



REVISTA DE INVESTIGACIÓN AGRARIA Y AMBIENTAL

Volumen 12 Número 1 – (Enero - Junio de 2021)

e-ISSN 2145-6453

ISSN 2145-6097



Revista de Investigación Agraria y Ambiental

Volumen 12 Número 1 – (Enero - Junio de 2021) – e-ISSN 2145-6453

CUERPO DIRECTIVO

JAIME ALBERTO LEAL AFANADOR
Rector UNAD

CONSTANZA ABADÍA GARCÍA
Vicerrector Académica y de Investigación

EDGAR GUILLERMO RODRÍGUEZ
Vicerrector de Servicios a Aspirantes, Estudiantes y Egresados

LEONARDO YUNDA PERLAZA
Vicerrector de Medios y Mediaciones Pedagógicas

JULIA ALBA ANGEL OSORIO
Vicerrector de Desarrollo Regional y Proyección Comunitaria

LEONARDO EVEMELETH SANCHEZ TORRES
Vicerrector de Relaciones Internacionales

JORDANO SALAMANCA BASTIDAS
Decano Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente

JUAN SEBASTIÁN CHIRIVÍ SALOMÓN
Líder Nacional de Investigación

YOLVI PRADA
Líder Nacional de Investigación Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente

EQUIPO EDITORIAL

GERARDO OJEDA
Director Editor

MARGARITA ROSA BONILLA OSPINA
Co-editora

COMITÉ EDITORIAL

JORDI SARDANS
Investigador – Unidad de Ecología Global CREA-FCIC Universitat Autònoma de Barcelona, España.

EDMUND PERFECT
Department of Earth and Planetary Sciences.
University of Tennessee, Knoxville, Estados Unidos.

JÖRG BACHMANN
Institut für Bodenkunde. Leibniz Universität Hannover, Alemania.

ABÍLIO SOBRAL
Centro de Química.
Universidade de Coimbra, Portugal.

ELISABETE FIGUEIREDO
Departamento de Ciências Sociais, Políticas e do Território.
Universidade de Aveiro, Portugal.

XAVIER DOMENE
Centre de Recerca Ecològica i Aplicacions Forestals - CREA.
Universitat Autònoma de Barcelona, España.

FILIPA BESSA
Centro de Ciências do Mar e do Ambiente - MARE.
Universidade de Coimbra, Portugal.

MARCELO GANDINI
Facultad de Agronomía.
Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Argentina.

HENRY ZÚÑIGA BENÍTEZ
Departamento de Ingeniería Química. Universidad de Antioquia, Colombia.

CARLOS ABANTO RODRÍGUEZ
Manejo integral del bosque y servicios ecosistémicos.
Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana, Perú.

SUSANA RODRÍGUEZ BURITICÁ
Ecología Espacial.
Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Colombia.

ROLANDO TITO BACCA IBARRA
Departamento de Sanidad Vegetal.
Universidad del Tolima, Colombia.

FERNANDO FERNÁNDEZ MÉNDEZ
Facultad de Ingeniería Forestal.
Universidad del Tolima, Colombia.

JESÚS VARGAS HERNÁNDEZ
Departamento de Ciencias Forestales. Colegio de Posgraduados, México.

EDGAR JOSÉ JAIMES CÁRDENAS
Facultad de Agronomía.
Universidad de Los Andes, Venezuela.

MARTÍN ORLANDO PULIDO MEDELLÍN
Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Colombia.

Corrector de estilo
Adrian Grijalba Rativa

Diseño y diagramación
Hernán Vásquez Giraldo
Zonacreativacolombia@hotmail.com

Información, correspondencia, suscripciones y canje Revista de investigación agraria y ambiental

Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente
Universidad Nacional Abierta y a Distancia

Calle 14 Sur N. 14-23 Bogotá, Colombia

Teléfonos: (571) 344 3700 ext. 1529
e-mail: ríaa@unad.edu.co

La revista puede consultarse en su versión electrónica en:

<http://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/index>

PRESENTACIÓN

La Revista de Investigación Agraria y Ambiental (RIAA) es un proyecto editorial de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), que surge en el año 2009 con el fin de comunicar los resultados de investigaciones originales en el área agraria y ambiental realizadas por personas, grupos o instituciones tanto nacionales como internacionales. Con el fin de mantener y afianzar la confianza entre investigadores y público interesado en las temáticas de RIAA, la revista busca su inclusión en prestigiosas bases de datos y sistemas de indexación tanto nacionales como internacionales.

Misión

La misión de RIAA es fomentar la comunicación y colaboración entre investigadores nacionales e internacionales a través de la divulgación y transferencia de conocimiento relacionado con las ciencias agrarias y del medio ambiente, con el fin de fortalecer la generación de nuevo conocimiento.

Público al que se dirige

La Revista de Investigación Agraria y Ambiental (RIAA) es una publicación oficial de la Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente (ECAPMA) de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), destinada a publicar artículos resultantes de las investigaciones originales en el área agraria y ambiental y en las áreas de conocimiento afines, en temas relacionados con los avances en producción animal, agricultura y uso sostenible de los recursos naturales. Como ejemplos de áreas afines citamos, entre otras, ética, ecología, sociología, geo- grafía, historia, derecho, educación y economía, cuando se ocupan de perspectivas del desarrollo, de estilos de agricultura, de historia agraria, de desarrollo sustentable, de bioética y ética ambiental, de educación ambiental y extensión rural, de política agraria y ambiental, de legis- lación ambiental, forestal y agraria o de contribuciones significativas e innovadoras con visión sistémica, interdisciplinaria y/o transdisciplinaria. La publicación circula en formato impreso y en forma electrónica con acceso libre.

Periodicidad

RIAA es una publicación semestral (enero-junio y julio-diciembre).

CESIÓN DE DERECHOS

RIAA, al momento de recibir la postulación de un manuscrito por parte de su autor, ya sea a través de correo electrónico o postal, considera que puede publicarse en formatos físicos y/o electrónicos y facilitar su inclusión en bases de datos, hemerotecas y demás procesos de indexación.

Se autoriza la reproducción y citación del material de la revista, siempre y cuando se indique de manera explícita el nombre de la revista, los autores, el título del artículo, volumen, número y páginas.

Las ideas y conceptos expresados en los artículos son responsabilidad de los autores y en ningún caso reflejan las políticas institucionales de la UNAD.

INDEXACIONES

La Revista de Investigación Agraria y Ambiental es indexada en las siguientes bases de datos especializadas.

	<p>La Base Bibliográfica Nacional - BBN Publindex, que hace parte del Sistema Nacional de Indexación y Homologación, es dirigida por el Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación, Colciencias. Está constituida por la información integrada por las revistas especializadas de CT+I sobre su producción, donde se hace visible para consulta en línea la información bibliográfica recolectada de los documentos hasta el nivel de resumen.</p>
	<p>CABI es una organización intergubernamental sin fines de lucro, que proporciona información y servicios de carácter científico en el mundo desarrollado y en desarrollo. CAB Abstracts: es una base de datos que ayuda a documentar la literatura publicada en el mundo, en: agricultura, medio ambiente, ciencias veterinarias, ciencias vegetales, micología y parasitología, economía aplicada, ciencias de la alimentación, salud humana, nutrición y temas relacionados. Repositorio de Texto Completo de CABI: garantiza que los artículos estén disponibles y sean fácilmente localizados por científicos y profesionales a nivel mundial.</p>
	<p>EBSCO ofrece un repositorio de: documentos, audio libros, libros digitales y bases de datos que cubren diferentes áreas, niveles de investigación e instituciones: escuelas, bibliotecas públicas, universidades, entidades de salud, corporaciones y agencias gubernamentales. ENVIRONMENT INDEX: Base de datos especializada; información en temáticas relacionadas con: agricultura, ciencias del mar y agua dulce, ecología de ecosistemas, geografía, energía, fuentes renovables de energía, recursos naturales, contaminación y gestión de residuos, tecnología ambiental, legislación ambiental, políticas públicas, planificación urbana e impactos sociales.</p>
	<p>FUENTE ACADEMICA PREMIER: Esta base de datos proporciona una colección de revistas científicas de América Latina, Portugal y España; cubre todas las áreas temáticas con especial énfasis en agricultura, ciencias biológicas, economía, historia, derecho, literatura, filosofía, psicología, administración pública, religión y sociología.</p>
	<p>ACADEMIC SEARCH COMPLETE ofrece una gran colección de revistas académicas multidisciplinarias en texto completo, proporcionando a los usuarios acceso a información crítica de muchas fuentes únicas. Además, incluye texto completo revisado por pares. El contenido académico cubre una amplia gama de importantes áreas incluyendo antropología, ingeniería, derecho, ciencias y muchas más.</p>
	<p>REDIB (RED IBEROAMERICANA DE INNOVACIÓN Y CONOCIMIENTO CIENTÍFICO) es una plataforma para la agregación de contenidos científicos y académicos en formato electrónico en el espacio Iberoamericano. REDIB proporciona acceso y facilita la difusión y ejecución del trabajo científico. Los destinatarios de esta información son tanto la comunidad académica y sociedad en general, así como los responsables de la política científica y aquellos encargados de ponerla en práctica y analizarla.</p>
	<p>PERIÓDICA es una base de datos bibliográfica creada en 1978 en la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). La base de datos se actualiza diariamente y más de 10 mil registros son agregados cada año. Ofrece alrededor de 336 mil registros bibliográficos de artículos originales, informes técnicos, estudios de caso, estadísticas y otros documentos publicados en cerca de 1 500 revistas de América Latina y el Caribe, especializadas en ciencia y tecnología.</p>
	<p>Dialnet es una base de datos de acceso libre, creada por la Universidad de La Rioja (España), que difunde producción científica hispana.</p>
	<p>Latindex es un sistema de Información sobre las revistas de investigación científica, técnicoprofesionales y de divulgación científica y cultural que se editan en los países de América Latina, el Caribe, España y Portugal. La idea de creación de Latindex surgió en 1995 en la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y se convirtió en una red de cooperación regional a partir de 1997.</p>
	<p>La Plataforma Open Access de Revistas Científicas Electrónicas Españolas y Latinoamericanas e-Revistas, es un proyecto impulsado por el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) con el fin de contribuir a la difusión y visibilidad de las revistas científicas publicadas en América Latina, Caribe, España y Portugal.</p>



ProQuest conserva amplia y variada información, tanto de archivos históricos, como de los avances científicos actuales y maneja tecnologías digitales que optimizan la búsqueda, intercambio y gestión de la información. ProQuest proporciona servicios en el ámbito académico, empresarial, gubernamental, bibliotecas escolares y públicas, así como servicios a los investigadores profesionales, que les permiten la adquisición estratégica, gestión y búsqueda de colecciones de información.

Actualmente RIAA es visible en las bases de datos: ProQuest Agricultural Science Collection, ProQuest SciTech Collection y ProQuest Natural Science Collection.

ProQuest Agricultural Science Collection: Proporciona una amplia cobertura de todos los temas de agricultura y es apoyada por la Biblioteca Agrícola Nacional de EE.UU. La interfaz aporta características avanzadas y herramientas que permiten a los investigadores más precisión en las revisiones de literatura especializada y adaptada a su área del estudio.

ProQuest SciTech Collection: Combina una serie de bases de datos especializadas en Ciencias Naturales, Tecnología e Ingeniería en una interfaz dinámica que permite acceso a texto completo mediante una búsqueda integral a través de amplios resúmenes gestionados por equipos editoriales de expertos.

ProQuest Natural Science Collection: Proporciona una vasta cobertura de literatura en el ámbito de: Agricultura, Biología, Geología, Ciencias de la Tierra y Ciencias Ambientales. Ofrece acceso a texto completo de fuentes que incluyen: publicaciones académicas, revistas profesionales, informes, libros, actas de conferencias y material de relevancia.



OCLC (Online Computer Library Centre) es una cooperativa de 72,035 bibliotecas de 171 países con el doble objetivo de mejorar el acceso a la información y reducir el costo de las bibliotecas. El CRAI de la URV se unió a OCLC en mayo de 2014 cooperando con Worldcat Local. Más de 1.4 millones de artículos con acceso de un clic al texto completo (cuando los recursos están suscritos por la URV o son de acceso abierto) o las referencias bibliográficas que permiten ubicar u ordenar el artículo a través del servicio de préstamo interbibliotecario. Además, más de 40 millones de elementos digitales de fuentes confiables como Google Books y archivadores y repositorios digitales líderes como OAIster, ArchiveGrid y Hathitrust y con más de 25 millones de libros en bibliotecas de todo el mundo.



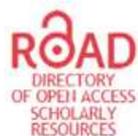
Directory of Open Access Journals (DOAJ) lista revistas de acceso libre, científicas y académicas, que cumplan con estándares de alta calidad al utilizar la revisión por pares o control de calidad editorial y que sean gratuitas para todos al momento de su publicación, sobre la base de la definición de acceso libre adoptada en la Budapest Open Access Initiative (BOAI).¹² El objetivo del DOAJ es "incrementar la visibilidad y facilitar el uso de revistas científicas y académicas de acceso libre, de manera que se promueve su mayor uso e impacto. Debido a que el acceso libre es un fenómeno mundial, el DOAJ incluye publicaciones de todo el mundo en muchos idiomas. Es posible navegar por las revistas o buscar por artículos en el interior de muchas revistas, por medio de una interfaz. En mayo de 2009, la base de datos bibliográfica contenía 4.177 revistas, de las cuales 1.531 estaban catalogadas a nivel de artículo.



BASE es uno de los motores de búsqueda más voluminosos del mundo, especialmente para recursos web académicos. BASE proporciona más de 120 millones de documentos de más de 6,000 fuentes. Puede acceder a los textos completos de aproximadamente el 60% de los documentos indexados de forma gratuita (Acceso abierto). BASE es operado por la Biblioteca de la Universidad de Bielefeld.



Open Academic Journals Index (OAJI) es una base de datos de texto completo de revistas científicas de acceso abierto. Fundador - International Network Center for Fundamental and Applied Research, Estados Unidos. La misión es desarrollar una plataforma internacional para indexar las revistas científicas de acceso abierto. El Índice Global Actual de la Revista (CGIJ) OAJI se crea teniendo en cuenta las tendencias y los desafíos mundiales actuales en el campo de la indexación de las revistas científicas. CGIJ OAJI considera las bases de datos de citas cuantitativas (WoS, Scopus), así como la base de datos básica de acceso abierto (DOAJ).



ROAD es un servicio ofrecido por el Centro Internacional ISSN con el apoyo del Sector de Comunicación e Información de la UNESCO. Lanzado en diciembre de 2013, ROAD ofrece acceso gratuito a los registros bibliográficos de ISSN que describen los recursos académicos en Acceso Abierto: revistas, series monográficas, actas de congresos, repositorios académicos y blogs académicos. Estos registros, creados por la red ISSN (89 centros nacionales en todo el mundo + el Centro Internacional), se enriquecen con información extraída de bases de datos de indexación y abstracción, directorios (DOAJ, Latindex, registro de Keepers) e indicadores de revistas (Scopus).



Galardón obtenido por RIAA en el año 2018 como una de las revistas colombianas con mayor

REVISORES ACADÉMICOS

Volumen 12 Número 1, año 2021.

La Revista de Investigación Agraria y Ambiental – RIAA, reconoce a los revisores su tiempo y esfuerzo para evaluar los trabajos que se someten a esta revista. Gracias por su destacada colaboración y sus valiosas aportaciones.

Alexander Navas Panadero , Universidad de La Salle, Colombia	Gabriela Arrieta Loyo , Universidad Nacional de Colombia, Colombia
Ana Lorenzo , Universidad de las Américas Puebla, México	Graciela Zarazúa , Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, México
Bibiana Betancur , Senckenberg Leibniz Institution for Biodiversity & Earth System Research, Alemania	Guiomar Melgar , Universidad Veracruzana, México
Camilo Zalamea , University of South Florida, Estados Unidos	Gustavo Adolfo Rodríguez , Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA, Colombia
Carlos Juan Alvarado , Instituto Tecnológico de Conkal, México	Helber Balaguera , Universidad Nacional de Colombia, Colombia
Carolina Sarmiento , University of South Florida, Estados Unidos	Iliana Ernestina Medina , Universidad Autónoma de Aguascalientes, México
César Boschi , Universidad Tecnológica Nacional, Argentina	Ingrid Romero , Corporación Universitaria Minuto de Dios -UNIMINUTO, Colombia
Cintia Palladino Almada , Universidad de la República de Uruguay, Uruguay	Iván Darío López , Institución Universitaria Antonio José Camacho, Colombia
Citlalli Harris Valle , Instituto Tecnológico Superior, Zacapoaxtla, México	Iván López , Institución Universitaria Antónío José Camacho, Colombia
Claudia Luna , Universidad Nacional del Nordeste, Argentina	Iván Meléndez Gelvez , Universidad de Pamplona, Colombia
Claudio Jobet , Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Chile	Jerson Esteban Rosero , Universidad de Nariño, Colombia
Cristian Camilo Villa , Universidad del Quindío, Colombia	Jesús Alfonso Torres , Universidad de La Salle, Colombia
David Saavedra , Servicio Nacional de Aprendizaje – SENA, Colombia	Jesús Geovanny Solarte , Universidad de Nariño, Colombia
Deisy Lisseth Toloza , Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Colombia	Jorge Andrés Segovia , Universidade Estadual Paulista, Brasil
Diana Escobedo Urías , Instituto Politécnico Nacional, México	José Alfredo Arreola , Centro de Investigaciones Tecnológicas del Noroeste, México
Diego García , Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Colombia	José Eduardo Rodríguez , Universidad Nacional Autónoma de México - UNAM, México
Edwin Castro Rincón , Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA, Colombia	Juan Chiriví , Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD, Colombia
Edwina Campos , Universidad Nacional Autónoma de México - UNAM, México	Juan Guillermo Popayán , Universidad Nacional de Colombia, Colombia
Fernanda Gamba , Universidad de la República de Uruguay, Uruguay	Julián Mejía , Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD, Colombia
Franklin Rivera , Universidad Intercultural de Chiapas, México	Julio Ramírez , Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA
Franz Betancourt , Instituto de Investigación Geológico y Energético, Ecuador	Karina Toledo , El Colegio de la Frontera Sur, México
Fredy López , Universidad del Cauca, Colombia	Luis Carlos Ortega , Universidad de Nariño, Colombia

REVISORES ACADÉMICOS

Volumen 12 Número 1, año 2021.

Luis Gustavo Hernández, Universidad Nacional de Costa Rica, Costa Rica

Marie Renard, Universidad Autónoma de Chapingo, México

Martha Olivera Ángel, Universidad de Antioquia, Colombia

Martin Pulido, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Colombia

Oscar Jaramillo Castaño, Corporación Universitaria Minuto de Dios, Colombia

Oswaldo Taboada, Colegio de Postgraduados, México

Pablo Roberto Stevenson, Universidad de Los Andes, Colombia

Patricio Apáez Barrios, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México

Paula García, Docente Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga

Piedad Campelo, Universidad de León, España

Regiane Ribeiro, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil

Ricardo Hernández Pérez, Fitolab S.A de C.V. Puxtla, Cautla, Morelos, México

Ricardo Vicente Pérez, Universidad de Guadalajara, México

Rubén Moreno Terrazas, Universidad Iberoamericana, México

Sonia Vázquez Flores, Tecnológico de Monterrey, México

Uberto Salgado Nieto, Universidad Nacional Autónoma de México - UNAM, México

William Alberto Cañón, Universidad de Caldas, Colombia

Yosef Gotlieb, David Yellin College of Education, Jerusalem, Israel

ÍNDICE

Editorial		
Director Editorial – Editor in chief: Gerardo Ojeda		
Coeditora - Coeditor: Margarita Bonilla		11
<hr/>		
Área Agrícola		
1. ALTERNATIVAS BIOLÓGICAS PARA EL CONTROL DE <i>Fusarium oxysporum</i> EN ARVEJA EN PAMPLONA, NORTE DE SANTANDER		
<i>BIOLOGICAL MEDIA FOR THE CONTROL OF FUSARIUM OXYSPORUM IN THE CROP OF UNDER PAMPLONA, NORTH OF SANTANDER</i>		
Leónides Castellanos González, Joe Manuel Torrado Martínez, Nestor Céspedes Novoa		13
<hr/>		
2. EVALUACIÓN AGRONÓMICA Y NUTRICIONAL DE OCHO LÍNEAS DE FRÍJOL CAUPÍ (<i>Vigna unguiculata</i> [L.] Walp.)		
<i>AGRONOMIC AND NUTRITIONAL EVALUATION OF EIGHT LINES OF COWPEA BEAN (<i>Vigna unguiculata</i> [L.] Walp.)</i>		
Carlos Enrique Cardona-Villadiego, Hermes Araméndiz-Tatis, Carlos Enrique Cardona-Ayala, Miguel Mariano Espitia-Camacho		29
<hr/>		
3. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE TARA (<i>Caesalpinia spinosa</i>) FRENTE A <i>Fusarium graminearum</i>		
<i>ANTIFUNGAL ACTIVITY OF TARA (<i>Caesalpinia spinosa</i>) PHENOLIC COMPOUNDS AGAINST <i>Fusarium graminearum</i></i>		
Mateo David León Durán, Myriam Ximena Mancheno Cárdenas		39
<hr/>		
4. EFECTO DEL ÁCIDO SALICÍLICO EN EL CONTROL DE LA SEPTORIOSIS Y SU EFECTO DE RENDIMIENTO EN DOS CULTIVARES DE TRIGO		
<i>EFFECT OF SALICYLIC ACID IN THE CONTROL OF SEPTORIA AND YIELD COMPONENTS IN TWO WHEAT CULTIVARS</i>		
Efren Venancio Ramos Cabrera, Zuly Yuliana Delgado Espinosa, Oscar Daniel Jiménez		51
<hr/>		
Área Pecuaria		
5. UTILIZACIÓN DE PCR PARA LA IDENTIFICACIÓN DE PIROPLASMOSIS EQUINA EN UN CRIADERO DE JAMUNDÍ (COLOMBIA)		
<i>USE OF PCR FOR THE IDENTIFICATION OF EQUINE PIROPLASMOSIS IN A FARM LOCATED IN JAMUNDÍ (COLOMBIA)</i>		
Indrid Marcela González Jiménez, Fernando Favian Castro Castro, Fredy Javier Angarita Alonso, Luis Gabriel Rivera-Calderón		63
<hr/>		
Área Ambiental		
6. EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA DEL AGUA Y LOS SEDIMENTOS EN EL EMBALSE LA FE, COLOMBIA		
<i>TOXICITY ASSESSMENT OF WATER AND SEDIMENT SAMPLES IN LA FE RESERVOIR, COLOMBIA</i>		
Amaringo, F., Molina, F.		73
<hr/>		
7. EFECTO DE LA DOSIFICACIÓN DE CO₂ EN LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE MICROALGAS <i>Chlorella vulgaris</i> Y <i>Scenedesmus obliquus</i>		
<i>EFFECT OF CO₂ DOSING ON GROWTH KINETICS OF <i>Chlorella vulgaris</i> AND <i>Scenedesmus obliquus</i> MICROALGAE</i>		
Milton Cesar Ararat Orozco, Oscar Eduardo Sanclemente Reyes, Leonardo Vergara		89
<hr/>		

8. BIOSURFACTANTS PRODUCED BY METAL-RESISTANT PSEUDOMONAS AERUGINOSA ISOLATED FROM ZEA MAYS RHIZOSPHERE AND COMPOST	
<i>BIOSURFACTANTES PRODUCIDOS POR LA PSEUDOMONAS AERUGINOSA AISLADA DE LA RIZÓSFERA Y COMPOSTA DE LA ZEA MAYS</i>	
Aguirre-Noyola J. L, Romero Ramírez Y, Ruvalcaba Ledezma J. C, Forero Forero A. V, León Rodríguez R, and Toribio Jiménez J	101
<hr/>	
9. ESTRATEGIAS PARA EL MEJORAMIENTO DE LA CALIDAD AMBIENTAL EN LA COMUNA TRES, SAN JUAN DE PASTO	
<i>STRATEGIES FOR THE IMPROVEMENT OF ENVIRONMENTAL QUALITY IN COMMUNE THREE, SAN JUAN DE PASTO</i>	
David Andrés Calvache M., Juan Camilo Pejendino S., Álvaro Javier Ceballos F.	113
<hr/>	
10. ESTUDIO DEL MANEJO, CLASIFICACIÓN Y RECOLECCIÓN DE FITOSANITARIOS EN EL CULTIVO DE FRÍJOL (<i>Phaseolus vulgaris</i>) EN SIBUNDOY PUTUMAYO (COLOMBIA)	
<i>MANAGEMENT, CLASSIFICATION AND COLLECTION STUDY OF PHYTOSANITAIRES IN THE BEANS CROP (<i>Phaseolus vulgaris</i>) IN SIBUNDOY PUTUMAYO (COLOMBIA)</i>	
Adriana del Socorro Guerra Acosta, Anderson Alexander Mena Pantoja, Melaly Estefany Burbano Montenegro, María Fernanda Burbano Montenegro, Lizeth María Pardo Potosí	133
<hr/>	
11. EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN OCUPACIONAL A RUIDO EN MICROEMPRESAS DE MADERA DE LA CIUDAD DE NEIVA EN EL 2019	
<i>OCCUPATIONAL NOISE EXPOSURE ASSESSMENT IN WOODEN MICROENTERPRISES OF NEIVA CITY IN 2019</i>	
Ingrith M. Romero Méndez, Dinory Serrato Rojas, Roberson Daniel Bernal Medina, Jhonathan Cabrera Urriago	153
<hr/>	
12. MÉTODOS DE ESCARIFICACIÓN QUÍMICA Y SUS EFECTOS EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE <i>Ochroma pyramidale</i> (CAV. EX LAM.) Urb.	
<i>METHODS OF CHEMICAL SCARIFICATION AND THEIR EFFECTS ON THE GERMINATION OF SEEDS OF <i>Ochroma pyramidale</i> (Cav. ex Lam.) Urb.</i>	
Virleydys Ríos Geovo, Leonomir Córdoba-Tovar, Pedro Luis Ramírez Mosquera, José Harry Copete Arroyo, Pablo Andrés Ramos Barón	165
<hr/>	
CÓMO CITAR - HOW TO CITE	179
<hr/>	
INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES – GUIDE FOR AUTHORS	181

EDITORIAL

Estimados lectores

Desde hace unos meses, nuestra cotidianidad ha estado marcada por la pandemia del COVID-19. Todos estamos en adaptándonos a esta nueva realidad y la actividad editorial de la revista, no ha sido ajena a este proceso. Gracias al trabajo conjunto de investigadores y revisores académicos, principalmente latinoamericanos, les podemos presentar a nuestros lectores este nuevo número. Agradecemos a la Universidad Abierta y a Distancia – UNAD, a nuestro Decano Jordano Salamanca, a la líder de Investigación, Yolvi Prada, a nuestros colaboradores del Sello Editorial, corrección de estilo, diagramación y, especialmente, a la Co-Editora de la revista, Margarita Rosa Bonilla, por su continuo y valioso apoyo a nuestra revista. Recientemente, hemos recibido buenas noticias de Publindex, la entidad responsable de la evaluación gubernamental de las revistas científicas Colombianas. La Revista de Investigación Agraria y Ambiental – RIAA, se encuentra ahora en la Categoría B y el Cuartil Q1. En consecuencia, nuestro reto será mantenernos aquí y mejorar cada día.

En el presente volumen, los lectores podrán disfrutar de artículos pertenecientes a las áreas agrícola, pecuaria y ambiental. En el caso del área agrícola, presentamos artículos relacionados con la actividad microbiana y el control de plagas en diferentes cultivos, así como la evaluación agronómica y nutricional del frijol. En el área pecuaria, presentamos dos estudios interesantes sobre métodos avanzados de identificación de enfermedades en equinos y la respuesta inmune en neonatos bovinos. En el área ambiental, presentamos a nuestros lectores diversos estudios sobre toxicología en agua y sedimentos, influencia del CO₂ en el crecimiento de microalgas y en la contaminación atmosférica, la obtención de biosurfactantes, el impacto ambiental de productos fitosanitarios y un estudio sobre como mejorar la calidad ambiental urbana.

Esperamos que los artículos presentados aquí, ayuden al avance científico en los campos de investigación agrario, pecuario y ambiental. Nuestro deseo es que pronto lleguen tiempos mejores y podamos sobreponernos a nuestras actuales limitaciones.

¡Saludos cordiales y un buen comienzo de año!

Gerardo Ojeda
Editor en jefe – Editor in chief

Margarita Bonilla
Co-editora – Co-editor

ALTERNATIVAS BIOLÓGICAS PARA EL CONTROL DE *Fusarium oxysporum* EN ARVEJA EN PAMPLONA, NORTE DE SANTANDER

BIOLOGICAL ALTERNATIVES FOR THE CONTROL OF *Fusarium
oxysporum* IN PEA CROP IN PAMPLONA, NORTH OF SANTANDER

¹Leónides Castellanos González, ²Joe Manuel Torrado Martínez,
³Nestor Céspedes Novoa

¹ PhD. en Ciencias Agrícolas. Universidad de Pamplona. Colombia

² Ingeniero Agrónomo. Universidad de Pamplona, Colombia

³ Administrador Ambiental y de los Recursos Naturales. ASPAGRO, Pamplona, Colombia

¹leonides.castellanos@unipamplona.edu.co, ²joe.torrado@hotmail.com,

³nestorcespedeshse@gmail.com

RESUMEN

Contextualización: la marchitez por *Fusarium* es la enfermedad más importante de la arveja (*Pisum sativum*) en Pamplona, donde se hace un uso indiscriminado de químicos

Vacío de conocimiento: existe poca evidencia científica sobre el uso y la eficacia de biocontroladores para la marchitez de la arveja por *Fusarium* en este municipio.

Propósito del estudio: el objetivo de la investigación fue evaluar alternativas biológicas de manejo para la marchitez por *Fusarium* spp. en el cultivo de arveja, en Pamplona, Norte de Santander con el fin de dar recomendaciones a los agricultores sobre su posible uso y proyectar investigaciones futuras.

Metodología: se condujo una investigación experimental, donde se evaluaron seis tratamientos: tres con biopreparados producidos por la Asociación de Productores Agropecuarios (ASPAGRO), solos o combinados, un antagonista comercial (*Trichoderma harzianum*), un tratamiento químico con benomil, y un testigo. Se identificó al *Fusarium oxysporum* como causante de la marchitez de la arveja en Pamplona. Se verificó que el producto comercial a base de *Trichoderma harzianum* logra reducir la incidencia y el Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABC-PE) de la marchitez por *Fusarium* en arveja de forma similar al Benomil.

DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3650>

Resultados y Conclusiones: el análisis de varianza para la incidencia de la marchitez demostró diferencia entre los tratamientos, los momentos de evaluación y entre las interacciones de los tratamientos y los momentos de evaluación, así como entre los tratamientos para la incidencia y el ABCPE al final del ciclo del cultivo. Los biopreparados Caldo Rizósfera y Microorganismos de Montaña de ASPAGRO redujeron la incidencia de la enfermedad y el ABCPE con respecto al testigo. Los tres biopreparados reducen la incidencia de la marchitez, aunque los rendimientos pueden disminuir en valores próximos al 10, 25 y 30% en los tratamientos con *Trichoderma*, Caldo Rizósfera y Microorganismos de montaña, respectivamente, en relación con el benomil. Por lo tanto, las dos primeras alternativas biológicas se consideran las mejores opciones para el control de la marchitez por *Fusarium* en arveja en Pamplona, aunque deben realizarse investigaciones para validarlos en áreas mayores.

Palabras clave: *Pisum sativum*; *Trichoderma*; Microorganismos de montaña; Caldo Rizósfera; marchitez vascular

ABSTRACT

Contextualization: *Fusarium* wilt is the most important pea (*Pisum sativum* L.) disease in Pamplona, where indiscriminate use of chemicals is applied.

Knowledge gap: There are no scientific reports of application or efficacy of biocontrollers for *Fusarium* wilt in pea in this municipality.

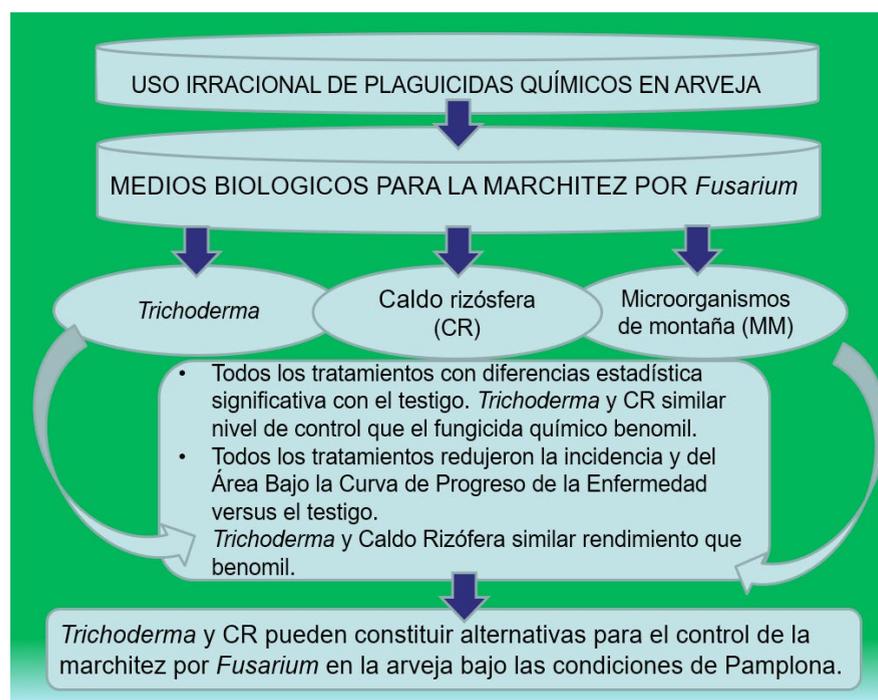
Purpose: This research aimed to evaluate biological alternatives for the control of *Fusarium* wilt in pea cultivation in Pamplona, Norte de Santander in order to give recommendations to farmers about its possible use and to project future research.

Methodology: An experimental design was carried out where six treatments were evaluated: three with biopreparations commercialized by the Association of Agricultural Producers (ASPAGRO), separately and in combination, a commercial antagonist (*Trichoderma harzianum*), a chemical treatment with benomyl, and a negative control. *Fusarium oxysporum* was identified as the causal agent of pea wilt in Pamplona. The commercial product based on *Trichoderma harzianum* was shown to reduce the incidence of the plant disease and the Area Under the Curve of Disease Progress (AUCPD) of *Fusarium* wilt in pea was similar to Benomil.

Results and Conclusions: The analysis of variance for the incidence of wilt showed a difference between the treatments, the evaluation moments and between the interactions of the treatments and the evaluation moments, as well as between treatments for the incidence and the AUCPD at the end of the crop cycle. Compared to negative control, ASPAGRO's biopreparations of Caldo Rizósfera and Microorganismos de Montaña reduced the incidence of the disease and the AUCPD. The three biopreparations achieved to reduce the incidence of wilt. Nevertheless, the yield decreased by values close to 10, 25, and 30% in the treatments with *Trichoderma*, Caldo Rizósfera, and Microorganismos de Montaña, respectively, in comparison of benomyl. Therefore, the first two biological means are considered the best options for the control of *Fusarium* wilt in peas in Pamplona, however research should be carried out to validate them in larger areas.

Keywords: *Pisum sativum*; *Trichoderma*; Microorganismos de montaña; Caldo Rizósfera; vascular wilt

RESUMEN GRÁFICO



1. INTRODUCCIÓN

En Colombia, la pudrición de las raíces en los cultivos de arveja (*Pisum sativum* L.) es muy común en Nariño, Cundinamarca, Boyacá y Antioquia. Esta se presenta en las primeras fases de desarrollo del cultivo (pre y pos emergencia). Las pérdidas pueden oscilar entre 50% y 100%, si no se toman medidas preventivas. La enfermedad puede causar pudriciones acuosas de las semillas o muerte prematura de estas (Tamayo, 2000; Buitrago *et al.* 2006). Osorio *et al.* (2012) caracterizaron el agente causal de la marchitez de la arveja en el municipio Manizales, y concluyeron, por métodos morfológicos, que el hongo que estaba presente causando la enfermedad era *Fusarium oxysporum* f.sp. pisi (CJJ Hall) WC Snyder y HN Hansen (Osorio y Castaño, 2011); sin embargo, se han relacionado con dicha enfermedad los hongos patógenos *F. oxysporum* f. sp. pisi, *Fusarium solani* (Mart.) Appel y Wr. f. sp. pisi, *Rhizoctonia* sp., y *Pythium* sp. (Tamayo, 2000).

Respecto al control químico, Pabón y Castaño (2012) concluyeron que el fungicida benomil era efectivo para manejar diferentes especies de *Fusarium* en arveja y recomiendan emplear solo las cantidades necesarias y restringir su uso a periodos críticos, para evitar la aparición de poblaciones resistentes del hongo, al igual que el uso del hongo biocontrolador *Trichoderma*, (*Trichoplant*® WP); sin embargo, señalan que su efectividad debe mejorarse con un manejo integrado de la enfermedad. Eraso *et al.* (2014) también estudiaron el efecto de 20 cepas de *Trichoderma* aisladas de diferentes zonas de Nariño, verificando que tres cepas presentaban mejor respuesta en el control de *F. oxysporum* f. sp. pisi. en plantas de arveja, específicamente en porcentaje de incidencia, altura de planta, longitud y materia seca de raíces. Sin embargo, en condiciones de campo, solo dos cepas manifestaron resultados significativos en el control de la enfermedad y los componentes de rendimiento. El control de

esta enfermedad no es un problema resuelto y, aunque existen posibilidades de manejar la enfermedad con alternativas biológicas más amigables con el medio ambiente, la obtención de una alta eficacia en campo, con reducción de las pérdidas de cosecha, constituye un desafío para la comunidad científica (Verma *et al.*, 2016).

Por otra parte, los Microorganismos Eficientes (ME) son una combinación de microorganismos beneficiosos de cuatro grupos principales: bacterias fototróficas, levaduras, bacterias productoras de ácido láctico y hongos de fermentación obtenidos de ecosistemas vírgenes, que tienen efecto contra bacterias y hongos fitopatógenos, y actúan como fertilizante foliar y como mejoradores de la fertilidad del suelo por fijar nitrógeno atmosférico y solubilizar el fósforo (BID, 2009). Mientras que los Microorganismos de Montaña (MM) son un tipo de ME, o sea, que es un consorcio microbiano que se obtiene de la rizosfera de las plantas y producen los mismos beneficios que los ME (Castro-Barquero *et al.*, 2015). Por otra parte, el Caldo Rizósfera es otro bioproducto obtenido por vía fermentativa a partir de las raíces de algunas plantas con adición de yogurt y otros productos naturales como la roca fosfórica, que incrementa microorganismos beneficiosos y se recomienda con los mismos fines que los microorganismos eficientes (Viteri *et al.*, 2008).

En una investigación desarrollada sobre la arveja en la Vereda Monteadentro, Pamplona, Norte de Santander se recomendó el empleo de productos naturistas para el control de enfermedades con vistas a disminuir el

alto uso de insumos agroquímicos (Peñaranda y Molina, 2011), lo que ha incentivado las investigaciones con alternativas biológicas. Por otra parte, se comercializan bioproductos por varias casas comerciales en Colombia y La Asociación de Productores Agropecuarios de Pamplona (ASPAGRO) produce y comercializa algunos bioproductos artesanales a base de microorganismos eficientes que podrían ayudar a disminuir el empleo de fungicidas químicos en el cultivo de la arveja; sin embargo, no se han realizado investigaciones científicas que verifiquen su eficacia en este cultivo, tanto de los comerciales, como de los artesanales, que permitan someterlo a la licencia ICA.

Considerando estos antecedentes, el objetivo de la presente investigación fue evaluar alternativas biológicas para el control de la marchitez por *Fusarium* en el cultivo de arveja (*Pisum sativum*) incluyendo biopreparados de producción local en las condiciones de Pamplona, Norte de Santander.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio y condiciones de suelo

La investigación se desarrolló en los cultivos de arveja de la Vereda Monteadentro del Municipio Pamplona, en la finca La Cruz de esta vereda, a una altura de 2350 m.s.n.m., y en los laboratorios de microbiología y del Centro de Investigación de Sanidad Vegetal e Insumos (CISVEB) de la Universidad de Pamplona, en el periodo comprendido de marzo a diciembre de 2017. La fase de campo se desarrolló desde marzo de 2017 hasta agosto de 2017, donde concurrieron las siguientes condiciones meteorológicas de temperatura, humedad relativa y lluvia (Figura 1).

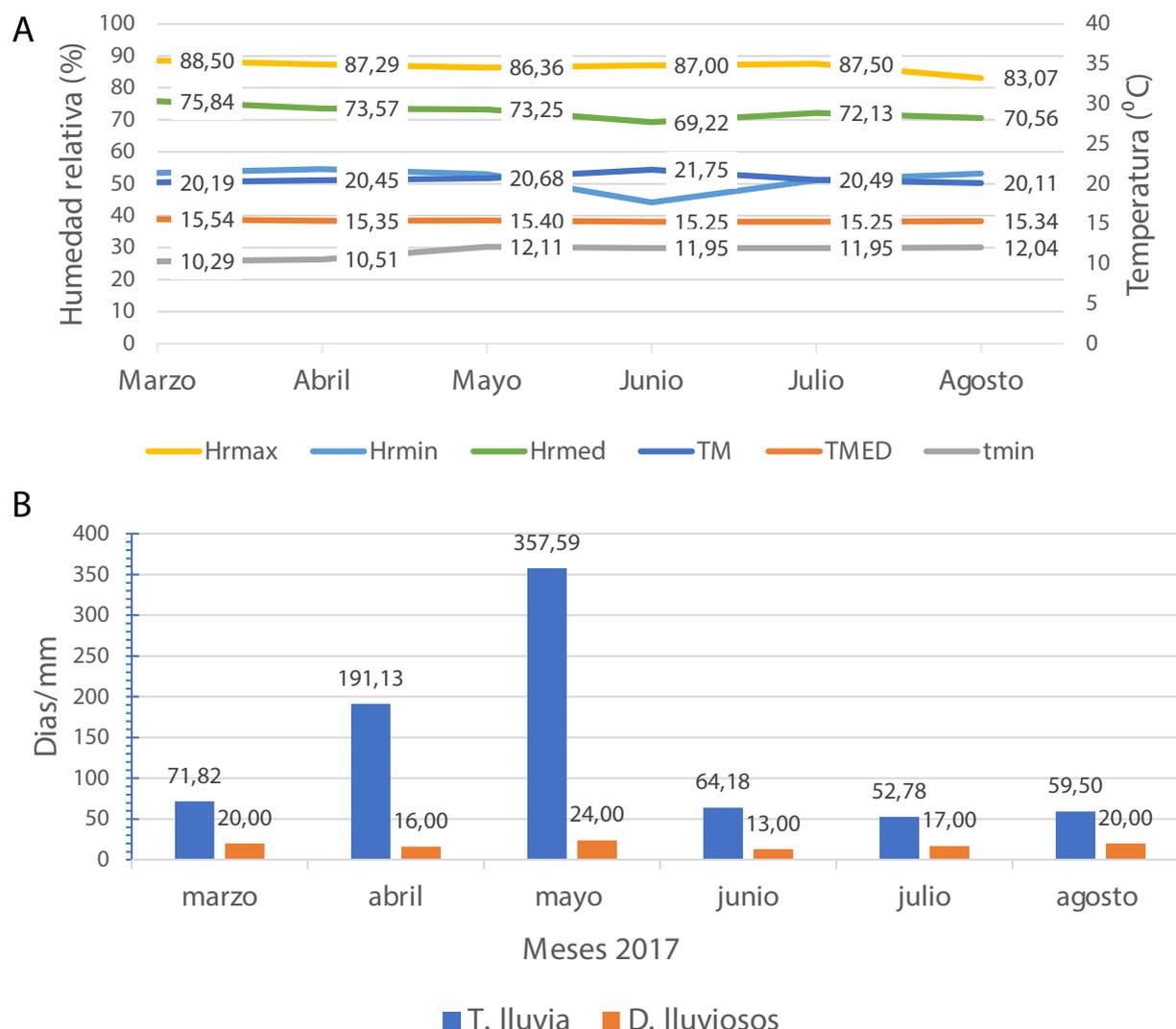


Figura 1. Condiciones meteorológicas que concurren durante el experimento de campo.

A: Humedad relativa y temperatura mensual y **B:** precipitación mensual

Fuente: Autores

Aplicación de alternativas y diseño de experimentos

Se llevó a cabo una investigación experimental en la Vereda Monte dentro, del municipio Pamplona, Norte de Santander, teniendo en cuenta que esta enfermedad presenta alta incidencia en la zona.

Se evaluaron seis tratamientos: tres con dos

biopreparados de ASPAGRO solos o combinados, uno biológico con un biopreparado comercial de *Trichoderma harzianum* TRICHOX WP 5x 10⁸ ufc/g de la firma BIOX, un tratamiento químico con benomil (Benomyl 50 WP) de la firma Del Monte y un testigo sin tratamiento. Los ingredientes, concentración y uso propuesto de los biopreparados de ASPAGRO aparecen en la Tabla 1.

Tabla 1. Ingredientes, concentración y uso propuesto de los biopreparados.

Biopreparados artesanales	Ingredientes	Concentración de microorganismos	Uso propuesto
Microorganismos de Montaña	Microorganismos Eficientes, melaza y salvado de arroz (<i>Oriza sativa</i> L.)	1,72 × 10 ⁶ ufc/mL	Biofertilizante con Bacterias Solubilizadoras de Fósforo y antagonista
Caldo rizosfera	Raíces de plantas: ortiga (<i>Urtica dioica</i> L.), borraja (<i>Borago officinalis</i> L.), kikuyo (<i>Pennisetum clandestinum</i> Hochts ex Chiov) trébol blanco (<i>Trifolium repens</i> L.) conseguidas en la granja, yogurt, melaza, agua oxigenada y harina de frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	1,24 × 10 ⁶ ufc/mL	Biofertilizante con Bacterias Solubilizadoras de Fósforo y antagonista

Fuente: Autores

Los tratamientos se realizaron cada 14 días dirigidos al suelo y a la parte inferior de las plantas en horas de la tarde. Estos se hicieron con una bomba manual de espalda de 20

L litros de capacidad. Las dosis de aplicación de cada tratamiento se relacionan en la tabla 2, siempre aplicados a 400 L/ha

Tabla 2. Dosis de aplicación y solución final.

Producto	Dosis
M. de Montaña (MM)	1 L/20 L
Caldo Rizósfera	1 L/20 L
MM + Caldo Rizósfera	1 L/20 L + 1 L/20 L
<i>Trichoderma</i>	0,8 g/20 L
Químico benomil	0,5 g/20 L (250 - 500 g/ha)

Fuente: Autores

Para el montaje del experimento, se contó con un área de 144 m² (15 × 9,6 m), en un área baja de la finca La Cruz donde se había observado alta incidencia de marchitez típica causada por *Fusarium* en un cultivo de arveja existente anteriormente, es decir, había una fuente de inóculo natural.

Se realizaron labores de preparación del suelo y se programó una fertilización antes de la siembra incorporando 1 kg de urea, 1 kg de

cloruro de potasio y 5 kg de 10-30-10.

Se empleó la variedad "Rabo Gallo", sembrada directamente en el campo en surcos separados entre sí, a una distancia de 120 cm y 2 cm entre surcos y plantas, respectivamente. El sistema de tutorado se estableció 20 días después de la siembra (dds) y un segundo tutor se colocó cuando las plantas tenían una altura promedio de 30 cm.

Se empleó un diseño experimental de bloques al azar con cuatro réplicas con un arreglo 6×4 (6 tratamientos con 4 réplicas), es decir, 24 unidades experimentales (parcelas). El tamaño de cada parcela experimental fue de 5 metros de largo por 4 metros de ancho con un área de 20 m². La distancia entre plantas fue de 2 cm y de 1 m entre surcos.

Incidencia de *Fusarium* spp.

Para confirmar el agente causal de la enfermedad, se tomaron plantas con los síntomas que fueron trasladadas a los laboratorios de microbiología y del Centro de Investigación de Sanidad Vegetal de Bioinsumos (CISVEB) de la Universidad de Pamplona, donde se desinfectaron con NaClO₃ al 5% por 2 minutos y posteriormente se incubaron en cámara húmeda y se realizaron siembras en el medio de cultivo artificial PDA (Papa Dextrosa-Agar), utilizado como medio general para el crecimiento de hongos. La identificación de los microorganismos presentes se realizó haciendo aislamientos en PDA, con la ayuda del microscopio óptico y la clave de para las especies de *Fusarium* (Leslie y Summerell, 2006). Se tuvo en cuenta la coloración de colonias, la utilización de la clave taxonómica con base a las estructuras reproductivas como conidios, mesoconidios, macroconidios, clamidosporas.

Para determinar la incidencia de *Fusarium* y el comportamiento de los tratamientos en el control de la enfermedad, se tomaron 20 plantas al azar por cada una de las parcelas, en los surcos centrados, tres días después de cada aplicación, evaluándose las plantas enfermas por *Fusarium* sobre el total evaluadas, cada 14 días. Con esta información se calculó la incidencia mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de incidencia} = \frac{n(\text{plantas afectadas})}{N(\text{evaluadas})} \times 100$$

(Ecuación 1) (Agrios, 2005)

Se determinó el Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE) en cada parcela según el método de Campbell y Madden (1990), para lo cual se utilizó la siguiente fórmula:

$$ABCPE = \sum [(X_i + X_{i+1})/2] * (T_{i+1} - T_i)$$

(Ecuación 2) (Campbell y Madden, 1990)

Donde:

X_i = distribución o intensidad de la enfermedad en el muestreo i

X_{i+1} = distribución o intensidad de la enfermedad en el muestreo $i+1$

T_i = tiempo i T_{i+1} = tiempo $i+1$

Rendimiento del cultivo

Al final del experimento se evaluaron indicadores del componente de rendimiento y el rendimiento de cada parcela. Los componentes del rendimiento evaluados fueron: vainas por planta en la cosecha (en 20 plantas por parcela), granos por vaina (100 vainas por parcela) y peso de las vainas. Para esta última variable, se pesaron 100 vainas por parcela para sacar el promedio. Se estimó el peso de la producción por parcela a partir del peso promedio de las vainas el número de vaina por parcela y el número de plantas por parcela. A partir de la producción y el área, se estimó el rendimiento en t. Se compararon los rendimientos en porcentajes contra el testigo.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza del porcentaje de incidencia de la marchitez por *Fusarium* en el que se consideraron dos factores: primero, los tratamientos con seis niveles (los cinco tratamientos y el testigo); y segundo, el momento de evaluación con cuatro niveles (evaluaciones 08/07, 22/07, 05/08 y 19/08).

