceridae (Trichoptera), Ceratopogonidae (Diptera), la subclase Acari, Sialidae (Megaloptera), y Chironomidae (Diptera) (Figura 1). La mayor cantidad de organismos típicos de zonas perturbadas (*e.g.* Tipulidae y Chironomidae), en la estación MA, indica que factores antrópicos, como la poza artificial y viviendas cercanas, estarían afectando la cantidad y la calidad del agua e impactando negativamente la diversidad del ensamblaje de macroinvertebrados acuáticos.

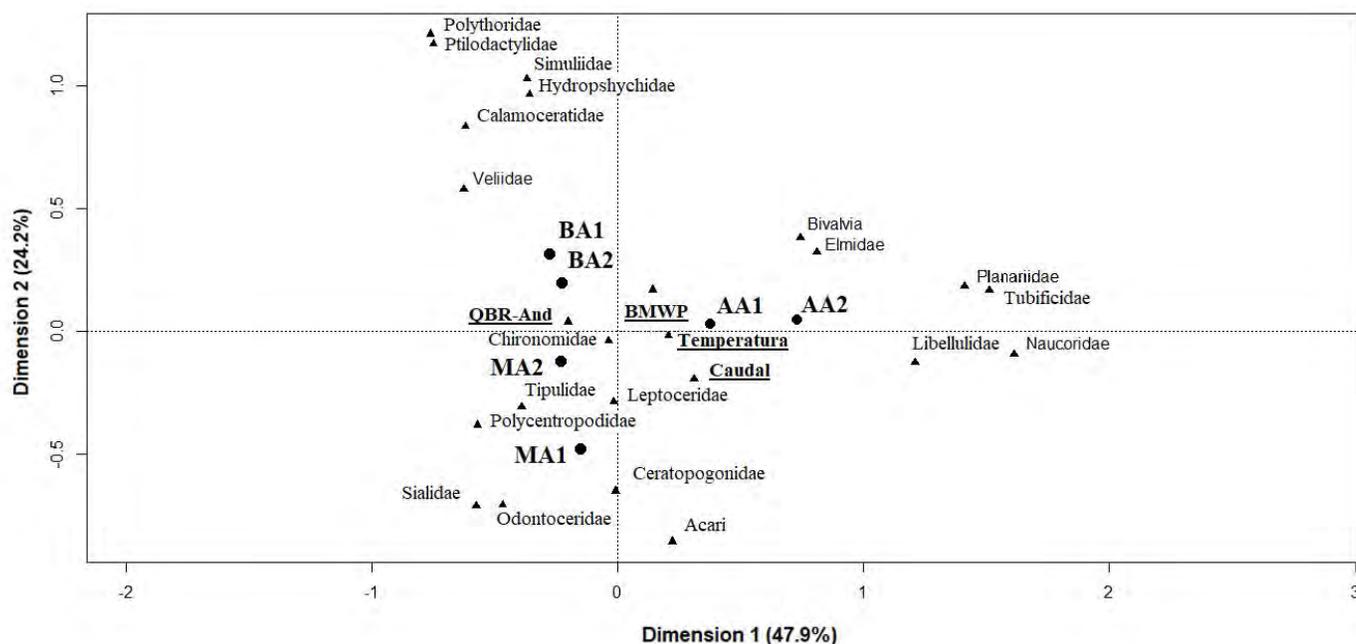


Figura 1. Análisis de correspondencia canónica basado en la abundancia de macroinvertebrados y variables ambientales en tres estaciones, con diferentes niveles de alteración antrópica (BA: baja alteración; MA: media alteración; AA: alta alteración), de la quebrada El Poleo, cuenca del río Magdalena, Colombia. QBR-And, Calidad de bosque de ribera; BWMP, Índice Biological Monitoring Working Party. Los números representan cada muestreo: 1= junio de 2018 y 2= abril 2019.

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.