También se realizó un análisis de varianza de clasificación simple para el ABCPE. Previamente se verificó el cumplimiento del supuesto de normalidad de cada variable dependiente por la prueba de Shapiro-Wilks, para cada grupo, con $n=16$ y observando $p>0,05$. Se compararon las medias por la prueba de Tukey, con un 5% probabilidad de error. Se empleó en todos los análisis el paquete estadístico AgroEstat (Barbosa y Maldonado, 2015).

Los datos de temperaturas, humedad relativa y precipitación obtenidos en el CISVEB se procesaron en Microsoft Excel obteniéndose los gráficos de los valores mínimos, medios

y máximos mensuales de la temperatura y la humedad relativa, así como de precipitación total y de días lluviosos.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los síntomas de la marchitez por *Fusarium* se detectaron en el tercer muestreo del experimento. A partir de ese momento, la incidencia de la enfermedad se mantuvo en incremento creciente, sobre todo en el testigo. El agente causal correspondió con *Fusarium oxysporum* tanto por las características de la colonia en PDA como la presencia de macroconidios típicos, mesoconidios y microconidios (Figura 2).

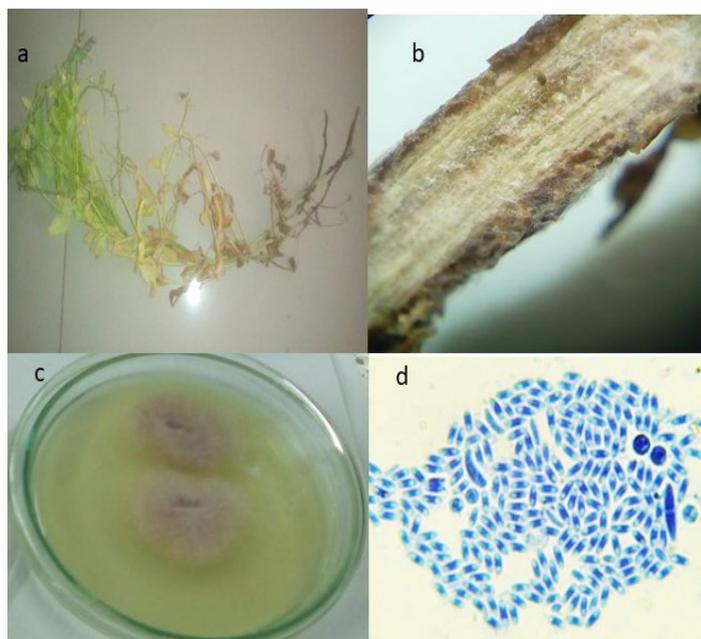


Figura 2. Planta de arveja con síntomas de amarillamiento y marchitez por *Fusarium oxysporum*. a); síntomas de necrosis en el tallo b); colonia de *Fusarium oxysporum*. en PDA c); microconidios, mesoconidios, macroconidios y clamidosporas de *Fusarium oxysporum* d)

Fuente: Autores

Los síntomas de la enfermedad y las características del microorganismo aislado conidióforo, fiálides y conidios (Tabla 3) corresponden con las descripciones de Gutiérrez y

Zapata (2011) en el cultivo de arveja, y confirmado el hongo como *Fusarium oxysporum* según Leslie y Summerell (2006).

Tabla 3. Características morfológicas del microorganismo aislado que permitieron identificarlo como *Fusarium oxysporum*

Estructuras	Características
Micelio	De crecimiento rápido, algodonoso, de color blanco, pero que a medida que crecía pigmentaba el medio PDA con una coloración violeta, más fácilmente evidente en el reverso de las cajas de Petri. Cuando pasaba el tiempo tomaba una coloración violeta pálido
Conidios	Presencia de microconidios, mesoconidios y macroconidios solitarios, estos últimos con hasta tres septos, rectos o ligeramente curvos.
Conidióforos	Terminando en fiálides, en ocasiones con aglomeraciones de microconidios
Clamidosporas	Presencia de clamidiosporas, hialinas, lisas o ligeramente rugosas, terminales o intercalares en las hifas

Fuente: Autores

Dada la importancia de la arveja en la zona, y la marchitez por *F. oxysporum*, se debe profundizar en la identificación molecular del patógeno aislado; es decir, realizar el "DNA barcoding" del hongo, para dejar definida y depositada la secuencia genética de esta cepa, y para continuar en la búsqueda de otras especies de *Fusarium* que también se hayan asociado a enfermedades radiculares de la arveja en otras zonas (Tamayo, 2000).

El resultado del ANOVA realizado a la incidencia de la marchitez por *Fusarium* mostró valores de F (Fisher) significativos $P < 0,05$ para el factor Tratamientos, para el Factor Momentos de evaluación y para la interacción Tratamientos x Momentos de evaluación. El mayor nivel de incidencia de la enfermedad

se observó para el testigo (76,62%) el 19/08 con diferencia estadística significativa con el resto de los tratamientos con bioproductos y con el fungicida benomil en ese momento. También presentó diferencia estadística significativa con el testigo en la evaluación anterior del 05-08.

Se observó una situación similar, en el 5-8, en que el testigo mostraba diferencia estadística con el resto de los tratamientos y también con el muestreo anterior. Los menores niveles de incidencia de la enfermedad se observaron a los 42 días de germinado el cultivo (08/07) en los tratamientos con MM, Caldo Rizósfera y el fungicida químico benomil, que difirieron del testigo, pero no de los tratamientos con *Trichoderma* y MM + Caldo Rizosfera (Tabla 4).

Tabla 4. Resultado del ANOVA para la incidencia la marchitez por *Fusarium* en arveja para la interacción Tratamientos × Momentos de evaluación.

Factor	Incidencia (%) / Fechas				
	Momento de evaluación				
Tratamientos	08-07	22-07	05-08	19-08	DMS (5%)
Testigo	23,12 Da	38,50 Ca	60,93 Ba	76,62 Aa	5,31
MM + Caldo Rizósfera	20,62 Dab	34,06 Cab	49,68 Bb	69,43 Ab	5,31
<i>Trichoderma</i>	17,37 Dab	30,62 Cb	45,31 Bbc	59,00 Ac	5,31
MM	16,87 Db	30,31 Cb	41,93 Bc	54,81 Acd	5,31
Caldo Rizósfera	15,68 Db	30,12 Cb	41,75 Bc	54,68 Acd	5,31
Químico	15,31 Db	29,68 Cb	40,81 Bc	50,62 Ad	5,31
DMS (5%)	5,91	5,91	5,91	5,91	
C.V. (%)	7,22				

* Las letras mayúsculas comparan los momentos de evaluación en las filas y las minúsculas comparan los tratamientos en las columnas por la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$). DMS: diferencia mínima significativa.

Fuente: Autores

Estos resultados ponen de manifiesto la superioridad de los biopreparados y el fungicida químico benomil al inicio y en otros momentos del experimento, independientemente del aumento progresivo de la enfermedad en el cultivo.

El resultado del ANOVA para el factor "Tratamientos" demostró que, en general, en los cuatro momentos de evaluación en las parcelas donde se aplicó *Trichoderma*, la incidencia de la enfermedad fue más baja comparada con el testigo y las tratadas con MM + Caldo Rizosfera; sin embargo, no reflejó diferencia estadística significativa con el

benomil y Caldo Rizósfera. Los tratamientos con MM y MM +Caldo Rizósfera también tuvieron diferencia estadística significativa respecto al testigo. Estos resultados fueron similares a los del Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad donde se destacó el tratamiento con *Trichoderma* con el menor valor de porcentaje de incidencia, pero sin diferencia estadística significativa con el tratamiento químico y Caldo Rizosfera y de igual forma MM +Caldo Rizósfera tuvieron diferencia estadística significativa con el testigo (Tabla 5).

Tabla 5. Incidencia y ABCPE de la marchitez por en los tratamientos del experimento para el control de esta enfermedad en el cultivo de arveja.

Factor (Tratamientos)	Incidencia (%)	ABCPE
Testigo	56,03 a	5240,81 a
MM + Caldo Rizósfera	45,34 b	4158,87b
<i>Trichoderma</i> 5x 10 ⁸ ufc/mL	30,42 e	2734,37 d
MM	38,04 c	3539,37c
Caldo Rizósfera	34,57 cd	3127,68 cd
Químico	33,53 de	3196,37 cd
C.V. (%)	8,70	7,1
Error Típico*	1,74	131,8

* Las medias con letras desiguales en las columnas difieren por la prueba de Tukey (P≤0,05)

Fuente: Autores

La comparación de las medias de la incidencia de la enfermedad mostró diferencia estadística significativa del último momento 19-08, con el mayor valor (62,25%) con relación a los anteriores, y el resto también con los otros, evidenciando un aumento progresivo de la enfermedad en el tiempo y con diferencia estadística significativa entre todos los momentos de muestreo.

La acción de los biopreparados de ASPAGRO es atribuible, para MM, a los hongos, bacterias y actinomicetos que contiene este, fundamentalmente los del último grupo que están en una concentración de $1,65 \times 10^6$ ufc/mL y, en el caso de CR, al gran contenido de bacterias que contiene $1,06 \times 10^6$ ufc/mL, aunque también están presentes hongos y actinomicetos en concentraciones de $1,06 \times 10^5$ ufc/mL y $6,6 \times 10^4$ ufc/mL, respectivamente (Castellanos *et al.*, 2018).

Durante el ensayo, la temperatura media ambiental estuvo oscilando entre 14 y 16°C. Se comprobó que los dos biopreparados de ASPAGRO y el de *Trichoderma* empleados pueden

realizar su efecto supresor de *Fusarium* a esas bajas temperaturas, ya que existe preocupación respecto al efecto de *Trichoderma* contra patógenos fungosos foliares como *Botrytis cinerea* Pers. (Helford *et al.*, 2000) por la demora en la germinación de los conidios del antagonista a temperaturas entre 12 y 14 °C.

Con relación a los componentes del rendimiento los granos/vaina, estos presentaron variaciones de entre 8 y 9, para los tratamientos biológicos solos y el químico, pero disminuyó a 6 y 5 para la mezcla MM +CR y el testigo, respectivamente; mientras que las vainas/plantas variaron entre 13, 75 y 16,25 para el tratamiento químico y los biológicos solos, y disminuyó a 9,5 para MM +CR y a 7,5 en el testigo. Además, la variable peso de las vainas (g/vaina) tuvo un comportamiento similar, con valores entre 12,5 y 15 (relativamente más altos) para los tratamientos biológicos solos y el químico, intermedio (9,5) para MM + CR y menor (7,5) para el testigo (Figura 3A). Los rendimientos alcanzaron valores bajos, 1,59 t/ha en el testigo y 2,25 t/ha en el tratamiento MM + CR, mientras que en el resto oscilaron

entre 4,29 y 6,69 t/ha. El mayor valor relativo de rendimiento se obtuvo en el control químico (6,69 t/ha). MM solo alcanza el 70,51% y

CR el 78,82% de este valor. Sin embargo, el tratamiento de MM + CR solo alcanzó el 37% (Figura 3B).

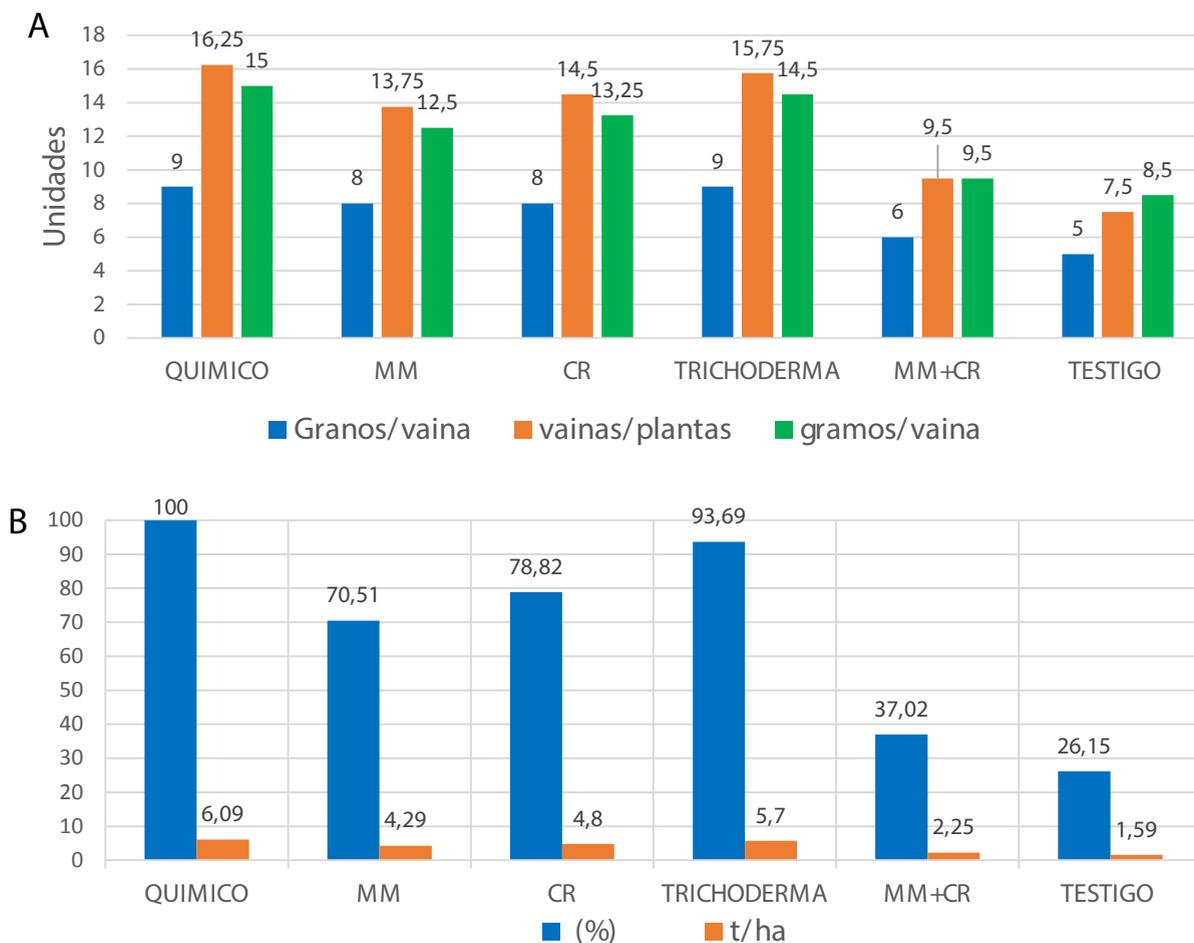


Figura 3. A. Componentes del rendimiento en los diferentes tratamientos evaluados contra la marchitez por *Fusarium* **B.** Rendimiento de arveja en los diferentes tratamientos evaluados contra la marchitez por *Fusarium* y porcentaje que representa respecto al químico.

Fuente: Autores

Se evidencia el efecto que hace la enfermedad sobre los componentes del rendimiento cuando no se hace un control eficaz. Se verifica la importancia la marchitez por *Fusarium*. en el cultivo de la arveja ya que en el testigo hubo una reducción de las tres cuartas partes del rendimiento, lo cual coincide con Eraso *et al.* (2014).

Los bioproductos MM y CR aplicados solos y

Trichoderma pueden constituir alternativas para el control de la marchitez por *Fusarium* bajo las condiciones de Pamplona, evitando el uso indiscriminado de químicos y la selección de razas resistentes a los fungicidas de alta efectividad como el benomilo, pero que actúan solo sobre un punto del metabolismo del hongo. Se hace necesario realizar validaciones de estos resultados en otros experimentos o en

parcelas demostrativas y confirmar si los resultados de control de Caldo Rizósfera siguen superando a los de MM. En la India también se ha recomendado el uso de biocontroladores de los géneros *Trichoderma*, *Bacillus* y *Pseudomonas* para el control de la marchitez por *Fusarium oxysporum* en garbanzo (Keote *et al.*, 2019), así como inoculantes bacterianos nativos para el control de la marchitez por *Fusarium* en este cultivo (Nagaraju *et al.*, 2017).

La mezcla de MM y CR resultó menos eficaz que MM y CR por separado, lo que indica que, en alguno de los bioproductos, puede contener microorganismos antagónicos del otro o que no hacen sinergias entre sí. Esto se puede explicar por los diferentes orígenes y composición de los biopreparados, ya que, en el caso de MM, provenían de un consorcio que convivían en la naturaleza con un alto número de ufc/mL de actinomicetes y CR con mayor ucf/mL de otras bacterias producidas en la fermentación de las plantas y los demás sustratos (Castellanos *et al.*, 2018).

Otros investigadores observaron que la aplicación de *Trichoderma* sp. mejora notablemente el crecimiento y desarrollo del cultivo de la arveja, influyendo en variables fisiológicas como germinación, área foliar, peso seco y fresco de la raíz, peso seco y fresco de la parte aérea, y longitud de raíz (Camargo y Avila, 2014). Esto se evidenció también en la presente investigación.

Resulta importante prospectar cepas nativas de este antagonista en campos de arveja de la zona, ya que, en la India, cepas nativas de *Trichoderma* spp. mostraron porcentajes de eficacia mayores, con diferencia significativa en relación al empleo de cepas comerciales de *T. hamatum* y *T. viride* tanto en condiciones de laboratorio como invernadero (Kripalini *et al.*, 2019).

Constanza *et al.* (2010) observaron que cuatro cepas de *Bacillus* spp. disminuyeron la severidad de la marchitez vascular en todos los ensayos y la atribuyeron a la producción de sustancias antifúngicas que facilitaron el aumento del peso seco de las hojas de las plantas, al permitir la obtención de nutrientes. Una cepa en específico aumentó la longitud de la raíz y el tallo, por tal razón se hace necesario continuar profundizando en las especies de bacterias presentes en los dos biopreparados de ASPAGRO que se estudiaron.

En ensayos de control usando *Trichoderma* para los tratamientos biológicos en la variedad de arveja Santa Isabel se obtuvieron 6,50 y 7,45 granos por vaina (Eraso *et al.* 2014), lo cual se corresponde con los resultados del presente trabajo.

El nivel de control obtenido con los tratamientos con benomyl apoyan los resultados de Pabón y Castaño (2012) quienes obtuvieron reducción de la incidencia de *F. oxysporum* en arveja con este fungicida con relación al testigo. De igual forma estos investigadores comprobaron la reducción de la marchitez por *Fusarium* en este cultivo con el empleo de diferentes cepas de *Trichoderma*. En otros resultados, se comprobó que el carbendazin (un fungicida del grupo de los bencimidazoles muy relacionado con el benomyl) resultó ser más efectivo que otros seis fungicidas probados contra *F. oxysporum* (Chanu *et al.*, 2019).

Los presentes resultados demuestran la posibilidad de emplear biocontroladores para la marchitez por *Fusarium* en arveja en Pamplona, en principio, con productos comerciales de *T. harzianum* como el que se empleó, así como los bioproductos MM y CR de ASPAGRO; sin embargo, deben validarse los resultados en áreas más extensas, debiéndose continuar las investigaciones para conseguir cepas nativas

de *Trichoderma* en los cultivos de arveja, con lo que pudiera aumentar la eficacia y los efectos benéficos de este antagonista.

4. CONCLUSIONES

Se verifica que el biopreparado comercial a base de *Trichoderma* logra reducir la incidencia y el ABCPE de la marchitez por *Fusarium* en arveja de forma similar al benomil y no se corre riesgo de crear fungorresistencia de este patógeno u otros que atacan al cultivo, disminuyendo la carga tóxica en los campos.

Los biopreparados Caldo Rizósfera y del Microorganismo de Montaña de ASPAGRO pueden constituir alternativas biológicas para el manejo de la marchitez por *Fusarium* en arveja, ya que lograron reducir la incidencia de la enfermedad al final del ciclo del cultivo y el ABCPE con respecto al testigo y, en el caso del primero, sin diferencia estadística con el fungicida químico.

Trichoderma comercial y los biopreparados Caldo Rizosfera de ASPAGRO y Microorganismo de Montaña, logran disminuir la incidencia la marchitez por *Fusarium*, aunque los rendimientos se pueden reducir en valores próximos al 10, 25 y 30% para cada biopreparado, respectivamente, con respecto al empleo del benomil.

En general *Trichoderma* y Caldo Rizósfera fueron las alternativas biológicas de mejor

comportamiento y pueden constituir alternativas para el control de la marchitez por *Fusarium* en la arveja bajo las condiciones de Pamplona.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

Primer autor: elaboración del proyecto, supervisión de la ejecución de la investigación en campo y laboratorio, realización de los análisis estadísticos, redacción de la versión final del artículo. **Segundo autor:** elaboración del proyecto, ejecución de la investigación en campo, participación en los análisis de laboratorio, recolección de la información y procesamiento de la misma, y redacción de la versión inicial del informe. **Tercer autor:** participación en la elaboración del proyecto, aporte en los productos locales, asesoramiento sobre las aplicaciones de los biopreparados, participación en la revisión de todas las versiones de los informes.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo brindado por la Asociación de Productores Agropecuarios de Pamplona (ASPAGRO) y, en particular, a la Finca Sol Vida donde se produjeron los biopreparados locales y a los agricultores de la finca La Cruz de la Vereda Monte dentro donde se realizó el experimento de campo, así como a la Universidad de Pamplona por la cooperación con los laboratorios de microbiología y la información meteorológica.

LITERATURA CITADA

- Agrios, G. (2005). Plant Pathology. Florida University. Elsevier Academic Press.
- Barbosa, J., y Maldonado, J. (2015). Experimentación agronómica e AgroEstat:sistema para análisis estadísticas de ensaios agronômicos. 2, Jaboticabal: Departamento de Ciências Exatas- Universidade Estadual Paulista (UNESP). https://scholar.google.com.br/scholar?hl=pt-BR&as_sdt=0,5&cluster=17992883676024259991
- BID. (2009). Banco Interamericano de Desarrollo. Manual Práctico de Uso de EM. Convenio Fondo Especial de Japón / BID ATN/JO-10792 UR. Uruguay. 35p.
- Buitrago, J.Y., Duarte C.J., y Sarmiento, A. (2006). El cultivo de la arveja en Colombia. Federación Nacional de Cultivadores de Cereales y Leguminosas – FENALCE– y Fondo Nacional Cerealista. Ed. Produmedios, Bogotá. Colombia.
- Camargo, D.F., y Ávila, E.R. (2014). Efectos de *Trichoderma* en el desarrollo de la arveja (*Pisum sativum*), *Ciencia y Agricultura*, 11(1), 91-100.
- Castellanos, L., Céspedes, N., Sequeda, A., Jaime, J.E., y Niño, L.J. (2018). Caracterización microbiológica de cinco biopreparados artesanales. *Revista Científica Agroecosistemas*. 6(3), 57-65.
- Castro-Barquero, L., Murillo-Roos, M., Uribe-Lorío, L., y Ymata-Chinchilla, R. (2015). Inoculación al suelo con *Pseudomonas fluorescens*, *Azospirillum oryzae*, *Bacillus subtilis* y Microorganismos de Montaña (MM) y su efecto sobre un sistema de rotación soya-tomate bajo condiciones de invernadero. *Agronomía Costarricense*, 39(3), 21-36.
- Chanu, W.T., Sinha, B., Devi, S., Sharma R., y Singh, N.G. (2019). In vitro assessment of fungicides against *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* causing *Fusarium* wilt of pea. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(4), 2487-2490. <http://www.phytojournal.com/archives/2019/vol8issue4/PartAP/8-4-368-739.pdf>
- Constanza, L.; Sánchez, L.C., Cuervo, J., Bautista, D., González, L., y Guevara, M. (2010). Evaluación del efecto biocontrolador de *Bacillus* spp., frente a *Fusarium* spp., bajo condiciones de invernadero en *Rosmarinus officinalis* L. *Publicación Científica En Ciencias Biomédicas*. 8(13), 1- 120.
- Eraso, C., Acosta, J., Salazar, C., y Betancourth, C. (2014). Evaluación de cepas de *Trichoderma* spp. para el manejo del amarillamiento de arveja causado por *Fusarium oxysporum*. *Corpoica. Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 15(2), 237-249.
- Gutiérrez, L.A., y Zapata, J. (2011). Caracterización del agente causante de la Pudrición de raíces de la arveja (*Pisum sativum* L.), enfermedad endémica en el municipio de Manizales-Caldas (Colombia). *Agronomía*, 19(2): 33-43.
- Helford, L.G., Stensvand, A., y Tronsmo, A. (2000). Effect of temperature and nutrient stress on the capacity of commercial *Trichoderma* products to control *Botrytis cinerea* and *Mucor piriformis* in greenhouse strawberries. *Biological Control*, 19, 149-160.
- Keote, GA., Reddy, M.S.P., Kumar, B. M., y Wasnikar A.R. (2019). Bio-inoculants against chick pea wilt incited by *Fusarium oxysporum* f. sp. Cicero. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(4), 1590-1594. <http://www.phytojournal.com/archives/2019/vol8issue4/PartAA/8-3-383-923.pdf>
- Kripalini, N., Kumar B.M., Devi S., y Sinha B. (2019). Studies on Survey of *Fusarium* wilt of Pea (*Pisum sativum* L.) and its Management by Native *Trichoderma* Isolates and Commercial *Trichoderma* under Pot Condition in Manipur. *International Journal of Bio-resource and Stress Management*, 10(1), 1-8. <http://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:ijbsm&volume=10&issue=1&article=001>
- Leslie J.F., y Summerell B.A. (2006). The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing, Hoboken, 1-2. <https://doi.org/10.1002/9780470278376>
- Nagaraju U., Kumar, U., Harinikumar K.M., y Chavan M. (2017). Effect of bacterial isolates against *Fusarium* wilt in chick pea. *Environment & Ecology*, 35(2A), 895–899. https://www.researchgate.net/profile/Mohan_Chavan3/publication/322138438_Effect_of_Bacterial_Isolates_Against_Fusarium_Wilt_in_Chick_Pea/links/5a4768f40f7e9ba868aa9e98/Effect-of-Bacterial-Isolates-Against-Fusarium-Wilt-in-Chick-Pea.pdf
- Osorio, G., Castaño, Z., y Gutiérrez, R. (2012). In-vitro efficacy of plantain lixiviates on *Fusarium oxysporum* Schlecht, causal agent of pea (*Pisum sativum* Linneo) roots rot. *Agronomía*, 20(1), 17-25p.
- Pabón J., y Castaño, J. (2012). Manejo de la pudrición radical de la arveja (*Pisum sativum* L) causada por *Fusarium oxysporum* Schlechtend. *Agronomía*, 20(2), 37-44, 2012.

- Peñaranda, G., y Molina, D.Y. (2011). La producción de arveja (*Pisum sativum*) en la vereda Montea-dentro, provincia de Pamplona, Norte de Santan-der. *Revista FACE*, 8(11),43-56.
- Tamayo, P.J. (2000). Enfermedades del cultivo de la arveja en Colombia: Guía de reconocimiento y control. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Corpoica, Fenalce, Sena y SAC. p. 49.
- Verma, D.K., Srivastava, S., Kumar, V. y Srivastav P.P. (2016). Biological Agents in *Fusarium* Wilt (FW) diagnostic for sustainable pigeon pea production, opportunities and challenges. In: Kumar P., Gupta V., Tiwari A., Kamle M. (eds) Current Trends in Plant Disease Diagnostics and Management Practices. p. 91-109. *Fungal Bio-logy* Springer. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-27312-9_4
- Viteri, S.E., Granados, M., y González, A.R. (2008). Potencial de los caldos rizosfera y súper cuatro como biofertilizantes para la sostenibilidad del cultivo de cebolla de bulbo (*Allium cepa*). *Agro-nomía Colombiana*, 26(3),517-524.

Conflicto de Intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses

**Licencia de Creative Commons**

Revista de Investigación Agraria y Ambiental is licensed under a Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional License.

EVALUACIÓN AGRONÓMICA Y NUTRICIONAL DE OCHO LÍNEAS DE FRÍJOL CAUPÍ (*Vigna unguiculata* [L.] WALP.)

AGRONOMIC AND NUTRITIONAL EVALUATION OF EIGHT LINES OF COWPEA BEAN (*Vigna unguiculata* [L.] WALP.)

¹Carlos Enrique Cardona-Villadiego, ²Hermes Araméndiz-Tatis,
³Carlos Enrique Cardona-Ayala, ⁴Miguel Mariano Espitia-Camacho

^{1,2,3,4} Universidad de Córdoba, Montería, Colombia

¹carvil@fca.edu.co, ²haramendiz@correo.unicordoba.edu.co,

³cecardona@correo.unicordoba.edu.co, ⁴mmespitia@correo.unicordoba.edu.co

RESUMEN

Contextualización: el fríjol caupí es importante para la seguridad alimentaria de la región Caribe de Colombia, donde se cultivan genotipos criollos de bajo rendimiento por hectárea, susceptibles a factores bióticos y abióticos, y bajos contenidos de minerales.

Vacío de conocimiento: se desconoce el comportamiento agronómico y la acumulación de minerales en el grano, de nuevos genotipos obtenidos por selección individual.

Propósito del estudio: evaluar el comportamiento agronómico y la calidad nutricional de ocho líneas homocigotas avanzadas de fríjol caupí del programa de mejoramiento de la Universidad de Córdoba, Colombia.

Metodología: el experimento se estableció entre abril a julio de 2014, bajo un diseño en

bloques completos aleatorizados con nueve tratamientos incluido el testigo Criollo-Córdoba, con cuatro repeticiones. Se evaluaron las características longitud de la vaina, longitud del grano, ancho del grano, peso de la vaina, número de semilla por vaina, peso de cien semillas, rendimiento de grano por hectárea y contenidos de hierro, zinc, fósforo y proteína.

Resultados y conclusiones: los genotipos presentaron diferencias significativas en número de semillas por vaina, longitud del grano, ancho de grano, rendimiento de grano por hectárea, contenido de hierro, fósforo y proteína en el grano. Las líneas L-042 y L-047 fueron las de mejor comportamiento agronómico y calidad nutricional. El análisis de componentes principales y el biplot permitieron identificar a los genotipos L-014 y L-047 asociados a longitud del grano, longitud de vaina y peso de

DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3709>

vaina, mientras que L-006, L-042 y CR-CO, están asociados a ancho de grano, peso de cien semillas y rendimiento de grano por hectárea, lo cual es importante para los programas de mejoramiento genético.

Palabras clave: caracteres agronómicos; genotipos; proteína; rendimiento.

ABSTRACT

Contextualization: The cowpea bean is important for the food security of the Caribbean region of Colombia, where creole genotypes of low-yielding per hectare, susceptible to biotic and abiotic factors, and low mineral content are cultivated.

Knowledge gap: The agronomic performance and mineral accumulation in the grain of new genotypes obtained by individual selection are unknown.

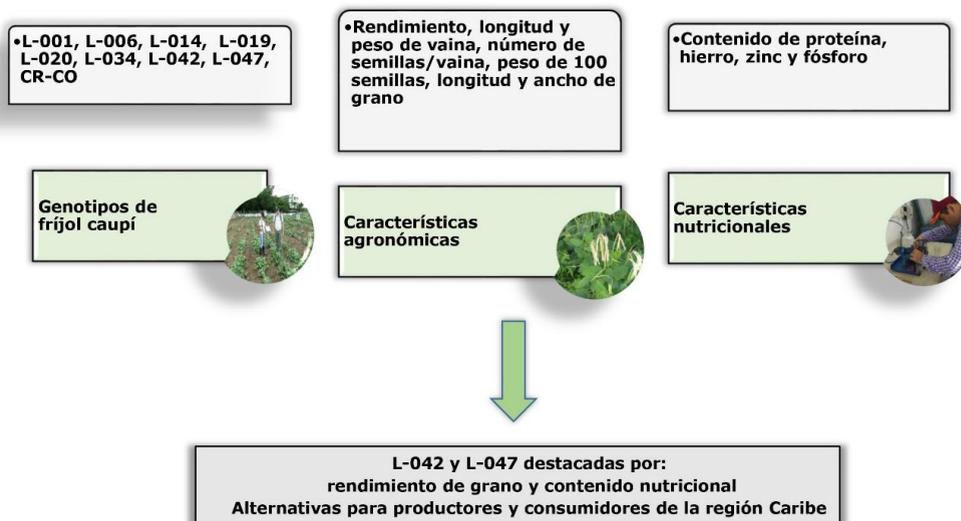
Purpose: To evaluate the agronomic performance and nutritional quality of eight advanced homozygous lines of cowpea beans from the breeding program of the Universidad de Córdoba, Colombia.

Methodology: The experiment was established between April and July 2014, under a randomized complete block design with nine treatments, including the Criollo-Córdoba as control, with four replications. The characteristics pod length, grain length and width and, pod weight, number of seed per pod, weight of one hundred seed, grain yield per hectare, iron, zinc, phosphorus and protein content were evaluated.

Results and conclusions: The genotypes showed significant differences in pod weight, number of seed per pod, grain length, grain width, grain yield per hectares, iron, phosphorus and protein content in the grain. Lines L-042 and L-047 were the ones with the best agronomic performance and the highest nutritional quality. Principal component analysis and biplot allowed to identify the L-014 and L-047 genotypes associated with grain length, pod length and pod weight, while L-006, L-042 and CR-CO, are associated to grain width, weight of one hundred seed and grain yield per hectare, which is important for genetic improvement programs for this species.

Key words: agronomic characters; genotypes; protein; yield.

RESUMEN GRÁFICO



Fuente: autores

1. INTRODUCCIÓN

El fríjol caupí (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) es una especie alimenticia importante en poblaciones de bajos ingresos de áreas tropicales y subtropicales del mundo (Guillén-Molina et al., 2016). Es utilizada por su valor proteico (Alidu, 2019) y contenido de hierro y zinc (Araméndiz-Tatis, Cardona-Ayala y Combatt-Caballero, 2016), es tolerante a sequía (Gerrano et al., 2018), y tiene capacidad de fijar nitrógeno y buen comportamiento en suelos de escasa fertilidad (Gerrano, Ransburg y Kutu, 2019). No obstante, a escala mundial, el rendimiento es de 400 kg ha⁻¹, por limitantes bióticos y abióticos (Jagadale, Bahure, Mirza, Mirche y Ghungarde, 2017).

El consumo de vegetales con bajo contenido de minerales genera hambre oculta, especialmente la deficiencia de hierro en poblaciones gestantes y en edad reproductiva, la deficiencia de zinc ocasiona atraso en el crecimiento, presión arterial alta y otras morbilidades (Zahir-Aziz et al., 2019). Esto demanda el mejoramiento de cultivares con ventajas nutricionales, agronómicas y económicas (Gerrano et al., 2019).

En Colombia, la producción de fríjol caupí está a cargo de pequeños productores, con restricciones tecnológicas, en áreas de 1.000 a 10.000 m² (Cardona, Araméndiz y Jarma, 2013). En 2018, en el Departamento de Córdoba, se cosecharon 31 ha de fríjol caupí, con un rendimiento de 0,74 t ha⁻¹ (Agronet, 2020). A pesar del rendimiento bajo del fríjol caupí, es importante como fuente de alimentación y de ingresos económicos en la región; y se consume de diversas formas (Araméndiz-Tatis et al., 2016).

En el mejoramiento genético de los cultivos, debe considerarse el rendimiento, la aceptación de los agricultores, el respeto por sus

hábitos alimenticios y el contenido de minerales esenciales en el órgano de interés para un impacto positivo en la salud humana (Welch y Graham, 2005). Estudios sobre el fríjol común por Tofiño-Rivera-A, Pastrana-Vargas, Melo-Ríos, Beebe y Tofiño-Rivera-R (2016), con pequeños agricultores del Caribe seco de Colombia, reportaron ventajas de los genotipos biofortificados con relación al testigo.

El objetivo del estudio fue evaluar el comportamiento agronómico y los contenidos de hierro, zinc, fósforo y proteína de ocho líneas homocigotas de fríjol caupí más el cultivar Criollo Córdoba (CR-CO) como testigo, del programa de fitomejoramiento de la Universidad de Córdoba.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló entre abril y julio de 2014 en la Universidad de Córdoba, ubicada en Montería-Colombia a los 8° 44' LN y 75° 53' LO, a una altitud de 14 m. Precipitación promedio de 1.300 mm, con humedad relativa de 83%, temperatura media de 28 °C y 6-7 horas de luz por día.

Como material vegetal, se utilizaron las líneas: L-001, L-006, L-014, L-019, L-020, L-034, L-042, y CR-CO como testigo. Las líneas provienen de selección individual de la población heterogénea homocigota Criollo-Córdoba.

El experimento se realizó bajo el diseño de bloques completos al azar, con nueve genotipos y cuatro repeticiones. Cada parcela fue de 30,0 m², formada por seis surcos de 5,0 m de largo, con un 1,0 m entre hileras y 0,5 m entre plantas. Se sembraron tres semillas por sitio, y ocho días después de la emergencia, se hizo raleo para dejar una plántula por sitio. El desarrollo de las plantas fue monitoreado diariamente, con buenas prácticas agrícolas

(Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2012).

VARIABLES AGRONÓMICAS EVALUADAS

Longitud de la vaina (LV): se midió la longitud, en centímetros, de cinco vainas en los cuatro surcos centrales por metro lineal tomadas al azar/parcela, y se obtuvo el promedio; **Peso de la vaina (PV):** se obtuvo el peso promedio, en gramos, de cinco vainas seleccionadas por/parcela, con una balanza analítica con precisión de 0,1 g; **Número de semillas por vaina (NSV):** se promedió el número de semillas de cinco vainas seleccionadas al azar por/parcela; **Peso de cien semillas (PCS):** se seleccionaron al azar 100 semillas sanas de cada parcela y se registró su peso (g); **Longitud del grano (LG) y Ancho de grano (AG):** se midió la longitud y el ancho, en centímetros, de 10 semillas tomadas al azar por/parcela; **Rendimiento (Rha):** se estimó el peso, en kilogramos, de la producción/parcela, expresado en $t\ ha^{-1}$ y ajustado a 14% de humedad.

El contenido nutricional se avaluó en muestras de 2,0 g de semilla/parcela, en $mg\ kg^{-1}$ para hierro (Fe), zinc (Zn) y fósforo (P), y se determinaron según los procedimientos AOAC 945.38, 969.32 y 931.01, respectivamente (Association Official Analytical Chemists [AOAC], 2005).

La cuantificación se hizo por espectrofotometría de absorción atómica de llama, en un equipo Perkin Elmer 3110, para hierro y zinc; el fósforo, por absorción molecular en un Perkin Elmer XLS. El nitrógeno se determinó por digestión, destilación y titulación, según el método de Kjeldahl para granos AOAC 979.09 (Association Official Analytical Chemists [AOAC], 2005). Se utilizó un equipo Buchi

K-355 y el contenido de proteína se cuantificó multiplicando el contenido de nitrógeno por el factor 6,25.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Para los caracteres agronómicos, se realizaron análisis de varianza a dos vías y comparación de medias con la prueba de Tukey al 5%. Para la calidad nutricional, se realizaron análisis de varianza a una vía y comparación de medias con la prueba DMS de Fisher al 5%. Se verificó el cumplimiento de los supuestos de normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk, y la homogeneidad de las varianzas de los errores con la prueba de Levene. Se realizó un análisis de componentes principales (ACP), desde la matriz de correlaciones, y selección de componentes principales con valores propios asociados mayores que 1,0. Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico SAS versión 9.2., y ACP biplot, para el que se usó el software libre Multi-Biplot (Villardón, 2018).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características agronómicas

El análisis de varianza detectó diferencias al $P < 0,05$ y $P < 0,001$ en cinco de las características agronómicas, excepto para LV y PCS (Tabla 1). Estos resultados evidencian variabilidad genética, la cual es importante para seleccionar genotipos con mejores características (Mofokeng, Mashilo, Rantso y Shimelis, 2020).

La ausencia de significancia en LV y PCS (Tabla 1), indica similitud de genes por la base genética estrecha al provenir de la misma población. Resultado contrario fue encontrado por Animasaun, Oyedeji, Azeez-Y, Mustapha y Azeez-MA (2015) y Lazaridi, Ntatsi, Savvas

y Bebeli (2017) quienes estimaron diferencias significativas en poblaciones criollas de origen genético diferente. Los registros de LV son inferiores a los reportados por Silva et al. (2014), quienes sostienen que las vainas cortas tienen menos riesgo de contacto con el suelo, menor pudrición y facilitan la cosecha mecánica (Guerra, Carvalho, Medeiros, Souza y Brito, 2017).

La línea L-042 demostró mayor valor de PV, seguida por L-014, L-020 y L-047 (Tabla 1), las cuales fueron estadísticamente similares al testigo. Estos resultados son inferiores a los reportados por Teodoro et al. (2019), en cultivos de frijol caupí originarios de Brasil. El PCS registró una media general superior a la reportada por Antônio, Bofana, Gimo y Sueco (2019) y todos los genotipos presentaron valores dentro del rango encontrado por Guillén-Molina et al. (2016).

El NSV osciló entre 9,25 y 12,0 (Tabla 1), similar al reportado por Singh-V, Singh-AK, Singh-MK, Raghuvanshi y Singh-U (2017) en India; sin embargo, Lazaridi et al. (2017), reportaron valores que oscilaron entre 4 y 16, lo que se atribuye a la diferencia en la cantidad de óvulos fecundados.

Los valores de LG oscilaron entre 0,76 y 0,96 cm, con el genotipo L-020 sobresaliendo con el mayor valor, mientras que L-001 y L-006, registraron el menor. Este resultado coincide con los trabajos de Morales-Morales et al. (2019) y evidencia ventaja competitiva para L-20, por el tamaño y por el color crema de la testa apetecido en el mercado nacional e internacional. El ancho del grano (AG) fue similar en los genotipos L-042, L-020, L-047 y CR-CO (Tabla 1), lo que corrobora la ventaja de L-020, para su comercialización por su mayor tamaño.

Tabla 1. Medias de características agronómicas y cuadrados medios de nueve genotipos de frijol caupí.

GENOTIPOS												
CA	L-001	L-006	L-014	L-019	L-020	L-034	L-042	L-047	CR-CO	MG	CMT	CV
LV	14,87 a	14,02 a	15,47 a	14,40 a	15,97 a	14,12 a	15,75 a	14,95 a	14,57 a	14,9	1,97 ^{ns}	8,3
PV	1,90 ab	1,67 b	2,17 ab	1,77 ab	2,07 ab	1,95 ab	2,27 a	2,07 ab	1,97 ab	2,0	0,14 *	10,9
NSV	11,50 a	10,00 a	11,75 a	10,75 a	9,25 a	12,00 a	9,75 a	10,00 a	11,00 a	10,7	3,80*	11,0
PCS	14,87 a	17,12 a	15,30 a	15,72 a	14,70 a	15,22 a	16,75 a	15,02 a	16,97 a	15,7	3,60 ^{ns}	13,3
LG	0,76 b	0,76 b	0,79 b	0,78 b	0,96 a	0,76 b	0,80 ab	0,86 ab	0,84 ab	0,82	0,02**	8,2
AG	0,59 d	0,61 cd	0,62 cd	0,59 d	0,62 cd	0,60 d	0,67 a	0,66 ab	0,65 abc	0,63	0,004**	3,4
Rha	0,91 ab	0,87 ab	0,71 ab	0,89 ab	0,39 b	0,87 ab	1,11 a	1,00 ab	0,91 ab	0,86	0,16*	30,3

CA: características agronómicas; MG: media general; CMT: cuadrados medios de genotipos; CV: coeficiente de variación (%); * y **: diferencias estadísticas significativas a $P < 0,05$ y $P < 0,001$, respectivamente; ns: no significativo. LV: longitud de vaina (cm); PV: peso de vaina (g); NSV: número de semillas/vaina; PCS: peso de cien semillas (g); LG: longitud del grano (cm); AG: ancho del grano (cm); Rha: rendimiento de grano ($t\ ha^{-1}$). Medias con letras iguales en la misma hilera no difieren significativamente (Prueba de Tukey al 5 %).

Fuente: autores

Tabla 2. Contenidos de hierro, zinc y fósforo (mg kg^{-1}), proteína (%), y cuadrados medios de nueve genotipos de frijol caupí.

Medias de genotipos y cuadrados medios												
EM	L-001	L-006	L-014	L-019	L-020	L-034	L-042	L-047	CR-CO	MG	CMT	CV
Fe	45,8cd	45,8cd	39,0d	47,6bc	49,7abc	48,4abc	54,1ab	54,6a	53,90ab	48,8	102,5**	9,5
Zn	53,2a	54,5a	52,6a	55,0a	53,3a	55,2a	54,8a	53,4a	55,12a	54,1	4,0 ^{ns}	7,6
P	3,3de	3,3e	3,5cd	3,2e	3,8b	3,7bc	4,3a	4,2a	3,60cd	3,7	0,61**	4,5
PR	26,7b	26,1bc	24,3d	25,9c	25,9c	26,5bc	28,8a	28,4a	26,80b	26,6	7,4**	2,2

EM: elemento mineral; Fe: hierro; Zn: zinc; P: fósforo; PR: proteína (%); MG: media general; CMT: cuadrados medios de genotipos; CV: coeficiente de variación (%); **: diferencias estadísticas significativas a $P < 0,001$; ns: no significativo. Medias con letras iguales en la misma hilera no difieren significativamente (prueba DMS al 5%).

Fuente: autores

El análisis de varianza para el rendimiento (Rha) estimó diferencias significativas entre genotipos (Tabla 1), derivadas de las divergencias genéticas. Se identificaron genotipos que rindieron por encima de los 1000 kg ha^{-1} , lo cual es una ventaja comparativa y representan un uso potencial para los productores. La prueba de medias determinó que L-042 triplicó al genotipo L-020, pero estadísticamente fue similar al resto de cultivares. Estos resultados son ligeramente superiores a los reportados por Gerrano et al. (2019) en Sudáfrica, y Agyeman, Berchie, Osei-Bonsu, Tetteh y Fordjour (2015) en Ghana.

Contenido nutricional del grano

El análisis para el contenido de hierro presentó significancia ($P < 0,001$) entre los genotipos (Tabla 2), siendo la línea L-047 la de mayor concentración, con $54,6 \text{ mg kg}^{-1}$; mientras que la línea L-014, la menor con $39,0 \text{ mg kg}^{-1}$. Esta variación podría obedecer a la capacidad de profundización de raíces y toma de nutrientes para su traslado al órgano de interés (Singh et al., 2017). Los contenidos de hierro son superiores a los reportados por Guillén-Molina et al. (2016), pero inferiores al frijol común (Zemolin, Ribeiro, Casagrande, Silva y Arns, 2016). El contenido de hierro de L-047, L-042 y

Criollo-Córdoba fue superior al de L-014, pero similar al de L-020, L-034, L-019, L-006 y L-001 (Tabla 2). Estos contenidos pueden satisfacer la demanda diaria de niños, mujeres embarazadas y, en general, de adultos (USDA, 2016).

El análisis de varianza para zinc no mostró significancia entre genotipos (Tabla 2), posiblemente por su base genética común. Los contenidos superiores a $52,6 \text{ mg kg}^{-1}$, superan las estimaciones Gerrano et al. (2018), lo cual es importante en la salud pública. Esto sugiere que el consumo de estos genotipos es ventajoso para reducir los problemas de carencia de zinc de poblaciones vulnerables, por la denominada malnutrición proteinoenergética (Hurtado-Quintero et al., 2016), ya que satisface las demandas biológicas.

Para el fósforo, el análisis de varianza mostró diferencias ($P < 0,001$) entre genotipos (Tabla 3). El contenido de este elemento varió de 3,2 a $4,3 \text{ mg kg}^{-1}$. El genotipo L-042 presentó el mayor contenido; mientras que L-019, el menor. La acumulación de fósforo en el grano obedece a la disponibilidad del elemento en el suelo, y la capacidad de absorción y transporte. Estos registros son inferiores a los reportados por Gerrano et al. (2018) respecto al

fríjol caupí, y su ingesta permite superar las deficiencias de fósforo en personas muy desnutridas, alcohólicas o con hipofosfatemia (< 3 mg/dl) (USDA, 2016).

El análisis de varianza para proteína reveló diferencias ($P < 0,001$) entre los tratamientos (Tabla 2). El contenido de proteína fue mayor en las líneas L-042 y L-047, con porcentaje superior al 28%, lo cual es muy relevante para las poblaciones vulnerables, por el aporte de aminoácidos esenciales en la alimentación.

Análisis de componentes principales (ACP)

El análisis de componentes principales determinó que, con los tres primeros componentes, se explica un 89,6% de la variabilidad total observada, y cada una posee un valor propio superior a 1,0 (Tabla 3), criterio considerado por Gerrano et al. (2018) y Mofokeng et al. (2020).

El CP1 retiene el 44,76% de la variabilidad total y está representado por las variables

asociadas al PV, LV y LG (Tabla 3). Esto indica que la formación de vainas de mayor peso y longitud, con granos largos, son las variables que más contribuyen a este componente. El CP2 retiene el 27,8% de la variabilidad total, y las variables que más contribuyeron fueron el PCS, AG y Rha.

Por último, el CP3 retiene el 17,0 % de la variabilidad total y está más influenciado por el NSV. En general, los dos primeros componentes explican el 72,6% de la variabilidad estimada y contribuyen eficazmente a la interpretación del ACP-biplot (Figura 1), que representa las siete características agronómicas asociadas a los genotipos (Mofokeng et al., 2020).