REFERENCIAS

- ACOSTA, R.; RÍOS, B.; RIERADEVALL, M.; PRAT, N. 2009. Propuesta de un protocolo de evaluación de la calidad ecológica de ríos Andinos (CERA) y su aplicación en dos cuencas en Ecuador y Perú. *Limnetica*. 28(1):35-64. <https://doi.org/10.23818/limn.28.04>
- 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(3):333-347. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(83\)90188-4](https://doi.org/10.1016/0043-1354(83)90188-4)
- BISPO, P.C.; OLIVEIRA, L.G.; BINI, L.M.; SOUSA, K.G. 2006. Ephemeroptera, Plecoptera and Trichoptera assemblages from riffles in mountain streams of Central Brazil: environmental factors influencing the distribution and abundance of immatures. *Braz. J. Biol.* 66(2b):611-622. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842006000400005>
- BOJSEN, B.H.; JACOBSEN, D. 2003. Effects of deforestation on macroinvertebrate diversity and assemblage structure in Ecuadorian Amazon streams. *Arch. Hydrobiol.* 158(3):317-342. <https://doi.org/10.1127/0003-9136/2003/0158-0317>
- BONADA, N.; PRAT, N.; RESH, V.H.; STATZNER, B. 2006. Developments in aquatic insect biomonitoring: A comparative analysis of recent approaches. *Ann. Rev. Entomol.* 51:495-523. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.51.110104.151124>