En el ACP-biplot (Figura 1) L-014 y L-047 están asociados a LG, LV y PV, y se oponen a los genotipos L-001, L-019 y L-034 que están asociados a NSV. Por otro lado, los genotipos L-006, L-042 y CR-CO, constituyen otro grupo asociado a AG, PCS y Rha.

Tabla 3. Valores y vectores propios de los tres primeros componentes principales para siete características agronómicas de nueve genotipos de fríjol caupí.

No.	Valores propios (Varianzas)			Características	Vectores propios		
	V	%V	%VA		CP1	CP2	CP3
1	3,13	44,7	44,7	LV	0,513	-0,04	0,220
2	1,95	27,8	72,6	PV	0,426	0,172	0,544
3	1,19	17,0	89,6	NSV	-0,353	-0,170	0,608
4	0,38	5,4	95,0	PCS	-0,152	0,550	-0,363
5	0,29	4,2	99,2	LG	0,486	-0,168	-0,302
6	0,04	0,6	99,8	AG	0,345	0,535	0,053
7	0,02	0,2	100,0	Rha	-0,231	0,569	0,246

V: varianza de cada eje; %V: porcentaje de la varianza total; %VA: porcentaje acumulado de la varianza total; CP1, CP2 y CP3: vectores propios con ponderaciones para cada característica.

Fuente: autores

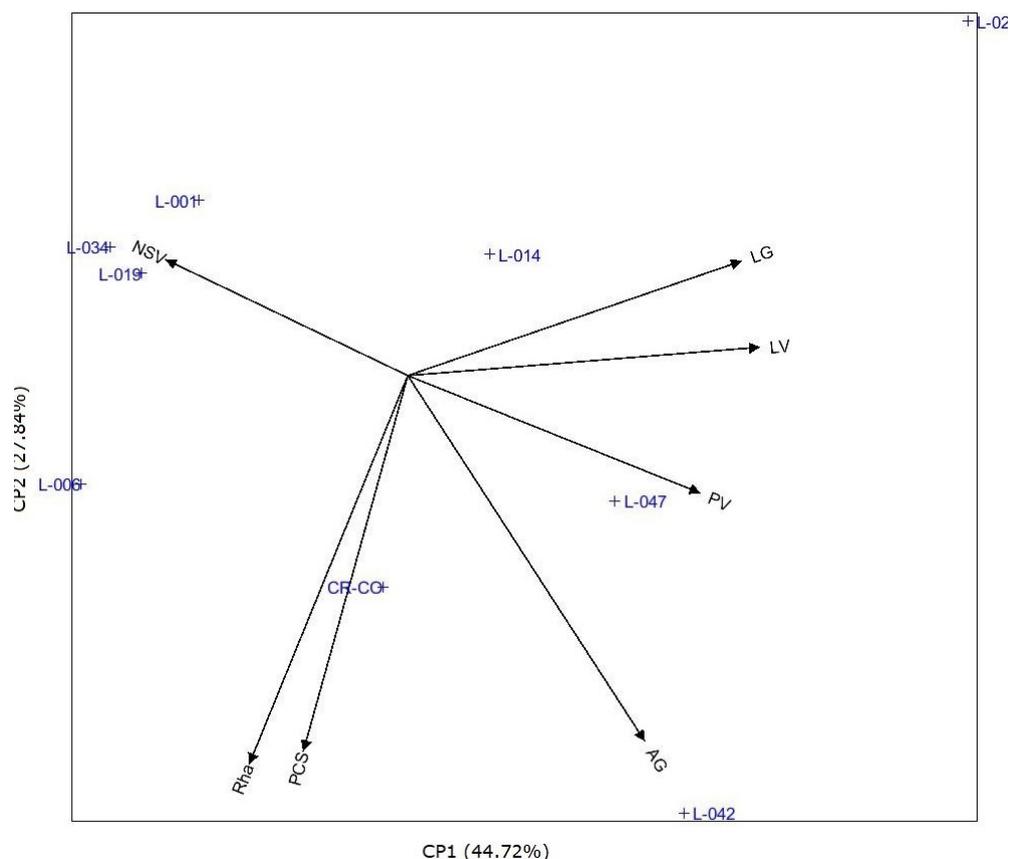


Figura 1. ACP-Biplot para siete características agronómicas de nueve genotipos de frijol caupí.

Fuente: autores

4. CONCLUSIONES

Las líneas L-042 y L-047 presentaron la mejor combinación de rendimiento de grano y contenidos de hierro, fósforo y proteína, y representan una alternativa para productores y consumidores de la región Caribe.

El ACP y el biplot permitieron identificar genotipos asociadas con características agronómicas específicas, lo cual es importante para el mejoramiento genético de la especie.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

Primer autor: metodología, investigación, base de datos, escritura borrador original.

Segundo autor: administrador del proyecto, metodología, investigación, escritura-revisión

y edición.

Tercer autor: investigación, análisis de datos, escritura-revisión y edición.

Cuarto autor: logística, investigación, revisión y edición.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a la UNIVERSIDAD DE CORDOBA por la financiación del proyecto "Obtención y entrega de cultivares de frijol caupí (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) biofortificados con adaptación a los efectos del cambio climático en el caribe colombiano" código FCA 01-11, numeral 1.2.08.110.18 y al personal de apoyo del Laboratorio de Fitomejoramiento de la misma institución.

LITERATURA CITADA

- Agronet. (2020). *Reporte: Área, Producción y Rendimiento Nacional por Cultivo*. Agronet, MinAgricultura. Recuperado de <https://www.agronet.gov.co/estadistica/Paginas/home.aspx?cod=1>.
- Agyeman K., Berchie, J., Osei-Bonsu, I., Tetteh, E., y Fordjour, J. (2015). Seed yield and agronomic performance of seven improved cowpea (*Vigna unguiculata* L.) varieties in Ghana. *African Journal of Agricultural Research*, 10(4), 215-221.
- Alidu, S.T. (2019). Evaluation of Planting Dates on Growth and Yield of Three Cowpea [*Vigna unguiculata* (L) Walp.] Genotypes in Northern Ghana. *Advances in Research*, 18(4), 1-14.
- Animasaun, D., Oyedeji, S., Azeez, Y., Mustapha, O.T., y Azeez, M.A. (2015). Genetic Variability Study Among Ten Cultivars of Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) Using Morpho-agronomic Traits and Nutritional Composition. *The Journal of Agricultural Sciences*, 10(2), 119-130. <http://doi.org/10.4038/jas.v10i2.8057>
- António, G.H., Bofana, J., Gimo, F., y Sueco, A.C. (2019). Evaluation of Grain Yield of Two Varieties of Cowpea (*Vigna unguiculata*) Subjected to Four Agricultural Practices in Gùrué District, Mozambique. *Journal of Experimental Agriculture International*, 36(5), 1-7. doi.org/10.9734/jeai/2019/v36i530247
- Araméndiz-Tatis, H., Cardona-Ayala, C., y Combatt-Caballero, E. 2016. Contenido Nutricional de Líneas de Frijol Caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp.) Seleccionadas de una Población Criolla. *Información Tecnológica*, 27(2), 53-60. doi: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642016000200007>
- Association Official Analytical Chemists. (2005). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Vol. 1. 18th. Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA.
- Cardona, C.E., Araméndiz-Tatis, H., y Jarma, A. (2013). Variabilidad genética en líneas de frijol caupí (*Vigna unguiculata* L. WALP). *Agronomía*, 21(2), 7-18.
- Gerrano, A.S., Ransburg, W.S., Venter, S.L., Sharjie, N.G., Amelework, B.A., Shimelis, H.A., y Labuschagne, M.T. (2018). Selection of cowpea genotypes based on grain mineral and total protein content. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*, 69(2), 155-166. doi: <https://doi.org/10.1080/09064710.2018.1520290>
- Gerrano, A.S., Rensburg, W.S., y Kutu, F.R. (2019). Agronomic evaluation and identification of potential cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) genotypes in South Africa. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*, 69 (4), 295-303. doi: <https://doi.org/10.1080/09064710.2018.1562564>
- Guerra, J.V., Carvalho, A.J., Medeiros, J.C., Souza, A.A., y Brito, O.G. (2017). Agronomic performance of erect and semi-erect cowpea genotypes in the north of minas gerais, Brazil. *Revista Caatinga*, 30 (3), 679 – 686. doi.org/10.1590/1983-21252017v30n316rc
- Guillén-Molina, M., Márquez-Queiroz, C., Cruz-Lázaro, E., Velásquez-Martínez, J.R., Soto-Parra, J.M., García-Carrillo, M., y Orozco-Vidal, J.A. (2016). Biofortificación de frijol caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp) con hierro y zinc. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 17, 3427-3438. doi: <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i20.986>
- Hurtado-Quintero, C., Mejía, C., Mejía, F., Arango, C., Chavarriaga, L.M., y Grisales-Romero H. (2016). Malnutrición por exceso y déficit en niños, niñas y adolescentes, Antioquia, 2015. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 35(1), 58-70. doi.org/10.17533/udea.rfnsp.v35n1a07
- Jagadale, A.R., Bahure, G.K., Mirza, I.A.B., Mirche, S.H., y Ghungarde, S.R. (2017). Effect of Plant Geometry and Fertilizer Levels on Yield and Economic of Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(5), 1518-1522. doi: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.605.165>
- Lazaridi, E., Ntatsi, G., Savvas, D., y Bebeli, P.J. (2017). Diversity in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) local populations from Greece. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 64: 1529–1551. doi.org/10.1007/s10722-016-0452-6
- Mofokeng, M.A., Mashilo, J., Rantso, J.M., y Shimeelis, H. (2020). Genetic variation and genetic advance in cowpea based on yield and yield-related traits. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*, 69(4), 295-303. doi.org/10.1080/09064710.2020.1749295
- Morales-Morales, A., Andueza, R., Márquez, C., Benavides, A., Tun, J., González, A., y Alvarado, C. (2019). Caracterización morfológica de

- semillas de frijol caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp) de la Península de Yucatán. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 6(18), 463-475. doi: doi.org/10.19136/era.a6n18.2171
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (2012). Manual de Buenas Prácticas Agrícolas para el Productor Hortofrutícola. Recuperado de https://www.google.com/search?client=firefox-b-d&ei=UNWQX5P5BZGB5wKygr3QBA&q=Manual+de+buenas+pr%C3%A1cticas+agr%C3%ADcolas+FAO+2012&oq=Manual+de+buenas+pr%C3%A1cticas+agr%C3%ADcolas+FAO+2012&gs_lcp=CgZwc3ktYWIQAzoECAAQRzoGCAAQFhAeULiyAliMxgJgySkCaABwAngAgAHMAYgBnQuSAQUwLjcuMzGBAKABAaoBB2d3cy13aXrIAQjAAQE&scient=psy-a&b&ved=0ahUKewiT4ZXX-8bsAhWRwFkKHTJBD0oQ4dUDCAw&uact=5
- Silva, A.C., Morais, O.M., Santos, J., Aredes, L., Silva, C., y Rocha, M. (2014). Estimates of genetic parameters in *Vigna unguiculata*. *Revista de Ciências Agrárias*, 37 (4), 399-407.
- Singh, V., Singh, A.K., Singh, M.K., Raghuvanshi, T., y Singh, U. (2017). Morphological and Yield Traits of Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) under Integrated Nutrient Management. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6 (10), 3402-3407. doi: doi.org/10.20546/ijemas.2017.610.399
- Teodoro, L.P., Evangelista, J.S., Damacena, M.B., Elizeu, A., Coelho, I.F., Rodrigues, E.V., y Teodoro, P.E. (2019). Estimates of genetic divergence in cowpea by multivariate analysis in different environments. *Bioscience Journal*, 35 (6), 1681-1687. doi: doi.org/10.14393/BJ-v35n6a2019-42406
- Tofiño-Rivera, A., Pastrana-Vargas, I., Melo-Ríos, A., Beebe, S., y Tofiño-Rivera, R. (2016). Rendimiento, estabilidad fenotípica y contenido de micronutrientes de frijol biofortificado en el Caribe seco colombiano. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 17(3), 309-329. doi: doi.org/10.21930/rcta.vol17_num3_art:511
- USDA U.S. Department of Agriculture. (2016). *Food and Nutrition Information Center*. Recuperado de <https://www.nal.usda.gov/fnic/Dietary-Guidelines>
- Villardón, J.L. (2018). *MultBiplot Multivariate Analysis using Biplots*. Departamento de Estadística. Universidad de Salamanca. <http://biplot.usal.es/multbiplot/download/>
- Welch, R.M. y Graham, R.D. (2005). Agriculture: the real nexus for enhancing bioavailable micronutrients in food crops. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18 (4), 299-307. doi: doi.org/10.1016/j.jtemb.2005.03.001
- Zahir-Aziz, M., Yaseen, M., Abbas, T., Naveed, M., Mustafa, A., Hamid, Y., Aeed, Q., y Ming-Gang, X. (2019). Foliar application of micronutrients enhances crop stand, yield and the biofortification essential for human health of different wheat cultivars. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(6), 1369-1378. doi: [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(18\)62095-7](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62095-7)
- Zemolin, A.E., Ribeiro, N.D., Casagrande, C.R., Silva, M., y Arns, F.D. (2016). Genetic parameters of iron and zinc concentrations in Andean common bean seeds. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 38 (4), 439-446. doi: doi.org/10.4025/actasciagron.v38i4.30652

Conflicto de Intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses

**Licencia de Creative Commons**

Revista de Investigación Agraria y Ambiental is licensed under a Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional License.

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE TARA (*Caesalpinia spinosa*) FRENTE A *Fusarium graminearum*

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF TARA (*Caesalpinia spinosa*) PHENOLIC COMPOUNDS AGAINST *Fusarium graminearum*

¹ Mateo David León Durán, ² Myriam Ximena Mancheno Cárdenas

¹ Magister en Ciencias - Biotecnología, Universidad Nacional, Medellín, Colombia.

² Magister en Sistemas Integrados en Gestión de la Calidad, Ambiente y Seguridad, Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca, Ecuador.

¹matleon@unal.edu.co, ²mmancheno@ups.edu.ec

RESUMEN

Contextualización: *Fusarium graminearum* es un microorganismo de campo que afecta a gramíneas y causa grandes pérdidas, particularmente a cultivos de arroz. Para contrarrestar estos problemas fitosanitarios se aplican cantidades excesivas de plaguicidas, lo que causa daños a la salud y el ambiente. Una alternativa son los extractos vegetales con alto contenido de compuestos bioactivos.

Vacío de conocimiento: los taninos tipo pirogalol contenidos en las vainas de *Caesalpinia spinosa* poseen propiedades biológicas, la inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium graminearum* es efectiva en concentraciones bajas de UFC/ml.

Propósito del estudio: el objetivo de esta investigación fue determinar *in vitro* la actividad antifúngica de los compuestos fenólicos de la tara (*Caesalpinia spinosa*) frente a *Fusarium graminearum*.

Metodología: en primer lugar, se extrajeron los compuestos fenólicos por maceración y calentamiento (60 °C) mediante agua y una mezcla agua-etanol. Se determinó el contenido de compuestos fenólicos en los extractos mediante el método de Folin-Ciocalteu. En segundo lugar, se aisló una cepa de *Fusarium* obtenida de un cultivo de arroz y se identificó por claves taxonómicas; después, se realizaron suspensiones celulares con concentraciones 10⁷ y 10⁶ UFC/ml. Para la evaluación *in vitro*, un disco con inóculo de cada suspensión se colocó en medio cultivo agar papa dextrosa que contenía extracto de *Caesalpinia spinosa*.

Resultados y conclusiones: el extracto acuoso por calentamiento con un contenido de 5,88 g ácido gálico/100 g muestra seca inhibió 30 y 70% de crecimiento micelial de *Fusarium graminearum* a una concentración de 10⁷ y 10⁶ UFC/ml respectivamente. Compuestos

DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3755>

fenólicos de *Caesalpinia spinosa* presentaron propiedades de interés para el control de *Fusarium graminearum* y pueden ser ensayados *in vivo* e invernadero.

Palabras clave: compuestos fenólicos; fitopatógeno; *Fusarium graminearum*; inhibición

ABSTRACT

Contextualization: *Fusarium graminearum* is a field microorganism that affects grasses and causes great losses, particularly to rice crops. To counter these phytosanitary problems, excessive amounts of pesticides are applied, causing damage to health and the environment. An alternative is to plant extracts with a high content of bioactive compounds.

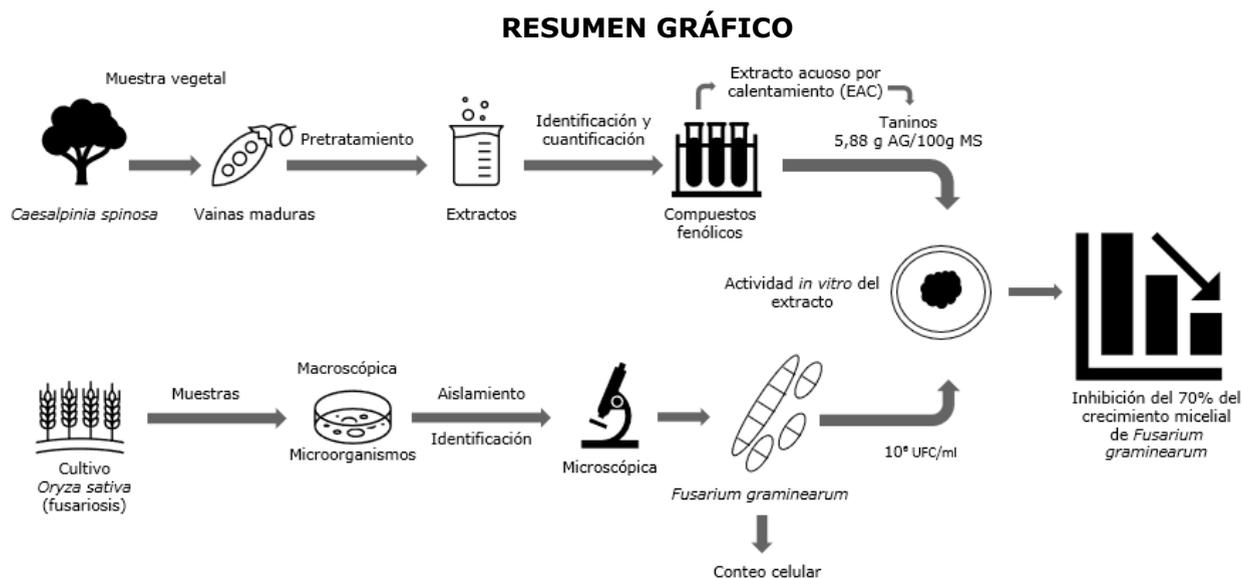
Knowledge gap: The pyrogallol tannins contained in *Caesalpinia spinosa* pods have biological properties, *Fusarium graminearum*'s micellial growth inhibition is effective at low concentrations of UFC/ml.

Purpose: Therefore, the objective in this research was to determinate *in vitro* the antifungal activity of tare phenolic compounds (*Caesalpinia spinosa*) against *Fusarium graminearum*.

Methodology: Firstly, the phenolic compounds extracted by maceration and heating (60 °C) through water and ethanol-water mix, the phenolic compounds content in the extracts determined by Folin-Ciocalteu method. Secondly, a *Fusarium* strain obtained from a rice culture isolated and identified by taxonomic keys, after cell suspensions made with concentrations 10^7 and 10^6 UFC/ml. For *in vitro* evaluation, a disc with an inoculum of each suspension placed in a culture medium containing *C. spinosa* extract.

Results and conclusions: Consequently, the aqueous extract by heating with a content of 5.88 g gallic acid/100 g dry sample inhibited 30 and 70% of mycelial growth of *Fusarium graminearum* with a concentration of 10^7 and 10^6 UFC/ml. Phenolic compounds of *Caesalpinia spinosa* have properties of interest for the control of *Fusarium graminearum* and can be tested *in vivo*, in the greenhouse.

Keywords: *Fusarium graminearum*; inhibición; phenolic compounds; phytopathogen



Fuente: Autores.

1. INTRODUCCIÓN

Un cultivo transitorio que se ve afectado por el ataque de microorganismos en el campo es el arroz, un cereal de importancia mundial que es un alimento básico para aproximadamente 3,500 millones de personas (Muthayya *et al.*, 2014). En el 2017 se produjeron aproximadamente 503 millones de toneladas métricas (t) en todo el mundo (FAO, 2018). Entre 2016 y 2017 (de abril a mayo) en Ecuador, la producción de arroz fue de 660 mil t; 90 mil t menos que durante el periodo 2015 - 2016. Esta diferencia ocurrió a causa del fenómeno del Niño y el ataque de plagas y enfermedades (Beillard & Vega, 2016). Se ha demostrado la presencia de *Bipolaris oryzae*, *Fusarium sp.*, *Phoma sp.*, *Phyllosticta sp.*, agentes causales de enfermedades en el grano que disminuyen la producción de arroz (Solis, 2016).

Por su parte, especies del género *Fusarium* se consideran principalmente como hongos de campo (Villa *et al.*, 2014); son de particular estudio porque pueden causar hasta el 90% de pérdidas en la cosecha (Briones, 2014) en monocultivos, como es el caso del arroz, y afectan la envoltura ocasionando la pudrición de la misma (Villanueva *et al.*, 2013; Bigirimana *et al.*, 2015). Los síntomas de *Fusarium graminearum* en etapa de floración del arroz son manchas de color café claro en las glumas; posteriormente, evolucionan a lesiones marrones de tamaño y formas irregulares; en la etapa de llenado, las glumas son de color púrpura; y para la cosecha, los granos maduros tienen color marrón oscuro (Tabarelli *et al.*, 2019). Actualmente, el control de microorganismos fitopatógenos se realiza mediante técnicas de agricultura convencional (De León *et al.*, 2013), con efectos negativos para la salud humana y daños al medio ambiente. Nuevas investigaciones plantean el uso de plaguicidas botánicos que reemplacen gradualmente a determinados plaguicidas químicos (Nava *et al.*, 2012).

Por consiguiente, los plaguicidas botánicos no generan resistencia y no se bioacumulan en el medio ambiente; son metabolitos secundarios (fitoquímicos) extraídos de diferentes fuentes vegetales (Laxmishree & Nandita, 2017). Los compuestos bioactivos se componen de alcaloides, taninos, fenoles, flavonoides, terpenos, entre otros (De León *et al.*, 2013). Los compuestos fenólicos tienen varios propósitos en las plantas pero destacan la pigmentación y resistencia a patógenos (Schöneberg *et al.*, 2018).

Por lo tanto, extractos como etanólicos de *Glycyrrhiza glabra* y *Myroxylon balsamum* exhibieron actividad antifúngica frente a *Fusarium guttiforme* (Cerqueira *et al.*, 2015). Extractos de acetato de etilo y metanólicos de *Adenophyllum aurantium* y *Alloispermum integrifolium* reducen el crecimiento micelial y esporulación de *Fusarium solani* y *Alternaria alternata* (De León *et al.*, 2014). Extractos etanólicos de *Phlomis fruticosa* poseen actividad inhibitoria contra *Aspergillus niger*, *Fusarium tricinctum*, *Trichoderma viride* (Soković *et al.*, 2013).

En particular, la tara (*Caesalpinia spinosa*), un arbusto de tipo leguminosa originario del Perú que predomina en zonas secas y valles interandinos de Suramérica (He *et al.*, 2016), se aprovecha en la industria química (taninos), alimenticia (aditivo hidrocoloide) y farmacéutica (ácido gálico, antioxidante) (Melo *et al.*, 2013). Los taninos de *C. spinosa* son usados en medicina tradicional por sus propiedades antiinflamatorias, antimicrobicas, antibacterianas, antisépticas, antitumorales y antioxidantes (Murga *et al.*, 2016); su contenido de taninos está en un rango de 0,2 a 25% del total de masa seca, dependiendo de la especie vegetal, tiempo de cosecha, hábitat y método de extracción (Cuong *et al.*, 2020).

El objetivo de este estudio fue determinar *in vitro* la actividad antifúngica de los compuestos fenólicos de tara (*Caesalpinia spinosa*) frente a *Fusarium graminearum*.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Muestra vegetal y extractos crudos

Se recolectaron vainas completamente maduras de *Caesalpinia spinosa* mediante el método convencional en el municipio de Guachapala, perteneciente a la provincia del Azuay, durante el mes de abril del 2017; se seleccionaron cinco árboles al azar y, en total, se colectaron 5 kg de muestra.

El material vegetal fue secado a temperatura ambiente durante cinco días; posteriormente, se separaron las semillas de la vaina. En este caso, las semillas no se tuvieron en cuenta. Para la obtención de la harina de *C. spinosa* se realizó una molienda fina de las vainas en una licuadora industrial Blender C86, luego se tamizó en un tamiz Advantech Nro. 18 para una granulometría de 1 mm (Aguilar *et al.*, 2012).

- Extracto acuoso por maceración (EAM) En un frasco de vidrio se colocaron 0,4 g de harina de *C. spinosa* con 70 ml de agua destilada; después, se dejó en reposo y oscuridad durante 72 h a temperatura ambiente; posteriormente, se filtró y se llevó el extracto a un balón de aforo de 100 ml (Rodríguez *et al.*, 2012).
- Extracto acuoso por calentamiento (EAC) En un vaso de precipitación se colocaron 0,4 g de harina de *C. spinosa* con 70 ml de agua destilada, la mezcla se calentó a 60 °C por 10 min, luego se filtró y el extracto se llevó a un balón de aforo de 100 ml (Játiva, 2011).
- Extracto hidroalcohólico 30% por maceración (EHM) En un frasco de vidrio se colocaron 0,4 g de harina de *C. spinosa* con 70 ml de una solución etanólica

30%; luego, se dejó en reposo por 72 h a temperatura ambiente; posteriormente se filtró y el extracto se llevó a un balón de aforo de 100 ml (Rodríguez *et al.*, 2012).

2.2 Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos (CF)

En un tubo de ensayo se colocó 1 ml de cada extracto; particularmente, para el extracto acuoso se adicionó una pequeña cantidad de acetato de sodio. Después, se dosificaron a cada muestra 3 gotas de cloruro férrico 5%, la prueba es positiva cuando desarrollan una coloración azul oscura (Delporte, 2010).

Previamente, se disolvió el extracto en una proporción 1:10; en un frasco ámbar, se colocaron 50 µl de muestra, 3950 µl de agua destilada, 250 µl de reactivo de Folin - Ciocalteu; luego de 2 min, se adicionaron 750 µl de carbonato de sodio 20% (v/v); posteriormente se dejaron reposar por 1 h y se midieron a 750 nm la absorbancia.

La curva de calibración se realizó empleando ácido gálico, como estándar, a concentraciones de 200, 150, 100 y 50 ppm. La ecuación de la curva de calibración corresponde a $Y = 0,007077 * X + 0,003519$, $R^2 = 0,9998$. Las muestras se analizaron usando el espectrofotómetro UV - vis Jasco V - 630, los resultados se expresaron en gramos de ácido gálico/100 g muestra seca (g AG/100 g MS) (Flor & Parra, 2017).

2.3 Aislamiento, identificación y conteo celular

Fusarium se aisló de un cultivo de arroz del municipio Arenillas de la provincia el Oro en Ecuador, para la recolección del material biológico se consideraron plantas con fusariosis en la espiga, el diseño de muestreo fue en forma de X que consiste en tomar muestras de cada esquina y del centro de la parcela, por cada

punto se seleccionaron al azar 20 plantas, en total se tomó 1 kg de muestra; granos infectados se sumergieron en etanol 70% e hipoclorito de sodio 1% cada uno por 2 min; posteriormente se colocaron en medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA) con 50 ppm de gentamicina, en total 10 cajas Petri se incubaron a 26,5 °C por 7 d (Arbitto, 2017).

La identificación del hongo se realizó mediante claves taxonómicas establecidas por (Leslie & Summerell, 2006) se analizaron características macroscópicas del micelio: color, aspecto y pigmentación del agar, y características microscópicas como: macroconidias, microconidias y clamidiosporas.

Después del lavado de esporas se preparó una suspensión celular de *Fusarium graminearum* en agua destilada (el cultivo debía estar en el día 7), y luego se realizó una dilución 1:10 y se colocó una muestra en la cámara de Neubauer. Con la ayuda del microscopio de pantalla Micros Austria se realizó por triplicado el conteo de conidios (Lage *et al.*, 2013).

2.4 Evaluación *in vitro*

En medios de cultivo PDA previo a su gelificación se adicionó 5 ml de EAC, luego se implantó un disco con la concentración total de células y/o la dilución 1:10. El control fue inóculo de *Fusarium graminearum* en un medio PDA sin extracto. Las cajas se mantuvieron a 26,5 °C por 7 d en una estufa Mermmet, cada ensayo se realizó por triplicado.

La capacidad inhibitoria se determinó por la superficie de crecimiento del micelio en cm²: ((Área control - Área tratamiento)/(Área control)). Para obtener los valores correspondientes se consideró el diámetro promedio debido a que el crecimiento de los hongos es radial pero no uniforme (Schöneberg *et al.*, 2018).

2.5 Análisis estadístico

Todos los datos obtenidos se analizaron con el software estadístico libre R versión 3.5.2. Los resultados del contenido de compuestos fenólicos en los extractos y la influencia sobre el crecimiento micelial radial se presentaron como medias \pm desviación estándar. Diferencias entre tratamientos tanto para los extractos como para la inhibición *in vitro* se evaluaron con el modelo ANOVA de una vía (aov{stats}), con un nivel de significancia de 0,05. Los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas se evaluaron con la prueba de Shapiro-Wilk (shapiro.test{stats}) y prueba de Levene (leveneTest{car}), respectivamente. Se realizaron comparaciones múltiples por parejas por la prueba de diferencia significativa honesta de Tukey (HSD.test{agricolae}) y los resultados se expresaron como intervalos de confianza al 95%.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Compuestos fenólicos en extractos

Los extractos acuosos e hidroalcohólico presentaron diferentes coloraciones de amarillo leve a amarillo - café, esto se da por la presencia de compuestos tánicos; además se observaron flóculos de color blanco que se atribuyeron a gomas y resinas que posee *C. spinosa*; De la Cruz (2004) definió a estas gomas o hidrocoloides como biopolímeros que poseen efectos gelificantes.

Los extractos acuosos e hidroalcohólico mostraron una coloración azul oscura, igual característica obtuvieron en *Caesalpinia spinosa* (Cortez, 2012) y en *Raputia heptaphylla* (Coy *et al.*, 2014), esta coloración indica que, en las muestras existen taninos del tipo pirogalol. Los taninos son compuestos fenólicos solubles en agua que se dividen en hidrolizables (galotaninos y elágitaninos) presentes en *Caesalpinia* sp y condensados (proantocianidinas) presentes en *Acacia* sp (Anttila *et al.*, 2013; Fraga

et al., 2020). De acuerdo a Skowrya (2014) el principal componente de los taninos de *C. spinosa* son basados en el ácido galoilquinico, del cual derivan el ácido gálico, ácido quinico y grupos galoil.

Mediante el método de Folin – Ciocalteu el contenido de CF en EAM, EAC y EHM fueron 4,77 – 5,88 – 4,76 g AG/100 g MS respectivamente (Figura 1). Diferencias entre tratamientos $p = 0,0306$. Según la prueba Tukey con el tratamiento EAC, se obtuvo un mayor contenido de CF. Según Markom *et al.*, (2007) los taninos hidrolizables se extraen preferentemente con

agua o mezclas agua – etanol, razón por la cual EAM y EHM presentaron contenido similar de compuestos bioactivos. Por otro lado, EAC fue superior debido a que al adicionar energía (60 °C) a la extracción se reducen la viscosidad y tensión superficial (Markom *et al.*, 2010) permitiendo que los taninos se liberen de la matriz vegetal debido a la inestabilidad existente (Wang *et al.*, 2019; Cuong *et al.*, 2020). Otra propiedad de los solventes es la constante dieléctrica, agua destilada $78,5 \text{ Fm}^{-1}$ y etanol es $24,5 \text{ Fm}^{-1}$; según (Cortez, 2012) un solvente con mayor constante dieléctrica extrae mayor contenido de metabolitos secundarios.

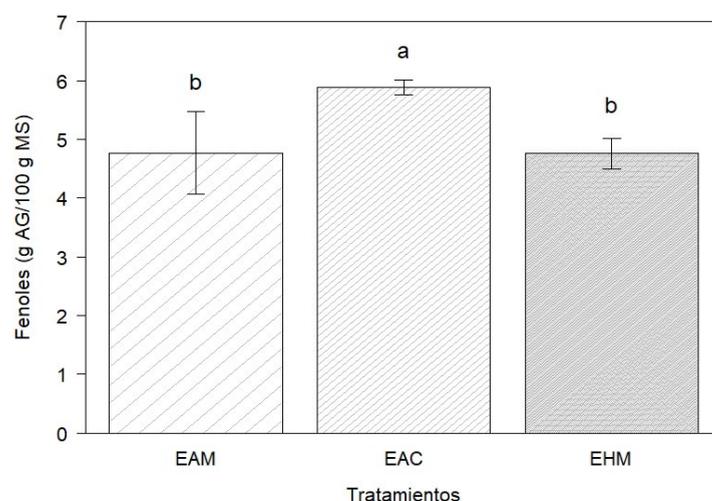


Figura 1. Los resultados del contenido de compuestos fenólicos (CF) en *C. spinosa* se expresan como el promedio de g AG/100 g MS \pm DS. Comparación de CF se realizó entre los diferentes tratamientos: extracto acuoso por maceración (EAM), extracto acuoso por calentamiento 60 °C (EAC) y extracto hidroalcohólico por maceración 30% (EHM). Tratamientos con una letra común no difieren en un nivel del 5%, según la prueba DSH de Tukey.

Fuente: Autores.

En *C. spinosa* Kardel *et al.*, (2013) de determinaron por colorimetría taninos condensados 4,6 mg/g en extractos butanol-ácido clorhídrico; sin embargo, en extractos por agua caliente analizados en HPLC-MS la concentración de taninos hidrolizables fue 647 mg/g de equivalentes de epigalocatequina galato; Játiva (2011) y Cortez (2012) con extractos acuosos

obtuvieron 42 y 23 g AG/100 g MS respectivamente. Cabe mencionar que las muestras fueron tomadas de árboles que se encontraban en Ecuador. Por otro lado, Avilés *et al.*, (2010) obtuvieron en extractos acuosos e hidroalcohólicos 11 y 15 g AG/100 g MS respectivamente, las muestras fueron extraídas de árboles que se encontraban en Perú. Los resultados

del contenido de CF difieren a lo reportado en la literatura, por factores externos los cuales condicionan a la especie vegetal; según Nuñez et al., (2017) las características del suelo y las condiciones climáticas influyen en la acumulación de compuestos fenólicos; de acuerdo a Nieto & Barahona (2006) los requerimientos para *C. spinosa* son: suelos franco arenosos, temperatura 13 a 22 °C, humedad relativa < 80% y precipitaciones < 750 mm. Una posible causa para el bajo contenido de CF son las condiciones del suelo, debido a que los árboles seleccionados en el muestreo se encontraban en una zona con abundante materia orgánica.

3.2 Identificación y conteo celular de *Fusarium*

Las claves taxonómicas determinaron que el hongo aislado fue *Fusarium graminearum*,

y sus características macroscópicas fueron: micelio bien desarrollado de aspecto lanudo algodonoso y de crecimiento rápido; las colonias inicialmente fueron de color blanco, transcurridos los días se tornaron de color crema; en el reverso de la caja Petri el color fue pardo; además, ciertos cultivos presentaron pigmentos rojos en el agar. Por otro lado, las características microscópicas fueron: macroconidia delgada, paredes gruesas, ligeramente curvada, septos entre 4 y 6, célula basal en forma de pie y célula apical cónica, en esta especie hay ausencia de microconidias y clamidiosporas (Figura 2) (Melgarejo et al., 2010; Refai et al., 2015). Pacin et al., (2002) determinaron la presencia de *F. graminearum* en cultivos de arroz en la región costera de Ecuador.

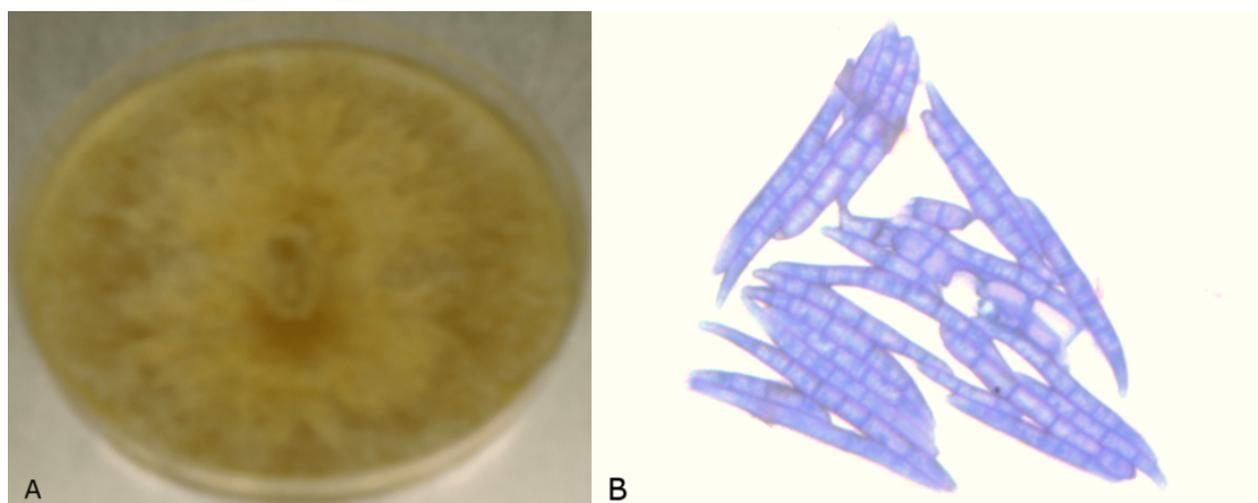


Figura 2. A: *Fusarium graminearum* con micelio lanudo algodonoso, colonia de color crema; B: Macroconidia: curva típica septada, célula basal en forma de pie y célula apical cónica. Lente de inmersión 100x.

Fuente: Autores.

A través del conteo de células por cámara de Neubauer se obtuvo una concentración aproximada a 10^7 UFC/ml; por ende, la dilución 1:10 tiene una concentración cercana a 10^6 UFC/ml. Con cultivos de *F. oxysporum* y *F. solani* el día nueve (Lage et al., 2013) obtuvieron concentraciones 1,8 y 2,8 10^6 UFC/ml,

esto demostró la alta capacidad de esporulación de *F. graminearum*.

3.3 Actividad *in vitro* del extracto

La actividad inhibitoria del EAC frente a *Fusarium graminearum* en concentración total - 10^7 UFC/ml (CT) y concentración diluida - 10^6 UFC/ml (CD)

se expresaron como la superficie de crecimiento del micelio (cm²), control 26,44; (CT+EAC) 18,38 y (CD+EAC) 7,89 (Figura 3). Para una mejor comprensión los valores, se convirtieron en porcentaje de inhibición, control no presentó; (CT+EAC)

30,6% y (CD+EAC) 70,3%. Diferencias entre tratamientos $p = 6,18 \times 10^{-5}$). De acuerdo con la prueba Tukey con el tratamiento (CD+EAC) se obtuvieron mayores porcentajes de inhibición frente al fitopatógeno (Figura 4).

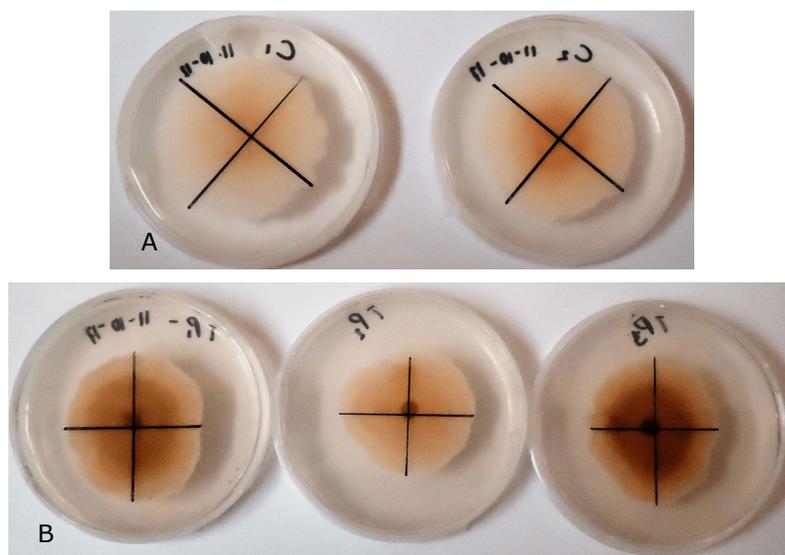


Figura 3. Crecimiento micelial de *Fusarium graminearum*. A: Control, B: 10^7 UFC/ml con extracto acuoso por calentamiento (EAC) luego de 7 d a 26,5 °C.

Fuente: Autores.

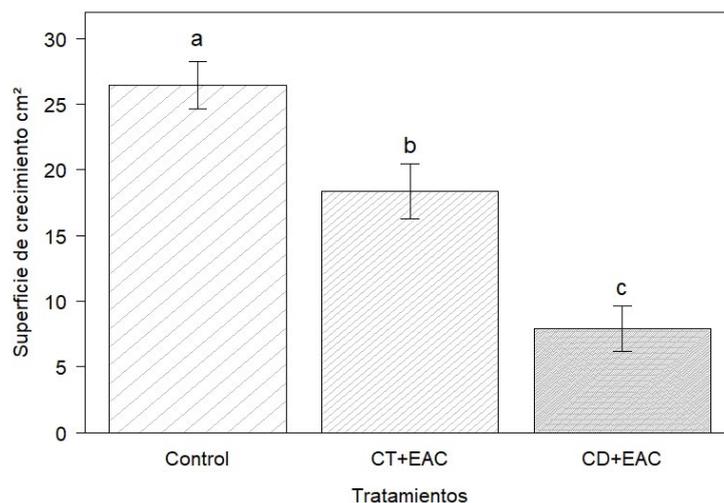


Figura 4. Los resultados se expresan como el promedio de la superficie de crecimiento micelial en cm² de *Fusarium graminearum* \pm DS. Control, 10^7 UFC/ml células más extracto acuoso por calentamiento 60 °C (CT+EAC), 10^6 UFC/ml más extracto acuoso por calentamiento 60 °C (CD+EAC), luego de 7 d a 26,5 °C. Tratamientos con una letra común no difieren en un nivel del 5%, según la prueba DSH de Tukey.

Fuente: Autores.

En *Fusarium* sp Veloz *et al.*, (2012) con extractos tánicos de *Caesalpinia cacalaco* al 1%, se obtuvo una inhibición del 68%; en *Penicillium* sp Játiva (2011) con extractos tánicos de *C. spinosa* a 2500 y 5000 ppm consiguieron 53 y 87% de inhibición respectivamente, las mismas concentraciones fueron aplicadas a *Aspergillus niger* y no existió inhibición. Extractos polifenólicos de *Acacia farnesiana* obtuvieron 98% de inhibición micelial en *Fusarium oxysporum* Rodríguez *et al.*, (2012).

En esta investigación se determinó que EAC de *C. spinosa* frente a 10^6 UFC/ml de *Fusarium graminearum* inhibió 70% de su desarrollo micelial, esto fue posible debido a que el extracto contenía taninos hidrolizables. Al comparar este resultado con otros autores, se puede asumir que extractos de especies pertenecientes a la familia Fabaceae tienen alta capacidad reducir el crecimiento *in vitro* de hongos filamentosos.

Extractos crudos de *Khaya ivorensis* y *Tetracera potatoria* Adekunle *et al.*, (2003); *Asphodelus tenuifolius* y *Euphorbia guyoniana* Salhi *et al.*, (2017); *Rhus muelleri* Jasso de Rodríguez *et al.*, (2015); *Parthenium hysterophorus*, *Acacia farnesiana* y *Pluchea carlinensis* Rodríguez *et al.*, (2000); *Diospyros cuneata* Ruiz *et al.*, (2016), contienen compuestos fenólicos, terpénicos y alcaloides con actividad inhibitoria de 60 a 87% o capacidad fungicida frente a hongos filamentosos como *F. graminearum*, *F. oxysporum*, *F. sporotrichioides*, *A. niger*, *T. viride*. En las investigaciones citadas la presencia de compuestos fenólicos junto a otros metabolitos secundarios alcanzaron altos porcentajes de capacidad inhibitoria, lo que demuestra gran potencial para controlar determinados fitopatógenos.

4. CONCLUSIONES

Los compuestos fenólicos obtenidos del extracto crudo de vainas de *C. spinosa* demostraron tener actividad inhibitoria ante el crecimiento micelial de *F. graminearum* a nivel *in vitro*. EAC tuvo un contenido de 5,88 g de AG/100 g MS y la presencia de taninos tipo pirogalotánicos; mediante revisión de literatura se establecieron que las muestras son ricas en taninos hidrolizables. Respecto a la actividad antifúngica, se obtuvieron 30 y 70% de inhibición frente a concentraciones de inóculo 10^7 UFC/ml y 10^6 UFC/ml respectivamente. Los resultados dan viabilidad a la realización de estudios *in vivo* en invernaderos, controlando ciertas variables y evaluando el uso de este extracto en un sistema de manejo integrado de plagas.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue desarrollada en los Laboratorios Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca, se agradece a los docentes del Grupo de Investigación y Valoración de la Biodiversidad (GIVABI).

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

Primer autor: metodología, investigación, análisis de datos, conceptualización, escritura – borrador original. **Segundo autor:** logística, supervisión y revisión.

LITERATURA CITADA

- Adekunle, A., Duru, C., y Odufuwa, O. (2003). Antifungal activity and phytochemical screening of the crude extracts of *Khaya ivorensis* Juss (Meliaceae) and *Tetracera potatoria* L. (Dilleniaceae). *South African Journal of Botany*, 69(4), 568–571. [https://doi.org/10.1016/S0254-6299\(15\)30296-9](https://doi.org/10.1016/S0254-6299(15)30296-9)
- Aguilar, J., Jaén, J., Vargas, A., Jiménez, P., Vega, I., Herrera, J., ... Soto, R. (2012). Extracción y evaluación de taninos condensados a partir de la corteza de once especies maderables de Costa Rica. *Tecnología En Marcha*, 25(4), 15–22.