6. CARRERA REYES, C.; FIERRO PERALBO, K. 2001. Manual de monitoreo: Los macroinvertebrados acuáticos como indicadores de la calidad del agua. EcoCiencia (Quito, Ecuador). 70p.
7. CHARÁ, J.; PEDRAZA, G.; GIRALDO, L.; HINCAPIÉ, D. 2007. Efecto de los corredores ribereños sobre el estado de quebradas en la zona ganadera del río La Vieja, Colombia. Agrofor. Am. 45:72-78.
8. DE PAIVA, C.K.S.; FARIA, A.P.J.; CALVAO, L.B.; JUEN, L. 2021. The anthropic gradient determines the taxonomic diversity of aquatic insects in Amazonian streams. Hydrobiologia. 848(5):1073-1085.
<https://doi.org/10.1007/s10750-021-04515-y>
9. DOMÍNGUEZ, E.; FERNÁNDEZ, H.R. 2009. Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos. Sistemática y biología. Fundación Miguel Lillo (Tucumán, Argentina). 656p.
10. GALEANO-RENDÓN, E.; MANCERA-RODRÍGUEZ, N.J. 2018. Effects of deforestation on macroinvertebrate diversity and assemblage structure in four Andean creeks in Colombia. Rev. Biol. Trop. 66(4):1721-1740.
<http://dx.doi.org/10.15517/rbt.v66i4.31397>
11. GALEANO-RENDÓN, E.; MONSALVE-CORTES, L.M.; MANCERA-RODRÍGUEZ, N.J. 2017. Evaluación de la calidad ecológica de quebradas andinas en la cuenca del río Magdalena, Colombia. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 20(2):413-424.
<https://doi.org/10.31910/rudca.v20.n2.2017.398>
12. GIRALDO, L.P.; CHARÁ, J.; CHARÁ-SERNA, A.M.; RAMÍREZ, Y.P. 2020. Restauración de corredores ribereños en paisajes ganaderos de la zona Andina colombiana: efectos tempranos en el ambiente acuático. RACCEFYN. 44(171):652-664.
<https://doi.org/10.18257/raccefyn.1063>
13. GIRALDO, L.P.; CHARÁ, J.; ZÚÑIGA, M.DEL.C.; CHARÁ-SERNA, A.; PEDRAZA, G. 2014. Impacto del uso del suelo agropecuario sobre macroinvertebrados acuáticos en pequeñas quebradas de la cuenca del río La Vieja (Valle del Cauca, Colombia). Rev. Biol. Trop. 62(2):203-219.
14. GUISANDE, C. 2015. RWizard Software. Disponible desde Internet en:
<http://www.ipez.es/RWizard>
15. HAMADA, N.; THORP, J.H.; ROGERS, D.C. 2018. Thorp and covich's freshwater invertebrates: Volume 3: Keys to neotropical Hexapoda. Fourth edition. Academic Press (San Diego, United States). 836p.
16. HILL, M.O. 1973. Diversity and evenness: a unifying notation and its consequences. Ecology. 54(2):427-432.
<https://doi.org/10.2307/1934352>
17. MARTÍN PÉREZ, Á.; VÉLEZ MARTÍNEZ, Y.; POLANÍA, J. 2017. Propiedades edáficas de bosques y potreros en recuperación de dos reservas naturales en Zapatoca (Santander). Suelos Ecuatoriales. 47(1-2):25-37.
18. MARTINS, R.T.; STEPHAN, N.N.C.; ALVES, R.D.A.G. 2008. Tubificidae (Annelida: Oligochaeta) as an indicator of water quality in an urban stream in southeast Brazil. Acta Limnol. Bras. 20(3):221-226.
19. MONTOYA MORENO, Y.; ESCOBAR GUTIÉRREZ, A.F. 2019. Los macroinvertebrados acuáticos y la calidad biológica del agua en una quebrada Andina, Antioquia-Colombia. Rev. Politec. 15(29):65-81.
<https://doi.org/10.33571/rpolitec.v15n29a6>
20. OLIVEIRA, R.B.S.; BAPTISTA, D.F.; MUGNAI, R.; CASTRO, C.M.; HUGHES, R.M. 2011. Towards rapid bioassessment of wadeable streams in Brazil: Development of the Guapiaçu-Macau Multimetric Index (GMMI) based on benthic macroinvertebrates. Ecol. Indic. 11(6):1584-1593.
<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2011.04.001>
21. OSCOZ, J.; CAMPOS, F.; ESCALA, M.C. 2006. Variación de la comunidad de macroinvertebrados bentónicos en relación con la calidad de las aguas. Limnetica. 25(3):683-692.
<https://doi.org/10.23818/limn.25.46>
22. PARDO, I.; ÁLVAREZ, M.; CASAS, J.; MORENO, J.L.; VIVAS, S.; BONADA, N.; ALBA-TERCEDOR, J.; JAIME-CUELLAR, P.; MOYA, G.; PRAT, N.; ROBLES, S.; SUAREZ, M.L.; TORO, M.; VIDAL-ABARCA, M.R. 2002. El hábitat de los ríos mediterráneos diseño de un índice de diversidad de hábitat. Limnetica. 21(3-4):115-134.
23. ROLDÁN, G. 1988. Guía para el estudio de macroinvertebrados acuáticos del departamento de Antioquia. Fondo para la Protección del Medio Ambiente "José Celestino Mutis" FEN Colombia, Colciencias, Universidad de Antioquia. 217p.
24. ROLDÁN PÉREZ, G. 2003. Bioindicación de la calidad del agua en Colombia: propuesta para el uso del método BMWP/Col. Editorial Universidad de Antioquia (Medellín, Colombia). 170p.
25. ROLDÁN PÉREZ, G.; RAMÍREZ RESTREPO, J.J. 2008. Fundamentos de limnología neotropical. Universidad de Antioquia (Medellín, Colombia). 440p.
26. TOWNSEND, C.R.; UHLMANN, S.S.; MATTHAEI, C.D. 2008. Individual and combined responses of stream ecosystems to