- Anttila, A., Pirttilä, A., Haggman, H., Harju, A., y Venäläinen, M. (2013). Condensed conifer tannins as antifungal agents in liquid culture. *Holzforchung*, 67(7), 1-8. <https://doi.org/10.1515/hf-2012-0154>
- Arbito, M. (2017). *Evaluación in vitro de la capacidad antagónica de Trichoderma spp. frente a Fusarium spp* (tesis de pregrado). Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca, Ecuador.
- Avilés, R., Carrión, J., Huamán, J., Bravo, M., Rivera, D., Rojas, N., y Santiago, J. (2010). Actividad antioxidante, polifenoles totales y contenido de taninos de extractos de tara, *Caesalpinia spinosa*. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 13(2), 5-11.
- Beillard, M., y Vega, H. (2016). *Ecuador wheat imports, corn and rice production expected to decrease in 2016*. *Global Agricultural Information Network*, 1-12.
- Bigirimana, V., Hua, G., Nyamangyoku, O., y Höfte, M. (2015). Rice sheath rot: an emerging ubiquitous destructive disease complex. *Frontiers in Plant Science*, 6(1066), 1-16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01066>
- Briones, G. (2014). *Calidad de semilla de arroz en función de la incidencia y severidad de enfermedades en la zona de Daule* (tesis de pregrado). Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador.
- Cerqueira, M., Barcellos, H., Machado, P., y Aires, J. (2015). Antifungal activity of plant extracts with potential to control plant pathogens in pineapple. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.09.026>
- Cortez, D. (2012). *Obtención de extracto tánico y extracto gálico a partir de la harina de vaina de guarango (Caesalpinia spinosa) a escala laboratorio* (tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- Coy, C., Parra, J., y Cuca, L. (2014). Caracterización química del aceite esencial e identificación preliminar de metabolitos secundarios en hojas de la especie *Raputia heptaphylla* (rutaceae). *Elementos*, 4, 31-39. <https://doi.org/10.15765/e.v4i4.513>
- Cuong, D., Hoan, N., Dong, D., Minh, L., Thanh, N., y Ha, H., (2020). Tannins: extraction from plants. In A. Aires. (Ed.), *In tannins - structural properties, biological properties and current Knowledge* (pp. 1-20). Vila Real, Portugal. <https://doi.org/10.5772/intechopen.86040>
- De la Cruz, P. (2004). Aprovechamiento integral y racional de la tara *Caesalpinia spinosa* - *Caesalpinia tinctoria*. *Revista Del Instituto de Investigación de La Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalurgica y Geográfica*, 7(14), 64-73.
- De León, K., Ramírez, M., Sánchez, V., Ramírez, M., Salas, R., Santos, N., y Valadez, R. (2014). Effect of crude plant extracts from some Oaxacan flora on two deleterious fungal phytopathogens and extract compatibility with a biofertilizer strain. *Frontiers in Microbiology*, 5(383), 1-11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00383>
- De León, M., Sáenz, A., Jasso, D., Rodríguez, R., Pandey, A., y Aguilar, C. (2013). Fermented *Flourensia cernua* extracts and their *in vitro* assay against *Penicillium expansum* and *Fusarium oxysporum*. *Food Technology and Biotechnology*, 51(2), 233-239.
- Delporte, C., (2010). *Farmacognosia*, Santiago de Chile, Chile: Departamento de química farmacológica y toxicológica.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2018). *Rice Market Monitor (RMM)*. (Vol. 21). Retrieved from <http://www.fao.org/3/i9243en/i9243en.pdf>
- Flor, H., & Parra, M. (2017). *Estandarización fitoquímica de extractos hidroalcohólicos de ishpink, Ocotea quixos (Lam.) Kostern* (tesis de pregrado). Universidad Politécnica Salesiana, Quito, Ecuador.
- Fraga, M., García, P., Pereira, A., Lourenço, C., Jimenez, C., Prieto, M., y Simal, J. (2020). Technological application of tannin based extracts. *Molecules*, 25(614), 1-27.
- He, D., Li, Y., Tang, H., Luo, L., Ma, R., Wang, J., y Wang, L. (2016). Phenolic compounds from the twigs and leaves of tara (*Caesalpinia spinosa*). *Journal of Asian Natural Products Research*, 18(4), 334-338. <https://doi.org/10.1080/10286020.2015.1096269>
- Jasso de Rodríguez, D., Trejo, F., Rodríguez, R., Díaz, M., Sáenz, A., Hernández, F., ... Peña, F. (2015). Antifungal activity *in vitro* of *Rhus Muelleri* against *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. *Industrial Crops and Products*, 75, 150-158. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.048>
- Játiva, S. (2011). *Determinación del contenido de taninos procedentes del guarango (Caesalpinia*

- spinosa*) y evaluación de su uso como fungicida (tesis de pregrado). Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador.
- Kardel, M., Taube, F., Schulz, H., Schu, W., y Gierus, M. (2013). Different approaches to evaluate tannin content and structure of selected plant extracts – review and new aspects. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 86, 154–166. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2013.086.021>
- Lage, L., Panizo, M., Ferrara, G., y Reviakina, V. (2013). Validación del inóculo por densitometría para las pruebas de susceptibilidad a los antifúngicos en especies del género *Fusarium*. *Revista de La Sociedad Venezolana de Microbiología*, 33, 46–52.
- Laxmishree, C., y Nandita, S. (2017). Botanical pesticides – a major alternative to chemical pesticides : A review. *International Journal of Life Sciences*, 5(4), 722–729.
- Leslie, J., y Summerell, B., (2006). *The fusarium laboratory manual*, Iowa, United States: Blackwell Publishing. <https://doi.org/10.1002/9780470278376>
- Markom, M., Hasan, M., Wan Daud, W. R., Singh, H., y Jahim, J. (2007). Extraction of hydrolysable tannins from *Phyllanthus niruri* Linn . Effects of solvents and extraction methods. *Separation Purification Technology*, 52, 487–496. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2006.06.003>
- Markom, M., Hasan, M., y Wan Raml, W. D. (2010). Pressurized water extraction of hydrolysable tannins from *Phyllanthus niruri* Linn. *Separation Science and Technology*, 45, 548–553. <https://doi.org/10.1080/01496390903485005>
- Melgarejo, P., García, J., Jordá, M., López, M., Andrés, M., y Duran, N., (2010). *Patógenos de plantas descritos en España*, España: Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.
- Melo, M., Glorio, P., y Tarazona, G. (2013). Efecto de la madurez en los componente de valor comercial (taninos y goma) de tara *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 79(3), 218–228.
- Murga, H., Abanto, C., y Polo, A. (2016). Aspectos biológicos y control de un gracillariído (Gracillariidae: Lepidóptera) en *Caesalpinia spinosa* (Mol.) Kuntze (1898), en Cajamarca, Perú. *Scientia Agropecuaria*, 07(02), 93–102. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.02.02>
- Muthayya, S., Sugimoto, J. D., Montgomery, S., y Maberly, G. F. (2014). *An overview of global rice production, supply, trade, and consumption. Annals of the New York Academy of Sciences* (Vol. 1324). <https://doi.org/10.1111/nyas.12540>
- Nava, E., García, C., Camacho, J., y Vázquez, E. (2012). Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. *Ra Ximhai*, 8(3), 17–29.
- Nieto, C., y Barahona, N., (2006). *Cadenas agro-productivas para la conservación de la cuenca media del río Pita*, Quito, Ecuador: Fondo para la protección del agua.
- Nuñez, J., Quiala, E., Feria, M., Mestanza, S., Gómez, R., Cuadrado, F., y Leiva Mora, M. (2017). Establecimiento de un banco clonal de *Caesalpinia spinosa* (Mol.) O. Kuntz mediante selección de árboles plus e injerto. *Biotecnología Vegetal*, 17(1), 41–49.
- Pacin, A., González, H., Etcheverry, M., Resnik, S., Vivas, L., y Espin, S. (2002). Fungi associated with food and feed commodities from Ecuador. *Mycopathologia*, 156(2), 87–92. <https://doi.org/10.1023/A:1022941304447>
- Refai, M., Hassan, A., y Hamed, M., (2015). *Monograph on the genus Fusarium*, Cairo, Egypt. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3104.2728>
- Rodríguez, A., Morales, D., y Ramírez, M. (2000). Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento *in vitro* de hongos fitopatógenos. *Cultivos Tropicales*, 21(2), 79–82. <https://doi.org/10.1234/ct.v21i2.744>
- Rodríguez, A., Ramírez, M., Bautista, S., Cruz, A., y Rivero, D. (2012). Actividad antifúngica de extractos de Acacia farnesiana sobre el crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. *UDO Agrícola*, 12(1), 91–96.
- Ruiz, J., Soto, R., San Migue, R., Pérez, D., Tapia, R., Ortiz, E., y Rodríguez, C. (2016). *Diospyros cuneata* inhibition of *Fusarium oxysporum*: aqueous extract and its encapsulation by ionic gelation. *Plant Pathology & Microbiology*, 7(2), 1–7. <https://doi.org/10.4172/2157-7471.100033>
- Salhi, N., Ayesh, S., Saghir, M., Terzi, V., Brahmi, I., Ghedairi, N., y Bissati, S. (2017). Antifungal activity of aqueous extracts of some dominant algerian medicinal plants. *BioMed Research International*, 2017, 1-6.
- Schöneberg, T., Kibler, K., Sulyok, M., Musa, T., Bucheli, D., Mascher, F., ... Voegelé, R. (2018).

- Can plant phenolic compounds reduce *Fusarium* growth and mycotoxin production in cereals?. *Food Additives and Contaminants - Part A*. 1–16. <https://doi.org/10.1080/19440049.2018.1538570>
- Skowrya, M. (2014). *Antioxidant properties of extracts from selected plant materials (Caesalpinia spinosa, Perilla frutescens, Artemisia annua and Viola wittrockiana) in vitro and in model food systems* (PhD thesis). Universidad Politécnica de Cataluña, Barcelona, España.
- Soković, M., Glamočlija, J., y Ćirić, A. (2013). Natural products from plants and fungi as fungicides. In M. Nita. (Ed.), *Fungicides – showcases of integrated plant disease management from around the world* (pp. 186–232). Virginia, United States. <http://dx.doi.org/10.5772/50277>
- Solis, A. (2016). *Alternativas biológicas para el manejo del complejo de manchado de grano en el cultivo de arroz en Babahoyo provincia de los Ríos* (tesis de pregrado). Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador.
- Tabarelli, B., Berghetti, J., Zanella, E., y Trezzi, R. (2019). Symptoms of *Fusarium graminearum* infection in irrigated rice grains. *Ciência Rural*, 49(03), 2019. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180831>
- Veloz, R., Marín, R., López, M., Veloz, R., y Guevara, L. (2012). *Evaluación del efecto de concentrados de taninos sobre el crecimiento micelial de hongos fitopatógenos*. Celaya.
- Villa, A., Pérez, R., Morales, H., Basurto, M., Soto, J., y Martínez, E. (2014). Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agronomica*, 64(2). <https://doi.org/10.15446/acag.v64n2.43358>
- Villanueva, R., Aguilar, A., Gómez, M., Valencia, G., Piña, B., y Bautista, S. (2013). Control de bacterias patógenas y hongos postcosecha con extractos del pigmento de *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*). *Agrociencia*, 47, 691–705.
- Wang, C., Chen, H., Wu, J., y Chen, L. (2019). Stability of principal hydrolysable tannins from *Trapa taiwanensis* Hulls. *Molecules*, 24(365), 1–11. <https://doi.org/10.3390/molecules24020365>

Conflicto de Intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses

**Licencia de Creative Commons**

Revista de Investigación Agraria y Ambiental is licensed under a Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional License.

EFECTO DEL ÁCIDO SALICÍLICO EN EL CONTROL DE LA SEPTORIOSIS Y SU EFECTO DE RENDIMIENTO EN DOS CULTIVARES DE TRIGO

EFFECT OF SALICYLIC ACID IN THE CONTROL OF SEPTORIA AND YIELD COMPONENTS IN TWO WHEAT CULTIVARS

¹**Efren Venancio Ramos Cabrera**, ²**Zuly Yuliana Delgado Espinosa**,
³**Oscar Daniel Jiménez**

¹ *PhD. Microbiología, Investigador grupo de investigación cadenas de valor.
Corporación Universitaria Comfacauca-Unicomfacauca Popayán, Colombia*

² *PhD. en ciencias química, Investigador grupo de investigación cadenas de valor.
Corporación Universitaria Comfacauca-Unicomfacauc. Popayán, Colombia.*

³ *Ingeniero agrónomo. Docente de la cátedra de fisiología vegetal de la facultad de ciencias
agraria de forestales-universidad nacional de la plata. La Plata, Argentina*

¹eramos@unicomfacauca.edu.co, ²zdelgado@unicomfacauca.edu.co,
³dcbiologicas@agro.unlp.edu.ar

RESUMEN

Contextualización: el incremento de la producción de trigo ha provocado que las enfermedades patogénicas aparezcan con más frecuencia por la implementación del monocultivo y malas prácticas agronómicas. La Septoriosis o Mancha de la hoja del trigo ocasionada por *Zymoseptoria tritici* provoca una disminución en el área fotosintética ocasionando pérdidas del rendimiento del grano que oscilan entre 17 y 50%, dependiendo del estado fenológico en el que ocurre la infección.

Vacío de conocimiento: el método más frecuentemente para el control de la enfermedad se realiza mediante dos sistemas:

la utilización de variedades resistentes a la enfermedad o la aplicación de productos de síntesis química que pueden ocasionar resistencia en la población del hongo y contaminación en los suelos trigueros. Por esto, se buscan nuevas alternativas de manejo, como la activación de la resistencia sistémica inducida mediante la aplicación de ácido salicílico, que conlleva a cambios físicos, químicos y moleculares como lignificación o inducción de proteínas relacionadas con la patogénesis, que se encargan de limitar o eliminar el ingreso de las hifas de los hongos patogénicos, siendo una alternativa sustentable.

DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3853>

Propósito del estudio: el propósito del presente trabajo fue la evaluación del efecto del ácido salicílico sobre el desarrollo de los síntomas de la mancha de hoja del trigo ocasionada por *Zymoseptoria tritici*, así como establecer los cambios sobre los componentes de rendimiento en los cultivares Biointa 3004 y Buck sy 200.

Metodología: el estudio se realizó en la estación experimental de Julio Hirschhorn, de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Se utilizaron los cultivares Biointa 3004 y Buck sy 200. El diseño experimental fue bloques completos al azar de tres repeticiones, constituido por los siguientes tratamientos: control, inoculado con *Zymoseptoria tritici*, tratado con ácido salicílico y tratado con ácido salicílico e inoculado con *Zymoseptoria tritici*, los ensayos fueron desarrollados en la temporada invierno-primavera del año 2012 y 2013 y se determinó porcentaje de picnidios, porcentaje área necrosada, número de espiguillas vacías, número de granos de la espiga y peso de 1000 granos.

Resultados y conclusiones: la cobertura de picnidios disminuyó un 45%; el área necrosada un 40%; además el número de espiguillas vacías disminuyó un 4% e incrementó el número de granos por espiga (5%) y peso de 1000 granos (2%). Se demuestra que el ácido salicílico controla en gran medida los efectos negativos de la enfermedad y estimula los componentes de rendimiento mejorando la productividad de los cultivares evaluados.

Palabras clave: *Zymoseptoria tritici*, *Triticum aestivum*, inducción de resistencia, mancha de la hoja del trigo.

ABSTRACT

Contextualization: The increase in wheat production has caused pathogenic diseases to appear more frequently due to the implementation of monoculture. The Septoriosis or stain

of the wheat leaf caused by *Zymoseptoria tritici* causes a decrease in the photosynthetic area causing losses in grain yield ranging between 17% and 50%, depending on the phenological state in which the infection occurs.

Knowledge gap: The most frequent method for controlling the disease is the application of chemical synthesis products, which has generated resistance in the population of the fungus and contamination of the agroecosystems. For this reason, new management alternatives are being sought, such as the activation of systemic resistance. Induced by the application of salicylic acid that causes physical, chemical and molecular changes such as lignification or the induction of various proteins related to pathogenesis that does not allow the entry of the hyphae of pathogenic fungi, being a sustainable alternative.

Purpose: The purpose of this research was the evaluation of the effect of salicylic acid on the development of the symptoms of wheat leaf spot caused by *Zymoseptoria tritici*, and to establish its probable changes on the yield components in cultivars Biointa 3004 and Buck sy 200.

Methodology: The study was carried out at the Julio Hirschhorn experimental station of the National University of La Plata (UNLP), for which the cultivars Biointa 3004 and Buck sy 200 were used, the experimental design was in divided plots with three replications and was constituted by the following treatments: Control, inoculated with *Zymoseptoria tritici*, treated with salicylic acid and treated with salicylic acid and inoculated with *Zymoseptoria tritici*. and the tests were carried out in the winter-spring season of 2012 and 2013 and the percentage of pycnidia, the percentage of necrotic area, the number of empty spikelets, the number of grains of the spike, and the weight of 1000 grains were determined.

Results and conclusions: The pycnidia coverage decreased by 45%; the necrotic area, by 40%; in addition, the number of empty spikelets decreased by 4% and the number of grains per spike increased (5%) and the weight of 1000 grains (2%). It is shown that salicylic acid greatly

controls the negative effects of the disease and stimulates the yield components, improving the productivity of two cultivars evaluated.

Keywords: *Zymoseptoria tritici*, *Triticum aestivum*, resistance induction, wheat leaf stain.

RESUMEN GRÁFICO



Tratamientos usados en los ensayos

Variedad trigo Biointa 3004	Variedad trigo Buck sy
Testigo	Testigo
Inoculado con Acido salicilico	Inoculado con Acido salicilico
Inoculado con Septoria Tritici	Inoculado con Septoria Tritici
Inoculado con Septoria Tritici + Acido salicilico	Inoculado con Septoria Tritici + Acido salicilico

1. INTRODUCCIÓN

El trigo (*Triticum aestivum*) es el cereal de mayor distribución geográfica en el mundo y su demanda ha aumentado con el incremento de la población. Uno de los problemas en la producción de trigo es la mancha de hoja, o septoriosis, que es provocada por *Zymoseptoria tritici* (*Z. tritici*), en el estado anamorfo o asexual del hongo; mientras que el estado sexual o teleomorfo se conoce como *Mycosphaerella graminicola* (Stukenbrock et al., 2010). En la actualidad, la septoriosis del trigo está presente en las principales zonas de cultivo del mundo y está catalogada como una de las enfermedades de alto impacto en la producción del cultivo de trigo en Australia, Europa,

América del Norte y del Sur, con pérdidas hasta del 60% en el rendimiento (Testa et al., 2015; Gemechu et al., 2019). Por otra parte, se ha registrado que más del 70% de los fungicidas aplicados en trigo son para el control de la septoriosis, debido a que es una enfermedad endémica en las regiones del sudeste, áreas húmedas y sub-húmedas de Argentina. Esto causa pérdidas significativas en el rendimiento del cultivo, comparables con los daños ocasionados por la roya negra, anaranjada y la fusariosis de la espiga (Stocco, 2014).

Los síntomas de la enfermedad se caracterizan por pequeñas manchas foliares, cloróticas e

irregulares usualmente en las hojas inferiores. Posteriormente, estas se expanden a las hojas superiores y su incremento en la severidad de *Z. tritici* en las hojas es causado por malas prácticas agronómicas como: implementación de monocultivo, manejo inadecuado de desechos de cosechas anteriores y mal manejo de las semillas, lo que ha causado mayores pérdidas en rendimiento y baja calidad del grano debido a la enfermedad (Goodwin, 2007; Velazquez, 2012).

El manejo de la enfermedad se da mediante el uso de umbrales de acción que justifiquen la aplicación de alguna técnica de control en particular, como son los fungicidas (Egan et al., 2020). Una alternativa no convencional es mediante la activación del sistema inmune; en particular, la resistencia sistémica adquirida (RSA) con la aplicación exógena de sustancias químicas, precursores de la cascada enzimática para la activación de las proteínas PR (proteínas relacionadas con la patogénesis en inglés pathogenesis-related) que generan resistencia a fitopatógenos (Fu, 2013; Camarena, 2007).

La RSA se basa en el reconocimiento del invasor y un evento subsecuente de transducción de señales que conduce a la activación de las defensas. En muchos casos, la infección localizada induce resistencia a un amplio espectro de patógenos tales como hongos, bacterias o virus, esta resistencia se expresa localmente en el sitio de ataque por el patógeno y sistémicamente, en partes no infectadas de la planta (Vidhyasekaran, 2020). Así, la infección predispone a la planta a resistir efectivamente a ataques posteriores de patógenos.

Uno de los compuestos más estudiado para la activación RSA es el ácido salicílico (AS) que genera una serie de reacciones involucradas en la señalización de defensa de la

planta (Wu et al., 2016; Vlot et al., 2008). También el AS se encuentra involucrado en procesos como germinación de semillas, crecimiento celular, respiración, cierre de estomas, expresión de genes asociados a senescencia, respuesta a estrés abiótico, termogénesis y resistencia a enfermedades (Vidhyasekaran, 2020).

Con base en lo anterior, el objetivo del trabajo fue evaluar el efecto del ácido salicílico sobre el avance de los síntomas de la Septoriosis del trigo en las primeras cuatro hojas expuestas; además, establecer su efecto sobre los componentes de rendimiento.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Los ensayos se llevaron a cabo en la Estación Experimental Julio Hirschhorn de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de la Plata, el Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE) y Centro de Investigaciones en Fitopatologías (CIDEFI), en la localidad de la Plata, de la Provincia de Buenos Aires (Argentina), en las campañas de invierno-primavera de los años 2012-2013, con temperatura media de 14,2 y 15,2 °C respectivamente. Se utilizaron las variedades de trigo Buck sy 200 con resistencia moderada *Z. tritici*, buena calidad industrial, de ciclo intermedio y alto potencial de rendimiento; mientras que la variedad Bionta 3004, presenta susceptibilidad a *Z. tritici*, un ciclo de vida largo, resistencia al vuelco, tolerancia al desgrane y su calidad industrial es intermedia. Cada variedad presentó 4 tratamientos: Control (C) sin aplicación de productos químicos, tratado con ácido salicílico (AS), inoculado con *Z. tritici* (Sep) y tratado con ácido salicílico e inoculado con *Z. tritici* (AS+Sep). Se sembraron las semillas en parcelas de 4 m² (2x2), con densidad de siembra de 250 plantas/m² y fertilizadas preemergencias con 70 kg/ha de fosfato diamónico y 40

kg/ha de urea. El diseño experimental que se utilizó para los ensayos fue bloques completos al azar con tres repeticiones.

Preparación y aplicación del ácido salicílico

Se prepararon soluciones del AS en concentración 100 μ M siguiendo el protocolo descrito por Tejada et. al (1998). La aplicación se efectuó en el momento que aparecieron dos hojas expandidas en la planta y se asperjaron los tratamientos AS y AS+Sep hasta punto de goteo; para realizar esta labor se utilizó una bomba de aspersión manual. Los tratamientos C y Sep fueron cubiertos por 2 horas con bolsas de polietileno para evitar la contaminación de los tratamientos por deriva.

Preparación del inoculo de *Z. tritici* e inoculación en campo

La cepa de *Z. tritici* fue aislada de muestras de hojas de trigo de la localidad de 9 de Julio de la provincia de Buenos Aires-Argentina (FAL-P9J008) y utilizada por su capacidad de virulencia y patogenicidad (Stocco, 2014). La cepa se multiplicó en cajas de Petri que contenían medio Agar-Malta (30 g/L de extracto de malta, 5 g/L de peptona, 2 g/L de extracto de levadura y 20 g/L de agar), y se incubó a 28 °C por 7 días. A las cajas de Petri se les adicionó agua estéril y se procedió a raspar la superficie para extraer las esporas. Se filtró la suspensión resultante, con el fin de eliminar restos del medio de cultivo, y se llevó a una concentración de 1×10^6 esporas/mL. Se hizo necesario añadir Tween 20 a una concentración de 0,05% (v/v), para una mejor adherencia a la superficie de las hojas de trigo.

Para los tratamientos AS+Sep y Sep, el inoculo de *Z. tritici* fue asperjado en horarios de la tarde hasta punto de goteo; además, se aplicó riego en intervalos de tres horas por un periodo de 72 horas, con el propósito de mantener la humedad relativa mayor al 80%, y, de este modo, evitar la deshidratación de las esporas

del hongo, asegurando una buena infección del patógeno. Los tratamientos control y AS fueron cubiertos con polietileno para evitar contaminación por deriva.

Cuantificación de los síntomas de mancha de la hoja

La evaluación de la enfermedad se realizó a 50 plantas por unidad experimental en los dos cultivares, a los 25 días postinoculación con *Z. tritici*, mediante la escala de Rosielle, que cuantifica el porcentaje de área necrosada (A-N) y porcentaje de cobertura picnidial (Cob-P); se determinó en las 4 primeras hojas expandidas (Ramírez et al., 2016).

Cuantificación de los componentes del rendimiento

Las plantas se cosecharon y llevaron al laboratorio, donde se determinó los componentes del rendimiento: número de espiguillas por espiga; número de espiguillas vacías; número de granos por espiga; y peso de 1000 granos del macollo principal.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos de las diferentes determinaciones (cuantificación de la enfermedad y componentes de rendimiento) se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) de un solo factor (tratamiento) mediante el software Infostat (Rienzo et al., 2014); sus medias se contrastaron con el test de Fisher utilizando una significancia del 5% ($P \leq 0,05$). Además, se aplicó la prueba Shapiro-Wilks para determinar que los datos tomados en campo presentan una distribución normal.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de la aplicación exógena de AS en el control de *Z. tritici*

La evaluación en el año 2012 del cultivar Biointa 3004 se muestra en la Tabla 1. Los efectos de la enfermedad fueron más notorios en

la primera hoja, respecto a las más jóvenes, pasando del 98,3% A-N en la primera hoja, al 5% en la cuarta hoja. El A-N de la primera hoja se redujo con la aplicación de AS, incluso con valores inferiores al C (del 15 al 9%). De igual forma, se observó una reducción del 70,7% en el tratamiento AS+Sep. Con respecto a Cob-P, este presentó una disminución del 30% en la primera hoja a 0% en la cuarta hoja en el tratamiento AS+Sep. Respecto a los AS y el C, estos no presentaron diferencias significativas.

En la segunda hoja, el AS no mostró diferencias significativas respecto al C en A-N; sin

embargo, la aplicación de AS manifestó reducción del 58,3% y Cob-P disminuyó un 41%. En la tercera hoja el AS redujo el A-N en un 34% y Cob-P un 47%. Tanto en el C como el tratamiento con AS no se observaron cambios en estos parámetros.

En la cuarta hoja del tratamiento AS+Sep, se observó una reducción del 3,7% y 3,5 % en A-N y Cob-P respectivamente. Para el año 2013, las tendencias fueron similares en cuanto a la reducción de A-N y Cob-P por la aplicación de AS en el tratamiento que fue infectado con *Z. tritici*.

Tabla 1. Evaluación del control de *Z. tritici* con la aplicación de AS en cultivar Bointa 3004.

Bointa 3004		A-N (%)		Cob-P (%)	
Tratamientos	Nº de hojas	Año 2012	Año 2013	Año 2012	Año 2013
C	1	15,3 ^b	11,2 ^a	2,0 ^a	9,5 ^a
Sep	1	98,3 ^c	99,3 ^c	90,7 ^b	96,1 ^c
AS	1	9,3 ^a	4,0 ^a	1,7 ^a	5,0 ^a
AS+Sep	1	70,7 ^d	75,8 ^b	61,0 ^c	69,1 ^b
C	2	2,4 ^a	2,2 ^a	0,5 ^a	0,3 ^a
Sep	2	99,3 ^c	99,3 ^c	81,0 ^b	79,0 ^c
AS	2	1,1 ^a	1,1 ^a	0,5 ^a	0,3 ^a
AS+Sep	2	41,0 ^c	38,0 ^b	40,0 ^c	26,7 ^d
C	3	0,3 ^a	0,3 ^a	0,5 ^a	0,2 ^a
Sep	3	45,3 ^b	32,7 ^c	49,0 ^b	22,1 ^b
AS	3	0,1 ^a	0,2 ^a	0,1 ^a	0,2 ^a
AS+Sep	3	6,0 ^c	8,2 ^a	1,0 ^a	0,7 ^a
C	4	0,4 ^a	0,2 ^a	0,5 ^a	0,1 ^a
Sep	4	4,7 ^b	7,9 ^b	3,5 ^b	3,2 ^b
AS	4	0,0 ^a	0,2 ^a	0,0 ^a	0,1 ^a
AS+Sep	4	1,0 ^a	1,0 ^a	0,0 ^a	0,2 ^a

ANOVA para cada hoja, aplicando el test LSD Fisher ($P \leq 0,05$) entre las medias. Letras diferentes por columna indican diferencias significativas. A-N área necrosada, Cob-P cobertura de picnidios, C tratamiento Control, Sep tratamiento infectado con *Z. tritici*, AS tratado con ácido salicílico y AS+Sep tratado con ácido salicílico e infectado con *Z. tritici*.

Fuente: Autores.

La evaluación del año 2012 del cultivar Buck sy 200 se muestra en la Tabla 2. Los efectos de la enfermedad son más notorios en la primera hoja que en las hojas más jóvenes, disminuyendo de un 10% del A-N en la primera hoja al 0% en la cuarta. El tratamiento con AS tiende a disminuir el A-N y Cob-P pero no difiere significativamente respecto a C. En la segunda hoja el tratamiento con AS y C no tienen cambios significativos en el A-N y Cob-P, mientras que en el tratamiento AS+Sep se

observó disminución del 58,7% en el A-N y la Cob-P un 62%.

En cuanto a la tercera hoja, se redujo el A-N y Cob-P en 19% y 20% respectivamente. El C y el tratamiento con AS no mostraron síntomas ni signos de la enfermedad para la cuarta hoja. Para el año 2013 (Tabla 2), las tendencias fueron similares a las del año 2012 con un incremento moderado de la enfermedad.

Tabla 2. Evaluación del control de *Z. tritici* con la aplicación de AS en cultivar Bluck sy 200.

Buck sy 200	Tratamientos	N° de hojas	A-N (%)		Cob-P (%)	
			año 2012	año 2013	año 2012	año 2013
	C	1	4,9 ^a	1,8 ^a	1,0 ^a	0,3 ^a
	Sep	1	99,3 ^c	90,3 ^c	81,0 ^c	90,2 ^c
	AS	1	5,0 ^a	2,7 ^a	0,3 ^a	0,3 ^a
	AS+Sep	1	89,3 ^b	70,6 ^b	42,7 ^b	67,8 ^b
	C	2	0,3 ^a	0,3 ^a	0,3 ^a	0,3 ^a
	Sep	2	95,1 ^c	98,3 ^c	79,7 ^c	90,2 ^c
	AS	2	1,5 ^a	0,2 ^a	0,3 ^a	0,1 ^a
	AS+Sep	2	36,4 ^b	68,9 ^b	17,3 ^a	47,8 ^b
	C	3	0,0 ^c	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a
	Sep	3	19,3 ^b	29,7 ^b	20,0 ^b	18,3 ^b
	AS	3	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a
	AS+Sep	3	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a
	C	4	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0,1 ^a
	Sep	4	0,0 ^a	7,9 ^b	0,0 ^a	3,2 ^b
	AS	4	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a
	AS+Sep	4	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a

ANOVA para cada hoja, aplicando el test LSD Fisher ($P \leq 0,05$) entre las medias. Las letras diferentes por columna indican diferencias significativas. A-N área necrosada, Cob-P cobertura de picnidios, C Control, Sep infectado con *Z. tritici*, AS tratado con ácido salicílico y AS + Sep o tratado con ácido salicílico e infectado con *Z. tritici*.

Fuente: Autores

A partir de los experimentos en campo de los cultivares comerciales Biointa 3004 y Buck sy 200 se puede deducir que el AS tiene un efecto positivo sobre el control del patógeno *Z. tritici*, este efecto podría estar relacionado con los mecanismos de señalización en la repuesta de defensa a patógenos (Wu et al., 2016). El AS es un factor de transcripción del gen NPR1 que activa la transducción de defensas y los mecanismos que tiene la planta para evitar la infección patogénica en los cultivares evaluados (Fu, 2013; Moreauet et al., 2012; Fu et al., 2012). Por otra parte, Wang et al., (2018) demostró que la aplicación de AS en plantas de trigo disminuye un 40% la infección por *Phaeosphaeria nodorum*, esta disminución se debe a que las hifas del hongo no pueden penetrar las células de la epidermis y las células de la vaina por la lignificación prematura, acumulación de calosa y concentración de calcio en la pared de las células producto de la activación del sistema de defensa. Otros reportes indican que en plantas de trigo los niveles de AS, calosa, compuestos fenólicos, peroxidasa, fenilalanina amonio liasa y polifenol oxidasa aumentan la resistencia a *Fusarium graminearum* (Sorahinobar et al., 2016), por lo que se puede inferir que la aplicación exógena del AS puede controlar diferentes fitopatógenos mediante la inducción de la resistencia sistémica adquirida.

Determinación de los componentes de rendimientos

Número de espiguillas

El número de espiguillas por espiga no presentó cambios significativos entre los tratamientos para los dos años de evaluación, quedando determinado en 21 espiguillas en los dos cultivares. Esto se debe a la gran estabilidad genética en este carácter, indicando

que AS y la enfermedad no afectan la activación de los genes encargados de la formación y determinación del número de espiguillas por espiga (Tabla 3 y Tabla 4). Las evidencias bibliográficas indican que el AS y *Z. tritici* no afectan la determinación del número de espiguillas, pero sí afectan en número de flores y fecundación de las mismas (Rodríguez et al., 2008; Wada et al., 2010; Appu, 2014; Martín et al., 2015)

Número de espiguillas vacías

En el cultivar Biointa 3004 en el año 2012, se observó un aumento del 16% en el número de espiguillas vacías. En las plantas que fueron infectadas con *Z. tritici*, para el año 2013 el daño fue mayor, aumentando al 29%. Los tratamientos con AS y AS+Sep redujeron el número de espiguillas vacías en un 66% en promedio, para el cultivar Buck sy 200. En el año 2012 - 2013 se observó un aumento del 21,8 % y 36,6% en el tratamiento con Sep respectivamente, mientras que los tratamientos con AS y AS+Sep no modifican este parámetro comparado con el control (Tabla 3).

El tratamiento infectado con *Z. tritici* se afecta de forma negativa aumentando el número de espiguillas vacías entre el 16% y el 30%, mientras que la aplicación de AS muestra un efecto positivo sobre este componente evitando la pérdida de granos y, en consecuencia, un menor número de espiguillas vacías. Estos resultados son similares a los reportados por Seadh y Metwally (2015) quienes demostraron que la aplicación exógena de AS mejora el rendimiento y la productividad al controlar los efectos negativos provocados por los patógenos *Cephalosporium* sp., *Fusarium culmorum*, *F. moniliforme* y *F. graminearum* sobre los componentes del rendimiento en cultivares de trigo egipcios.

Tabla 3. Variables evaluadas de componentes de rendimiento del cultivar Bointa 3004 y tratadas con AS e inoculadas con *Z. tritici* en campo para los años 2012 y 2013

Bointa 3004	C		Sep		AS		AS+Sep	
	Año 2012	Año 2013						
Nº de espiguillas	21,0 ^a							
Nº de espiguillas vacías	2,7 ^a	3,0 ^B	3,1 ^b	4,1 ^C	2,7 ^a	2,1 ^A	2,6 ^a	2,2 ^A
Nº de granos por espiga	49,0 ^b	48,5 ^B	45,1 ^a	46,2 ^A	49,9 ^b	51,2 ^C	49,1 ^b	49,2 ^B
Peso de 1000 granos (g)	27,0 ^b	28,3 ^B	25,4 ^a	25,9 ^A	29,1 ^c	30,3 ^C	27,6 ^b	28,2 ^B

Control (C), Sep (infectado con *Z. tritici*), AS (tratado con ácidos salicílico) y AS+Sep (tratado con ácido salicílico e infectado con *Z. tritici*). ANOVA para cada variable, test LSD Fisher ($P \leq 0,05$) entre las medias de los tratamientos. Las Letras diferentes horizontales por componentes de rendimiento indican diferencias significativas, letras con minúsculas año 2012 y letras en mayúsculas año 2013.

Fuente: Autores.

Número de granos de la espiga principal

Para el año 2012, el cultivar Bointa 3004 presentó una disminución del 6,9% en el número granos por espiga en plantas inoculadas con Sep, mientras que los tratamientos AS y AS+Sep no mostraron cambios significativos en este componente respecto al control. En el año 2013, en el tratamiento con Sep presentó disminución en un 4,7%, mientras que las plantas tratadas con AS mostraron un aumento del 5,6% (Tabla 3).

Los resultados del cultivar Buck sy 200 fueron similares al cultivar Bointa 3004, para los dos años de evaluación a excepción de tratamiento con AS+Sep que aumentó el número de granos por espiga en un 2,9% (Tabla 4). Muthukrishnan et al., (2014) y Seadh et al., (2015) reportan que la aplicación exógena de AS en cultivares de trigo mejoró el número de granos por espiga en el orden de 2,1% a 7,3%, sin causar efectos negativos sobre la calidad industrial del grano, modificando de forma positiva el número de espiguillas vacías por un aumento en la emisión de flores y una mayor fecundación de las mismas. Cabe aclarar que,

en nuestros ensayos, no se realizó evaluación en la calidad industrial de los granos.

Peso de 1000 granos de la espiga principal

La evaluación realizada en los dos años muestra aumento en el peso de los granos en las plantas tratadas con AS (4,4% año 2012 y 7,6% año 2013), mientras que el tratamiento con AS+Sep no tuvo diferencias significativas respecto a C. Por otra parte, el tratamiento inoculado con Sep mostró menores valores en el peso de los granos 1000 granos, con valores de 5,9% en el año 2012 y -8,4% en el año 2013 (Tabla 3).

El cultivar Buck sy 200 presentó un aumento en el peso de 1000 granos respecto al cultivar Bointa 3004, mientras que en las plantas tratadas con AS aumentó un 9,1% y un 4,4% en el 2012 y 2013 respectivamente (Tabla 4). Se observaron resultados similares en el tratamiento con AS + Sep aumentados un 5,5% y un 1,5% respectivamente. Con respecto a las plantas infectadas con Sep y C no presentaron cambios significativos en el peso de los 1000 granos.

Tabla 4. Variables evaluadas de componentes de rendimiento del cultivar Buck sy 200 y tratadas con AS e inoculadas con *Z. tritici* en campo para los años 2012 y 2013.

Buck sy 200	C		Sep		AS		AS+Sep	
	Año 2012	Año 2013						
Número de espiguillas	21,0 ^a							
Número espiguillas vacías	3,2 ^a	3,0 ^A	3,9 ^b	4,1 ^B	3,2 ^a	3,0 ^A	3,1 ^a	3,0 ^A
Número de granos por espiga	47,8 ^b	48,5 ^B	46,2 ^a	45,6 ^A	48,3 ^b	48,1 ^B	47,0 ^b	49,9 ^c
Peso de 1000 granos (g)	33,3 ^b	33,3 ^B	32,1 ^a	31,7 ^A	35,3 ^d	35,3 ^D	34,3 ^c	34,3 ^C

C (control), Sep (tratamiento con inoculadas con *Z. tritici*), AS (tratamiento asperjado con ácido salicílico) y AS+Sep (tratamiento asperjado con ácido salicílico e inoculado con *Z. tritici*). ANOVA para cada variable, aplicando el test LSD Fisher ($P \leq 0,05$) entre las medias de los tratamientos. Las Letras diferentes horizontales, por componentes de rendimiento, indican diferencias significativas, letras con minúsculas año 2012 y letras en mayúsculas año 2013.

Fuente: Autores

La septoriosis influye en la calidad del grano por presentar una disminución significativa en el peso de 1000 granos. Estos datos son similares a los reportados en los estudios de Rodríguez et al., (2008), en los que se presentaron pérdidas en el peso de 1000 granos debido a la presencia del patógeno *Z. tritici*, afectando directamente el rendimiento del cultivo. En los tratamientos que se aplicó AS, para los dos cultivares evaluados, se observó un aumento en el peso de los granos del 10% y 6%. Estos datos son congruentes con las investigaciones hechas por Martínez et al., (2013) y Sneadh et al., (2015), quienes observaron que la aplicación de AS a las plantas de trigo, mejoró el peso de los granos entre el 4,6 y el 17,0% y el rendimiento por hectárea aumenta entre 600-800 Kg. Este efecto también fue observado en otros cultivos, como papaya y chile habanero (Guzmán et al., 2012; Martín et al., 2015). En este estudio, la inoculación con AS+*Z. tritici* controló el efecto provocado por la enfermedad en el peso de los granos. Es posible que esto se deba a la resistencia sistémica adquirida reconoce al invasor y posteriormente se da la transducción de señales que conduce a la

activación de defensas impidiendo el daño de las hojas, lo que evita la pérdida de la actividad fotosintética y la senescencia prematura de la hoja (Sneadh et al., 2015).

4. CONCLUSIONES

La activación temprana de la resistencia sistémica adquirida mediada por la aplicación exógena de AS controló la cobertura de picnidios en un 45% y el área necrosada en un 40%. Estos resultados estarían relacionados con el aumento de la concentración de lignina, calosa y calcio en la pared celular que evita la infección de *Z. tritici* en las hojas de trigo y disminuye los efectos adversos en los componentes de rendimiento. Además, en el tratamiento donde se aplicó AS, se estimula el incremento en algunos parámetros del rendimiento, lo que mejoraría los kilogramos de granos. Lo anterior abre una nueva perspectiva muy promisoriosa para el manejo sustentable de la enfermedad, debido a que el AS es un producto no contaminante para el medio ambiente y puede ser una alternativa ecológica dentro de una agricultura limpia, disminuyendo los impactos negativos en la fauna y la microfauna de las zonas triqueras en la república de Argentina.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

Primer autor (Efren Venancio Ramos Cabre-
ra): metodología, investigación, análisis de
datos, conceptualización, escritura – borrador
original. **Segundo autor** (Zuly Yuliana Delga-
do Espinosa): escritura – revisión y edición.
Tercer autor (Daniel Oscar Gimenez): logís-
tica, revisión, edición y análisis de datos, re-
visión.

AGRADECIMIENTOS

Los autores de este proyecto manifiestan sus
agradecimientos a la universidad Nacional de
la Plata - Argentina por facilitar el acceso a las
instalaciones y toma de datos.

LITERATURA CITADA

- Appu, M., y Muthukrishnan, S. (2014). Foliar Appli-
cation of Salicylic Acid Stimulates Flowering and
Induce Defense Related Proteins in Finger Millet
Plants. *Universal Journal of Plant Science* 2(1):
14–18. [https:// doi:10.18805/ir.v0i0F.11302](https://doi:10.18805/ir.v0i0F.11302)
- Camarena, G., y De la Torre, R. (2007). Resistencia
sistémica adquirida en plantas: estado actual.
*Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y Del
Ambiente* 13(2): 157-162.
- Egan, P. A., Dicks, L. V., Hokkanen, H. M., y Sten-
berg, J. A. (2020). Delivering Integrated Pest
and Pollinator Management (IPPM). *Trends
in Plant Science* 25 (6): 577-589. [https://doi.
org/10.1016/j.tplants.2020.01.006](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.01.006)
- Fu, Z. Q., S. Yan, A. Saleh, W. Wang, J. Ruble, N.
Oka, X. Dong. (2012). NPR3 and NPR4 are re-
ceptors for the immune signal salicylic acid in
plants. *Nature* 486(7402): 228–232.
- Fu, Z. y Xinnian, D. (2013). "Resistencia adquirida
sistémica: convertir la infección local en defen-
sa global". *Revisión anual de biología vegetal* 64
(1): 839–63. [https://doi.org/10.1146/annurev-
arplant-042811-105606](https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105606)
- Gemechu, B., Besufekad, A., y Mekuriaw, A. (2019).
"Performance Evaluation of Improved Bread
Wheat (*Triticum Aestivum* L.) Varieties and
Production Technologies in Central High Lands
of Ethiopia." *African Journal of Agricultural Re-
search* 14 (7): 439–46. [https:// doi:10.5897/
AJAR2018.13171](https://doi:10.5897/AJAR2018.13171)
- Goodwin, S. B. (2007). Back to basics and beyond:
Increasing the level of resistance to *Septoria tri-
tici* blotch in wheat. *Australasian Plant Pathology*
36(6): 532–538.
- Guzmán, A., Borges, L., Pinzón, E., Ruiz y J. Zúñi-
ga-Aguilar. (2012). Efecto del ácido salicílico y
la nutrición mineral sobre la calidad de plán-
tulas de chile habanero. *Agronomía Mesoame-
ricana*, 23(2): 247-257. [https://doi: 10.15517/
am.v23i2.6485](https://doi:10.15517/am.v23i2.6485)
- Martín, R., Nexticapan, A., y Larqué, A. (2013). Po-
tential benefits of salicylic acid in food production.
In *salicylic acid* (pp. 299-313). Springer, Dordre-
cht. [https://DOI: 10.1007/978-94-007-6428-6_13](https://DOI:10.1007/978-94-007-6428-6_13)
- Martín, R., Nexticapan, A., Villanueva, V., Uicab,
S., y Larque, A. (2015). Salicylic acid stimulates
flowering in micropopagated gloxinia plants. *Re-
vista fitotecnia mexicana* 38(2): 115–118.
- Moreau, M., Tian, M., y Klessig, D. (2012). Sa-
licylic acid binds NPR3 and NPR4 to regulate
NPR1-dependent defense responses. *Cell Re-
search* 22(12): 1631–1633. [https:// doi:10.1038/
cr.2012.100](https://doi:10.1038/cr.2012.100)
- Ramírez, J., Santa Rosa, R., Villaseñor, H., López,
E., Martínez, E., y Espitia, E. (2016). Evaluation
of varieties and even lines of bread wheat tem-
poral in Valles Altos. *Revista Mexicana de Cien-
cias Agrícolas*, 7(3), 655-667.
- Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini, M., Gonzalez,
L., Tablada, M., y Robledo, C. (2014). *InfoStat*
2014. Grupo InfoStat, FCA. Universidad Nacional
de Córdoba, Córdoba, ARG.
- Rodríguez, M., Villaseñor, H., Leyva, G, Huerta, J.,
Huerta, J. y De los Santos, H. (2008). Efecto de
Septoria tritici en el rendimiento de trigo de tem-
poral en ambientes lluviosos de los valles altos
centrales de México. *Agrociencia* 42(4): 435–442.
- Seadh, S. E., y El-Metwally, M. (2015). Influence of
antioxidants on wheat productivity, quality and
seed-borne fungi management under NPK fertili-
zation levels. *Asian Journal of Crop Science* 7(2):
87. [https://doi: 10.21608/JPP.2017.37815](https://doi:10.21608/JPP.2017.37815)
- Sorahinobar, M., Niknam, V., Ebrahimzadeh, H.,
Soltanloo, H., Behmanesh, M., y Enferadi, S. T.
(2016). Central Role of Salicylic Acid in Resistance
of Wheat Against *Fusarium graminearum*. *Jour-
nal of Plant Growth Regulation* 35(2): 477–491.
<https://doi.org/10.1007/s00344-015-9554-1>

- Stocco, M. C. (2014). Control biológico de *Mycosphaerella graminicola*, patógeno del trigo, con cepas de *Trichoderma harzianum* caracterizadas por su morfología, fisiología, actividad enzimática y molecular. Universidad Nacional de La Plata, La plata. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/42904>
- Stukenbrock, E., Jørgensen, F., Zala, M., Hansen, T., McDonald, B., y Schierup, M. (2010). Whole-genome and chromosome evolution associated with host adaptation and speciation of the wheat pathogen *mycosphaerella graminicola*. *PLoS Genetics* 6(12): e1001189. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001189>
- Testa, A., Oliver, R., y Hane, J. (2015). "Overview of Genomic and Bioinformatic Resources for *Zymoseptoria Tritici*." *Experimental Mycology* 79: 13-16. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2015.04.011>
- Velazquez, P. D., y Formento, A. N. (2012). Efecto de la fusariosis de la espiga (*Fusarium graminearum* y *Fusarium sep.*) sobre dos genotipos de trigo. XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas, 2331, F-63.
- Vidhyasekaran, P. (2020). Bioengineering and Molecular Manipulation of Salicylic Acid Signaling System to Activate Plant Immune Responses for Crop Disease Management. Springer, Dordrecht: 169-221. DOI: 10.1007/978-94-024-1940-5_5.
- Vlot, A., Klessig, D., y Park, S. (2008). Systemic acquired resistance: the elusive signal(s). *Current Opinion in Plant Biology* 11(4): 436-442. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.05.003>
- Wu, J., Sang, G., Kyu, Y., Ju, G., Sang, R., Ravi, G., Yong, H., Yiming, W., y Sun, T. (2016). Overexpression of a Pathogenesis-Related Protein 10 Enhances Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Rice. *The Plant Pathology Journal* 32 (6): 552-62. <https://doi: 10.5423/PPJ.OA.06.2016.0141>
- Wada, K. C., Yamada, M., Shiraya, T., y Takeno, K. (2010). Salicylic acid and the flowering gene FLOWERING LOCUS T homolog are involved in poor-nutrition stress-induced flowering of *Pharbitis nil*. *Journal of Plant Physiology* 167(6): 447-452. <https://doi: 10.1016/j.jplph.2009.10.006>
- Wang, X., Wei, S., Jing, G., Xiu, M., Hai, W., y Da L. (2018). "Systemic Acquired Resistance, NPR1, and Pathogenesis-Related Genes in Wheat and Barley." *Agricultural Sciences in China* 17 (11): 2468-77. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61852-5](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61852-5)

Conflicto de Intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses

**Licencia de Creative Commons**

Revista de Investigación Agraria y Ambiental is licensed under a Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional License.

UTILIZACIÓN DE PCR PARA LA IDENTIFICACIÓN DE PIROPLASMOSIS EQUINA EN UN CRIADERO DE JAMUNDÍ (COLOMBIA)

USE OF PCR FOR THE IDENTIFICATION OF EQUINE PIROPLASMOSIS IN A FARM LOCATED IN JAMUNDÍ (COLOMBIA)

¹Indrid Marcela González Jiménez, ²Fernando Favian Castro Castro, ³Fredy Javier Angarita Alonso, ⁴Luis Gabriel Rivera-Calderón

¹Médico Veterinaria, Universidad Antonio Nariño (UAN), Popayán, Colombia.

²Médico Veterinario, Ph.D, UAN, Grupo Quirón, Popayán, Colombia.

³Médico Veterinario y Zootecnista, M.Sc, UNAD, Grupo TECNOGÉNESIS.

⁴Médico Veterinario y Zootecnista, Ph.D, UAN, Grupo GIPSA, Popayán, Colombia.

¹indgonzalez@uan.edu.co; ²favian.castro@uan.edu.co;

³fredy.angarita@unad.edu.co; ⁴lgrivera@uan.edu.co

RESUMEN

Contextualización: la piroplasmosis equina es una enfermedad transmitida por garrapatas, causada por protozoarios de la especie *Babesia caballi* y *Theileria equi*. Los animales afectados presentan diferentes signos clínicos que incluyen anemia, fiebre, ictericia y depresión. Los equinos infectados con *T. equi* pueden ser portadores de manera vitalicia del parásito, mientras que aquellos que contraen *B. caballi* pueden diseminarlo por algunos años hasta finalmente quedar libres de la infección.

Vacío de investigación: en Colombia existen pocos estudios sobre el aislamiento e identificación de hemoparásitos en equinos mediante técnicas moleculares como reacción en cadena

de la polimerasa. Dentro de estos parásitos se encuentran *Babesia caballi* y *Theileria equi*, agentes causantes de la Piroplasmosis una enfermedad de declaración obligatoria por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE).

Propósito del estudio: el objetivo de este estudio fue identificar la Piroplasmosis equina mediante PCR en un criadero localizado en el municipio de Jamundí (Valle del Cauca).

Metodología: de un total de 20 ejemplares, divididos en dos grupos, (animales estabulados y animales en potrero), se colectó sangre periférica para realizar frotis teñidos con Wright. Además, se enviaron otras muestras al laboratorio para diagnóstico molecular.

DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3543>

Resultados y conclusiones: todas las muestras con Wright fueron negativas a hemoparásitos, sin embargo, por PCR convencional fue posible identificar piroplasmosis. La PCR fue un método sensible y confiable para diagnosticar la enfermedad en un individuo asintomático. Más estudios deben ser realizados en esta región sobre *Babesia* sp., para identificar sus posibles factores predisponentes y causales, así como para mejorar las medidas de prevención, control y tratamiento.

Palabras clave: *Babesia* sp.; caballo; diagnóstico; garrapatas; protozoo.

ABSTRACT

Contextualization: Equine piroplasmosis is a tick-borne disease, caused by protozoa *Babesia caballi* and *Theileria equi*. The animals affected have different clinical signs that include anemia, fever, icterus and depression. Infected equids with *T. equi* can carry the hemoparasite for life, while the infected animals with *B. caballi* can disseminate for a few years until finally get rid of the infection.

Knowledge gap: In Colombia there are few studies on the isolation and identification of hemoparasites in equines using molecular techniques such as PCR. Among these parasites

are *Babesia caballi* and *Theileria equi*, causative agents of Piroplasmosis a disease notifiable by the World Organisation for Animal Health.

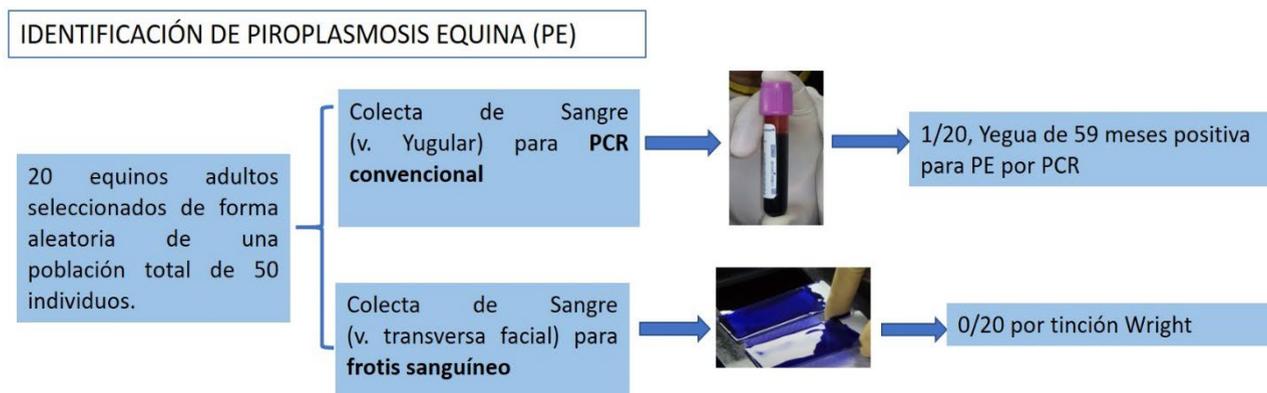
Purpose: The aim of this study was to identify equine piroplasmosis using polymerase chain reaction in a farm located in Jamundí (Valle del Cauca).

Methodology: In a total of 20 animals, divided in two groups, (animals in stable and animals in grassland) was collected peripheral blood to perform smear stained with Wright. Also, other samples were sent to the laboratory for molecular diagnosis.

Results and conclusions: All samples with Wright were negative for hemoparasites, however, by PCR it was possible to identify piroplasmosis. Conventional PCR was a sensitive and reliable method to diagnose the disease in an asymptomatic individual. More studies should be carried out in this region on *Babesia* sp. to identify possible predisposing and causal factors, as well as to improve the measures for its prevention, control and treatment.

Keywords: *Babesia* sp; horse; diagnosis; ticks; protozoon.

Resumen gráfico



1. INTRODUCCIÓN

La piroplasmosis equina (PE) es una enfermedad producida por protozoarios de la especie *Babesia caballi* y *Theileria equi*, transmitida principalmente por garrapatas de los géneros *Hyalomma* sp., *Rhipicephalus* sp. y *Dermacentor* sp. Otras formas de infección reportadas son las agujas contaminadas o transfusiones sanguíneas (Gray, Estrada-Peña y Zintl, 2019; Onyiche *et al.*, 2019).

Existen cuatro formas de presentación de esta enfermedad: hiperaguda, aguda, subaguda y crónica. La de mayor frecuencia es la PE aguda, en la cual, los animales presentan fiebre, inapetencia, disnea, taquipnea, malestar y congestión en las mucosas. En los casos crónicos, los signos clínicos incluyen inapetencia leve, baja tolerancia al ejercicio, fiebre transitoria y pérdida de peso (OIE, 2018; Onyiche *et al.*, 2019). La PE causa pérdidas económicas importantes en la industria equina, debido a los costos en su control y tratamiento, abortos en yeguas infectadas o la muerte de animales que presentan cuadros hiperagudos o agudos. Además, las yeguas infectadas (incluidas las portadoras), pueden transmitir *T. equi* a sus crías, las cuales, a su vez, pueden nacer con anemia o ser portadores sanos (Georges *et al.*, 2011).

La enfermedad ha sido reportada en Asia, África, América central, América del sur, en el sur de Europa y Estados Unidos (OIE, 2018). En Colombia algunos autores han informado la presencia de *Babesia* sp. en tres departamentos (Córdoba, Sucre y Antioquia), pero la situación epidemiológica en el país de PE sigue siendo desconocida, debido a la ausencia de estudios que identifiquen los vectores incriminados en la transmisión (Benavides y Rodríguez, 2009; Calderón, Cardona y Vergara, 2013; Agudelo-Ruíz *et al.*, 2017; Strauch *et al.*, 2018).

Según la OIE (2018) existen diferentes técnicas para diagnosticar *B. caballi* y *T. equi*, cada una con un propósito; por ejemplo, demostrar la ausencia de la infección en una población, confirmar casos clínicos o contribuir a las políticas de erradicación. Entre las técnicas utilizadas para la detección de PE se encuentran la tinción tipo Romanovsky en frotis sanguíneo, inmunofluorescencia indirecta (IFA), enzimo-inmunoanálisis de competición (C-ELISA), y PCR dirigida al gen de la subunidad 18S de ARNr.

El objetivo de este estudio fue identificar PE en un criadero de caballos de raza paso fino colombiano en el municipio de Jamundí, mediante la utilización de coloración con Wright en frotis sanguíneo y PCR convencional.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en un criadero equino ubicado en las coordenadas 3°15'39"N 76°32'22"O del municipio de Jamundí, Valle del Cauca, a una altura de 869 m.s.n.m. Las condiciones climáticas durante el desarrollo del experimento fueron: temperatura promedio de 24 °C, humedad relativa del 90% y precipitación media mensual de 90 mm.

Se seleccionaron 20 equinos de forma aleatoria, de una población total de 50 animales que se encontraban en el criadero. Los ejemplares escogidos se dividieron en dos grupos: 10 alojados en pesebreras (Grupo 1); y 10 se encontraban en potrero (Grupo 2). La alimentación de los animales estabulados era con ración, y los de potrero recibían ración y consumían pasto estrella (*Cynodon plectotachyus*). Cabe mencionar que todos los animales en el área de estudio contaban con el plan vacunal exigido en el país.

Luego de la identificación de los animales, se realizó un examen físico, evaluando su condición corporal según la escala de Henneke *et al.*, (1983) y constantes fisiológicas. Las muestras de los animales seleccionados se tomaron en horas de la mañana. La sangre extraída de la vena transversa facial se utilizó para frotis en portaobjetos teñidos con Wright, siguiendo el protocolo de Calderón, Cardona y Vergara (2013). Los portaobjetos se analizaron en el Laboratorio de Ciencias Básicas de la Universidad Antonio Nariño, Popayán. Por su parte, las muestras colectadas de la vena yugular fueron enviadas en una caja térmica a 4 °C al laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia, Medellín.

En el Laboratorio se hizo el aislamiento del

ADN de la sangre colectada, usando un kit para sangre (QIAGEN Inc., Valencia, CA, USA), siguiendo las recomendaciones del fabricante. Para la técnica de PCR convencional, la mezcla de reacción se efectuó en un volumen final de 50 µL, con solución tampón de amplificación (10 mM Tris HCl (pH 8,0), 50 mM KCl y 1,5 mM MgCl₂), además de 3 µL de ADN molde, 2 mM de dNTPs, 2,5 pmol de cada *primer* universal (Tabla 1) y 2,5 U de AmpliTaq Gold (Applied Biosystems, Tokio, Japón). En el termociclador se repitieron 40 ciclos con los siguientes pasos: desnaturalización durante 1 minuto a 96 °C; anillamiento durante 1 minuto a 60,5°C; extensión durante 1 minuto a 72°C; y extensión final durante 10 minutos a 72°C. La visualización de los productos de PCR se realizó por electroforesis en gel agarosa al 1,5% teñidos con bromuro de etidio (Figura 1).

Tabla 1. *Primers* universales utilizados en PCR para el diagnóstico de Piroplasmosis Equina.

Nombre de parásito	Primers	Secuencia	Número de pares de bases
<i>Theileria equi</i>	Bec-UF1-F	5'-GTTGATCCTGCCAGTAGTCA-3'	913 bp
	Bec-UR-R	5'-CGGTATCTGATCGTCTTCGA-3'	
<i>Babesia caballi</i>	Bec-UF1-F	5'-GTTGATCCTGCCAGTAGTCA-3'	867 bp
	Bec-UR-R	5'-CGGTATCTGATCGTCTTCGA-3'	

Fuente: autores

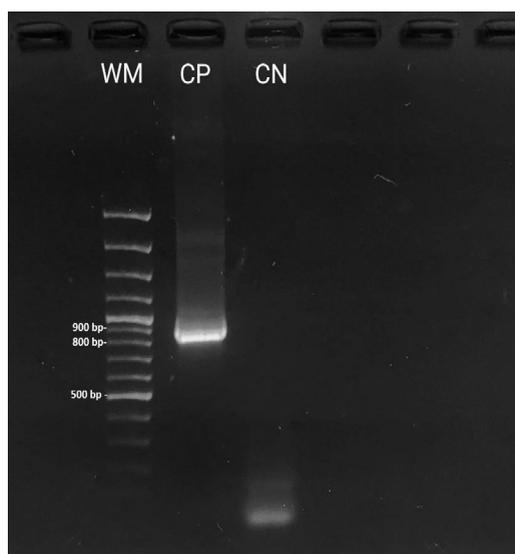


Figura 1. Electroforesis de la PCR con controles para Piroplasmosis equina. En este estudio se utilizaron *Primers* universales para *Theileria equi* y *Babesia caballi*, con productos de PCR de 913 bp y 867 bp, respectivamente. Debido a la pequeña diferencia del tamaño entre las bandas, no es posible distinguirlas usando un gel de agarosa, por lo que se reporta el resultado como positivo para piroplasmosis sin especificar el género causal. WM= Marcador, CP = Control positivo, CN = Control negativo.

Fuente: autores

Análisis Estadístico

Se utilizó un análisis estadístico descriptivo para caracterizar la población muestreada; y luego se determinaron porcentajes, medidas de tendencia central y medidas de dispersión en las variables cualitativas (sexo y presencia de garrapatas) y cuantitativas (edad y condición corporal). Las tablas y gráficos para la obtención e interpretación de los resultados se elaboraron en una hoja de Microsoft Excel.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Gray, Estrada-Peña y Zintl (2019), determinaron que la *Babesia caballi* y la *Theileria equi*, son dos protozoos intra-eritrocitarios causantes de la babesiosis y theileriosis equina. Para Wise *et al.*, (2014), estas dos enfermedades en conjunto también son conocidas como Piroplasmosis equina y se pueden transmitir por garrapatas o de forma iatrogénica. Además, Rothschild y Knowles (2007), señalan que estos protozoarios son capaces de infectar también a mulas, burros y cebras, caracterizándose clínicamente por una anemia hemolítica aguda.

En este estudio se seleccionó el 40% de la población de un criadero para muestreo sanguíneo con el fin de identificar PE. El promedio de edad de los machos que se analizaron fue de 76 meses, mientras que el de las hembras fue de 88 meses. En el examen clínico, todos los animales presentaron constantes fisiológicas normales, buena condición corporal y ausencia de ectoparásitos.

La frecuencia de *Babesia sp.*, fue del 0% (0/20), con la tinción de Wright. Diferentes autores reportan frecuencias bajas para esta enfermedad cuando se utiliza la tinción de Wright. Así, Calderón, Cardona y Vergara (2013) reportan una prevalencia de 18,25%, De Vera *et al.*,

(2006) 13,1% y Castellanos *et al.*, (2010) 1,4 % para *Babesia sp.* Las tinciones sanguíneas permiten la identificación del parásito mediante el microscopio óptico, especialmente en la fase aguda de la enfermedad; sin embargo, es muy difícil su detección por frotis en animales portadores crónicos o inaparentes (Krause, 2003; De Vera *et al.*, 2006).

Por otro lado, durante la fase aguda de la infección, los parásitos en sangre pueden mantenerse en niveles bajos que se relacionan como falsos negativos (Friedhoff y Soulé, 1996), especialmente para *B. caballi*, con parasitemias que pueden llegar al 0,1% (Wise *et al.*, 2013). Cabe destacar, que las pruebas sanguíneas presentan baja sensibilidad en comparación con las pruebas moleculares como la PCR (Rampersad *et al.*, 2003; Alhassan *et al.*, 2005; Ibrahim *et al.*, 2011; Malekifard *et al.*, 2014). En esta investigación un animal negativo a *Babesia sp.* en frotis sanguíneo teñido con Wright, resultó positivo por PCR convencional. Se trataba de una yegua de 59 meses de edad, estabulada y con condición corporal 8/10 (Tabla 2 y Tabla 3). Respecto a la variable sexo, en un estudio realizado con équidos (caballos, asnos y mulas) se reportó que la frecuencia de infección en las hembras fue de 55,5%, mientras que en los machos de 45,5%, para un total de 18 animales infectados (Agudelo-Ruíz *et al.*, 2017).

De acuerdo con Böse *et al.*, (1995), la sensibilidad del PCR es unas 100 veces superior a la de las técnicas microscópicas, detectando el ADN del parásito en una sangre con una parasitemia de 10^{-9} , que se traduce en la detección de un parásito por cada 1.000.000.000 eritrocitos. Igualmente, los resultados con PCR son confiables si la cantidad de ADN a detectar es muy pequeña (1 picogramo, es decir, 10^{-12} gramos de ADN).

Tabla 2. Categorización de los animales según las variables definidas para el estudio.

Número del caso	Edad (meses)	Sexo	C.C	Localización	Constantes Fisiológicas	Presencia de Garrapatas	Tinción Wright para PE	PCR convencional para PE
1	70	H	8	E	N	No	-	-
2	68	H	9	E	N	No	-	-
3	59	H	8	E	N	No	-	+
4	72	H	8	E	N	No	-	-
5	83	M	9	E	N	No	-	-
6	91	H	9	E	N	No	-	-
7	47	M	9	E	N	No	-	-
8	53	H	8	E	N	No	-	-
9	98	M	8	E	N	No	-	-
10	87	H	9	E	N	No	-	-
11	130	H	8	P	N	No	-	-
12	99	H	8	P	N	No	-	-
13	85	H	7	P	N	No	-	-
14	79	H	8	P	N	No	-	-
15	123	H	8	P	N	No	-	-
16	110	H	8	P	N	No	-	-
17	109	H	9	P	N	No	-	-
18	99	H	8	P	N	No	-	-
19	74	H	8	P	N	No	-	-
20	86	H	7	P	N	No	-	-

C.C= condición corporal; M= Macho; H= Hembra; E= Estabulado; P=Potrero; N= Normales.

Fuente: autores

Tabla 3. Promedio y desviación estándar de la edad y condición corporal de los equinos evaluados.

	Edad	C.C	% animal según sexo
Promedio Total	86,1	8,2	
Promedio Macho	76	8,66	15
Promedio Hembra	87,88	8,11	85
Desviación estándar Total	22,04	0,61	
Desviación estándar Macho	26,21	0,57	
Desviación estándar Hembra	21,65	0,6	

Fuente: autores

En Colombia se han realizado pocos trabajos sobre la presencia de PE (Calderón, Cardona y Vergara, 2013; Agudelo-Ruíz *et al.*, 2017; Strauch *et al.*, 2018). Agudelo-Ruíz *et al.*, (2017), observaron una frecuencia de infección de PE del 13% (18/135), identificando por primera vez la circulación de *T. equi* en el país, en animales procedentes de Antioquía y Córdoba. En este estudio, solo fue posible identificar el género *Babesia* sp. mediante la técnica PCR, debido a que no se utilizaron *primers* específicos para diferenciar las especies que producen la PE. Por su parte, Calderón, Cardona y Vergara (2013) tomaron 126 muestras para determinar la presencia de *Babesia* sp., con coloración de Wright, de las cuales, el 18,25% de las muestras resultaron positivas. Dentro de ese porcentaje, observaron que los animales estabulados eran los que más se encontraban infectados, en comparación con los semi-estabulados y de potrero, a pesar de no encontrar garrapatas dentro de los grupos analizados. Los resultados de ese trabajo se asemejan con las características encontradas en el animal positivo del presente estudio (ver Tabla 2).

García *et al.*, (2013), determinaron que existe mayor seroprevalencia de *T. equi* cuando hay presencia de garrapatas en los animales muestreados. Strauch *et al.*, (2018) identificaron que 28 de 980 caballos muestreados poseían garrapatas y, de estos, solamente cuatro fueron positivos para piroplasmosis. Según estos autores, deben existir otras formas de transmisión para la PE en Colombia y agregan que existen factores de riesgo como la positividad a Anemia Infecciosa Equina y la presencia de endoparásitos (Estróngilos u Oxiuros).

Por su parte, Mantran, Votion y Amory (2004), indican que la presencia de esta enfermedad en climas cálidos es baja; sin embargo, se puede incrementar por el transporte de los

equinos desde zonas donde hay registro de la enfermedad (Sigg *et al.* 2010). En el área de investigación, se relaciona una población alta de équidos y una gran frecuencia de eventos deportivos con asistencia considerable por parte de los criaderos que favorecerían la transmisión de PE.

En este estudio, se evidenció la presencia de PE mediante la técnica de PCR convencional en un criadero con 50 animales, esto significa que existe riesgo de infección para otros animales. Se sugiere seguir lo que ordena la autoridad sanitaria colombiana (Instituto Colombiano Agropecuario, ICA) y el código sanitario para animales terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal (capítulo 12.7) (OIE, 2019), con el fin de prevenir la diseminación de la enfermedad entre animales que se muevan de una región a otra, o que participan en eventos ecuestres y generan riesgo epidemiológico.

La positividad del animal impide su exportación, su participación en competencias o su reproducción. Aún son necesarios más estudios en Colombia que permitan comprender los factores de riesgo y causales de esta enfermedad, igualmente generar trabajos a nivel de diagnóstico de métodos directos e indirectos para establecer programas de prevención y control.

4. CONCLUSIONES

La técnica de PCR convencional proporciona una metodología válida para identificar individuos asintomáticos con PE, que resultan negativos a pruebas directas como los frotis sanguíneos teñidos con Wright. Para determinar el estatus sanitario de la población equina frente a la Piroplasmosis, la prueba indirecta de PCR permite generar validaciones epidemiológicas que pueden ayudar a fortalecer programas de control y prevención frente a esta enfermedad.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

Primer autor: metodología, investigación, análisis de datos, conceptualización, escritura – borrador original. **Segundo autor:** investigación, conceptualización, escritura – revisión y edición. **Tercer autor:** investigación, conceptualización, escritura – revisión y edición. **Cuarto autor:** investigación, análisis de datos, conceptualización, escritura – borrador original, revisión y edición.

AGRADECIMIENTOS

Al personal del laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, por el procesamiento de muestras y la realización de la técnica de PCR convencional. Igualmente, a la Universidad Antonio Nariño por brindarnos un espacio en el laboratorio de Ciencias Básicas para analizar las muestras de frotis sanguíneo teñidas con Wright.

LITERATURA CITADA

- Agudelo-Ruíz, Y., Acevedo-Gutiérrez, L., Montoya-Sánchez, A., Paternina, L., y Rodas, J. (2017). Molecular identification of tick-borne hemoparasites in equines from Northwestern Colombia. *Revista MVZ Córdoba*, 22, 6004-6013. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1070>
- Alhassan, A., Wilawan, P., Okamura, M., Hirata, H., Battsetseg, B., Fujisaki, K., Yokojama, N., y Igarashi, I. (2005). Development of a single-round and multiplex PCR method for the simultaneous detection of *Babesia caballi* and *Babesia equi* in horse blood. *Veterinary parasitology*, 129, 43-49. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.12.018>
- Benavides, E., y Rodríguez, L.E. (2009). Epidemiology and control of illnesses anemic and feverish in the horses in Colombia. *Revista SPEI Domus*, 5(11), 20-31. Recuperado de: [Recuperado de https://revistas.ucc.edu.co/index.php/sp/article/view/593](https://revistas.ucc.edu.co/index.php/sp/article/view/593)
- Böse, R., Jorgensen, W.K., Dalgliesh, R.J., Friedhoff, K.T. y de Vos, A.J. (1995). Current state and future trends in the diagnosis of babesiosis", *Veterinary Parasitology*, 57(1-3),61-74. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(94\)03111-9](https://doi.org/10.1016/0304-4017(94)03111-9)
- Calderón, A., Cardona, J., y Vergara O. (2013). Frecuencia de *Babesia* spp. en caballos de montería, Córdoba (Colombia). *Revista U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica*, 16(1): 451-458. <https://doi.org/10.31910/rudca.v16.n2.2013.918>
- Castellanos, R.; Canelón, J.L.; Calzolaio, V.; Aguinaco, F.; López, Á. y Montesinos, R. (2010). Estudio hematológico y detección de hemoparásitos en caballos criollos venezolanos de dos hatos del Estado Apure, Venezuela. *Revista científica de veterinaria*. 20(2):153-160.
- De Vera, M., Guillén, A.T., García, F., Contreras, R., Sierralta, A. y León, E. (2006). Seroprevalencia de la babesiosis equina en caballos purasangre de carrera alojados en los hipódromos de la Rinconada y Nacional de Valencia, Venezuela", *Veterinaria Tropical*, 31(1-2), 43-52.
- Friedhoff, K.T. y Soulé, C. (1996). An account on equine babesiosis. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 15(3), 1191-1201. <https://doi.org/10.20506/rst.15.3.972>
- García, B.I., Arenas, M.A., Hernández, E., Adaszek, L.; Carbonero, A., Almeida, S., Téllez, J.A., Palomino, G.P. y Arenas, A. (2013). Seroprevalence and risk factors associated with *Babesia caballi* and *Theileria equi* infection in equids. *Veterinary Journal*. 195(2):172-178. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.06.012>
- Georges, K.C., Ezeokoli, C.D., Sparagano O., Pargass I., Campbell, M., D'Abadie, R., y Yabsley, M.J. (2011). A case of transplacental transmission of *Theileria equi* in a foal in Trinidad. *Veterinary Parasitology*, 175(3-4), 363-366. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.10.019>
- Gray, J.S., Estrada-Peña, A., y Zintl, A. (2019). Vectors of Babesiosis. *Annual review of entomology*, 64, 149-165. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011118-111932>
- Henneke, D.R., Potter, G.D., Kreider, J.L. y Yeates, B.F. (1983). Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Equine Veterinary journal*, 15(4): 371-372. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1983.tb01826.x>
- Ibrahim, A.K., Gamil, I.S., Abd-El baky, A.A., Hussein, M.M. y Tohamy, A.A. (2011). Comparative molecular and conventional detection methods of *Babesia equi* (*B. equi*) in Egyptian equine. *Global Veterinaria*, 7(2), 201-210. Recuperado de [https://www.idosi.org/gv/GV7\(2\)11/18.pdf](https://www.idosi.org/gv/GV7(2)11/18.pdf)

- Krause, P.J. (2003). Babesiosis diagnosis and treatment. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 3(1), 45-51. <https://doi.org/10.1089/153036603765627451>
- Malekifard, F., Tavassoli, M., Yakhchali, M., y Darvishzadeh, R. (2014). Detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* using microscopic and molecular methods in horses in suburb of Urmia, Iran. *Veterinary Research Forum*, 5(2), 129-133. Recuperado de http://vrf.iranjournals.ir/article_5397.html
- Mantran, A., Votion, D.M. y Amory, H. (2004). Piroplasmosis: A problem in Belgium? In: Proc. Annual Congress Belgian Equine Practitioners Society, Liege, Belgium. Recuperado de <https://www.ivos.org/library/beps/beps-annual-study-days-brussels-2004/piroplasmose-une-r%C3%A9alit%C3%A9-belge>
- Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). (2018). Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres 2019. Recuperado de <https://www.oie.int/es/normas/manual-terrestre/acceso-en-linea/>
- Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). (2019). Código Sanitario para los Animales Terrestres 2019. Recuperado de https://www.oie.int/index.php?id=169&L=2&htmfile=chapitre_equine_piroplasmosis.htm#article_equine_piroplasmosis.2
- Onyiche, T.E., Suganuma, K., Igarashi, I., Yokoyama, N., Xuan, X., y Thekiso. O. (2019). A Review on Equine Piroplasmosis: Epidemiology, Vector Ecology, Risk Factors, Host Immunity, Diagnosis and Control. *International of Environmental research and public health*, 16(10). <http://doi.org/10.3390/ijerph16101736>
- Rampersad, J., Cesar, E., Campbell, M.D., Samlal, M. y Ammons, D. (2003). A field evaluation of PCR for the routine detection of *Babesia equi* in horses. *Veterinary Parasitology*, 114(2), 81-87. [http://doi.org/10.1016/s0304-4017\(03\)00129-8](http://doi.org/10.1016/s0304-4017(03)00129-8)
- Sigg, L., Gerber, V., Gottstein, B., Doherr, M.G. y Frey, C.F. (2010). Seroprevalence of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in the Swiss horse population. *Parasitol. Int.* 59(3):313-317. <http://doi.org/10.1016/j.parint.2010.02.005>
- Strauch, A., Castillo, V., Piedrahita, D., Chaparro, J., Villar, D., Sánchez, A., Tobón, J., Ortiz, D., Ramírez, N. y Olivera-Ángel, M. (2018). Prevalencia de *Babesia caballi*, *Theileria equi* y tripanosomiasis y análisis de factores de riesgo en equinos de Antioquia, Colombia. *Revista U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica*, 21 (2), 491-500. <https://doi.org/10.31910/rudca.v21.n2.2018.976>
- Wise, L.N., Kappmeyer, L.S., Mealey, R.H. y Knowles, D.P. (2013). Review of equine piroplasmosis. *Journal of Veterinary International Medicine*. 27(6), 1334-1346. <https://doi.org/10.1111/jvim.12168>

Conflicto de Intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

El comité de ética respectivo, avaló el estudio presentado aquí.

**Licencia de Creative Commons**

Revista de Investigación Agraria y Ambiental is licensed under a Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional License.

EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA DEL AGUA Y LOS SEDIMENTOS EN EL EMBALSE LA FE, COLOMBIA

TOXICITY ASSESSMENT OF WATER AND SEDIMENT SAMPLES IN LA FE RESERVOIR, COLOMBIA

¹**Amaringo F., ¹Molina F.**

¹Grupo de Investigación en Gestión y Modelación Ambiental GAIA, Escuela Ambiental,
Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia UdeA, Calle 70 No. 52-21, Medellín, Colombia.

¹fredy.amaringo@udea.edu.co; ¹francisco.molina@udea.edu.co

*Autor de correspondencia

RESUMEN

Contextualización del tema: la calidad del agua de los embalses destinados al tratamiento y suministro de agua potable se debe monitorear mediante análisis de toxicidad del agua y sedimentos, ya que los sedimentos pueden actuar como fuente de contaminantes orgánicos, de tal forma que durante procesos de mezcla y transporte estos contaminantes pueden quedar disponibles en los ecosistemas acuáticos.

Vacío de investigación: debido a que estos contaminantes esta en el orden de trazas, se hace necesaria la utilización de metodos de muestreo pasivo que permitan la acumulación de compuestos hidrofóbicos en dispositivos de membranas semipermeables (SPMDs) para la posterior evaluación.

Propósito del estudio: en este estudio, se evaluó la toxicidad de extractos dializados de muestreo pasivo tipo SPMD y de sedimentos,

mediante ensayos Microtox®, usando la bacteria *Vibrio fischeri*.

Metodología: los 24 extractos analizados se obtuvieron a partir de dispositivos de membranas semipermeables (SPMDs) previamente desplegadas durante 21 días en seis estaciones en el cuerpo de agua del embalse La Fe, Antioquia, durante cuatro campañas de muestreo. Los extractos se sometieron a ensayo mediante el Microtox Basic Test. La evaluación del potencial de toxicidad del sedimento del embalse se analizó de igual forma en 12 muestras, mediante ensayos de toxicidad aguda con Microtox®, aplicando el protocolo Solid Phase Test (SPT). Asimismo, se determinaron los parametros físicoquímicos del agua pH, temperatura, conductividad eléctrica, oxígeno disuelto y turbidez.

Resultados: los resultados de los ensayos mostraron que los extractos de SPMD

DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3826>

recolectados en el cuerpo de agua no presentaron toxicidad, mientras que los elutriados de sedimentos presentaron una toxicidad moderada o baja.

Palabras clave: contaminantes; calidad del agua; sedimentos; toxicidad aguda.

ABSTRACT

Contextualization: To guarantee the quality of the water in the reservoirs destined to the treatment and supply of drinking water, toxicity analyzes of the water and sediments must be carried out periodically, due to its can be reservoirs of the organic pollutants that during remobilization processes could make those available in the aquatic ecosystems.

Knowledge gap: Because these contaminants concentrations are found in traces (ng/L), it is necessary to use passive sampling methods that allow the accumulation of hydrophobic compounds in semi-permeable membrane devices (SPMDs) for subsequent evaluation.

Purpose: The purpose of this study was to evaluate the toxicity of samples from SPMD-type

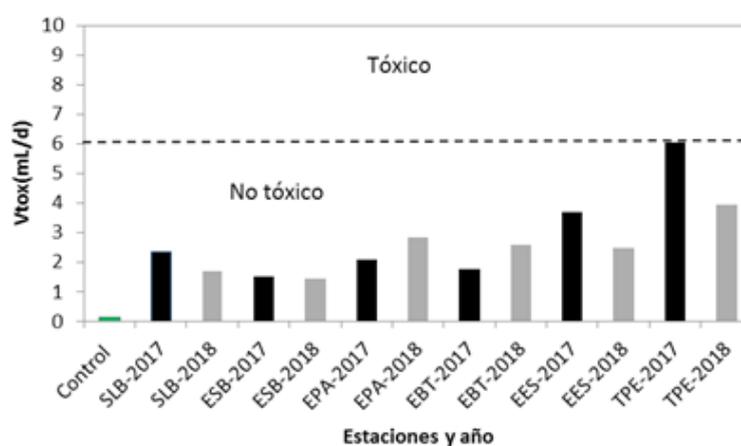
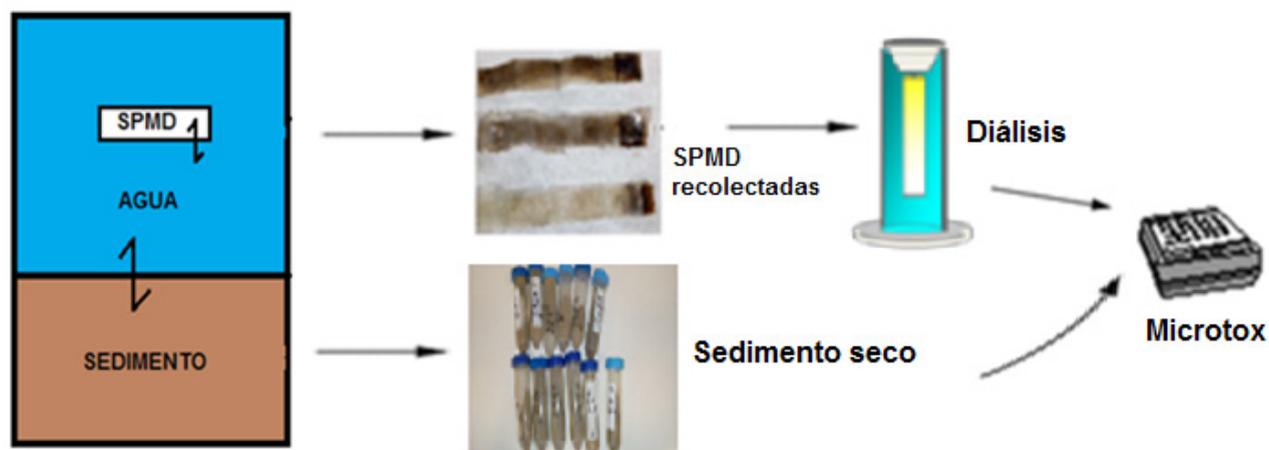
passive sampling extracts and sediments by the use Microtox[®] assays using the *Vibrio fischeri* bacteria.

Methodology: The 24 extracts used in the trial were obtained from semi-permeable membrane devices (SPMDs) previously deployed for 21 days in 6 stations located in the reservoir of the La Fe, Antioquia, in four sampling campaigns. The extracts were tested by Microtox Basic Test medium. The evaluation of the toxicity potential of the reservoir sediment was also analyzed by means of acute toxicity tests with Microtox[®] applying the Solid Phase Test (SPT) protocol as well as the physicochemical parameters of water such as pH, temperature, electrical conductivity, dissolved oxygen and turbidity.

Results and conclusions: The results of the toxicity tests indicate that the analysis of the extracts of SPMD collected in water reservoir La Fe does not present toxicity, while those fed by sediments presented moderate or low toxicity.

Keywords: water quality; acute toxicity; sediments.

RESUMEN GRÁFICO



Fuente: autores

1. INTRODUCCIÓN

La evaluación de la toxicidad representa una herramienta fundamental en el control y manejo ambiental de los vertimientos de contaminantes en los ecosistemas acuáticos (Beg & Ali, 2008). Debido a que los compuestos orgánicos son contaminantes con concentraciones en el orden de trazas (ng/L), se hace necesaria la utilización de métodos que permitan la acumulación de compuestos hidrofóbicos en soportes para su posterior evaluación.

Uno de los métodos en la toma de muestras para la evaluación de toxicidad de contaminantes en cuerpos de agua son los dispositivos de

muestreo pasivo (PSD) (Allan et al., 2010) El principio de la técnica de muestreo pasivo consiste en el despliegue de un dispositivo de membrana semipermeable (SPMD) en el cuerpo de agua, durante un período definido de tiempo. En dicho periodo, los contaminantes se difunden libremente a través de la membrana y se acumulan por medio de procesos difusivos y de adsorción (Charriau et al., 2016).

Las membranas semipermeables (SPMD), son dispositivos que permiten un muestreo pasivo *in situ*, las cuales contienen en su interior Trioleína, cuyo carácter lipofílico, permite el

análisis de contaminantes orgánicos persistentes (POPs) u otros contaminantes orgánicos hidrofóbicos con el coeficiente de partición octanol/agua mayor a 3 ($\log K_{ow} \geq 3$) (Huckins et al., 2006; Narvaez & Molina, 2012). Por ejemplo, entre los compuestos analizados, se encuentran los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) bifenilos policlorados (PCB), pesticidas organoclorados y contaminantes orgánicos persistentes (POP) (Forsberg et al., 2014); (Karacik et al., 2013); (Narvaez, Lopez, & Molina, 2013); (Lohmann et al., 2012).

En este sentido, Johnson et al.,(2000) desarrollaron una metodología que permite integrar el sistema de ensayos de toxicidad aguda Microtox® con extractos dializados de dispositivos de membrana semipermeable (SPMD-TOX) (Johnson et al., 2000). Esta metodología, se fundamenta en la bioluminiscencia natural de la bacteria marina *Photobacterium phosphoreum*, también conocida como *Vibrio fischeri* que, en presencia de agentes contaminantes, reduce la bioluminiscencia natural, y por lo tanto, la toxicidad se expresa como concentración efectiva, que reduce más del 50% de la luminiscencia inicial (EC_{50})(Fernández-piñas et al., 2014);(Onorati & Mecozzi, 2004). El análisis de toxicidad por medio de Microtox®, ha sido aplicado por más de 40 años, ya que es un método rápido, simple y sensible para la evaluación del riesgo por exposición a contaminantes transmitidos a través del agua antibióticos como la amoxicilina y ciprofloxacina; antibacteriales; contaminantes atmosféricos; pesticidas; herbicidas; plantas medicinales; metales pesados como zinc, cobre, plomo, plata y mercurio, cadmio (II) y cromo (VI) (Palma et al., 2010);(Ji et al., 2013);(Grinten, Pikkemaat, & Brandhof, 2010);(Kováts & Horváth, 2016);(Mansour, Abdel-hamid, & Ibrahim,

2015);(Palma et al., 2008);(Gatidou, Stasinakis, & Iatrou, 2014);(Kovats et al., 2011);(Gonçalves et al., 2015);(Fulladosa et al., 2005);(Fulladosa, Murat, & Villaescusa, 2005).

En este estudio, se utilizaron Microtox® y extractos dializados de membranas SPMD desplegadas para conocer las condiciones ambientales de un embalse que suministra agua a la planta de potabilización La Ayurá, que abastece la zona sur del Valle de Aburrá, Colombia.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Área de estudio

El embalse La Fe tiene un área de 1,73 Km²; se ubica en el municipio de El Retiro en el departamento de Antioquia; Tiene una capacidad de 11.58 millones de m³ y el área de sus tributarios abarca 78 Km²; recibe aguas de las quebradas Las Palmas, San Luis-Boquerón, Espíritu Santo y aportes de los ríos Pantanillo, Piedras y Buey por mecanismo de bombeo (Salazar, 2017). Se encuentra localizado en una zona de alta montaña, de topografía encañonada y es el resultado de dos fases de construcción; la primera, finalizada en 1967; y la segunda debido a una ampliación en 1974 (Florez et al., 2017). Debido a la influencia y meteorización de las rocas del batolito antioqueño los suelos son arcillosos, de color rojo y pardo rojizo, ricos en materia orgánica y nitrógeno total, muy ácidos (pH entre 4.4 y 4.5) y grandes fijadores de fosforo (Arias & Ramirez, 2009). Debido a las actividades agrícolas de la región y a la densificación inmobiliaria, los residuos domésticos y agroindustriales, ingresan de manera directa o indirecta a las quebradas y ríos llegando finalmente al embalse. El embalse La Fe es un importante reservorio de agua para el Valle de Aburrá y abastece agua potable para más de un millón de habitantes.

2.1.1. Trabajo de campo

Se ubicaron las estaciones de monitoreo en las principales cuencas tributarias aportantes

al embalse y algunas fueron ubicadas en zonas de transición entre los tributarios y el sistema léntico del embalse (Figura 1, Tabla 1).

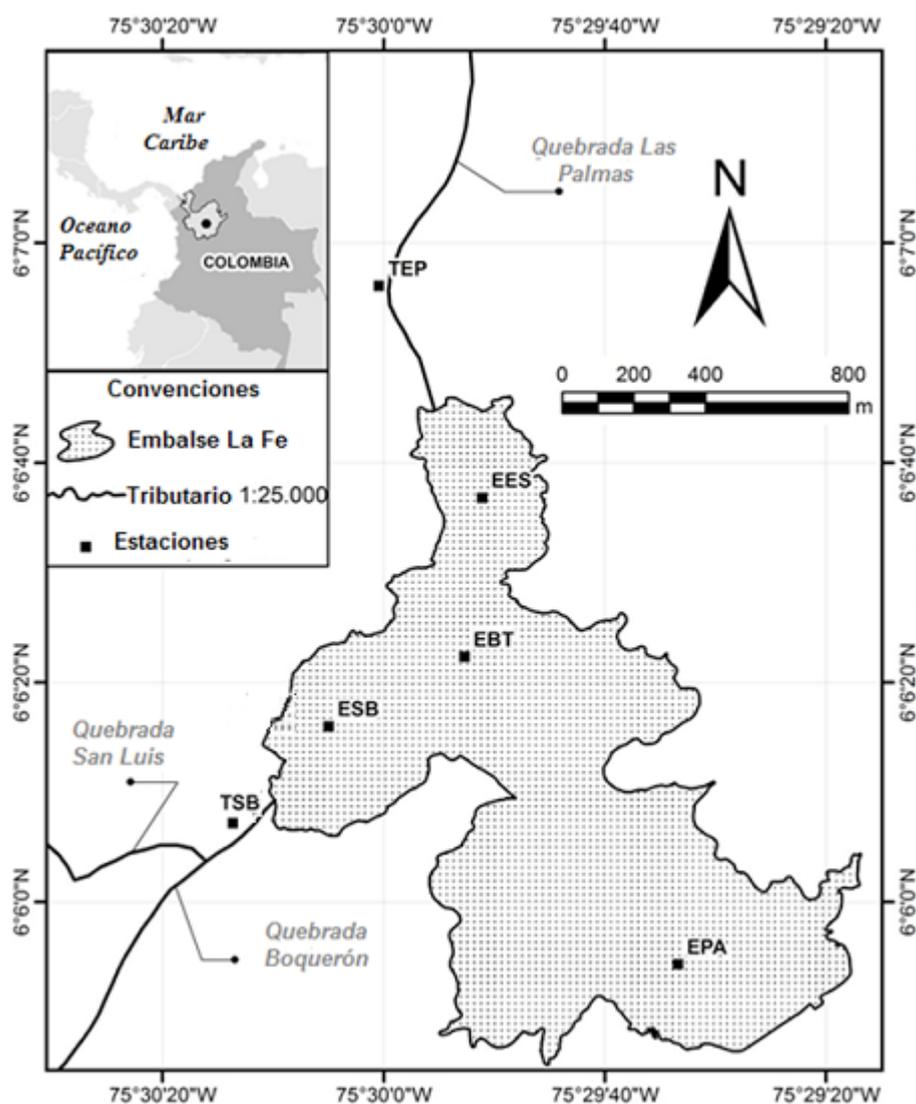


Figura 1. Mapa de las estaciones de muestreo en el embalse La Fe, Colombia. Tributario San Luis-Boquerón (TSB), Tributario Palmas-Espíritu Santo (TPE), zona de entrada de las quebradas Palmas y Espiritu Santo al embalse (EES), Torre de captación (EBT), zona de entrada de las quebradas San Luis y Boquerón al embalse (ESB) y zona de entrada al embalse del bombeo del río Pantanillo (EPA).

Fuente: Autores

Tabla 1. Coordenadas de ubicación de las estaciones de muestreo.

Estación	Longitud	Latitud
TSB	N 6° 6' 16.785"	O 75° 30' 13.168"
TEP	N 6° 6' 56.107"	O 75° 30' 0.422"
EES	N 6° 6' 36.813"	O 75° 29' 51.075"
EBT	N 6° 6' 22.342"	O 75° 29' 52.697"
ESB	N 6° 6' 16.013"	O 75° 30' 4.98"
EPA	N 6° 5' 54.353"	O 75° 29' 33.385"

Fuente: Autores

El muestreo se realizó mediante el despliegue de tres membranas tipo SPMD, protegidas de condiciones externas por una canastilla de acero inoxidable, que permite adicionalmente anclar el dispositivo. Estas canastillas se instalaron para las estaciones de tributarios en tuberías perforadas adosadas a estructuras hidráulicas existentes (pilas de puentes o muros laterales), y en las estaciones de embalse se fijaron en boyas que evitan su pérdida, lo que asegura una profundidad adecuada (2m) para garantizar un contacto continuo entre la membrana y el agua durante el tiempo estipulado de muestreo (Narvaez & Molina, 2012). Para este estudio de caso, el tiempo de exposición de las membranas en el cuerpo de agua fue de 21 días durante octubre y noviembre de 2017 y 2018. Además, se muestrearon los sedimentos superficiales (< 5 cm) utilizando una draga Ekman en las seis estaciones el día de despliegue de las membranas SPMD. Los parámetros fisicoquímicos pH, conductividad, temperatura, oxígeno disuelto y turbidez se midieron en un equipo multiparámetro HANNA 9829.

2.2. Reactivos y estándares

En la extracción y análisis se usaron solventes tales como acetona, hexano y DMSO (Pureza > 99%), marca Sigma-Aldrich. Por otro lado, la solución de reconstitución, cloruro de sodio al 2%, el ajuste osmótico al 22% y el cultivo de la bacteria bioluminiscente *Vibrio fischeri* se

usaron en los ensayos de toxicidad marca Azur Environmental, (Carlsbad, CA). Se usaron las membranas SPMD marca Environmental Sampling Technologies EST-Lab (St. Joseph, MO). Las membranas de polietileno de baja densidad tienen un área superficial aproximada de 450 cm² y un contenido de 1 mL trioleína (99% de pureza).

2.3. Ensayo de toxicidad utilizando SPMD-TOX.

Desde hace tres décadas, los muestreadores pasivos tipo SPMD se han venido utilizando en el monitoreo de contaminantes orgánicos debido a la posibilidad de integración analítica con las evaluaciones del potencial tóxico de los extractos obtenidos, lo cual no es posible con los métodos de monitoreo puntual (Petty et al., 2000). Para el ensayo de toxicidad SPMD-TOX, se aplicó el protocolo descrito por (Johnson et al., 2000) en el cual las membranas recolectadas se lavaron con un cepillo para retirar la biopelícula y los residuos. Las membranas se almacenaron en papel aluminio y se transportaron al laboratorio del grupo de Investigación GAIA de la Universidad de Antioquia en bolsas selladas, para evitar contaminación cruzada. En el laboratorio, se lavaron las membranas con una solución de HCl al 10% para remover las sales inorgánicas y el biofilm adherido en la superficie, seguido de un lavado con agua desionizada e isopropanol para remover los

residuos de agua. Finalmente, las membranas fueron dializadas en hexano durante 24 horas y el extracto hexánico se concentró con nitrógeno hasta obtener 1 mL. La solución obtenida se pasó a través de una columna de fase sólida, la cual fue eluída con acetona y se concentró

nuevamente el extracto con dimetilsulfosido (DMSO) (Figura 2). En el extracto reconstituido en DMSO, se procedió midiendo el pH de cada muestra, para establecer el rango óptimo para la medición de los ensayos de Microtox® de soluciones acuosas entre 6.0 – 8.5 (Tabla 2).

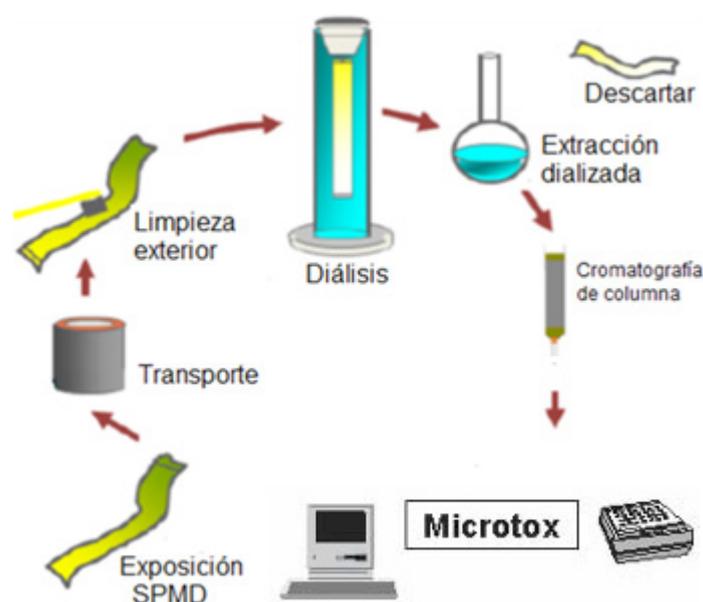


Figura 2. Protocolo evaluación de toxicidad utilizando SPMD-TOX.

Fuente: (Modificado de Johnson., 2005).

Las muestras se colocaron en cubetas con las bacterias *Vibrio fischeri* en una solución de reconstitución de 1 mL. Posteriormente, se añadieron 500 μ L del diluyente en cada cubeta con 250 μ L de ajuste osmótico y luego se transfirieron las muestras a una serie de cubetas preparando cuatro diluciones en serie 1:2 del sobrenadante. Se realizaron réplicas de los controles y las cuatro diluciones. Las muestras y las réplicas se prepararon en las cubetas, luego se transfirieron las bacterias reconstituidas a cada celda y se realizó la medición de la intensidad de luminiscencia con el equipo Microbic Model 500 a tiempos de 0, 5, 15 y 30 minutos, hallando la concentración efectiva al

50% (EC50) y el porcentaje de efecto en la bacteria. Todas las muestras, fueron analizadas por duplicado, usando 4 concentraciones y un control negativo.

Teniendo en cuenta que se utilizan solventes orgánicos en la extracción de los contaminantes, se dificulta la evaluación de la toxicidad de los extractos dializados obtenidos de los SPMD (Koci, Mlejnek, & Kochankova, 2003). Se aplicó V_{tox} para remediar estas interferencias de los solventes de extracción. V_{tox} representa el volumen promedio teórico que se necesita para la dilución de los contaminantes y para que se absorban en una

membrana durante el promedio de días de exposición, y así obtener una solución con una concentración efectiva EC_{50} para evaluar la toxicidad (Huckins et al., 2000).

Para esto, se define la ecuación (1):

$$V_{tox}(50) = \frac{1}{m * EC_{50} * d} = (1)$$

Donde, m es la concentración de membranas extraídas en la mezcla de solventes, expresado como número de membranas semipermeables en mL, en nuestro caso $m=3$ /mL en cada estación; d es el número de días de exposición de las membranas en el cuerpo de agua, en nuestro caso 21 días; EC_{50} es el 50% de la concentración efectiva del extracto en el organismo a evaluar (mL/L). Debido a esto a todos los valores V_{tox} se asignan el porcentaje de concentración efectivo entre paréntesis utilizado. Al resolver la ecuación 1, se obtienen los resultados en L/d, para cuestiones prácticas lo convertimos en mL/d utilizando factores de conversión. Un valor alto r de V_{tox} es un indicativo de contaminación ambiental (Koci et al., 2003).

2.4. Ensayo de toxicidad de sedimentos en Fase sólida (SPT) con Microtox®.

Se secaron los sedimentos recolectados en cada estación a temperatura ambiente (aproximadamente a 25°C) para evitar la evaporación de los compuestos orgánicos semivolátiles (SVOC), tamizados en una malla ASTM # 200, para obtener un tamaño de partícula inferior a 75 μ m y luego se almacenaron en bolsas de plástico y se guardaron a una temperatura de -20°C. Posteriormente, se pesó una muestra de 400 mg de sedimento seco y se disolvieron en 1 mL de diluyente, preparando una solución de la bacteria con la solución de reconstitución, y el ajuste osmótico se agitó en un agitador mecánico durante cinco minutos. La muestra se transfirió a una serie de tubos de fase sólida,

y se prepararon nueve diluciones en serie 1:2 del sobrenadante, incluidos los controles. Se realizaron dos réplicas de los controles y las 9 diluciones, las muestras y las réplicas se prepararon en los tubos de fase sólida, luego se transfirieron las bacterias reconstituidas a cada tubo de fase sólida y se incubaron las bacterias en el tubo durante 20 minutos. Finalmente, se insertaron en los tubos de fase sólida las columnas de filtros y junto con la solución fueron filtradas las bacterias. Luego, se transfirieron 500 μ L de la solución a las cubetas de medición del analizador Microtox® 500 y se obtuvieron lecturas de luminiscencia para generar valores de concentración efectiva EC_{50} a tiempos de 5, 15 y 30 minutos. De igual forma, todas las muestras fueron analizadas por duplicado.