- multiple stressors. *J. Appl. Ecol.* 45(6):1810-1819.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2008.01548.x>
27. URDANIGO, J.P.; DÍAZ PONCE, M.; CAJAS, C.T.-H.; SÁNCHEZ FONSECA, C.; YONG BENÍTEZ, R.; ARMIJO ALBÁN, K.; GUERRERO CHÚEZ, N.; MANCERA-RODRÍGUEZ, N.J. 2019. Diversity of aquatic macroinvertebrates along creeks with different riparian cover in Murocomba Protector Forest, Ecuador. *Rev. Biol. Trop.* 67(4):861-878.
<http://dx.doi.org/10.15517/rbt.v67i4.35190>
28. VILLADA-BEDOYA, S.; OSPINA-BAUTISTA, F.; DIAS, L.G.; ESTÉVEZ VARÓN, J.V. 2017. Diversidad de insectos acuáticos en quebradas impactadas por agricultura y minería, Caldas, Colombia. *Rev. Biol. Trop.* 65(4):1635-1659.
<https://doi.org/10.15517/rbt.v65i4.26903>
29. WAHL, C.M.; NEILS, A.; HOOPER, D. 2013. Impacts of land use at the catchment scale constrain the habitat benefits of stream riparian buffers. *Freshw. Biol.* 58(11):2310-2324.
<https://doi.org/10.1111/fwb.12211>
30. ZÚÑIGA, M. DEL. C.; CHARÁ, J.; GIRALDO, L.P.; CHARÁ-SERNA, A.M.; PEDRAZA, G.X. 2013. Composición de la comunidad de macroinvertebrados acuáticos en pequeñas quebradas de la región andina colombiana, con énfasis en la entomofauna. *Dugesiana.* 20(2):263-277.

Pares evaluadores

El Comité Editorial y el Comité Científico desean expresar sus agradecimientos a todas las personas que colaboraron en la evaluación de manuscritos, entre los meses de enero a junio de 2022. Nuestra gratitud a su invaluable colaboración.

En reconocimiento publicamos a continuación sus nombres:

1. Ph.D. Fredy Armando Aguilar Aguilar, Fundación Universitaria Agraria de Colombia, Bogotá, **Colombia**
2. Ph.D. Jorge Aguilar Ávila, Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, **México**
3. Ph.D. Manuel Alvarez Vera, Universidad Católica de Cuenca, Cuenca, **Ecuador**
4. Ph.D. Hernán Jair Andrade Castañeda, Universidad del Tolima, Ibagué, **Colombia**
5. M.Sc. Jerry Omar Arana Maestre, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, **Perú**
6. Ph.D. Rita María Ávila G. de Hernández, Universidad Centrooccidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto, **Venezuela**
7. Ph.D. Alesandro Bail, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, **Brasil**
8. Ph.D. Juan Carlos Camargo García, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, **Colombia**
9. Postdoc. Gregorio Guadalupe Carbajal Arizaga, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, **México**
10. Ph.D. Fernando Casanoves Boschetti, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, **Costa Rica**
11. Postdoc. Gloria Patricia Castillo Urquiza, Universidad del Magdalena, Santa Marta, **Colombia**
12. Ph.D. Rodolfo José Cavalcanti Souto, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, **Brasil**
13. Postdoc. Juan Carlos Cedrón Torres, Omicron Dephaa, Santa Cruz de Tenerife, **España**
14. Ph.D. Marco Fernando Cerna Cevallos, Universidad Politécnica Salesiana del Ecuador, Cuenca, **Ecuador**
15. Ph.D. Ernesto Javier Chura Yupanqui, Universidad Nacional del Altiplano Puno, Puno, **Perú**
16. Ph.D. Alberto Espinosa Cuéllar, Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales, Villa Clara, **Cuba**
17. Ph.D. Gonzalo Figueiro Lastreto, Universidad de la República, Montevideo, **Uruguay**
18. Ph.D. Víctor Julio Flórez Roncancio, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, **Colombia**
19. Ph.D. Paula García Godos Alcázar, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, **Perú**
20. Ph.D. Luiz Augusto Gomes de Souza, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, **Brasil**
21. Postdoc. Jorge González Aguilera, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Chapadão do Sul, **Brasil**
22. Postdoc. Lucila González Molina, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Ciudad de México, **México**
23. Esp. Carlos Eduardo Jiménez Canizales, Clínica Traumanorte, Tolima, **Colombia**
24. Ph.D. Juan Fernández Labbé, Universidad Católica Silva Henríquez de Chile, Santiago, **Chile**
25. Ph.D. Magdalena Lagunas Vázquez, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología asignada al Centro de Cambio Global y la Sustentabilidad A.C., Tabasco, **México**
26. Ph.D. Pedro Antonio López, Colegio de Postgraduados, Puebla, **México**
27. Ph.D. Jorge A. Maldonado Jáquez, Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Ciudad de México, **México**
28. Ph.D. Tarsicio Medina Saavedra, Universidad de Guanajuato, Guanajuato, **México**
29. Ph.D. Lilia Leticia Méndez Lagunas, Instituto Politécnico Nacional, Oaxaca, **México**
30. Ph.D. Carlos Raúl Morales Nieto, Universidad Autónoma de Chihuahua, Chihuahua, **México**
31. M.Sc. Jaime Alberto Morón Cárdenas, Universidad del Magdalena, Santa Marta, **Colombia**
32. Ph.D. Walter Murillo Arango, Universidad del Tolima, **Tolima, Colombia**
33. Ph.D. Samuel Moisés Nucamendi Guillén, Universidad Panamericana, Jalisco, **México**
34. Ph.D. Miriam de la Caridad Nuñez Vásquez, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, San José de las Lajas, **Cuba**
35. Ph.D. Jorge Oliva Hernández, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Ciudad de México, **México**
36. Postdoc. Martha Olivera Angel, Universidad de Antioquia, Medellín, **Colombia**