2.5. Análisis de los datos

Para garantizar la calidad de los datos, se procesaron los resultados en el software estadístico Modern Water Microtox Omni®, versión 4.3, para generar la concentración efectiva EC_{50} y el porcentaje de efecto, obteniendo los intervalos de confianza (CI) y coeficiente de correlación (R^2) de las muestras. Los valores obtenidos, se consideraron como válidos cuando el CI no excede el 30% y R^2 se aproxima a uno (Grigson, Cheong, & Way, 2006).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Parámetros fisicoquímicos

El pH de todas las estaciones tuvo valores entre 6,21 y 8,05, lo cual es característico de cuerpos de agua que se utilizan para el tratamiento y suministro de agua potable, ya que este parámetro es importante en la estabilidad de los compuestos orgánicos (WHO, 1997).

La conductividad eléctrica (CE) mide la concentración de los sólidos disueltos totales y los iones principales. Normalmente, la CE de los cuerpos de agua dulce está en el rango de 10-1000 μ S/cm (APHA, 2017). En este estudio, los

valores de CE estuvieron en el rango de 26 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 87 $\mu\text{S}/\text{cm}$, resaltando que el valor mínimo se encuentra en el tributario SLB donde no se evidencia ninguna actividad antrópica y el valor máximo en el tributario TPE, donde hay presencia de talleres de alfarería, unidades

residenciales y vías intermunicipales de alto tráfico vehicular, que posiblemente incrementan la presencia de sólidos disueltos e iones. En las demás estaciones dentro del embalse, los valores de conductividad variaron entre 42 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y 61 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos del agua en las estaciones de muestreo del Embalse La Fe.

Parámetro	Estación						Media	D.E
	TSB	TPE	EES	EBT	ESB	EPA		
pH	6,21	6,38	6,68	6,77	6,61	8,05	6,78	0,653
T(°C)	16,9	16,5	21,8	18,6	21,5	21,4	19,5	2,42
Conductividad($\mu\text{S}/\text{cm}$)	26	87	48	61	42	45	51,5	20,7
OD (mg/L)	3,86	5,75	5,02	5,49	5,27	7,52	5,485	1,19
Turbidez (UTN)	13	44	23	23	21	23	24,5	10,3

Tributario San Luis-Boquerón (TSB), Tributario Palmas-Espíritu Santo (TPE), zona de entrada de las quebradas Palmas y Espíritu Santo al embalse (EES), Torre de captación (EBT), zona de entrada de las quebradas San Luis y Boquerón al embalse (ESB) y zona de entrada al embalse del bombeo del río Pantanillo (EPA).D.E: Desviación estándar.

Fuente: Autores

3.2 Evaluación de la toxicidad con SPMD

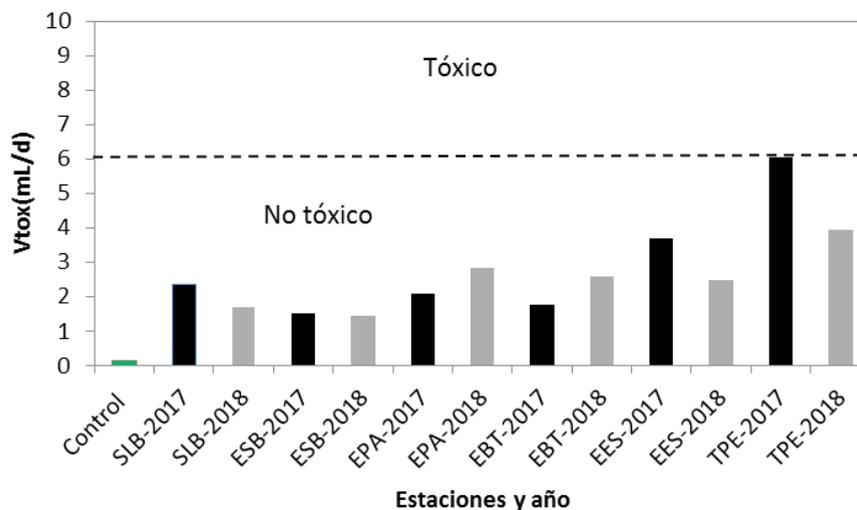
El protocolo de muestras SPMD-TOX que se desplegaron en el embalse demostró que los valores de $V_{\text{tox}}(50)$ superiores a 6,35 mL/d se consideran tóxicos (Johnson, 2005). Ningún valor de las muestras evaluadas en esta investigación sobrepasa este límite; sin embargo, los valores más cercanos correspondieron a la estación TPE en el año 2017 y 2018, es

decir 6,05 mL/d y 3,94 mL/d respectivamente, indican la relación directa entre las actividades antropogénicas y la toxicidad de las muestras tomadas en esta estación (Tabla 3). Se define el límite admisible de 6,35 mL/d, debido a que $n=3$ y $d=21$ y reemplazando en la ecuación 1, en donde valores superiores a 2.5 mgSPMD/mL son considerados como tóxicos (Figura 3) (Johnson, 2005).

Tabla 3. Valores de pH, EC₅₀ y V_{tox} en todas las estaciones donde se desplegaron las SPMD.

Estación-año	pH	EC ₅₀	V _{tox}	R ²
TSB-2017	7,48	6,71	2,36	0,9869
TSB-2018	7,28	9,34	1,69	0,9732
ESB-2017	7,74	10,45	1,51	0,9453
ESB-2018	7,83	11,12	1,42	0,9479
EPA-2017	6,99	7,59	2,09	0,9840
EPA-2018	7,11	5,57	2,85	0,9313
EBT-2017	7,18	9,06	1,75	0,9807
EBT-2018	7,40	6,16	2,57	0,9961
EES-2017	7,15	4,31	3,68	0,9975
EES-2018	7,46	6,4	2,48	0,9864
TPE-2017	6,88	2,62	6,05	0,9806
TPE-2018	7,08	4,02	3,94	0,9962
Media	7,30	6,94	2,70	---
Desviación estándar	0,292	2,65	1,32	---

Fuente: Autores

**Figura 3.** Toxicidad de extractos SPMD en las estaciones de muestreo.

Fuente: Autores

Diversas investigaciones han utilizado los extractos de SPMD para la evaluación de toxicidad aguda con diferentes sistemas como el Microtox®, obteniendo resultados representativos de toxicidad que permiten un monitoreo y gestión medioambiental en los sitios de estudio (Sabaliunas et al., 2000) Mutatox(TM). Además, entidades gubernamentales como la United States Geological Survey (USGS) han

encontrado en las membranas SPMD una herramienta esencial para el monitoreo de los contaminantes en ríos y lagos, reportando toxicidad elevada en arroyos y ríos de la ciudad de Milwaukee en el año 2007(USGS, 2014).

3.3 Ensayos de toxicidad en sedimentos

Considerando que diferentes compuestos orgánicos persistentes (Abbas et al., 2018) pueden

presentar un efecto inhibitorio a la bacteria *Vibrio fischeri*, se estableció una clasificación de toxicidad en sedimentos que se expresa en EC_{50} , o porcentaje de efecto (Kwan & Dutka, 1996). Se denominan como tóxicos cuando, en el bioensayo, el EC_{50} es menor que 5.000 mg/L ($EC_{50} < 0,5\%$), moderadamente tóxicos entre 5.000 mg/L y 10.000 mg/L ($EC_{50} > 0,5 \leq 1\%$) y no tóxicos mayores que 10.000 mg/L ($EC_{50} > 1,0 \%$) (Beg & Ali, 2008). Al evaluar la toxicidad mediante el sistema Microtox® usando el protocolo Solid Phase Test (SPT). Los valores de EC_{50} mayor que 100.000 mg/L se consideran no tóxicos para la bacteria *Vibrio fischeri*, de tal forma que en las muestras de sedimentos del embalse La Fe en las estaciones correspondientes a los tributarios TSB y TPE tuvieron valores superiores a 10.000 mg/L y calificaron como no tóxicos durante el periodo de estudio (Tabla 3). Para las estaciones

en el interior del embalse, los sedimentos resultaron moderadamente tóxicos, con valores EC_{50} de 5.246 mg/L para EPA y 9.211 mg/L para EBT.

Hay que destacar que en la estación EPA en el 2017 resultó la única estación considerada como tóxica (4.734 mg/L) y, en el año 2018, como moderadamente tóxica (5.246 mg/L). Lo anterior implica una carga contaminante alta en el sedimento proveniente del bombeo del río Pantanillo (Figura 4). Los resultados en las estaciones no mostraron diferencias significativas entre 2017 y 2018 con excepción de la estación TPE, la cual tuvo mayor toxicidad en 2017. Las demás estaciones estuvieron en el rango de 95% de confianza, y ningún valor de confianza sobrepasó el 30 % lo que garantiza la calidad de los datos (Tabla 4).

Tabla 4. Valores de EC_{50} y CI en todas las estaciones donde se recolectaron los sedimentos.

Estación/año	EC_{50} (mg/L)	CI (95% confianza)	R ²	Clasificación
Control	10 %	-----	---	No Tóxico
Referencia	1734 (0,17 %)	(1576-1967)	0,9862	Tóxico
TSB-OCT/17	68396 (6,83%)	(57458-81414)	0,9836	No tóxico
TSB-OCT/18	50239 (5,02%)	(47428-53217)	0,9954	No tóxico
ESB-OCT/17	7562 (0,76%)	(7001-8168)	0,9929	Moderadamente tóxico
ESB-OCT/18	7669 (0,77%)	(6588-8928)	0,9724	Moderadamente tóxico
EPA-OCT/17	4734 (0,47%)	(4112-5450)	0,9761	Tóxico
EPA-OCT/18	5246 (0,52%)	(4727-5821)	0,9881	Moderadamente tóxico
EBT-OCT/17	16166 (1,62%)	(13743-19017)	0,9723	No tóxico
EBT-OCT/18	9211 (0,92%)	(7690-11104)	0,9574	Moderadamente tóxico
EES-OCT/17	26865 (2,69%)	(25806-27966)	0,9975	No tóxico
EES-OCT/18	30398 (3,04%)	(27061-34146)	0,9864	No tóxico
TPE-OCT/17	13254 (1,33%)	(11667-15058)	0,9806	No tóxico
TPE-OCT/18	58155 (5,82%)	(54941-61558)	0,9962	No tóxico
Media	24824 (2,48%)			
D.E	22406 (2,24%)			

D.E: Desviación estándar. Fuente: autores

Diversas investigaciones han evaluado ensayos de toxicidad (Jarque *et al.*, 2016) y cinética de contaminantes en sedimentos (Blaha *et al.*, 2009) mediante el método Microtox®, obteniendo resultados significativos que permiten un monitoreo y gestión medioambiental en los sitios de estudio (Burton *et al.*, 2001);(Svenson *et al.*, 1996). Con el uso de este método se pudo determinar que los sedimentos en el curso alto del río Lerma (México) y la mayor parte de sus tributarios son muy tóxicos (Carreño *et al.*, 2018), así como la evaluación del riesgo

toxicológico de los sedimentos en ríos (Castro-català *et al.*, 2015) y puertos (McCready *et al.*, 2004) lo que puede conllevar a una gestión ambiental para mejorar las condiciones de este sistema fluvial. En 1997 este método fue utilizado para determinar que el aumento de la influencia de la luz ultravioleta causado por el agujero de la capa de ozono influye en la toxicidad de los contaminantes presentes en los sedimentos y los modifica fotolíticamente afectando la vida marina Antártica (Cleveland *et al.*, 1997).

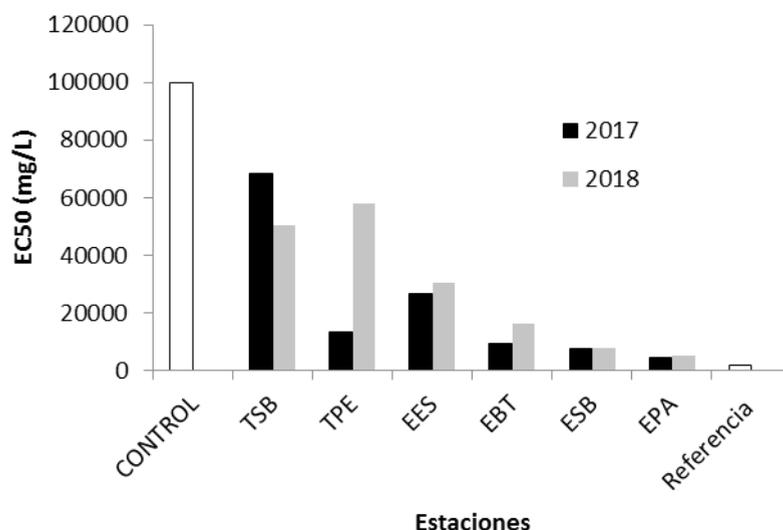


Figura 4. Toxicidad de sedimentos en las estaciones de muestreo.

Fuente: Autores

4. CONCLUSIONES

El sistema de medición de toxicidad con *Vibrio fischeri* fue eficaz para evaluar contaminantes en las matrices agua y sedimentos.

Este estudio contribuye al monitoreo de la calidad de agua del embalse La Fe, y los resultados de estas evaluaciones sugieren que el agua y los sedimentos no presentan toxicidad, y presentan buenas condiciones, por lo que se minimizan los riesgos en la utilización del agua para su potabilización.

No se observaron variaciones significativas en las mediciones de toxicidad realizadas a las muestras de agua y sedimentos entre 2017 y 2018 a excepción de las muestras de sedimentos de la estación TPE, donde se observó un incremento de la toxicidad en el periodo 2017 - 2018.

Se evidenció potencial toxicidad en sedimentos recolectados en las estaciones de bombeo del río Pantanillo (EPA) y del tributario Palmas - Espíritu Santo (TPE), por lo que se recomienda

realizar un estudio más exhaustivo y establecer un programa de monitoreo de la calidad de agua y los sedimentos en esos sitios.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

Primer autor: metodología, trabajo de campo y laboratorio, investigación, análisis de datos, conceptualización, escritura – borrador original. **Segundo autor:** investigación, trabajo de campo, conceptualización, revisión y edición.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos al Departamento de Ciencia y Tecnología de Colombia, Colciencias, por el apoyo con la beca doctoral de la convocatoria 727 de 2015, así como a la Empresas Públicas de Medellín (EPM) por facilitar el acceso a sus instalaciones.

LITERATURA CITADA

- Abbas, M., Adil, M., Ehtisham-ul-haque, S., Munir, B., & Yameen, M. (2018). Vibrio fischeri bioluminescence inhibition assay for ecotoxicity assessment : A review. *Science of the Total Environment*, 626, 1295–1309. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.066>
- Allan, I. J., Harman, C., Kringstad, A., & Bratsberg, E. (2010). Effect of sampler material on the uptake of PAHs into passive sampling devices. *Chemosphere*, 79(4), 470–475. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.01.021>
- APHA (American Public Health A). (2017). *Standards methods for the examination of water and wastewaters (23th edition)*.
- Arias, J. C. Ramírez, J. J. (2009). Caracterización preliminar de los sedimentos de un embalse tropical : Caracterización de represa La Fe (El Retiro, Antioquia, Colombia). *Limnetica*, 28(1), 65–78.
- Beg, K. R., & Ali, S. (2008). Microtox Toxicity Assay for the Sediment Quality Assessment of Ganga River. *American Journal of Environmental Sciences*, 4(4), 383–387. <https://doi.org/10.3844/ajessp.2008.383.387>
- Blaha, L., Hilscherova, K., Cap, T., Klanova, J., Machat, J., Zeman, J., Holoubek, I. (2009). Kinetic bacterial bioluminescence assay for contact sediment toxicity testing: Relationship with the matrix composition and contamination. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(3), 507–514. <https://doi.org/10.1002/etc.81>
- Burton, G. A., Baudo, R., Beltrami, M., & Rowland, C. (2001). Assessing sediment contamination using six toxicity assays. *Journal of Limnology*, 60(2), 263–267. <https://doi.org/10.4081/jlimnol.2001.1.263>
- Carreño, C., Zarazúa, G., Fall, C., Ávila-Pérez, P., Tejada, S. (2018). Evaluación de la toxicidad de los sedimentos del curso alto del río Lerma, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 34(1), 117–126. <https://doi.org/10.20937/RICA.2018.34.01.10>
- Castro-català, N. De, Kuzmanovic, M., Roig, N., Sierra, J., Ginebreda, A., Barceló, D., ... Muñoz, I. (2015). Ecotoxicity of sediments in rivers : Invertebrate community , toxicity bioassays and the toxic unit approach as complementary assessment tools. *Science of the Total Environment*, 540, 297–306. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.071>
- Charriau, A., Lissalde, S., Poulhier, G., Mazzella, N., Buzier, R., & Guibaud, G. (2016). Overview of the Chemcatcher® for the passive sampling of various pollutants in aquatic environments Part A: Principles, calibration, preparation and analysis of the sampler. *Talanta*, 148, 556–571. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.06.076>
- Cleveland, L. Little, E. Petty, J.D. Johnson, T. Lebo, J. A., Orazio, C. E., Jane, D. ., & Crockett, A. (1997). Toxicological and Chemical Screening of Antarctica Sediments : Use of Whole Sediment Toxicity Tests , Microtox , Mutatox and Semipermeable Membrane Devices (SPMDs). *Marine Pollution Bulletin*, 34(3), 194–202. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(96\)00088-4](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(96)00088-4)
- Fernández-piñas, F., Rodea-palomares, I., Leganés, F., González-pleiter, M., & Muñoz-martín, M. A. (2014). *Evaluation of the Ecotoxicity of Pollutants with Bioluminescent Microorganisms* (Vol. 2). <https://doi.org/10.1007/978-3-662-43619-6>
- Florez, M.T, Parra, L.N, Bolaños, S.V, Gallo, L.J, Poveda, A. Agudelo, D. M. (2017). Caracterización de los sedimentos de tres embalses de empresas públicas de medellín, Colombia. *Politécnica*, 24, 49–63. <https://doi.org/10.33571/rpolitec>

- Forsberg, N. D., Smith, B. W., Sower, G. J., & Anderson, K. A. (2014). Predicting Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Concentrations in Resident Aquatic Organisms Using Passive Samplers and Partial Least-Squares Calibration. *Environ. Sci Technol.*, *48*, 6291–6299. <https://doi.org/10.1021/es5000534>
- Fulladosa, E., Murat, J. C., Martinez, M., & Villaescusa, I. (2005). Patterns of metals and arsenic poisoning in *Vibrio fischer* bacteria. *Chemosphere*, *60*, 43–48.
- Fulladosa, E., Murat, J. C., & Villaescusa, I. (2005). Effect of Cadmium (II), Chromium (VI), and Arsenic (V) on Long-Term Viability- and Growth-Inhibition Assays Using *Vibrio fischeri* Marine Bacteria. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, *306*, 299–306. <https://doi.org/10.1007/s00244-004-0170-5>
- Gatidou, G., Stasinakis, A. S., & Iatrou, E. I. (2014). Assessing single and joint toxicity of three phenylurea herbicides using *Lemna minor* and *Vibrio fischeri* bioassays. *Chemosphere*, *119*, 569–574.
- Gonçalves, A. D., Robaina, N. F., dos Reis, L. G. T., & Cassella, R. J. (2015). Optimization of a methodology for sampling of five polycyclic aromatic hydrocarbons in saline waters using a semipermeable membrane device. *Microchemical Journal*, *122*, 96–101. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2015.04.008>
- Grigson, S., Cheong, C., & Way, E. (2006). Studies of produced water toxicity using luminescent marine bacteria. *Environmental Toxicology*, *10*, 111–121. <https://doi.org/10.2495/ETOX060111>
- Grinten, E. Van Der, Pikkemaat, M. G., & Brandhof, E. Van Den. (2010). Comparing the sensitivity of algal, cyanobacterial and bacterial bioassays to different groups of antibiotics. *Chemosphere*, *80*(1), 1–6.
- Huckins, J. Petty, J. Booij, K. (2006). *Monitors of organic chemicals in the environment Semipermeable membrane devices*. New York: Springer.
- Huckins, J.N. Petty, J, ID. Prest, H, F. Clark, R, C. Alvarez, D, A. Orazio, C, E. Lebo, J, A. Cranor, W, L. Johnson, B, T. (2000). *A guide for the use of Semipermeable membrane devices (SPMDs) as samplers of waterborne hydrophobic organic contaminants*. (C. E. R. Center, Ed.). New Haven Road, Columbia: American petroleum institute.
- Jarque, S., Masner, P., Klánová, J., Prokeš, R., & Bláha, L. (2016). Bioluminescent *Vibrio fischeri* Assays in the Assessment of Seasonal and Spatial Patterns in Toxicity of Contaminated River Sediments. *Frontiers in Microbiology*, *7*(November), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01738>
- Ji, J., Xing, Y., Ma, Z., Zhang, M., & Zheng, P. (2013). Acute toxicity of pharmaceutical wastewaters containing antibiotics to anaerobic digestion treatment. *Chemosphere*, *91*(8), 1094–1098.
- Johnson, B. T. (2005). Microtox acute toxicity test. In J. F. Blaise, C., Ferars (Ed.), *Small-scale Freshwater Toxicity. volume 1: Toxicity test methods* (pp. 69–107). Netherlands.
- Johnson, B. T., Huckins, J. N., Petty, J. D., & Clark, R. C. (2000). Collection and Detection of Lipophilic Chemical Contaminants in Water, Sediment, Soil, and Air SPMD-TOX. *Environmental Toxicology*, *15*, 248–252. [https://doi.org/10.1002/1522-7278\(2000\)15:3<248::AID-TOX10>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/1522-7278(2000)15:3<248::AID-TOX10>3.0.CO;2-Q)
- Karacık, B., Okay, O. S., Henkelmann, B., Pfister, G., & Schramm, K. (2013). Water concentrations of PAH, PCB and OCP by using semipermeable membrane devices and sediments. *Marine Pollution Bulletin*, *70*, 258–265.
- Koci, V., Mlejnek, M., & Kochankova, L. (2003). Toxicological evaluation of exposed SPMD membranes. *Central European Journal of Chemistry*, *1*(1), 28–34. <https://doi.org/10.2478/BF02479255>
- Kovats, N., Acs, A., Goloncser, F., Barbas, A. (2011). Quantifying of bactericide properties of medicinal plants. *Plant Signaling & Behavior*, *6*(6), 777–779.
- Kováts, N., & Horváth, E. (2016). Bioluminescence-based assays for assessing eco- and genotoxicity of airborne emissions. *Luminescence*, *2016*, 918–923.
- Kwan, K. K., & Dutka, B. J. (1996). Development of Reference Sediment Samples for Solid Phase Toxicity Screening Tests. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *56*, 696–702. <https://doi.org/10.1007/s001289900102>
- Lohmann, R., Booij, K., Smedes, F., & Vrana, B. (2012). Use of passive sampling devices for monitoring and compliance checking of POP concentrations in water. *Environmental Science and Pollution Research*, *19*(6), 1885–1895.

- Mansour, S. A., Abdel-hamid, A. A., & Ibrahim, A. W. (2015). Toxicity of Some Pesticides , Heavy Metals and Their Mixtures to *Vibrio fischeri* Bacteria and *Daphnia magna* : Comparative Study. *Journal of Biology and Life Science*, 6(2), 221–240.
- Mccready, S., Spyrakis, G., Greely, C. R., Birch, G. F., & Long, E. R. (2004). Toxicity of surficial sediments from sydney harbour and vicinity, australia. *Environmental Monitoring and Assessment*, 96, 53–83. <https://doi.org/10.1023/B:EMAS.0000031716.34645.71>
- Narvaez, J, F. Molina, F. (2012). Los muestreadores pasivos: Una alternativa metodológica en el monitoreo de plaguicidas en ambientes acuaticos a nivel de sub-trazas. *Revista Politecnica*, 15, 53–62.
- Narvaez, J. F., Lopez, V. C. A., & Molina, F. J. (2013). Passive sampling in the study of dynamic and environmental impact of pesticides in water Muestreadores pasivos en el estudio de la dinámica de plaguicidas y el impacto ambiental en el agua. *Revista Facultad de Ingenieria Universidad de Antioquia*, 68, 147–159.
- Onorati, F., & Mecozzi, M. (2004). Effects of two diluents in the Microtox toxicity bioassay with marine sediments. *Chemosphere*, 54, 679–687.
- Palma, P., Palma, V, L., Fernandes, R, M., SOares A, M., Barbosa, I, R. (2008). Acute Toxicity of Atrazine , Endosulfan Sulphate and Chlorpyrifos to *Vibrio fischeri* , *Thamnocephalus platyurus* and *Daphnia magna* , Relative to Their Concentrations in Surface Waters from the Alentejo Region of Portugal. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 81, 485–489.
- Palma, P., Alvarenga, P., Palma, V., Matos, C., Fernandes, R. M., Soares, A., & Barbosa, I. R. (2010). Evaluation of surface water quality using an ecotoxicological approach: A case study of the Alqueva Reservoir (Portugal). *Environmental Science and Pollution Research*, 17(3), 703–716.
- Petty, J. D., Jones, S. B., Huckins, J. N., Cranor, W. L., Parris, J. T., McTague, T. B., & Boyle, T. P. (2000). An approach for assessment of water quality using semipermeable membrane devices (SPMDs) and bioindicator tests. *Chemosphere*, 41(3), 311–321. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00499-3](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00499-3)
- Sabaliunas, D., Lazutka, J. R., & Sabaliuniene, I. (2000). Acute toxicity and genotoxicity of aquatic hydrophobic pollutants sampled with semipermeable membrane devices. *Environmental Pollution*, 109(2), 251–265. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(99\)00259-6](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00259-6)
- Salazar, M. (2017). Water Distribution and Drainage Systems of Aburrá Valley, Colombia - Empresas Públicas de Medellín E.S.P. *Procedia Engineering*, 186, 4–11. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2017.03.201>
- Svenson, A., Edsholt, E., Remberger, M., & Rottorp, J. (1996). Sediment Contaminants and Mierotox Toxicity Tested in a Direct Contact Exposure Test, 11, 293–300. [https://doi.org/https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2256\(1996\)11:4%3C293::AID-TOX2%3E3.0.CO;2-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2256(1996)11:4%3C293::AID-TOX2%3E3.0.CO;2-4)
- USGS, G. S. (2014). *Biological Water-Quality Assessment of Selected Streams in the Milwaukee Metropolitan Sewerage District Planning Area of Wisconsin , 2007 Investigations Report 2010 – 5166.*
- WHO. (1997). *Guidelines for drinking-water quality, surveillance and control of community supplies* (Vol. 3).

Conflicto de Intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses

**Licencia de Creative Commons**

Revista de Investigación Agraria y Ambiental is licensed under a Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional License.

EFFECTO DE LA DOSIFICACIÓN DE CO₂ EN LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE MICROALGAS *Chlorella vulgaris* Y *Scenedesmus obliquus*

EFFECT OF CO₂ DOSING ON GROWTH KINETICS OF *Chlorella vulgaris* AND *Scenedesmus obliquus* MICROALGAE

¹Milton Cesar Ararat Orozco, ²Oscar Eduardo Sanclemente Reyes, ³Leonardo Vergara

¹PhD. en Ciencias Agrarias – Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD

²PhD. en Agroecología – Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD

³Ingeniero Ambiental – Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD

¹milton.ararat@unad.edu.co, ²oscar.sanclemente@unad.edu.co,

³leonardo.vergara@cvc.gov.co

RESUMEN

Contextualización: actualmente se ha incrementado el interés en la producción de microalgas debido a los diferentes usos de la biomasa microalgal en algunos sectores industriales, además de la posibilidad de emplearse en la mitigación de gases de efecto invernadero gracias a su alta capacidad para la captura de CO₂.

Vacío de conocimiento: como parte del Acuerdo de París en 2015, Colombia se comprometió en reducir un 20% sus emisiones de gases efecto invernadero, con el propósito de contribuir a la meta establecida para 2050; por esta razón, se deben desarrollar investigaciones y planes de acción enfocados a este objetivo.

Propósito del estudio: el propósito de este estudio es evaluar del efecto de la inducción de CO₂ en diferentes concentraciones sobre la cinética de crecimiento de *Chlorella Vulgaris* CV_2714A y *Scenedesmus Obliquus* SOB_001 en un sistema de fotobiorreactores a escala laboratorio, en un volumen de 3,8 L de medio de cultivo (solución NPK + micronutrientes).

Metodología: los ensayos se realizaron en fotoperiodos con 12 h de luz y 12 h de oscuridad durante 5 días consecutivos. El diseño experimental aleatorizado cuyas fuentes de variación fueron: especie microalgas y dosificación de CO₂ (0, 2, 6,5, y 12,8 L. día⁻¹) con iluminación artificial por lámpara fluorescente de 4400 lúmenes. Se estimó la concentración

DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3482>

celular por medio de la aproximación numérica en cámara de "Neubauer" con la metodología usada por Darki et al. (2017), además de tasa de crecimiento y tiempo de duplicación celular en días de acuerdo con Andersen, (2005). Los datos fueron sometidos al análisis de varianza y pruebas de medias de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados y conclusiones: los resultados en los diferentes ensayos mostraron mayor concentración celular en *C. vulgaris* en comparación con *S. obliquus*. En cuanto al suministro de CO₂, las 2 especies obtuvieron respuesta significativamente mayor ($p < 0,05$) a la dosis de 6.5 L. día⁻¹ alcanzando concentración es celulares de 2.59×10^7 cel.ml⁻¹ y 4.62×10^6 cel. ml⁻¹ respectivamente. Estos resultados permiten concluir que el cultivo de estas microalgas asociado a la dosis de CO₂ puede favorecer a su rápido crecimiento y producción de biomasa, al tiempo que, también puede contribuir a otros estudios sobre disminución de gases de efecto invernadero.

Palabras clave: cambio climático, fotobioreactores, crecimiento celular, biomasa

ABSTRACT

Contextualization: Currently, interest in the production of microalgae has increased due to the different uses of microalgal biomass in some industrial sectors, in addition to being used in the mitigation of greenhouse gases thanks to its high capacity for CO₂ capture.

Knowledge gap: Being part of the Paris Agreement in 2015, Colombia is committed to reduce its greenhouse gases emissions by 20%, to contribute to the goal set for 2050, for this reason, it must adopt research and action plans focused on this objective.

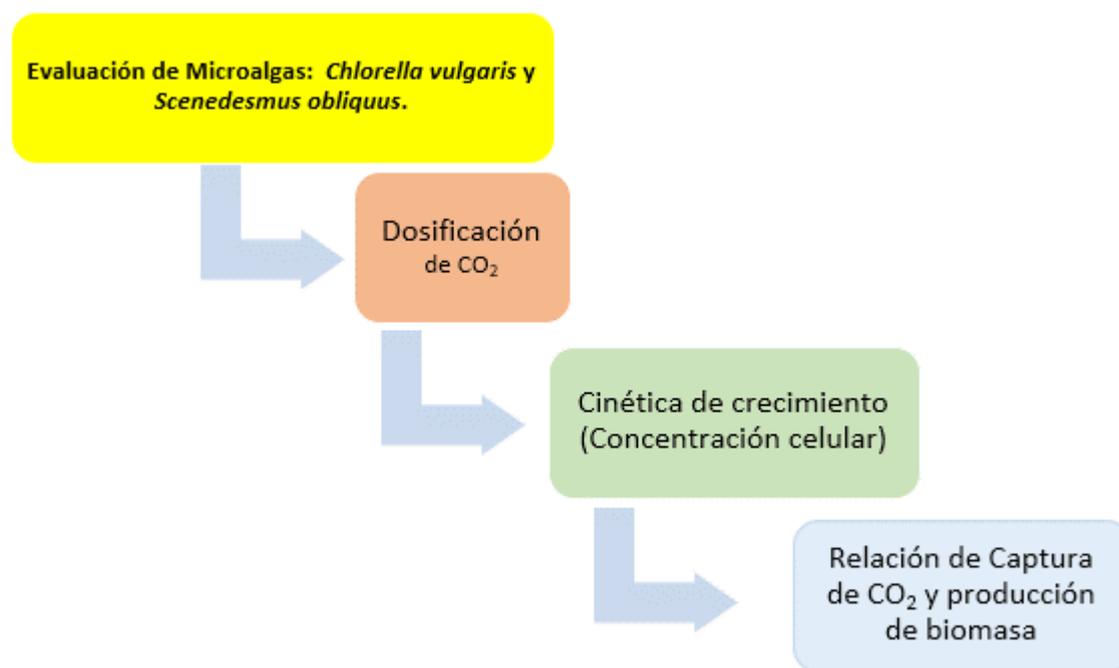
Purpose: the purpose of this study was to evaluate the effect of CO₂ induction at different concentrations on the growth kinetics of *Chlorella Vulgaris* CV_2714A and *Scenedesmus Obliquus* SOB_001 in a laboratory scale photobioreactor system in a volume of 3.8 L of culture medium (NPK solution + micronutrients).

Methodology: The tests were carried out in photoperiods with 12 hours of light and 12 hours of darkness for 5 consecutive days. The completely randomized experimental design whose sources of variation were microalgae species and CO₂ dosage (0.2, 6.5 and 12.8 L. day⁻¹) with artificial lighting by a 4400-lumen fluorescent lamp. The cellular concentration was estimated by means of the numerical approximation in the "Neubauer" chamber with the methodology used by Darki et al. (2017), in addition to growth rate and cell doubling time in days according to Andersen, (2005). The data were submitted to analysis of variance and Tukey's mean tests ($p < 0.05$).

Results and conclusions: The results in the different tests showed a higher cell concentration in *C. vulgaris* compared to *S. obliquus*. Regarding CO₂ supply, the 2 species obtained a significantly greater response ($p < 0.05$) at the dose of 6.5 L. day⁻¹, reaching a cellular concentration of 2.59×10^7 cel.ml⁻¹ and 4.62×10^6 cel.ml⁻¹, respectively. These results allow us to conclude that the cultivation of these microalgae associated with the dose of CO₂ can favor their rapid growth and biomass production, while also contributing to other studies on the reduction of greenhouse gases.

Keywords: Climate change, photobioreactors, cell growth, biomass

RESUMEN GRÁFICO



1. INTRODUCCIÓN

El aumento incesante de emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) ha llevado al calentamiento global y como consecuencia el actual cambio climático (Intergovernmental Panel on Climate Change, 2014). Las actividades antrópicas como la incineración de combustibles fósiles y también la deforestación han derivado en una emisión intensiva de estos gases (Sanclemente, 2012), siendo el dióxido de carbono (CO_2), el principal gas que ha aumentado su concentración en la atmósfera llegando a superar los 400 ppm (Blunden, Arndt, & Hartfield, 2018) y contribuyendo con el 70% del total de las emisiones de GEI (Patiño, 2018). El cambio climático ha causado sequías extremas e inundaciones que afectan profundamente la salud de las personas, desencadenando brotes y enfermedades infecciosas, además de los graves daños a la infraestructura colapsando los servicios de salud (Organización Mundial de la Salud & Organización Meteorológica Mundial., 2012) y

agotando los recursos medicinales (Mosquera *et al.* 2019).

El cambio climático que se vive actualmente es una realidad innegable que desde el año 1950 y ha registrado cambios sin precedentes (IPCC, 2014), convirtiéndose en uno de los principales desafíos para la agricultura principalmente en condiciones ambientales del trópico debido a los efectos generados como las heladas, las sequías o las inundaciones (Ararat, 2014). Esto genera la necesidad de tomar medidas inmediatas que permitan solucionar de manera eficaz y económica los problemas de productividad que ponen en riesgo la seguridad alimentaria (Sierra, 2015) y posibles afectaciones a servicios ecosistémicos de abastecimiento (Monsalve *et al.* (2019).

En la mayoría de las fuentes hídricas de la tierra coexiste una gran diversidad de microorganismos que poseen la capacidad de usar fotones

como fuente energética para el desarrollo de su proceso de metabolismo. Un ejemplo de estos son las cianobacterias y las microalgas que transforman el CO_2 atmosférico en azúcares, lípidos y oxígeno mediante el proceso de la fotosíntesis, siendo las responsables de la producción de más del 50% del oxígeno global (Enzing et al., 2014). Estos microorganismos interactúan dentro de su hábitat con componentes orgánicos e inorgánicos ayudando a mantener el equilibrio y desarrollando un papel vital con relación a los demás organismos acuáticos (Pulido et al 2019).

Las microalgas tienen un crecimiento suficientemente rápido y pueden producir mayores cantidades de biomasa comparadas con las plantas superiores terrestres; además, su capacidad de adaptación al medio de cultivo y la disponibilidad de nutrientes es una de sus ventajas evolutivas de mayor relevancia (Venkata et al, 2015). Estos microorganismos poseen la capacidad de desarrollarse en medios con altos niveles de CO_2 , haciendo que sean perfectos para ser cultivadas con los gases residuales de la combustión emitidos por las industrias e incluso, usar las aguas residuales domésticas, agrícolas e industriales como medio de cultivo gracias su habilidad de adaptación o ajuste al medio, permitiéndoles incorporar nutrientes como nitrógeno (N) y fósforo (P) en sus procesos metabólicos (Lee, 2015).

En el proceso o ajuste fotosintético actúan 2 grupos de reacciones, el primero está asociado a reacciones dependientes de la luz solar, en estas fuerzas se da la absorción y transmisión de la energía de los fotones, encapsulamiento de la energía y la formación del compuesto Nicotinamida-Adenina-Dinucleótido-Fosfato (NADPH) y Adenosín Trifosfato (ATP); Durante

estos procesos se facilita la oxidación fotoquímica de la molécula de agua liberando átomos de oxígeno como un subproducto (Barsanti, 2006). El segundo grupo de reacciones son las independientes de la luz. En este proceso las moléculas NADPH y ATP se utilizan para la fijación o adherencia del CO_2 en la formación de carbohidratos. Estas reacciones no ocurren en ausencia de la luz aun cuando sean independientes de la misma, ambas reacciones se dan de forma simultánea y se conocen como Ciclo de Calvin (Barsanti, 2006).

El cultivo de microalgas a gran escala se ha desarrollado durante décadas con fines farmacéuticos y para consumo humano; sin embargo, la idea de cultivarlas como fuente energética aparece solo hasta 1950 y solo se consideró importante 20 años después debido al incremento del precio del petróleo, donde se evaluó ampliamente el potencial de las microalgas para la producción de biodiesel (Farroq, 2015). En esta dirección, la combinación de la fijación biológica del CO_2 mediante microalgas junto con el método de aguas residuales con el objetivo de obtener biodiesel se convierte en una estrategia atractiva para la mitigación biológica del CO_2 , siendo más viable económicamente y sostenible ambientalmente (Razzak, 2017). El biocombustible producido a partir de la biomasa de microalgas podría ser una buena alternativa a los combustibles derivados del petróleo, gracias a que pueden ser utilizados sin problemas en los sistemas de combustión actuales, además del incremento en la tendencia a la utilización de biocombustibles a nivel mundial (Ramírez, 2017).

Algunos estudios revelan que la cinética de crecimiento de varias especies de microalgas está estrechamente relacionada con las

concentraciones de CO₂ adicional utilizadas durante su cultivo. Esto indica que estas especies se pueden utilizar en la fijación biológica del CO₂ con fines ambientales; por ejemplo, la prevención y conservación de ecosistemas en estudios de caso citados por Montenegro *et al* (2019), y a su vez en la búsqueda de la producción de biomasa para la producción de biocombustibles y otros productos de alto valor (Kassim, 2017). El objetivo principal de este estudio fue evaluar el efecto de la dosificación de CO₂ en la cinética de crecimiento de las microalgas *C. vulgaris* y *S. obliquus*, en condiciones controladas de un sistema de compuesto por 3 fotobiorreactores a escala laboratorio, con un fotoperiodo aproximado de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad y tres dosificaciones de CO₂.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en la ciudad de Santiago de Cali (Valle del Cauca), Colombia, en un sitio ubicado en las coordenadas 3°25'0.58'' N 76°31'9.49'' W. El montaje del experimento está situado a una altura de 956 m.s.n.m. cuya temperatura promedio anual es de 24°C.

Se utilizaron las cepas de las microalgas *Chlorella Vulgaris* CV-2714A y *Scenedesmus Obliquus* SOB-001 provistas por la empresa NUTRE S.A.S de Bogotá D.C., Colombia. Los medios de cultivo fueron elaborados con las siguientes concentraciones: 0.8 g.L⁻¹ de N total, 0.5 g.L⁻¹ de K₂O y 0.5 g.L⁻¹ de P₂O₅, según lo indicado en la metodología propuesta por Ammar *et al.* (2016), considerando las

concentraciones porcentuales de cada nutriente y a través de una regla matemática se calculó la cantidad en gramos por utilizar de cada fertilizante para estimar la concentración final (CF) de cada nutriente en los medios de cultivo. Para la preparación de los medios de cultivo se usaron los fertilizantes comerciales de uso agrícola, *TODO EN UNO* 42-0-0 (SUPERABONO S.A.S. Bogotá, Colombia), *FOSFACEL* 20-53-0 (COSMOAGRO S.A. Palmira, Colombia), *Nitrato de potasio* 13-0-44 (MICROFERTISA S.A. Bogotá, Colombia) y *NITRAX-S*, 28-4-0-6 (YARA. Cartagena, Colombia).

Se elaboró una cámara de cultivo experimental con las siguientes características: 130 cm de largo, 30cm de fondo y 50 cm de alto, extracción controlada de aire, luminaria artificial y dos temporizadores para administrar el manejo del fotoperiodo y la dosificación de aire y CO₂ a un 87.65% de pureza. Como fotobiorreactores se emplearon botellas plásticas con capacidad de 4L, el ensayo se realizó diseño experimental completamente al azar de 6 tratamientos con 3 réplicas (Tabla 1) en 5 tiempos de muestreo. Los fotobiorreactores se enlazaron a un sistema de inyección alternado de aire con un flujo preciso de 0.7 L.min⁻¹ y con un flujo de CO₂ de 0.15 L.min⁻¹ basado en la metodología diseñada por Razzak *et al.* (2017). Se suspendió temporalmente la dosificación de CO₂ durante la fase oscura del fotoperiodo.

Se emplearon 3 intervalos de dosificación de CO₂ para cada una de las cepas, para un total de 6 ensayos (Tabla 1).

Tabla 1. Dosis de CO₂ suministrada a las microalgas *C. vulgaris* y *S. obliquus* en cada uno de los ensayos.

Ensayo (E): dosificación de CO ₂	Cepa de microalga	Vol. CO ₂ L. día ⁻¹
E1	<i>C. vulgaris</i> .	12.8
E2	<i>C. vulgaris</i> .	6.5
E3	<i>C. vulgaris</i> .	0.2
E4	<i>S. obliquus</i> .	12.8
E5	<i>S. obliquus</i> .	6.5
E6	<i>S. obliquus</i> .	0.2

Fuente: Autores

El fotoperiodo se ejecutó por medio de iluminación artificial con asistencia de una lámpara fluorescente (SYLVANIA) de luz blanca (54W_4400 lúmenes). La duración de cada ensayo fue de 5 días en cada una de las dosificaciones utilizadas. La temperatura promedio de la cámara de cultivo se conservó entre 26 y 31°C.

Análisis de concentración celular y cinética de crecimiento

La cuantificación de la concentración de células y la evaluación de la cinética del crecimiento estimado se realizó mediante la metodología de recuento celular en microscopio óptico (Amscope B120c, Irvine, California) y cámara de Neubauer (Marienfeld, Lauda-Königshofen, Alemania), el cálculo de la concentración se realizó mediante la ecuación 1, realizando conteos diarios del número de células como lo propone la metodología usada por Darki *et al.* (2017).

$$\text{No. Cel./mL} = \text{total de células contadas} * 10^4 * \text{factor de dilución} \quad (1)$$

La velocidad específica del crecimiento de estas cepas se calculó a través de la ecuación 2 (Andersen, 2005):

$$\mu_{max}(d^{-1}) = \frac{\ln CV_{tf} - \ln CV_{ti}}{(tf - ti)} \quad (2)$$

Donde:

Ln CV es logaritmo natural de concentración celular por volumen de medio de cultivo.

tf y ti son los tiempos (final e inicial respectivamente) del ensayo.

El tiempo de duplicación determinado en días, es el tiempo requerido para la duplicación de células, el cual se calculó a partir de la tasa de crecimiento por medio de la ecuación 3 (Andersen, 2005):

$$d_{ti} = \frac{\ln 2}{\mu} \quad (3)$$

Análisis estadístico

Los datos obtenidos para cada cepa de microalga se sometieron a un análisis de varianza de dos factores (ensayos vs tiempo de crecimiento) y pruebas de medias de Tukey ($p < 0.05$)

para determinar las diferencias significativas entre los ensayos y posteriormente la estimación de la concentración celular en función de la variable "dosificación de CO₂" para las 2 especies de microalgas (*C. vulgaris* y *S. obliquus*). Preliminarmente, se confirmó la normalidad de los datos a través de la prueba de Shapiro Wilks para cada momento de muestreo (W: estadístico > valor crítico: VC). Para el procedimiento (PROC) GLM, prueba del rango estudentizado, se utilizó el programa estadístico SAS versión

9.3. Las gráficas de las curvas de crecimiento se realizaron mediante software Excel 2016.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La interacción de la temporalidad en las dos especies de microalgas se ilustra en la figura 1, observándose diferencias significativas en las estimaciones poblacionales según los días de observación y los ensayos (E) correspondientes a la dosificación de CO₂.



Figura 1. Promedios de estimaciones poblacionales para las células de *C. vulgaris* y *S. obliquus* en los días de observación (A) y los Ensayos de dosificación (B) (Análisis a través de agrupamiento de Tukey Alfa = 0.05. Los promedios cubiertos por la misma barra no son significativamente diferentes).

Fuente: Autores

La Figura 2 ilustra la curva de crecimiento de la cepa *C. vulgaris*, la cual manifestó que la fase exponencial en E1 y E3 inicio a partir del día 1, mientras que en E2 inició desde el día 0 siendo este ensayo donde se alcanzó la densidad celular más alta con cel.ml⁻¹. En el ensayo E3 la densidad celular alcanzada fue de cel.ml⁻¹, una densidad mayor que la lograda en E1. Finalmente, el ensayo en el que se presentó la menor densidad de células fue en E1 con un máximo de cel.ml⁻¹, inferior al obtenido en E3 aun cuando contó con la dosificación de CO₂ más alta de los tres ensayos. Los resultados obtenidos en los ensayos E1

a E3 se asemejan a los resultados obtenidos por Zheng *et al.* (2012), en los que los crecimientos más altos se obtuvieron con las dosis de CO₂ intermedias 1, 5 y 10%. De igual modo, la concentración de CO₂ más alta inhibió el crecimiento microalgal y la concentración más baja de CO₂ produjo un crecimiento limitado. Por su parte, Ortiz *et al* (2014) indica que el uso de aire enriquecido con CO₂ a concentraciones del 2, 4, 8 y 16% como fuente de carbono produce concentraciones altas de biomasa, permitiendo usar con éxito la microalga *C. vulgaris* en la mitigación de CO₂ de las emisiones industriales.

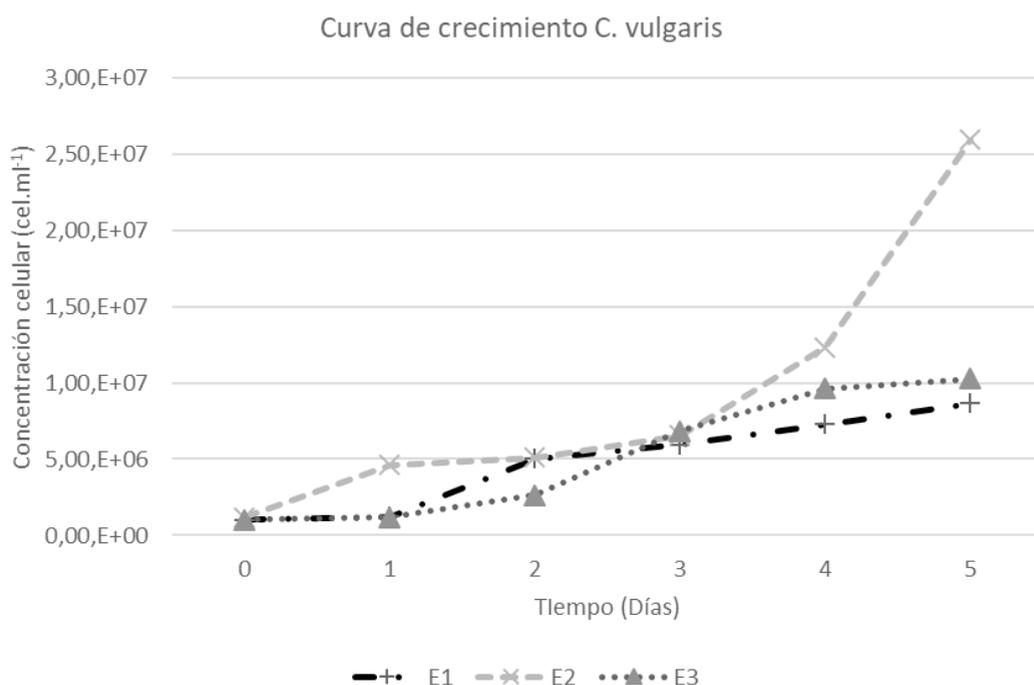


Figura 2. Ilustración de la curva de crecimiento de *C. vulgaris*. Ensayos E1 a E3, luminaria artificial de 54 Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), rango de temperatura 26 – 31°C.

Fuente: Autores

En la tabla 1 se presenta la cinética de crecimiento por *C. vulgaris*, ratificando que E2 tuvo mayor velocidad específica de crecimiento (μ_{max}), en comparación con E1 y E3, y un menor tiempo de duplicación celular d_{ti} . La estimación de estos valores tiende a generar una estrecha relación con la capacidad productiva del

sistema. Para el análisis de varianza elaborado a los ensayos E1 a E3, la variable densidad de células en *C. vulgaris* proyectó diferencias altamente significativas entre los 3 ensayos. Estos contrastes estadísticos entre los ensayos E1 y E3 se determinaron con el test de Tukey a un nivel de confianza del 95% ($p < 0.05$).

Tabla 2. Estimación de la Cinética de crecimiento de *C. vulgaris*. Ensayos E1 a E3, luminosidad artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), rango de temperatura 26°C – 31°C.

Ensayo (E)	Cepa	$\mu_{max} (d^{-1})$	d_{ti}
E1	<i>C. vulgaris</i> .	0,43 c	1,60
E2	<i>C. vulgaris</i> .	0,62 a	1,12
E3	<i>C. vulgaris</i> .	0,47 b	1,49

Las letras en $\mu_{max} (d^{-1})$ indican la diferencia estadística de Tukey ($p < 0.05$)

Fuente: Autores

El comportamiento de *S. obliquus* al someterse a diferentes dosis de CO₂ establecidas en esta metodología se ilustra en la figura 3. La curva de crecimiento muestra que el cambio exponencial para los ensayos E4 a E6 inicia a partir del primer día, en cuanto al crecimiento el ensayo E5, se identifica la mayor la densidad de células logrando valoraciones de 4,62 x 10⁶ cel.ml⁻¹. Para el ensayo E4 el máximo valor obtenido fue

de 3,46 x 10⁶ cel.ml⁻¹, mientras E6 mostró la menor densidad de células cuyo máximo valor no superó 3,03 x 10⁶ cel.ml⁻¹. Estos resultados guardan una similitud respecto a los resultados obtenidos por Abd El Baky *et al.* (2012) en los que se cultivó la microalga *S. obliquus* con una mezcla de aire y CO₂ a concentraciones del 0.3, 3, 9 y 12%, donde la concentración de biomasa más alta se obtuvo al 9% de CO₂.

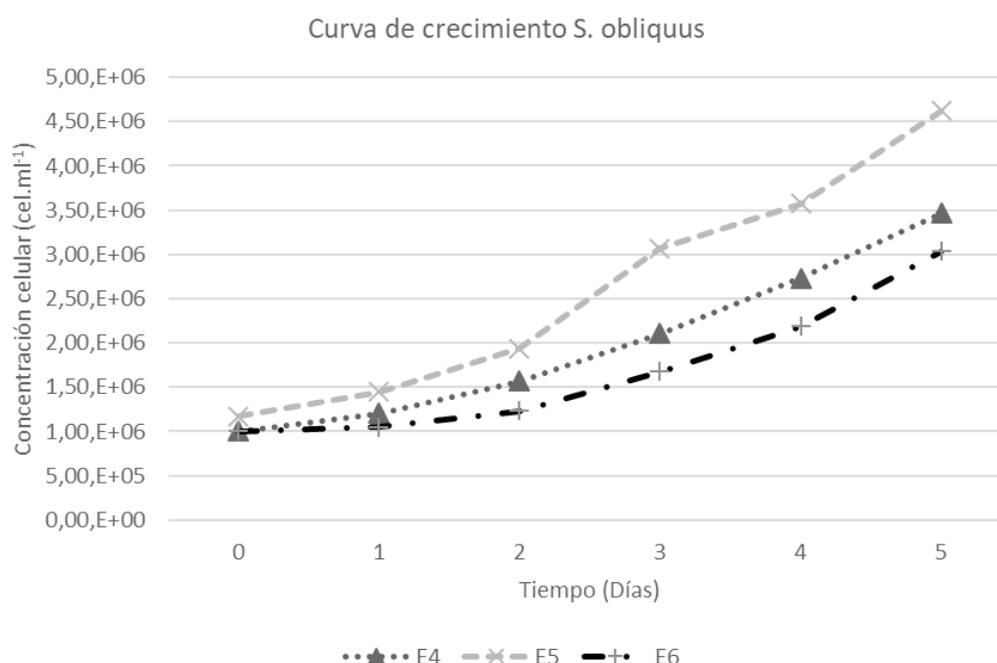


Figura 3. Ilustración de la curva de crecimiento de *S. obliquus*. Ensayos E4 a E6, luminosidad artificial de 54 Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), rango de temperatura 26°C – 31°C.

Fuente: Autores

La Tabla 3 presenta valores estimados a la cinética de crecimiento mostrada por *S. obliquus*, ratificando que E5 presentó mayor velocidad específica de crecimiento, en comparación con E4 y E6, y su tiempo de duplicación celular fue menor 1.12d. Estas valoraciones indican una relación muy estrecha con la capacidad productiva en el sistema. En el respectivo

análisis de varianza, los ensayos E4 a E6 en la variable "densidad de células" de *S. obliquus* proyectaron diferencias altamente significativas entre los 3 ensayos. La respectiva estadística entre los ensayos E4 a E6 se determinaron mediante la prueba de Tukey a un nivel de confianza del 95% ($p < 0.05$).

Tabla 3. Estimación de la Cinética de crecimiento de *S. obliquus*. Ensayos E4 a E6, iluminación artificial de 54Watts (4400 lm) con fotoperiodo luz: oscuridad (12:12), rango de temperatura 26°C – 31°C.

Ensayo (E)	Cepa	$\mu_{max}(d^{-1})$	d_{ti}
E4	<i>S. obliquus</i> .	0,25 b	2,79
E5	<i>S. obliquus</i> .	0,27 a	2,52
E6	<i>S. obliquus</i> .	0,22 c	3,12

Las letras en $\mu_{max}(d^{-1})$ indican la diferencia estadística de Tukey ($p < 0.05$)

Fuente: Autores

El contraste entre *C. vulgaris* y *S. obliquus* de los tres ensayos aplicados (dosificación de CO_2 y aire controlado) a cada especie (figura 4), permite reconocer diferencias estadísticas significativas, donde se observó que *C. vulgaris* siempre alcanzó una mayor densidad de células. El análisis de varianza realizado a los ensayos E1 y E4 se presentó diferencia altamente significativa en ambas especies evaluadas a las mismas condiciones de dosis de CO_2 y aire controlado, siendo la cepa *C. vulgaris* con un registro máximo de $8,67 \times 10^6$ cel.ml⁻¹ mientras *S. obliquus* alcanzó un máximo valor de $3,46 \times 10^6$ cel.ml⁻¹, encontrándose una

diferencia de 2.5 veces más de densidad celular en *C. vulgaris*. Para el caso de los ensayos E2 y E5, *C. vulgaris* logró una densidad máxima de $2,59 \times 10^7$ cel.ml⁻¹ y la cepa *S. obliquus* alcanzó un valor máximo de $4,62 \times 10^6$ cel.ml⁻¹, permitiendo observar una densidad celular 5.6 veces mayor en *C. vulgaris*. Posteriormente, en los ensayos E3 y E6 donde se usó aire atmosférico, la cepa *C. vulgaris* obtuvo un valor máximo de $1,03 \times 10^7$ cel.ml⁻¹ y la cepa *S. obliquus* alcanzó una densidad máxima de $3,03 \times 10^6$ cel.ml⁻¹, generando una diferencia de 3,4 veces más densidad celular en *C. vulgaris*.

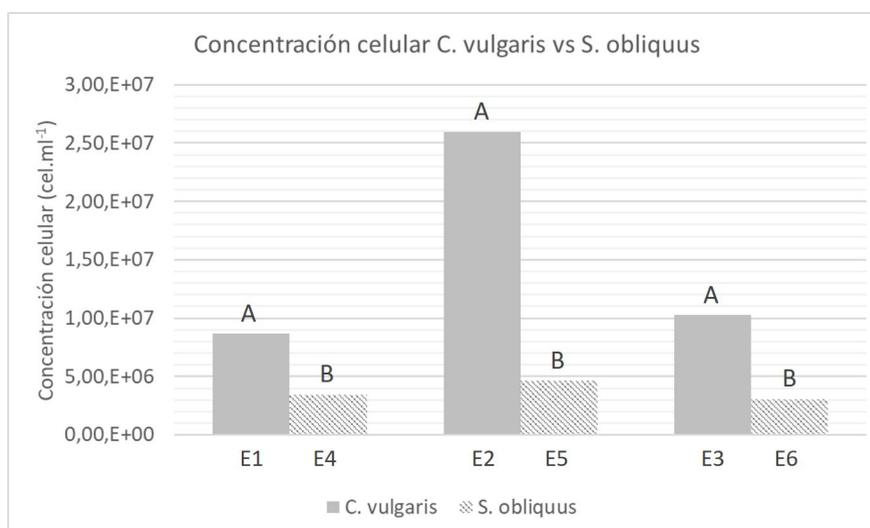


Figura 4. Ilustración de ANOVA – Densidad de células de *C. vulgaris* y *S. obliquus*. Ensayos E1 a E6. Prueba de rangos múltiples para (E1, E4), (E2, E5) y (E3, E6). Tukey ($p < 0.05$). Luminosidad artificial de 54 Watts (4400 lm) con fotoperiodo 12:12, rango de temperatura 26°C – 31°C. Las letras en las barras indican las diferencias entre las especies para cada dosis de CO_2 suministrada según prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Fuente: Autores

4. CONCLUSIONES

La dosificación de CO₂ adicional benefició la cinética del crecimiento de las 2 especies, especialmente en *C. vulgaris*, donde la cantidad de CO₂ dosificado en E2 y E5 mostró los valores de densidad celular más altos para ambas especies de microalgas, siendo la condición más favorable de todos los ensayos realizados para mejorar su productividad.

Los resultados obtenidos en los ensayos E1 a E3 verificados con la cepa *C. vulgaris* mostraron que no hay una relación directa entre la cantidad de CO₂ dosificado y la densidad de células. Esta situación era esperada ya que, con el uso de solo aire atmosférico, la densidad celular de *C. vulgaris* en E3, alcanza valores mayores a los obtenidos con una alta dosificación de CO₂ como la del ensayo E1.

Los resultados obtenidos en este estudio mostraron que las microalgas *C. vulgaris* y *S. obliquus* tienen alto potencial para ser utilizadas en cultivos con condiciones controladas que busquen objetivos como la captura de CO₂ y producción de biomasa.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

Primer autor: investigación, análisis de datos, conceptualización, escritura – revisión y edición, adquisición de recursos, administrador del proyecto. Segundo autor: investigación, conceptualización, análisis de datos, supervisión, escritura – revisión y edición. Tercer autor: investigación, conceptualización, metodología, logística, escritura – borrador original.

AGRADECIMIENTOS

A la empresa NUTRE S.A.S. la cual contribuyo aportando las cepas de las microalgas y medios de cultivo utilizados durante el desarrollo del proyecto. A el MSc Pablo Gallo, quien contribuyo al desarrollo del análisis de muestras por la técnica de conteo con cámara de

Neubauer y por sus consejos en el área de la microbiología que aportaron al buen desarrollo de este proyecto.

LITERATURA CITADA

- Abd El Baky, H., El-Baroty, G., Bouaid, A., Martinez, M., y Aracil, J. (2012). Enhancement of lipid accumulation in *Scenedesmus obliquus* by Optimizing CO₂ and Fe³⁺ levels for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 429-432. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.104>
- Ammar, S. (2016). Cultivation of Microalgae *Chlorella vulgaris* in Airlift photobioreactor for Biomass Production using commercial NPK Nutrients. *Al-Khwarizmi Engineering Journal*, 12(1), 90-99. Retrieved from <https://www.iasj.net/iasj?func=article&aId=107937>
- Andersen, R. (2005). *Algal Culturing Techniques*. Academic Press.
- Barsanti, L. G. (2006). *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology* (1st Edition ed.). CRC Press.
- Ararat M., Sinisterra C., y Hernández C. (2014). Valoraciones agronómicas y de rendimiento en la cosecha de "papa china" (*Colocasia esculenta* L.) en el trópico húmedo colombiano. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, Vol. 5 (2), 169-180. <https://doi.org/10.22490/21456453.1335>
- Blunden, J., Arndt, D., y Hartfield, G. (Agosto de 2018). State of the Climate in 2017. 99(8). <https://doi.org/10.1175/2018BAMSStateoftheClimate.1>
- Darki, B. S. (2017). Effect of nutrients on total lipid content and fatty acids profile of *Scenedesmus obliquus*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 60, 1-12. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4324-2017160304>
- Enzing, C., Ploeg, M., Barbosa, M., y Sijtsma, L. (2014). Microalgae-based products for the food and feed sector: an outlook for Europe. (M. Vignani, C. Parisi, & E. Rodríguez, Edits.) <http://dx.doi.org/10.2791/3339>
- Farroq, W. S. (2015). Water use and its recycling in microalgae cultivation for biofuel application. *Bioresource Technology*, 73 - 81. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.140>
- Intergovernmental Panel on Climate Change IPCC. (2014). *Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Retrieved from

https://archive.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar5/syr/SYR_AR5_FINAL_full_wcover.pdf

Kassim, M. M., Meng T. (2017). Carbon dioxide (CO₂) biofixation by microalgae and its potential for biorefinery and biofuel production. *Science of the Total Environment*, 1121 - 1129. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.172>

Lee, E. J. (2015). Growth kinetic models for microalgae cultivation: A review. *Algal Research*, 497 - 512. Recuperate de <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.10.004>

Monsalve Castro, L. M., Valencia Trujillo, F. L., Guzmán Lenis, A. R., Duque Chaves, C. M., Pérez Giraldo, D. A., Valderrama L., C. F., Moraes Boldini, J., y Polanco Puerta, M. F. (2019). Capítulo 2: Servicio ecosistémico de abastecimiento: alimentos. *Libros Universidad Nacional Abierta Y a Distancia*, 34 - 56. <https://doi.org/10.22490/9789586516358.02>

Montenegro Gómez, S. P., Barrera Berdugo, S. E., Chiriví Salomón, J. S., Pulido Pulido, S. Y., Sepúlveda Casadiego, Y. A., Vinasco Guzmán, M. C., y Palomino Leiva, M. L. (2019). Capítulo 9. Prevención de la erosión y conservación de la fertilidad del suelo. *Libros Universidad Nacional Abierta Y a Distancia*, 172 - 187. <https://doi.org/10.22490/9789586516358.09>

Mosquera, R. A., Carmona, M. E., Pulido, S. Y., Vinasco, M. C., Moraes, J., Barrera, S. E., & Montenegro, S. P. (2019). Capítulo 4. Recursos Medicinales. *Libros Universidad Nacional Abierta Y a Distancia*. doi: <https://doi.org/10.22490/9789586516358.04>

Organización Mundial de la Salud y Organización Meteorológica Mundial OMS. (2012). Atlas de la Salud y del Clima. Obtenido de Biblioteca de la OMM - Exposición de publicaciones: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/112303>

Ortiz, E., Casazza, A., Aliakbarian, B., Perego, P., Coverti, A., y Monteiro, J. (2014). Production of *Chlorella vulgaris* as a source of essential fatty acids in a tubular photobioreactor continuously fed with air enriched with CO₂ at different concentrations. *Biotechnology Progress*, 916-922. doi: <https://doi.org/10.1002/btpr.1885>

Patiño, S. S. (2018). Captura de carbono en biomasa en plantaciones forestales y sistemas agroforestales en Armero-Guayabal, Tolima, Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 121 - 134. doi: <https://doi.org/10.22490/21456453.2312>

Pulido, S. Y., Mosquera Mena, R. A., Rodríguez Espinosa, S. A., Fonseca Lara, M. R., Montenegro Gómez, S. P., Valencia Trujillo, F. L., y Barrera Berdugo, S. E. (2019). Capítulo 12. Hábitat para especies. *Libros Universidad Nacional Abierta Y a Distancia*, 212 - 224. <https://doi.org/10.22490/9789586516358.12>

Ramírez, J. (2017). Viabilidad en la producción de biomasa microalgal a partir de fotobioreactores solares en el Valle del Cauca, Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 127 - 140. <https://doi.org/10.22490/21456453.2039>

Razzak, S. A. (2017). Biological CO₂ fixation with production of microalgae in wastewater – A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 76, 379 - 390. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.02.038>

Sanclemente, Ó. P. (2012). Análisis del balance energético de diferentes sistemas de manejo agroecológico del suelo, en el cultivo del maíz. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 3(1), 41-46. <https://doi.org/10.22490/21456453.929>

Sierra, S. C. (2015). Estrategias de adaptación al cambio climático en dos localidades del municipio de Junín, Cundinamarca, Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 227- 237. <https://doi.org/10.22490/21456453.1282>

Venkata, S. R. Rohit MV., Chiranjeevi P., Chandra R. Navaneetha B. (2015). Heterotrophic microalgae cultivation to synergize biodiesel production with waste remediation: Progress and perspectives. *Bioresource Technology*, 186, 169 - 178. Recuperate de <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.056>

Zheng, H., Gao, Z., Yin, F., Ji, X., & Huang, H. (2012). Effect of CO₂ supply conditions on lipid production of *Chlorella vulgaris* from enzymatic hydrolysates of lipid-extracted microalgal biomass residues. *Bioresource Technology*, 126, 24-30. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.09.048>



Licencia de Creative Commons

Revista de Investigación Agraria y Ambiental is licensed under a Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional License.

Conflicto de Intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses

BIOSURFACTANTS PRODUCED BY METAL-RESISTANT *Pseudomonas aeruginosa* ISOLATED FROM *Zea mays* RHIZOSPHERE AND COMPOST

BIOSURFACTANTES PRODUCIDOS POR LA *Pseudomonas* *aeruginosa* AISLADA DE LA RIZÓSFERA Y COMPOSTA DE LA *Zea mays*

**¹Aguirre-Noyola J. L, ²Romero Ramírez Y, ³Ruvalcaba Ledezma J. C,
⁴Forero Forero A. V, ⁵León Rodríguez R, and ⁶Toribio Jiménez J**

¹Maestro en Biociencias, Facultad de Ciencias Químico Biológicas.
Universidad Autónoma de Guerrero, Chilpancingo, Guerrero. México.

^{2,6}Profesora-Investigadora de Tiempo Completo, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, UAGro. México.

³Profesor-Investigador de Tiempo Completo, Instituto de Ciencias de la Salud -UAEH, México.

⁴Doctora en Ciencias, Profesora de Asignatura, Facultad de Ciencias, UNAM. México.

⁵Doctor en Ciencias, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, México.

¹jaguirre@ibt.unam.mx , ²yromero@uagro.mx , ³jesus_ruvalcaba@uuaeh.edu.mx,

⁴avforerof@ciencias.unam.mx , ⁵renato@biomedicas.unam.mx,

*Corresponding author. J Toribio Jiménez. Email: ⁶15157@uagro.mx

ABSTRACT

Contextualization: *Pseudomonas aeruginosa* is capable of producing biosurfactants which have many uses in bioremediation and the production of antiviral, antibacterial, antiparasitic, sporicidal and antifungal agents, among others.

Knowledge gap: This study describes the production of mono and di-rhamnolipid biosurfactants by *P. aeruginosa* strains isolated from *Zea mays* rhizosphere and composts in the state of Guerrero, Mexico.

Purpose: The overall aims were to investigate biosurfactant, pyocyanin production, and tolerance to heavy metals and antimicrobial activity capacity than biosurfactants produced from *P. aeruginosa* strains from corn rhizosphere and compost in Mexico.

Methodology: Biosurfactant production was determined based hemolysis on blood agar, blue halos in CTAB-Methylene blue agar, drop collapse test and production of foam on PPGAS

DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3849>

broth, the emulsion index (IE24) and antibacterial capacity. The strains were identified by sequence of the 16S rDNA gene and their resistance to heavy metals were also evaluated.

Results and conclusions: Two strains isolated from Zea mays rhizosphere (PAM8, PAM9) were the best biosurfactant producers and their extracts showed antimicrobial activity against Grampositive and Gramnegative bacteria. PAM8 and PAM9 showed >30% of cellular hydrophobicity to hydrocarbons, and were capable of emulsifying toluene, cyclohexane, petroleum, diesel and oils. All strains showed the same profile of heavy metal tolerance ($As^{5+} > As^{3+} > Zn^{2+} > Pb^{2+} > Fe^{3+} > Cd^{2+} > Cu^{2+} > Cr^{6+}$ in concentrations of 20, 10, 10, 6, 4, 4, 2 and 2 mM., respectively). The isolation of biosurfactant-producing and heavy-metal tolerant bacteria from Zea mays rhizosphere and compost in Guerrero demonstrates the capacity for this region to harbor potentially important microbial strains for industrial or bioremediation applications.

Keywords: Rhamnolipids, hydrocarbons, bioremediation, biotechnological applications.

RESUMEN

Contextualización: la *Pseudomonas aeruginosa* es capaz de producir biosurfactantes que tienen muchos usos en la biorremediación y producción de agentes antivirales, antibacterianos, antiparasitarios, esporicidas y antifúngicos, entre otros.

Vacío de conocimiento: este estudio describe la producción de biosurfactantes mono y di-rhamnolípidos por cepas de *P. aeruginosa* aisladas de la rizosfera y compostas de *Zea mays* en el estado de Guerrero, México.

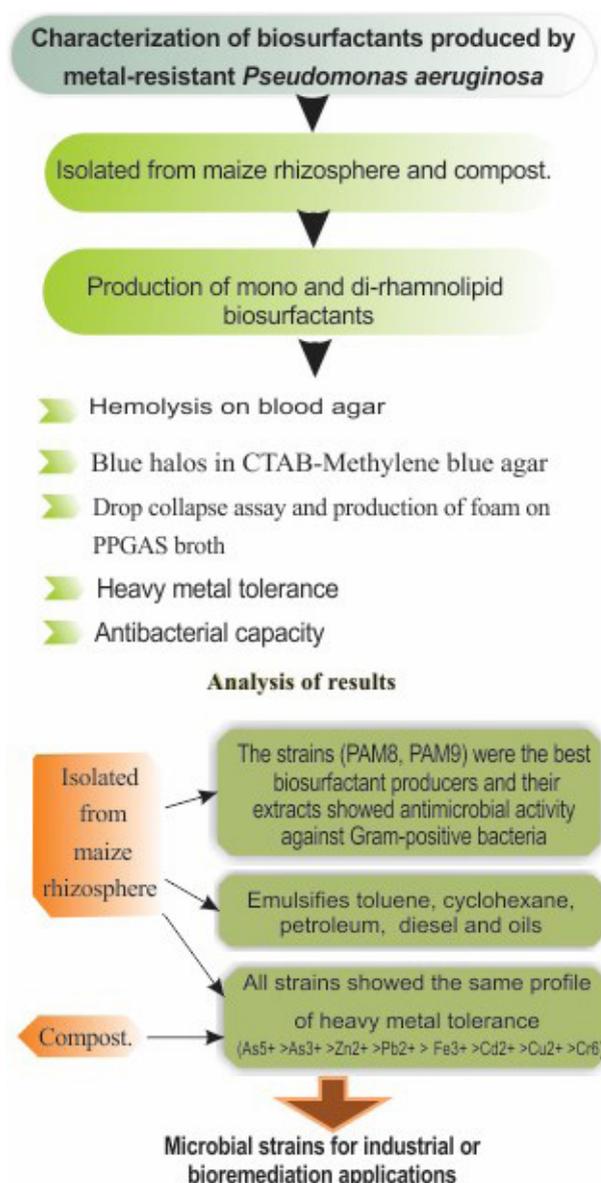
Propósito del estudio: los objetivos generales fueron investigar la producción de biosurfactantes, piocianina y tolerancia a metales pesados y la capacidad de actividad antimicrobiana de los biosurfactantes producidos por cepas de *P. aeruginosa* aisladas de rizosfera y composta en México.

Metodología: Se determinó la producción de biosurfactantes con base en la hemólisis agar sangre, halos azules en agar CTAB-azul de metileno, ensayo de colapso de gotas, producción de espuma en medio PPGAS, índice de emulsión (IE24) y capacidad antibacterial, las cepas se identificaron por la secuencia del gen del 16S y también se evaluó la resistencia a metales pesados.

Resultados y conclusiones: Dos cepas aisladas de la rizosfera de *Zea mays* (PAM8, PAM9) fueron las mejores productoras de biosurfactantes, y sus extractos mostraron actividad antimicrobiana frente a bacterias Grampositivas y Gramnegativas. PAM8 y PAM9 mostraron >30% de hidrofobicidad a hidrocarburos y fueron capaces de emulsionar tolueno, ciclohexano, petróleo, diésel y aceites. Todas las cepas mostraron el mismo perfil de tolerancia a metales pesados ($As^{5+} > As^{3+} > Zn^{2+} > Pb^{2+} > Fe^{3+} > Cd^{2+} > Cu^{2+} > Cr^{6+}$ en concentraciones de 20, 10, 10, 6, 4, 4, 2 y 2 mM., respectivamente). El aislamiento de bacterias productoras de biosurfactantes y tolerantes a metales pesados de la rizosfera y composta de *Zea mays* en Guerrero demuestra que la región alberga cepas microbianas potencialmente importantes para aplicaciones industriales o de biorremediación.

Palabras clave: Rhamnolípidos, hidrocarburos, biorremediación, aplicaciones biotecnológicas.

GRAPHIC ABSTRACT



1. INTRODUCTION

Biosurfactants are molecules that lower the surface tension and increase the solubility between solutions that are non-miscible (Toribio Jimenez et al., 2014). Among their many applications, they may act as emulsifying, foaming agents and wetting agents (Pacwa-Płociniczak et al., 2011; Satpute et al., 2010)2011; Satpute et al., 2010. Biosurfactants are produced by microorganisms such as bacteria, yeast and filamentous fungi, and

are often considered to be environmentally friendly compounds. They have been mostly studied in the context of microbial enhanced oil recovery (MEOR) and in the bioremediation of water and soils contaminated by hydrocarbon spills and heavy metals (Amani et al., 2013; Darvishi et al., 2011; Wu et al., 2008). Among the better-known biosurfactants are the rhamnolipids (RLs), mainly produced by the bacterium *P. aeruginosa*.

Strains of *P. aeruginosa* can metabolize hexadecane and other polycyclic aromatic hydrocarbons to use them as a carbon source for growth, for synthesis of rhamnolipids (Beal and Betts, 2000; Müller et al., 2012; Nie et al., 2010) and to eliminate heavy metals from wastewater (El Zeftawy and Mulligan, 2011).

Rhamnolipids (the class glycolipids) from this species are known to function as antibacterial, antiviral, antiparasitic, sporicidal and antifungal agents (Abdel-Mawgoud et al., 2010; Bharali et al., 2013; Wang et al., 2005) alpha-L-rhamnopyranosyl-alpha-L-rhamnopyranosyl-beta-hydroxydecanoate (Rha-Rha-C(10). Another compound related to biosurfactants is pyocyanin, which is a blue, secondary metabolite with the ability to oxidize and reduce other molecules (Hassan et al., 1980). Biosurfactants and pyocyanin exhibited a peculiar correlation, as the culture supernatants containing both components emulsified hydrocarbons in a higher amount than that of the biosurfactant alone.

Enhancement in emulsification also occurred by mixing pyocyanin from PPGAS medium and biosurfactant (Das and Ma, 2013). *P. aeruginosa* is a free-living bacterium that has been isolated from soils, contaminated water, plant rhizospheres, animal skin, leachates, and human environments, including hospitals (Soberón-Chávez, 2001). Resistance of

many *P. aeruginosa* strains to antibiotics, antiseptics, chemical disinfectants, heavy metals and metalloids suggest that the species is generally robust in nature and may be applied for human uses in certain cases. The overall objective was to investigate biosurfactant, pyocyanin production, and tolerance to heavy metals and antimicrobial activity capacity than biosurfactants produced from *P. aeruginosa* strains from corn rhizosphere and compost in Mexico.

2. MATERIALS AND METHODS

See Annex.

3. RESULTS AND DISCUSSION

RESULTS

Selection and identification of biosurfactant-producing bacteria.

A total of seven bacterial strains were characterized genetically and identified as the genus *Pseudomonas*. Four isolates were found in *Zea mays* rhizosphere (PAM7, PAM8, PAM9 and PAM10) and the rest were isolated from compost (PAB11, PAB12 and PAB13). The strains showed 99% identity to *P. aeruginosa* PAO1 (reference strain); however, PAM79 and PAM810 isolates are genetically related to strains of *Pseudomonas sp* (Fig 1). All strains exhibited the ability to produce biosurfactants, which was confirmed by beta hemolysis in blood agar plates and dark halos in CTAB-Methylene blue agar.

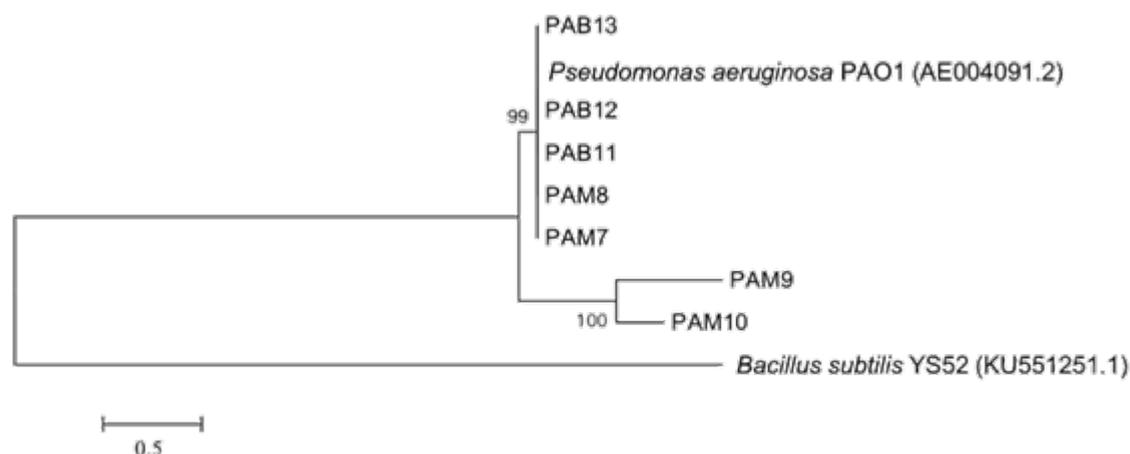


Figure 1. Phylogenetic analysis by neighbor-joining method on 16S rDNA gene sequences. Scale bar = 0.5 substitutions per nucleotide position. *Bacillus subtilis* YS52 (HQ202539) was used as an outgroup sequence.

Source: Authors

The surface activity of biosurfactants present in the cultures was positive for the tests of foaming activity in PPGAS broth, drop collapse test and oil displacement test (Fig. 2).

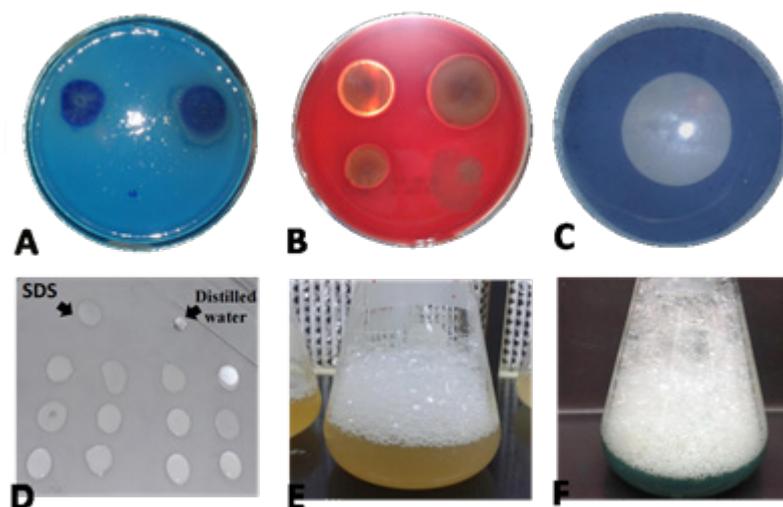


Figure 2. Evaluation of the production of biosurfactants. A) Blue halos formation in CTAB-Methylene blue agar. B) Hemolysis in blood agar. C) oil displacement assay. D) drop collapse test. E-F) Foaming activity in PPGAS broth.

Source: Authors

Emulsifying properties and cellular hydrophobicity associated with biosurfactants production

The biosurfactants produced can emulsify petroleum, diesel, toluene, xylene, cyclohexane and oils (mineral and vegetable) in different

degrees, as shown on Table 1. The xylene hydrocarbon was mostly emulsified by the strains (average = 58%), while mineral oil did not exceed the 32% of average emulsification. *P. aeruginosa* strains with highest IE₂₄ values were PAM8, PAM9, PAB11 and PAB13.

The strain PAM8 has an average IE_{24} of 64% and PAM9 emulsifies cyclohexane up to 70% in vegetable oil. PAB11 emulsifies petroleum to 79% and PAB13 emulsifies xylene to 67%. The *Zea mays* rhizosphere strains showed better emulsification in diesel compared to the

compost strains, and did not present significant differences in the other substrates. The strongly hydrophobic (% Cellular Hydrophobicity or BATH) *P. aeruginosa* strains were PAM8 and PAM9 with 38% and 30% of BATH values, respectively (Table 1).

Table 1. Percent Index of emulsification (IE_{24}) and cellular hydrophobicity by biosurfactants of *P. aeruginosa*.

Table 1. Percent Index of emulsification (IE_{24}) and cellular hydrophobicity by biosurfactants of *Pseudomonas aeruginosa*.

Sample	<i>P. aeruginosa</i>	Emulsification Index (IE_{24}) %							% Cellular Hydrophobicity
		Diesel	Toluene	Xylene	Cyclohexane	Mineral Oil	Vegetable oil	Petroleum	
Maize rhizosphere	PAM7	28	66	57	54	24	45	20	22
	PAM8	60	24	61	64	33	52	26	38
	PAM9	56	66	67	65	23	70	26	30
	PAM10	40	19	42	54	17	55	56	18
Compost	PAB11	27	63	47	54	21	50	79	22
	PAB12	12	54	63	44	60	57	22	18
	PAB13	25	24	67	48	44	45	44	26
Control	PAO-1	57	54	65	45	42	54	73	32
	p value	0.04*	0.86	0.65	0.25	0.21	0.48	0.42	0.06

*Statistically different according to unpaired Student's t-test ($p \leq 0.05$)

Source: Authors

Quantification and physicochemical characterization of biosurfactants.

The *P. aeruginosa* strains with the highest biosurfactant titers were PAM8 (187 ± 5 mg/L), from *Zea mays* rhizosphere, and PAB13 (162 ± 7 mg/L), from compost (Fig.3). The strain PAB12 showed poor performance, with 125 ± 4 mg/L of biosurfactant. All biosurfactants obtained

from the isolated *Pseudomonas* strains were negatively charged and retained their capacity to disperse and emulsify oil after treatment at ≥ 100 °C, salinity at 10% and \geq pH10 (Fig. 3). Significant differences were observed between compost and *Zea mays* rhizosphere strains in terms of amount of biosurfactant produced but not in their physicochemical properties.

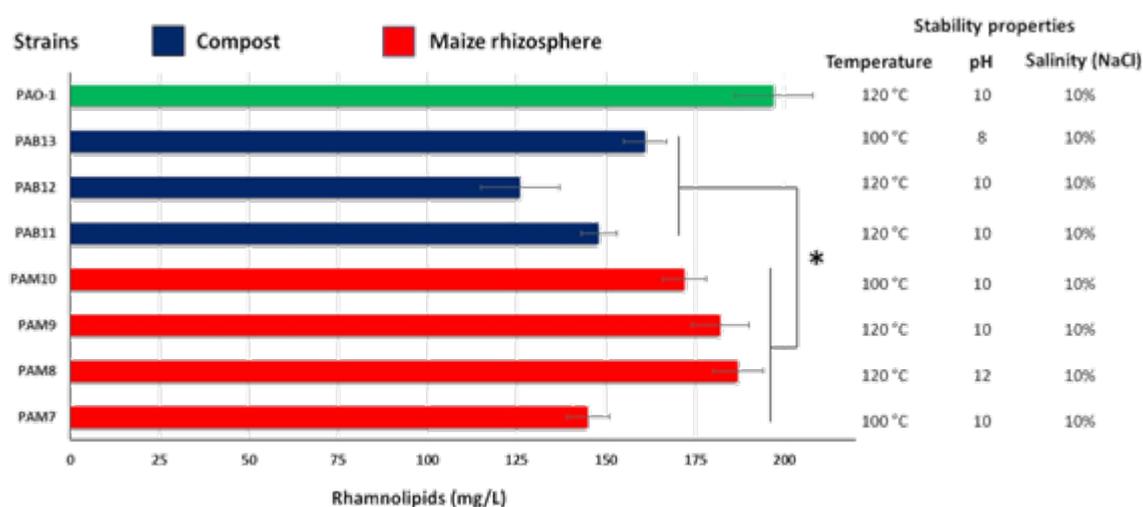


Figure 3. Comparison of production and physicochemical properties of rhamnolipids. *Statistically different between compost and rhizosphere strains according to unpaired Student's t-test ($p \leq 0.05$)

Source: Authors

Surface activity of biosurfactants in presence of pyocyanin pigment.

The production of pigments was observed at the same time as formation of abundant foam in PPGAS culture so, due to its blue

coloration, pyocyanin was quantified (Fig. 4). The highest production of pyocyanin was observed in *Zea mays* rhizosphere strains: PAM8 ($11.9 \pm 2.3 \mu\text{L mL}^{-1}$), PAM9 ($7.8 \pm 1.3 \mu\text{L mL}^{-1}$) and PAM10 ($7.8 \pm 1.0 \mu\text{L mL}^{-1}$).

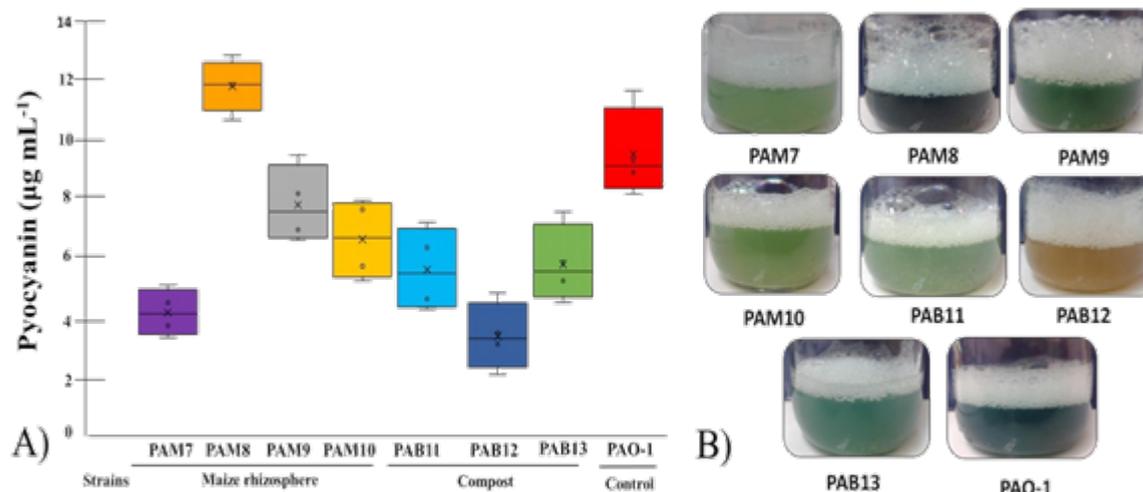


Figure 4 Comparison of pyocyanin pigment between compost and rhizosphere strains. A) Quantification by colorimetric method. B) Intensity of pigment in PPGAS broth.

Source: Authors

Antibacterial activity of biosurfactants.

The produced rhamnolipids have antimicrobial activity against two Grampositive and two Gramnegative bacteria evaluated (Table 2). Maize rhizosphere strains inhibit the bacterium *Bacillus subtilis* better than compost strains, and no significant differences in their

antibacterial effect were observed for other bacteria. *P. aeruginosa* PAM8 showed the strongest activity against *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. paucimobilis* and *K. pneumoniae* with inhibition halos of 26±6 mm, 22±4 mm, 32±5 mm and 24±3 mm, respectively.

Table 2. Comparison of antibacterial activity of biosurfactants produced by *Pseudomonas aeruginosa*.

Inhibition zone diameter (mm)								
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. paucimobilis</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>
Maize rhizosphere	PAM7	22	20	21	ND	ND	13	ND
	PAM8	26	22	32	ND	ND	24	ND
	PAM9	23	13	22	ND	ND	14	ND
	PAM10	23	17	26	ND	ND	18	ND
Compost	PAB11	11	12	31	ND	ND	17	ND
	PAB12	13	19	12	ND	ND	13	ND
	PAB13	21	17	16	ND	ND	19	ND
Control	PAO-1	26	21	30	ND	ND	23	ND
	<i>p value</i>	0.03*	0.94	0.82	-	-	0.84	-

*Statistically different between compost and rhizosphere strains accorded to unpaired Student's t-test ($p \leq 0.05$). ND=Not detected.

Source: Authors

Heavy-metal resistance profile of P. aeruginosa strains.

The petroleum and its derivatives contain traces of heavy metals and metalloids that give rise to the formation of organometallic compounds; therefore, we evaluated the heavy-metal resistance profile of biosurfactant-producing *Pseudomonas*. All the strains have similar MIC to heavy metals and metalloids in the following order: As^{5+} (>20 mM), As^{3+} (10 mM), Zn^{2+} (10 mM), Pb^{2+} (6 mM), Fe^{3+} (4 mM), Cd^{2+} (4 mM), Cu^{2+} (2 mM) and Cr^{6+} (2mM). The colonies were hyper mucoid when grown in high concentrations of metals especially in Pb, Fe and Cu.

DISCUSSION

The bacterium *P. aeruginosa* is known for its ability to produce several bioactive compounds. In this study, report is made on seven strains isolated from the rhizosphere corn or compost; all isolates produced biosurfactants with emulsification indexes on the different hydrophobic substrates as shown on Table 1. Highlighted in the work by Piróllo et al. (2008), a *P. aeruginosa* LBI strain was isolated from places that were contaminated by hydrocarbons. The biosurfactant produced maintained the physicochemical properties after treatment at 120 °C, 10% salinity and only PAM8 biosurfactant is active under alkaline conditions (pH 12).

Strains synthesized both mono-rhamnolipids and di-rhamnolipids, except PAB12 that only produces mono-rhamnolipid, probably lacks some gene responsible for incorporating rhamnose during the biosynthetic pathway. Our results of IE_{24} agree with the results obtained by Janek et al., (2013), where it was reported that the rhamnolipid produced by a strain of *Pseudomonas* BD2 isolated in the Arctic, is capable of reducing the surface tension from 71 to 31 mN/m and emulsifies 70% olive oil, meanwhile for n-hexane, xylene, hexadecane and petroleum ether it emulsifies in a range from 51 to 65%.

It was observed that strains that synthesize more pigment also produce more biosurfactant and are better emulsifiers. Das and Ma (2013) report that the pyocyanin pigment enhances the biosurfactant-mediated hydrocarbon emulsification in clinical and environmental strains of *P. aeruginosa*. In the same way, the hydrocarbonoclastic activity (involved in the mineralization of hydrocarbon pollutants) is positively correlated with the pyocyanin production by *P. aeruginosa* strains isolated from gas stations, activated sludge and wastewater (Viana et al., 2018). Since the strains isolated in the present study are biosurfactant producers, they could potentially be used for Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR) in contaminated environments, in oil wells (Brown, 2010) or in agricultural soils (Sachdev and Cameotra, 2013). The production and concentrations the biosurfactants vary depending on the culture conditions and nutrients, especially the carbon source, as reported by Vanavil et al. (2013) It was reported that the concentration of rhamnolipids obtained when growing the strain in glucose was 88 mg/L, and 15-fold higher when they added Mg^{2+} and Fe^{2+} to the media. In the case of this study, it is still needed to find conditions for the improvement of the biosurfactant production.

We propose PAM8, PAM9 and PAM13 strains as candidates for use in bioremediation of marine environments and other systems by biosurfactants that are stable in hypersaline and alkaline conditions. The strains in this study are similar to those that the microbial consortium reported by Darvishi et al. (2011). That consortium produces a biosurfactant capable of resisting temperatures of over 70°C, salt concentrations higher than 15%, and a range of pH from 4 to 10. It also breaks down hydrocarbons, a fact that points it as a good candidate for the remediation of contaminated sites with these compounds.

The strains PAM8 and PAM9 are capable to emulsify different hydrocarbons and have highest cell hydrophobicity, these are good features for the bioremediation of sites contaminated with oil. Kaczorek and Olszanowski (2010) evaluated the binding of hydrocarbons by *Pseudomonas sp.* when growing in different carbon sources. They observed that *P. fluorescens* PI growing in glucose had 8% hydrophobicity but when grown in ethylbenzene, its hydrophobicity increased by 30% similar to the hydrophobicity showed by the strains *P. aeruginosa* PAM8 (28%) and *P. aeruginosa* PAM9 (20%). PAB12 is the smallest emulsifier probably because it only produces mono-rhamnolipid in small quantities (Fig 3), so the critical micellar concentration is not easily achieved.

The crude extracts of strain PAM8 showed high activity against *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. paucimobilis* and *K. pneumoniae*. These results are consistent with Bharali et al. (2013) where the antibacterial activity of the *P. aeruginosa* OBP1 rhamnolipids on *S. aureus* and *K. pneumoniae* was shown. The rhamnolipids produced by *P. putida* 21BN against *B. subtilis* (Tuleva et al., 2002). Another study showed the effect of the biosurfactant produced by *P. koreensis* M9b on Grampositive bacteria (Toribio et al.,

2011). The antibacterial producers included in the CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) to date are biosurfactants belonging to the class glycolipids and cyclic lipopeptides; for this reason, the biosurfactants produced by our isolates represent good candidates as antibacterial products.

The colonies showed fluorescence and were hyper-mucoid in presence of Pb, Zn and Fe. This was probably in response to the stress they underwent, since the exopolysaccharides have anionic functional groups as phosphates, sulfates, and carboxylic acids that bind to metals, sequestering them and avoiding the interactions of the metal inside the cell. Fluorescence was caused by the production of siderophores that could be related to the presence of specific metals in the soils that our isolates came from. Siderophores as the pioverdine and piochelin are able to bind Fe, Cd, Cu and Zn, reducing their toxicity for bacteria (Dao et al., 1999; Dimkpa et al., 2009).

These data agree with Raja et al. (2006), who reported on a strain of *P. aeruginosa* FC1 being capable of growing in 800 ppm of Pb, 700 ppm of Ni, 500 ppm of Cd and 400 ppm of Cr. On the other hand, studies conducted by Hassan et al. (2008) showed bacterial resistance to heavy metals in contaminated soils in Egypt. However, 89% of the isolates were inhibited by 3.5 mM of the metal, which represents a lower concentration than our isolates could resist. Bodour et al. (2003) This shows the production of associated biosurfactants with resistance to heavy metals, which is similar to the yield of this study.

4. CONCLUSIONS

Seven endemic strains of *P. aeruginosa* were successfully isolated from the rhizosphere from pure breed *Zea mays* and compost. The strains were able to produce rhamnolipid and has antimicrobial activity against Grampositive

and Gramnegative bacteria. Moreover, they showed resistance to heavy metals. Strains PAM8 and PAM9, are the best candidates to use them for bioremediation and other biotechnological applications.

AUTHOR'S CONTRIBUTION

First author: Methodology, research, data analysis, conceptualization, writing, original draft. **Second author:** Research, conceptualization, data analysis, writing, review and editing. **Third author:** Logistics, review and edition. **Fourth author:** data analysis, review and editing. **Fifth author:** Resource acquisition, project manager, supervision, conceptualization, writing, review and editing.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank J Ramos from School of Plant Sciences, University of Arizona for assistance with molecular sequencing of the bacterial isolates, and J Guevara Luna and JD Chávez Gonzalez for technical assistance.

LITERATURE CITED

- Abdel-Mawgoud, A., Lépine, F. and Déziel, E., (2010). Rhamnolipids: diversity of structures, microbial origins and roles. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86(5), pp.1323-1336. doi: 10.1007/s00253-010-2498-2.
- Amani, H., Müller, M., Syldatk, C. and Hausmann, R., (2013). Production of Microbial Rhamnolipid by *Pseudomonas Aeruginosa* MM1011 for Ex Situ Enhanced Oil Recovery. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 170(5), pp.1080-1093. doi: 10.1007/s12010-013-0249-4.
- Beal, R. and Betts, W., (2000). Role of rhamnolipid biosurfactants in the uptake and mineralization of hexadecane in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Applied Microbiology*, 89(1), pp.158-168. doi: 10.1046/j.1365-2672.2000.01104.x.
- Bharali, P., Saikia, J., Ray, A. and Konwar, B., (2013). Rhamnolipid (RL) from *Pseudomonas aeruginosa* OBP1: A novel chemotaxis and antibacterial agent. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 103, pp.502-509. doi: 10.1016/j.colsurfb.2012.10.064.