37. Ph.D. Gustavo Gabriel Ovando, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, **Argentina**
38. Ph.D.(c). Ricardo Adolfo Parra Huertas, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, **Colombia**
39. Ph.D. Fredy Romel Pérez Azahuanche, Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo, **Perú**
40. Ph.D. Janeth Pérez García, Universidad CES, Medellín, **Colombia**
41. M.Sc. Jaime Pizarro Araya, Universidad de La Serena, La Serena, **Chile**
42. M.Sc. Adriana María Posada Arrubla, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Bogotá, **Colombia**
43. Ph.D. Gladis Isabel Rebak, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, **Argentina**
44. Ph.D. Hector Fabio Restrepo Guerrero, Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud, Bogotá, **Colombia**
45. Ph.D. Eduardo Rodríguez Guzman, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, **México**
46. Ph.D. Pedro Antonio Rodríguez Ramos, Universidad Tecnológica de La Habana “José Antonio Echeverría”, Cujae, La Habana, **Cuba**
47. Postdoc. Doris Amanda Rosero García, Independiente, **Colombia**
48. Ph.D. Mario Samper Kutschbach, Independiente, **Costa Rica**
49. Postdoc. Antonio José Steidle Neto, Federal University of São João del-Rei, Minas Gerais, **Brasil**
50. Ph.D. Marco Antonio Torres Castro, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, **México**
51. Ph.D.(c). Ignacio Eduardo Troncoso Toro, Universidad del Alba, Santiago, **Chile**
52. Ph.D. Andrea Vásquez García, Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Bogotá, **Colombia**
53. Ph.D. Elsa María Vásquez Trespacios, Universidad CES, Medellín, **Colombia**
54. M.Sc. Gustavo Daniel Vega Britez, Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, **Paraguay**
55. M.Sc. Jorge Enrique Villamil Carvajal, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Tolima, **Colombia**
56. Ph.D. Esteban Felipe Zalamea León, Universidad de Cuenca, Cuenca, **Ecuador**
57. Postdoc. Jorge Zegbe Domínguez, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Ciudad de México, **México**
58. Ph.D. Ingeborg Zenner de Polania, Investigador independiente, Bogotá, **Colombia**