- Bodour, A., Drees, K. and Maier, R., (2003). Distribution of Biosurfactant-Producing Bacteria in Undisturbed and Contaminated Arid Southwestern Soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(6), pp.3280-3287. doi: 10.1128/AEM.69.6.3280-3287.2003
- Boles, B., Thoendel, M. and Singh, P., (2005). Rhamnolipids mediate detachment of *Pseudomonas aeruginosa* from biofilms. *Molecular Microbiology*, 57(5), pp.1210-1223. doi: 10.1111/j.1365-2958.2005.04743.x.
- Brown, L., (2010). Microbial enhanced oil recovery (MEOR). *Current Opinion in Microbiology*, 13(3), pp.316-320. doi: 10.1016/j.mib.2010.01.011
- Dao, K., Hamer, K., Clark, C. and Harshman, L., (1999). Pyoverdine production by *Pseudomonas aeruginosa* exposed to metals or an oxidative stress agent. *Ecological Applications*, 9(2), pp.441-448. doi 10.1890/1051-0761(1999)009[0441: PPBPAE]2.0.CO;2",
- Darvishi, P., Ayatollahi, S., Mowla, D. and Niazi, A., (2011). Biosurfactant production under extreme environmental conditions by an efficient microbial consortium, ERCPP1-2. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 84(2), pp.292-300. doi: 10.1016/j.colsurfb.2011.01.011.
- Das, P. and Ma, L., 2013. Pyocyanin pigment assisting biosurfactant-mediated hydrocarbon emulsification. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 85, pp.278-283. doi 10.1016/j.ibiod.2013.07.013
- Dimkpa, C., Merten, D., Svatoš, A., Büchel, G. and Kothe, E., (2009). Siderophores mediate reduced and increased uptake of cadmium by *Streptomyces tendae*F4 and sunflower (*Helianthus annuus*), respectively. *Journal of Applied Microbiology*, 107(5), pp.1687-1696. doi: 10.1111/j.1365-2672.2009.04355.x.
- El Zeftawy, M. and Mulligan, C., (2011). Use of rhamnolipid to remove heavy metals from wastewater by micellar-enhanced ultrafiltration (MEUF). *Separation and Purification Technology*, 77(1), pp.120-127. doi:10.1016/j.seppur.2010.11.030
- Hassan, H. and Fridovich, I., (1980). Mechanism of the antibiotic action pyocyanine. *Journal of Bacteriology*, 141(1), pp.156-163. doi: 10.1128/JB.141.1.156-163.1980
- Hassan, S., Abskharon, R., Gad El-Rab, S. and Shoreit, A., (2008). Isolation, characterization of heavy metal resistant strain of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from polluted sites in Assiut city, Egypt. *Journal of Basic Microbiology*, 48(3), pp.168-176. doi: 10.1002/jobm.200700338.
- Janek, T., Łukaszewicz, M., & Krasowska, A. (2013). Identification and characterization of biosurfactants produced by the Arctic bacterium *Pseudomonas putida* BD2. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 110, 379–386. doi: 10.1016/j.colsurfb.2013.05.008.
- Kaczorek, E., & Olszanowski, A. (2010). Uptake of Hydrocarbon by *Pseudomonas fluorescens* (P1) and *Pseudomonas putida* (K1) Strains in the Presence of Surfactants: A Cell Surface Modification. *Water, Air, & Soil Pollution*, 214(1–4), 451–459. Doi:10.1007/s11270-010-0436-7
- Maier, R. M., & Soberón-Chávez, G. (2000). *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids: biosynthesis and potential applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 54(5), 625–633. Doi:10.1007/s002530000443
- Müller, M. M., Kügler, J. H., Henkel, M., Gerlitzki, M., Hörmann, B., Pöhnlein, M., Syldatk, C., & Hausmann, R. (2012). Rhamnolipids—Next generation surfactants? *Journal of Biotechnology*, 162(4), 366–380. doi: 10.1016/j.jbiotec.2012.05.022
- Nie, M., Yin, X., Ren, C., Wang, Y., Xu, F., & Shen, Q. (2010). Novel rhamnolipid biosurfactants produced by a polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterium *Pseudomonas aeruginosa* strain NY3. *Biotechnology Advances*, 28(5), 635–643. doi: 10.1016/j.biotechadv.2010.05.013
- Pacwa-Plóciniczak, M., Płaza, G. A., Piotrowska-Setget, Z., & Cameotra, S. S. (2011). Environmental Applications of Biosurfactants: Recent Advances. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(1), 633–654. doi: 10.3390/ijms12010633.
- Piróllo, M. P. S., Mariano, A. P., Lovaglio, R. B., Costa, S. G. V. A. O., Walter, V., Hausmann, R., & Contiero, J. (2008). Biosurfactant synthesis by *Pseudomonas aeruginosa* LBI isolated from a hydrocarbon-contaminated site. *Journal of Applied Microbiology*, 105(5), 1484–1490. doi: 10.1111/j.1365-2672.2008.03893.x.
- Raja, C. E., Anbazhagan, K., & Selvam, G. S. (2006). Isolation and Characterization of a Metal-resistant *Pseudomonas Aeruginosa* Strain. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(6), 577–585. Doi: 10.1007/s11274-005-9074-4

- Sachdev, D. P., & Cameotra, S. S. (2013). Biosurfactants in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(3), 1005–1016. doi: 10.1007/s00253-012-4641-8
- Satpute, S. K., Banpurkar, A. G., Dhakephalkar, P. K., Banat, I. M., & Chopade, B. A. (2010). Methods for investigating biosurfactants and bioemulsifiers: a review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 30(2), 127–144. doi: 10.3109/07388550903427280.
- Soberón-Chávez, G. (2001). *Pseudomonas aeruginosa*. In: *Microbios en línea*, capítulo 3. Martínez Romero E. and Martínez Romero J. (eds). DGS-CA, UNAM, [http:// www.microbiologia.org.mx/microbiosenlinea/](http://www.microbiologia.org.mx/microbiosenlinea/).
- Toribio, J., Escalante, A. E., Caballero-Mellado, J., González-González, A., Zavala, S., Souza, V., & Soberón-Chávez, G. (2011). Characterization of a novel biosurfactant producing *Pseudomonas koreensis* lineage that is endemic to Cuatro Ciénegas Basin. *Systematic and Applied Microbiology*, 34(7), 531–535. doi: 10.1016/j.syapm.2011.01.007.
- Toribio-Jiménez, J., Rodríguez-Barrera, MA., Valdez, M., Barrera, A., Segura, D., Wilson-Corral, V and Romero Y. (2014). Production of biosurfactants by bacteria isolated from a mine tailing zone in Southern Mexico and their resistance to heavy metals. *J. bacteriol research*, 6(2), 13-16. DOI: 10.5897/jbr2014.0128
- Tuleva, B. K., Ivanov, G. R., & Christova, N. E. (2002). Biosurfactant Production By a New *Pseudomonas Putida* Strain. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 57(3–4), 356–360. doi: 10.1515/znc-2002-3-426.
- Vanavil, B. (2013). Biosurfactant Production from Novel Air Isolate NITT6L: Screening, Characterization and Optimization of Media. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(9), 1229–1243. DOI: 10.4014/jmb.1212.12031
- Viana, A. A. G., Oliveira, B. T. M. de, Cavalcanti, T. G., Sousa, K. A. de, Mendonça, E. A. de M., Amaral, I. P. G. do, & Vasconcelos, U. (2018). Correlation between pyocyanin production and hydrocarbonoclastic activity in nine strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Advanced Engineering Research and Science*, 5(7), 212–223. DOI: 10.22161/ijaers.5.7.28
- Wang, X., Gong, L., Liang, S., Han, X., Zhu, C., & Li, Y. (2005). Algicidal activity of rhamnolipid biosurfactants produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *Harmful Algae*, 4(2), 433–443. DOI: 10.1016/j.hal.2004.06.001
- Wu, J.-Y., Yeh, K.-L., Lu, W.-B., Lin, C.-L., & Chang, J.-S. (2008). Rhamnolipid production with indigenous *Pseudomonas aeruginosa* EM1 isolated from oil-contaminated site. *Bioresource Technology*, 99(5), 1157–1164. doi: 10.1016/j.biortech.2007.02.026.

Conflicto de Intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses

**Licencia de Creative Commons**

Revista de Investigación Agraria y Ambiental is licensed under a Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional License.

ESTRATEGIAS PARA EL MEJORAMIENTO DE LA CALIDAD AMBIENTAL EN LA COMUNA TRES, SAN JUAN DE PASTO

STRATEGIES FOR THE IMPROVEMENT OF ENVIRONMENTAL QUALITY IN COMMUNE THREE, SAN JUAN DE PASTO

¹**David Andrés Calvache M,** ²**Juan Camilo Pejendino S,**
³**Álvaro Javier Ceballos F**

¹Magister en Agroforestería Tropical. Universidad de Nariño, Docente Tiempo Completo.
Universidad de Nariño. Pasto, Colombia.

²Ingeniero Ambiental. Universidad de Nariño. Pasto, Colombia.

³Magister en Desarrollo regional y planificación del territorio. Docente hora cátedra.
Universidad de Nariño. Pasto, Colombia.

¹dacalvache@udenar.edu.co, ²juanp@udenar.edu.co,
³aceb1980@udenar.edu.co

RESUMEN

Contextualización: la ciudad de San Juan de Pasto, en especial su área céntrica y suroriental, presenta una presión significativa en los recursos ambientales a causa de una mayor densidad poblacional, lo que genera diversos problemas ambientales a razón del proceso de urbanización.

Vacío de investigación: es necesario formular estrategias que contribuyan al mejoramiento de la calidad ambiental urbana en la comuna tres, por medio de la evaluación de indicadores de calidad ambiental urbana, la estimación de la calidad ambiental en la zona de estudio y la formulación de alternativas que

augmenten dicho componente mitigando impactos ambientales.

Propósito del estudio: los objetivos específicos del estudio fueron: identificar indicadores de calidad ambiental, estimar el índice de calidad ambiental urbana y proponer alternativas para mejorar la calidad ambiental urbana en la comuna tres, San Juan de Pasto.

Metodología: se aplicó el índice de calidad ambiental urbana, metodología diseñada por el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, como un instrumento para evaluar la sostenibilidad ambiental en las urbes. Se realizó

DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3617>

la priorización de alternativas a través del método matriz de priorización multicriterio.

Resultados y conclusiones: el valor del índice de calidad ambiental urbana para la comuna tres obtuvo un valor de 50,5, lo cual advierte de una calidad ambiental urbana media. Los indicadores más representativos son: calidad del aire y porcentaje de población urbana localizada en zonas de amenaza alta, obteniendo una calificación de muy alto y muy bajo, respectivamente. La priorización de alternativas dio lugar al estudio de dos estrategias, un sistema de terrazas verdes modulares y una estrategia de movilidad sostenible - Sistema público de bicicletas, que mejorarían la calidad ambiental del área de estudio. Este proceso concluyó que la aplicación del índice de calidad ambiental urbana tiene una viabilidad moderada en la aplicación al nivel estratégico de comuna.

Palabras Clave: análisis multicriterio; área urbana; indicadores de calidad Ambiental; movilidad sostenible; techo verde.

ABSTRACT

Contextualization: This study identifies that the city of San Juan de Pasto, especially its central and southeastern area, present a significant pressure on environmental resources, due to a higher population density, generating various environmental problems due to the urbanization process.

Knowledge gap: Such situation gave rise to the development of this research, to formulate strategies that contribute to the improvement of urban environmental quality in commune three, by obtaining urban environmental

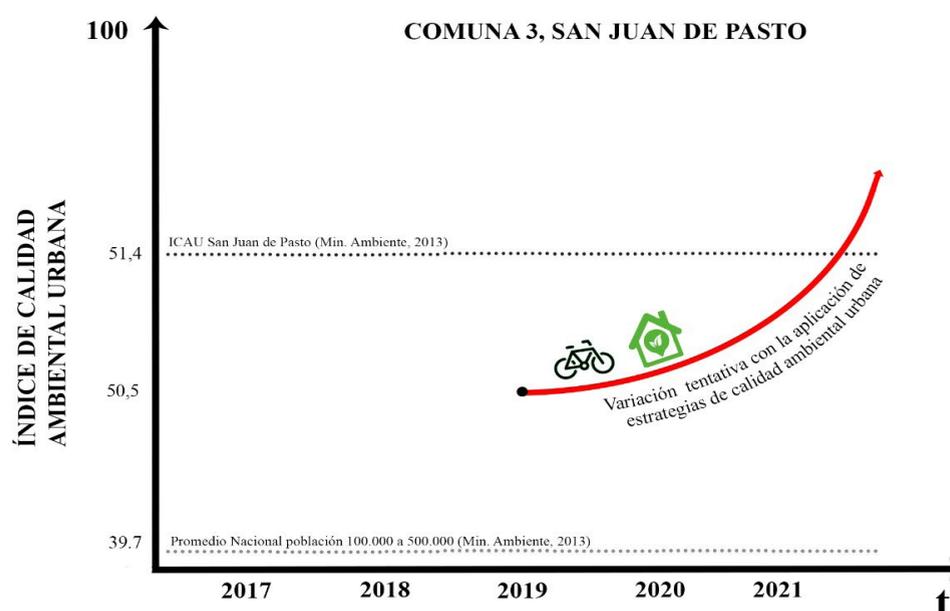
quality indicators, estimating environmental quality in the area of study and formulation of alternatives that increase urban environmental quality and prevent environmental impacts.

Purpose: The specific objectives of the study were: Identify environmental quality indicators, estimate the urban environmental quality index and propose alternatives to improve urban environmental quality in commune three, San Juan de Pasto. For this, the urban environmental quality index, a methodology designed by the Ministry of Environment and Sustainable Development (2016), was applied as an instrument to assess environmental sustainability in cities and prioritization of alternatives was carried out through of the method; multi-criteria prioritization matrix.

Results and conclusions: The urban environmental quality index value for commune 3 obtained a rating of 50.5, which indicates an average urban environmental quality, with Air Quality and the percentage of urban population located in high threat areas being among the most representative, obtaining a Very high and very low rating respectively. The prioritization of alternatives led to the study of two strategies; a modular green terrace system and a sustainable mobility strategy - Public bicycle system, which would improve the environmental quality of the study area. This process concluded that the application of the urban environmental quality index proposed in previous research has a moderate viability in the application at the strategic level of the commune.

Key words: Multi-criteria analysis; urban area; Environmental quality indicators; sustainable mobility; green roofs.

RESUMEN GRÁFICO



Fuente: Autores

1. INTRODUCCIÓN

Las ciudades o áreas urbanas se definen como la conformación de conjuntos de edificaciones y estructuras contiguas agrupadas en manzanas que están delimitadas por calles, carreras o avenidas, y que prestan servicios básicos tales como acueducto, alcantarillado, energía eléctrica, hospitales y colegios (Charry y Gallego, 2018). En dichas áreas también concurren interacciones sociales, económicas y ambientales, dentro de las que se contempla la calidad ambiental urbana, entendida ésta última como la interacción de un conjunto de factores humanos y ambientales interrelacionados que inciden favorable o desfavorablemente en la calidad de vida de los habitantes de una ciudad (Rojas, 2011).

Las dinámicas de crecimiento demográfico que enfrentan las ciudades representan una alta amenaza para el medio ambiente, para la salud y la calidad de vida de sus habitantes. Dicho crecimiento genera nuevos procesos

económicos y está generalmente acompañado de un incremento en las actividades industriales, mayores tasas de motorización, superior consumo de combustible y, por ende, la generación de mayores emisiones de contaminantes del aire (Franco, 2012).

Actualmente, el 54% de la población mundial vive en zonas urbanas y se espera que en 2050 alcance el 66% (Bocquier, 2005). En el caso de Colombia, la población urbana, en el año 2014, representa el 76% y, según las proyecciones, se estima que para 2050 la población llegará a 52,6 millones de habitantes, lo que equivale al 86% de la población total (Mundial-DNP, 2014). En Colombia, durante el año 2014, el 75% de la población se ha concentrado en suelos urbanos que corresponden tan solo al 1,2% del área total del territorio nacional. Entre estos, se destacan grandes aglomeraciones de población en ciudades como Bogotá D.C., Medellín, Cali y Barranquilla, las cuales sobresalen respecto a otros centros poblados

por sus actividades socioeconómicas (IGAC, 2015; Instituto de Estudios Urbanos, 2017).

Según la Alcaldía de Pasto (2014), en el POT 2014-2027, el municipio de Pasto cuenta con una extensión de 109.555 Ha, conformado por 107.188 Ha de área rural, siendo el 97,8% del área total del municipio. En el año 1938, la distribución de la población era casi equitativa en los sectores urbano y rural; sin embargo, se observa una tendencia hacia la disminución de la población rural y el aumento de la población urbana. Para el 2020, la población urbana alcanza el 84% de la población total del municipio. Según la Alcaldía de Pasto (2014), en el año 2012 la comuna tres presentó una densidad adecuada, pese a poseer terrenos destinados a viviendas unifamiliares de interés social. En el año 2014, la densidad poblacional del área urbana de San Juan de Pasto fue de 197 hab/ha; no obstante, la comuna tres cuenta con 43.828 habitantes y una densidad igual a 431 hab/ha, posicionándose como la comuna con mayor densidad poblacional y número de habitantes, esto debido a un dinamismo acelerado y una consolidación importante dentro del territorio en los últimos años (Alcaldía de Pasto, 2014).

La importancia de esta investigación radicó en formular estrategias que contribuyan al mejoramiento de la calidad ambiental urbana y disminuyan impactos ambientales en la comuna 3 de la ciudad de San Juan de Pasto causados, en parte, por la ausencia de la planificación en el proceso urbanizador que ocasionó el crecimiento desorganizado en la ciudad de San Juan de Pasto (Figuroa y Ordoñez, 2014).

Este estudio logró una estimación objetiva del estado actual de la calidad ambiental, en la comuna tres de la ciudad San Juan de Pasto, a

través de la evaluación de indicadores ambientales directos e indirectos. Los objetivos específicos por desarrollar en este estudio fueron: obtener la calificación de los indicadores de calidad ambiental urbana propuestos por el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible (2016), para la comuna tres de la ciudad de Pasto, estimar la calidad ambiental en la zona de estudio y formular alternativas que mejoren la calidad ambiental urbana y mitiguen impactos ambientales, en base en la estimación del ICAU.

Este estudio establece la formulación y priorización de dos estrategias: un sistema de terrazas verdes modulares y una estrategia de movilidad sostenible (sistema público de bicicletas), sin embargo, deja abierta la oportunidad de la posible ejecución de las estrategias, mejorando la valoración de indicadores ambientales en la comuna tres, así como de la región en general, aportando en la disminución de la cantidad de enfermedades de tipo respiratorio, mejorando la belleza paisajística y previniendo la variabilidad climática.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del área de estudio

El estudio se realizó en la ciudad de San Juan de Pasto, específicamente en la comuna tres, ubicada al sur oriente, siguiendo la vía de acceso al departamento del Putumayo, entre las comunas dos, doce y cuatro; colindando con los corregimientos de Buesaquillo y Mocondino. Esta comuna está ubicada en las coordenadas 1°12'13"N y 77°15'24"W. Según la Oficina de Cabildos Indígenas - Alcaldía de Pasto (2013) en Pinto (2013). En ella habitan 56.761 individuos. En la figura 1, se indica la localización geográfica de la comuna tres en la ciudad de San Juan de Pasto.

MAPA DE LOCALIZACIÓN ÁREA DE ESTUDIO

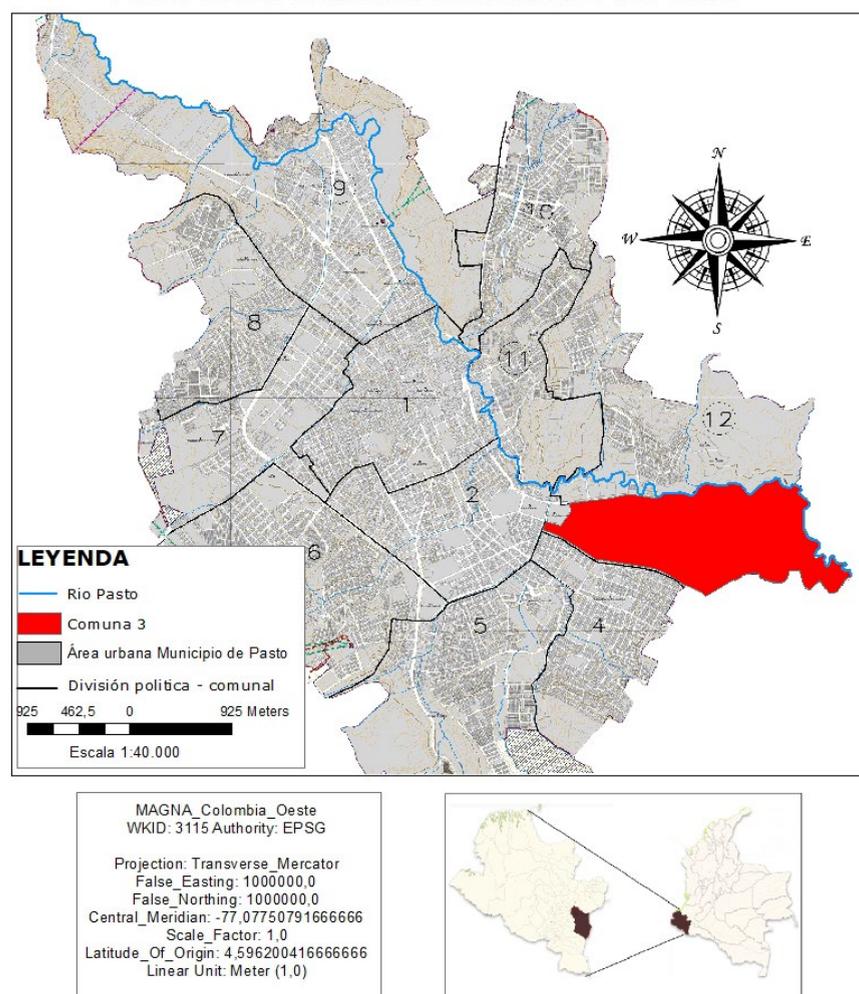


Figura 1. Localización geográfica de la comuna 3 de la ciudad de San Juan de Pasto.

Este estudio. Apoyado con Datos POT 2014 – 2027.

Fuente: Alcaldía de Pasto (2014)

Indicadores de calidad ambiental urbana

Para lograr la calificación de indicadores de la calidad ambiental urbana, se usó la metodológica ICAU de urbes propuesta por el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, en el año 2016, con nivel de complejidad urbana entre 100.000 y 499.999 habitantes. Aunque el área

de estudio está compuesta por 56.761 habitantes, se selecciona ese nivel de complejidad debido a que la comuna tres está vinculada en directas relaciones económicas, sociales y culturales con las doce comunas de San Juan de Pasto. En la Tabla 1 se indican las fórmulas para el cálculo de los indicadores.

Tabla 1. Cálculo de indicadores.

Nº	Fórmula.	Descripción.
1	$AVUpc = \frac{AVU}{PUT}$	AVUpc: área verde por habitante (m ²) AVU: total de áreas verdes urbanas en comuna (m ²) PUT: población urbana total (por comuna) (número de personas)
2	$\%EC = \frac{Ec}{Et} * 100$	%EC: porcentaje de estaciones que reportan concentraciones anuales de PM ₁₀ y PM _{2,5} , normativa vigente. Ec: número de estaciones que reportan concentraciones anuales de PM ₁₀ , normativa vigente. Et: total de estaciones monitoreando PM ₁₀ y PM _{2,5} en el periodo de tiempo (t) del área de cada una de las comunas.
3	$ICA_{i,j} = \sum_{i=1}^n W_i I_{ijt}$	ICA _{j,t} : índice de calidad el agua para una determinada corriente superficial en la estación de monitoreo j, en el tiempo t. W _i : peso o ponderador asignado a cada variable de calidad i. I _{ijt} : subíndice de calidad de la variable i, de acuerdo con las curvas funcionales o ecuaciones correspondientes, en la estación de monitoreo j, en el tiempo t.
4	$\%RSA = \left(\frac{\Sigma RSA}{RSG} \right) * 100$	RSG (Ton) = RS dispuestos (Ton) + RS aprovechados (Ton) RSA: RS Aprovechados (Ton)
5	$PUAR = AUPEP * FDP$	PUAR: población urbana expuesta a ruido ambiental por encima del valor de referencia (65 dB) AUPEP: área de las zonas en las cuales se determinó incumplimiento del valor de referencia del nivel equivalente día noche de 65dB(A), en kilómetros cuadrados. (Km ²) FDP: factor de densidad poblacional.
6	$\%DNM = \frac{CRAPH}{Dotación\ RAS}$	% DNM: Porcentaje de consumo de agua con relación a la dotación neta máxima establecida en el RAS CRAPH: consumo residencial de agua por habitante [l/hab-día] Dotación RAS: dotación neta máxima establecida en el RAS según nivel de complejidad y clima [l/hab-día]
7	$\%CE = \frac{CREPH1}{CREPH2} * 100$	%CE: porcentaje de consumo residencial. CREPH1: consumo residencial de energía por habitante (Kwh/ habitante/ año) (Año de reporte ICAU) CREPH2: consumo residencial de energía por habitante (Kwh/ habitante/ año) (Año reporte ICAU anterior)
8	$\%RSD = \frac{RSD_{j,t}}{RG_{j,t}} * 100$	% RSD: porcentaje de residuos sólidos generados en el área urbana y que son dispuestos adecuadamente RSDjt: cantidad de RS dispuestos adecuadamente (Ton) RGjt: cantidad de RS generados (RS dispuestos + RS aprovechados) (Ton)
9	$CUSPU = \frac{SPUCU}{SPUT} * 100$	CUSPU: porcentaje del suelo de protección urbano con conflictos de uso del suelo (%). SPUCU: superficie del suelo de protección urbano con conflictos de uso del suelo (Ha). SPUT: superficie del Suelo de protección urbano (Ha).

Fuente: Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible (2016),

A continuación, se describe la metodología de cada indicador de calidad ambiental urbana:

Superficie de área verde por habitante: para obtener la cuantificación de la superficie de área verde por habitante, se tomó como base el plano N.º EE2 – Tratamientos Urbanísticos – del plan de ordenamiento territorial 2014 -2027 (Alcaldía de Pasto, 2014) donde se indican las zonas verdes. Se procedió a actualizar la información mediante la rasterización y digitalización de imágenes Landsat, y de imágenes capturadas con dron en sobrevuelo del área de estudio, tal como se muestra en la figura anexo N.º 1. Con el valor de la extensión de superficie de área verde se procedió a realizar el cálculo del área verde por habitante a través de la ecuación N.º 1 de la tabla 1, teniendo en cuenta la densidad poblacional como base para el cálculo.

Calidad del aire: se usó la información brindada por CORPONARIÑO (S.f.) y la plataforma gubernamental IDEAM (2018) de la estación de monitoreo de calidad de aire ubicada en la Universidad Mariana. El cálculo del indicador de calidad de aire se realizó con base en la evaluación de PM10 de los años 2017 y 2018. Se realizó el cálculo de calidad de aire con base en la ecuación N.º 2 de la tabla 1.

Calidad del agua superficial: para obtener este indicador se usó la información contenida en el Plan de Ordenamiento del Cauce Principal del Río Pasto (CORPONARIÑO, 2011). Específicamente las caracterizaciones fisicoquímicas de los tramos antes de la Quebrada Dolores y el tramo Bocatoma Centenario, como se indica en la figura Anexo N.º 2. La calidad de agua superficial se basó de los parámetros: sólidos suspendidos totales, pH, oxígeno disuelto, demanda química de oxígeno, nitrógeno total y fósforo total. Se obtuvo la calidad de agua superficial a través de la ecuación N.º 3 de la tabla 1.

Porcentaje de áreas protegidas: se le solicitó información a la Alcaldía Municipal de Pasto y el análisis de áreas protegidas declaradas para el municipio de San Juan de Pasto mediante las resoluciones: Res. 205 de agosto 22/2003, Res. 129 de noviembre 12/2014, Res. 163 de diciembre 6/2006, Acuerdo 5 de febrero 24/1971, Res. 009 de mayo 19/1943 y Res. 052 de marzo 22/1985 según el PGAR 2016 – 2036 (CORPONARIÑO, 2016). Se comparó si las áreas protegidas se encuentran en solapamiento con la comuna 3.

Porcentaje de residuos sólidos aprovechados: se revisó y recopiló información del Plan de Gestión Integral de Residuos Sólidos 2015 – 2027 de la Alcaldía Municipal de Pasto. El cálculo del indicador se realizó con base a proyecciones del PGIRS para el año 2019 en valores de residuos sólidos y residuos sólidos aprovechados. Dicho cálculo se obtuvo gracias a la aplicación de la ecuación N.º 4 de la tabla 1.

Porcentaje de población urbana expuesta a ruido por encima del nivel de referencia: para el cálculo de este indicador, se tomó como base el mapa de ruido ambiental para el área urbana del Municipio de Pasto, contenido en el informe de gestión de la vigencia 2014 (CORPONARIÑO, 2015) el cual se digitalizó y se intersecó con la comuna 3 como se indica en la Figura Anexo N.º 3. Posteriormente se calculó el área que presenta niveles de ruido superior a 65 dB y teniendo en cuenta la densidad poblacional se encontró el número de personas que se ve afectada por ruido por encima del nivel de referencia. Este cálculo se realizó con base en la ecuación N.º 5 de la tabla 1.

Porcentaje de población vinculada a estrategias de educación ambiental en áreas urbanas y Porcentaje de población que participa en gestión ambiental urbana: para el cálculo de estos indicadores, fue

necesario encuestar a 268 personas de la comuna 3, que representan una muestra significativa con un margen de error del 5,79% y

un nivel de confianza equivalente al 94,31%, calculados con base en la ecuación [10] SurveyMonkey (S.f.):

$$Tamaño\ de\ muestra = \frac{\frac{z^2 * p(1 - p)}{e^2}}{1 + \left(\frac{z^2 * p(1 - p)}{e^2 N}\right)} \quad [Ecuación\ 10]$$

Donde:

Z: Puntuación del nivel de confianza deseado

N: Tamaño de la población

e: Margen de error

P: población característica del estudio

Posterior a esto, se organizaron los resultados en una tabla de Excel y se hizo el cálculo de los porcentajes.

Porcentaje de población urbana localizada en zonas de amenaza alta: para el cálculo de este indicador, fue necesario el análisis del mapa de amenazas por fenómenos de origen natural y socio natural generado por el Servicio Geológico Colombiano (2015). Se realizó un traslape de la comuna tres con el área de amenaza volcánica alta, para evidenciar la existencia de áreas de amenaza alta en la comuna 3, tal como se indica en la Figura Anexo N.º 4.

Consumo residencial de agua y energía por habitante: para el cálculo de estos indicadores fue necesario revisar y extraer información del Informe Nacional de Calidad Ambiental Urbana (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2016) y posteriormente se realizó la actualización de valores con base en el Informe de Gestión 2019 generado por la empresa CEDENAR S.A. E.S.P (2019). Para el cálculo de estos indicadores fue necesario aplicar las fórmulas N.º 6 y 7 de la tabla 1.

Porcentaje de residuos sólidos dispuestos adecuadamente: EMAS S.A. E.S.P (2018) dio lugar al cálculo del porcentaje de residuos sólidos dispuestos adecuadamente a través del Informe de Gestión de EMAS Pasto 2019. Calculado a partir de la Ecuación N.º 8 de la tabla 1.

Porcentaje de suelos de protección urbanos: se realizó la digitalización de los suelos de protección urbanos con base en el plano EE7 – Planes Parciales, contenido en el POT del municipio de Pasto (Alcaldía Municipal de Pasto, 2014), que contenía la información de las áreas urbanas con clasificación de suelos de protección. Esta información se intersecó con la comuna 3, dando lugar a la observación del área que presenta suelos de protección urbana y logrando cuantificar el porcentaje de suelos de protección urbanos, tal como se muestra en la Figura Anexo N.º 5. Dicho porcentaje se calculó con base en la ecuación N.º 9 de la tabla 1.

Espacio público efectivo por habitante: el cálculo de este indicador se logra a partir de revisión bibliográfica en la biblioteca Alberto Quijano Guerrero de la Universidad de Nariño, del trabajo de grado (tesis de pregrado) titulada: Identificación de áreas óptimas para cubrir el déficit de espacio público en las comunas 3,4 y 5 de la ciudad de San Juan de Pasto (Montenegro y Delgado, 2015).

Estimación del índice de calidad ambiental urbana (ICAU): para estimar el Índice de Calidad Ambiental Urbana, el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2016 establece que el grupo de indicadores directos debe tener un mayor peso en la definición del resultado final del ICAU, por lo cual cuenta con una participación del 70% y el 30%,

lo representa el grupo de indicadores indirectos. Al interior de cada grupo de indicadores, directos e indirectos, se debe otorgar el mismo porcentaje de participación a cada uno de los indicadores que lo conforman, por lo cual el valor del grupo se estableció utilizando las formulas 11 y 12 establecidas en la tabla 2.

Tabla 2. Estimación del índice de calidad ambiental urbana.

Ecuaciones 11 y 12	Descripción	Fuente.
$vFD = \sum VOI * \frac{70}{\# \text{ de indicadores del grupo}} [\text{Ecuación 11}]$	Valor final del grupo de indicadores directos.	Ministerio de ambiente y desarrollo sostenible (2016)
$vFI = \sum VOI * \frac{30}{\# \text{ de indicadores del grupo}} [\text{Ecuación 12}]$	Valor final del grupo de indicadores indirectos	
$ICAU = VFD + VFI$	Índice de Calidad Ambiental Urbana.	

Fuente: adaptada de: Índice de calidad ambiental urbana - 2016 (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2016)

Una vez obtenidos los valores finales (VF) de cada grupo de indicadores (directos e indirectos), se realiza la suma de los dos valores, cuyo resultado es el valor final del Índice de calidad ambiental (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2016).

Para su interpretación, el resultado obtenido se debe clasificar en uno de los cinco (5) rangos definidos en la tabla 3, donde cada uno de ellos indica un nivel de calidad ambiental urbana.

Tabla 3. Ponderación de valores y definiciones para resultado final de ICAU.

Calidad Ambiental Urbana	Puntaje
Muy Baja	< a 20 puntos
Baja	20,1 a 40 puntos
Media	40,1 a 60 puntos
Alta	60,1 a 80 puntos
Muy Alta	> a 80 puntos

Fuente: índice de calidad ambiental urbana, Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible 2016 (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2016).

Matriz de priorización multicriterio

La formulación de las estrategias para mejorar la calidad de los indicadores ambientales se realizó a través de una matriz de priorización multicriterio, por el método de suma ponderada propuesta por Aznar y Guijarro (2012). La suma ponderada permite ponderar una serie de alternativas en función de un grupo de criterios, donde se tiene el valor normalizado, X_{ij} , de las variables para cada alternativa y el peso o ponderación de cada variable, W_j . Tal como se muestra en la ecuación [13].

$$W_i = \sum_{j=1}^n (w_j * x_{ij}) \text{ [Ecuación 13]}$$

Siendo:

W_i : ponderación final obtenida de cada alternativa

W_j : peso de cada variable obtenido por la ponderación

X_{ij} : valor de cada variable para cada alternativa.

Para esta investigación se establecieron los siguientes criterios: impacto ambiental, alcance, viabilidad, criterio financiero y prioridad. Estos criterios se seleccionaron a partir del estudio, análisis y retroalimentación entre los investigadores y habitantes de la comuna tres. Dichos criterios se valoran para cada alternativa de cero a diez y se realiza la obtención del peso de cada variable a través del

método CRITIC de Diakoulaki, Mavrotas y Papayannakis (1995). El valor de la calificación para cada alternativa estará relacionado con el nivel de priorización.

Planteamiento de estrategias

La formulación de estrategias ambientales se llevó a cabo a través del análisis, planteamiento y discusión de medidas de protección ambiental que tengan como propósito contribuir al mejoramiento de la calidad ambiental. El modelo de proceso estratégico enfatizó el carácter emergente e innovador de la estrategia, así como su carácter eminentemente organizativo. Se plantearon estrategias que mejoraran la calidad ambiental, las cuales tuvieran referencias nacionales e internacionales y que logren discutir asertivamente los resultados de dichas estrategias.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Calificación de los indicadores de calidad ambiental urbana

El análisis de la cartografía, la generación de los valores de área de cobertura vegetal, la recopilación de información en campo y demás aplicaciones de las ciencias ambientales dan lugar al cálculo de los indicadores de calidad ambiental urbana, mediante la metodología descrita por el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2016. Se logró compilar la información en la tabla 4, tal como se indica a continuación:

Tabla 4. Resultados ICAU – Comuna 3 del Municipio de Pasto.

Indicador	Calificación con base en el ICAU	Clasificación	Fuente.	
D I R E C T O	Superficie de área verde por habitante	0,5	Medio	Este estudio, 2019. Apoyado con Datos POT, Alcaldía de Pasto (2014)
	Calidad del aire	1	Muy alto	CORPONARIÑO (S.F), IDEAM (2018)
	Calidad del agua superficial	0,5	Medio	CORPONARIÑO (2011) PORH Río Pasto.
	Porcentaje de áreas protegidas	0	Muy bajo	Acuerdo Municipal N° 041 del 29 de noviembre del 2010
	Porcentaje de residuos sólidos aprovechados	0,8	Alto	CORPONARIÑO (2015) Plan de gestión integral de residuos sólidos Pasto 2015 – 2027.
	Porcentaje de población urbana expuesta a ruido por encima del nivel de referencia	0	Muy bajo	Este estudio, 2019. Apoyado con Datos de CORPONARIÑO (2013)
	Porcentaje de población que participa en gestión ambiental urbana	0,3	Bajo	Este estudio.
	Porcentaje de población vinculada a estrategias de educación ambiental en áreas urbanas	0,3	Bajo	Este estudio.
	Porcentaje de población urbana localizada en zonas de amenaza alta	1	Muy alto	Este estudio, 2019. Apoyado con Datos de Servicio geológico colombiano (2015)
I N D I R E C T O	Consumo residencial de agua por habitante	1	Muy alto	Informe Nacional de Calidad Ambiental Urbana - Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. (2016).
	Consumo residencial de energía por habitante	0	Muy bajo	Informe de gestión CEDENAR S.A. E.S.P 2019, CEDENAR (2019), Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. (2016).
	Porcentaje de residuos sólidos dispuestos adecuadamente	0	Muy bajo	Informe de gestión 2019 EMAS S.A. E.S.P, CEDENAR (2019).
	Porcentaje de suelos de protección urbanos	1	Muy alto	Este estudio, 2019. Apoyado con Datos POT – 2014- 2027 (Alcaldía de Pasto, 2014)
	Espacio público efectivo por habitante	0	Muy bajo	Identificación de áreas óptimas para cubrir el déficit de espacio público en las comunas 3,4 y 5 dela ciudad de San Juan de Pasto (Montenegro y Delgado, 2015)

Fuente: Autores

La investigación logró calcular 9 indicadores directos y 5 indicadores indirectos, tal como lo sugiere el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible en 2016, asumiendo un nivel moderado de confiabilidad, basado en la consecución de la totalidad de los indicadores ambientales urbanos; sin embargo, se evidenciaron complicaciones para el logro de los indicadores, debido a que alguna información no se clasifica a nivel estratégico de comuna. Asimismo, el Informe Nacional de Calidad Ambiental Urbana (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2016), para el nivel de complejidad de urbes con población entre 100.000 y 500.000 habitantes evidencia que los resultados no reportaron el 100% de indicadores propuestos. Lo anterior, debido a la ausencia de fuentes de información, información no confiable o que no fue posible validar, así como la falta de acciones para recoger la información que permita medir temas estratégicos de la gestión ambiental de las áreas urbanas.

Liévano y Giraldo (2017), en su estudio de calidad ambiental en la localidad de Kennedy, Bogotá, lograron identificar 13 de los 16 indicadores que propone el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2016 a través de la lista de chequeo. Se evidenció una

falencia en la consecución de la información ya que no se logra adquirir información del 100% de los indicadores propuestos. Esta investigación logra la consecución de la totalidad de los indicadores. Sin embargo, la calidad del aire y consumo residencial de agua y energía por habitante se calculan con información de la ciudad de San Juan de Pasto, esto debido a la complejidad del logro de la información a nivel comunal.

Escobar (2006) infiere que los indicadores de calidad ambiental están correlacionados especialmente. Sin embargo, los resultados de la calificación de los indicadores ambientales directos e indirectos de la comuna tres son muy variables. De ello se puede señalar que existen problemáticas ambientales en las que se debe hacer énfasis para lograr una calidad ambiental idealizada.

Estimación de la calidad ambiental en la zona de estudio

La obtención de los indicadores de calidad ambiental da lugar a una estimación cuantitativa del índice de calidad ambiental.

Valor final del grupo de indicadores directos, ecuación 14:

$$vFD = (0,5 + 1 + 0,5 + 0 + 0,8 + 0,3 + 0,3 + 1) * \frac{70}{8} [14]$$

$$vFD = 38,5$$

Valor final del grupo de indicadores indirectos, ecuación 15:

$$vFI = (1 + 0 + 0 + 1 + 0) * \frac{30}{5} [15]$$

$$vFI = 12$$

La estimación de la calidad ambiental urbana

de la comuna tres de la ciudad de Pasto contempla la incorporación de indicadores directos e indirectos, los cuales están ponderados como se indicó anteriormente. Para estimar el ICAU se realizó la suma de los valores finales en los indicadores directos e indirectos. A continuación, se presenta la estimación del índice de calidad ambiental en la ecuación 16.

$$ICAU = 38,5 + 12 [16]$$

$$ICAU = 50,5$$

Con base en la metodología planteada por el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible se estimó como de nivel medio la calidad ambiental de la comuna tres de la ciudad de San Juan de Pasto, ya que se encuentra en rango de 40,1 a 60 puntos. El valor obtenido muestra que la calidad ambiental de la comuna tres es un componente importante territorial urbano, prioritario para entidades gubernamentales y que debe ser acogido por habitantes ciudadanos con el fin de impulsar estrategias, actividades, normativas y políticas que conlleven a mejorar la calidad ambiental. Confirmando la hipótesis de investigación "Existe la necesidad de formular estrategias que permitan mejorar la calidad ambiental de la comuna tres de San Juan de Pasto, debido a que esta cuenta con indicadores bajos y medios de calidad ambiental".

El Informe Nacional de Calidad Ambiental Urbana del 2016 generado por el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible en 2016 expresa que la ciudad de San Juan de Pasto tiene la mejor calidad ambiental del país en poblaciones entre los 100.000 y 500.000 habitantes, con una calificación de 51,4, ubicándose 0,9 puntos por encima del índice de calidad ambiental de la comuna tres (50,5) determinado en este estudio. Del mismo modo, la comuna tres supera la calificación del ICAU respecto a áreas urbanas con población similar en ciudades como Popayán (15,5), Armenia (39,7), entre otros (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2016). Según Escobar (2006), la distribución espacial de la calidad ambiental por comunas muestra una relación

indirecta con la centralidad de la ciudad, siendo las áreas periurbanas las que poseen mejor calidad ambiental, lo anterior se confirma en esta investigación, identificando resultados de calidad media, teniendo en cuenta que la comuna tres de la ciudad de Pasto se encuentra ubicada en zona periférica.

Para elaborar el ICAU, el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2016 consideró sistemas existentes de indicadores ambientales e iniciativas internacionales y locales. Entre los antecedentes más importantes está el Índice de Calidad Ambiental Urbana - ICA, desarrollado para el municipio de Cali por la Universidad del Valle, el cual tiene como ventaja una mayor resolución espacial, puesto que llega al nivel de comuna, localidad o barrio. Tal aspecto da claridad de lo conveniente y adecuado de la implementación del ICAU para la comuna 3 de San Juan de Pasto.

Alternativas que contribuyen a mejorar la calidad ambiental urbana y previenen impactos ambientales negativos.

Con el propósito de mejorar la calidad ambiental del área de estudio, esta investigación propone estrategias en función del área verde por habitante y calidad de vida del habitante, elementos importantes en el estudio, para reducir los impactos de los indicadores con calificaciones bajas y medias, para con ello contribuir al mejoramiento de la calidad de vida de las personas. Según Escobar (2006) en el proceso de formulación de estrategias para mejorar la calidad ambiental, se debe priorizar la formulación de estrategias ambientales que impacten de forma diferencial las distintas zonas de la ciudad. A continuación, en la tabla N° 5, se muestran las estrategias relacionadas con los indicadores de baja y media calificación.

Tabla 5. Estrategias para mejorar los indicadores con baja calificación

Indicadores con baja calificación	Estrategias
Superficie de área verde por habitante.	Sistema de terrazas verdes modulares
Calidad del agua superficial	Parque lineal Río Pasto
Porcentaje de áreas protegidas	Parque ecológico
Porcentaje de población urbana expuesta a ruido por encima del nivel de referencia	Movilidad sostenible: Sistema público de Bicicletas.
Porcentaje de población que participa en gestión ambiental urbana y porcentaje de población vinculada a estrategias de educación ambiental en áreas urbanas	Adecuación, ornamentación y preservación de áreas verdes comunitarias.
Consumo residencial de energía por habitante	Campañas de concienciación referentes al gasto energético y uso de energías renovables
Espacio público efectivo por habitante	Regeneración urbana - Demoliendo autopistas y construyendo parques.

Fuente: Autores

Con el fin de formular la estrategia más idónea para el mejoramiento de los indicadores de calidad ambiental de la comuna tres, se realizó una priorización de las alternativas a

través de una matriz de priorización con metodología de suma ponderada, tal como se indica a continuación en la Tabla 6.

Tabla 6. Matriz de priorización.

Estrategias	Impacto ambiental		Alcance		Viabilidad		Criterio financiero		Prioridad	
	Peso	Valor	Peso	Valor	Peso	Valor	Peso	Valor	Puntos	Prioridad
Terrazas verdes modulares	44%	7	21%	7	19%	7	17%	7	7	1
Movilidad sostenible: Sistema público de bicicletas	44%	7	21%	5	19%	6	17%	7	6,4	2
Campañas de concienciación referentes al gasto energético y uso de energías renovables	44%	5	21%	6	19%	8	17%	7	6,1	3
Adecuación, ornamentación y preservación de áreas verdes con la comunidad	44%	5	21%	7	19%	7	17%	5	5,8	4
Parque lineal Río Pasto	44%	5	21%	3	19%	9	17%	6	5,5	5
Parque ecológico	44%	6	21%	5	19%	5	17%	4	5,2	6
Regeneración urbana /Demoliendo autopistas y construyendo parques.	44%	7	21%	4	19%	1	17%	1	4,2	7

Fuente: Autores.

Dentro de las estrategias propuestas por esta investigación, se identificaron alternativas que están inmersas dentro del POT Pasto 2014-2027 (Alcaldía de Pasto, 2014), no obstante, estas no fueron seleccionadas en la priorización de las estrategias, de modo que no se tuvieron en cuenta para formular estrategias que mejoren la calificación de los indicadores de calidad ambiental.

Vidal et al. 2012 indican que la priorización es una acción indispensable, debido a que establece la importancia y aumenta las tasas de éxito. La matriz de priorización por suma ponderada indica que las estrategias que se deben formular son: sistema de terrazas verdes

modulares y movilidad sostenible (Sistema público de Bicicletas).

Las estrategias priorizadas en esta investigación son afines al Plan de acción de 2038 de Pasto (Ministerio de Hacienda y Crédito Público. 2015), el cual aportó valiosos insumos para la formulación el POT Pasto 2014 – 2027. Dentro del plan de acción se identifican temas urgentes por desarrollar como la mitigación al cambio climático y el transporte y movilidad, temas que se abordan desde las estrategias que esta investigación formula. Así como como la sinergia de las mismas estrategias con uno de los retos propuesto por el plan de acción, el cual está encaminado al control del ruido.

Estrategias de Sistemas de Techos verdes Modulares

Asegura Osmundson en 2009, que los techos verdes o cubiertas vegetales son cualquier espacio abierto plantado, dispuesto para proveer disfrute humano o una mejora ambiental, que se encuentra separado del suelo por un edificio u otra estructura y que puede estar a la misma altura o por encima del nivel del suelo.

Entre las ventajas que tienen este tipo de techos se incluyen las siguientes: sirven como amortiguadores de sonido, conforman un aislante térmico que aísla la terraza o balcón del calor e impiden que se genere el conocido "efecto de isla térmica"; capturan y retardan el escurrimiento de aguas de lluvia; traen nuevamente vegetación a zonas urbanas; y prolongan la vida de materiales de techo y paredes (BINAS, 2014). Estos hechos posibilitan la mejora de los indicadores de calidad ambiental, como la superficie de área verde por habitante en San Juan de Pasto, específicamente en la comuna tres.

Esta estrategia está ligada a los temas urgentes por tratar en Municipio, tal como lo identifica el Plan de acción 2038 de Pasto (Ministerio de Hacienda y Crédito Público. 2015), dentro de la sección "Mitigación al Cambio Climático". Asimismo, la estrategia enlaza la protección al medio ambiente y la cultura nariñense, esto en el aspecto de la inclusión de especies nativas, especies ornamentales y, especialmente, especies que formen parte de la gastronomía nariñense, especies como el *Chamaemelum nobile*, *Helleborus niger*, *Coriandrum sativum*, *Solanum betaceum*, *Allium fistulosum*, entre otros.

Para el sistema de techos verdes en la comuna tres, se propone el sistema de bandeja modular, el cual cuenta con una elaboración simple y facilidad de instalación. Cada módulo estándar

contiene una jerarquía completa de sistemas de techos verdes que incluyen: drenaje, retención de lluvia, filtración, medios de cultivo y plantas. El módulo está montado directamente en el sistema de impermeabilización del techo, proporcionando protección contra las fluctuaciones UV y térmicas (Guerrero y Gámez, 2014). Estas características viabilizan la estrategia en el área de estudio.

Gracias a su capacidad de retención, los techos verdes pueden causar cambios en la respuesta hidrológica, tales como la reducción del escurrimiento superficial por retención de parte del agua de lluvia (Rosatto, Moyano, Cazorla, Laureda, Meyer, Gamboa, Bargiela, Caso, Villalba, Barrera, Pruzzo, Rodríguez, Oliveri y Waslavky. 2015), hecho que afirman Villalba, Ariel, Rosatto, Bienvenido, Flores-Parra, Botta, Laureda y Perez en 2017, debido a que los resultados de su estudio confirman que el *Carpobrotus acinaciformis* puede realizar un aporte a la disminución de los escurrimientos urbanos, como vegetación por utilizar en cubiertas naturales para ciudades.

Gómez, Galarza-Molina, y Torres en 2017 mencionan que, la selección de la planta no es únicamente interesante desde el punto de vista paisajístico, sino que puede ser clave desde una perspectiva ingenieril como factor de formulación, puesto que la atenuación de volúmenes y caudales pico en la escorrentía puede contribuir a mitigar amenazas de inundación o racionalizar la infraestructura de drenaje urbano en ciudades de clima tropical andino. Lo anterior afirma la eficiencia del sistema en la reducción del escurrimiento superficial.

A su vez Schiappacasse, Rodríguez, Nektarios, Gaete, y Maturana, en 2017 afirman que los sistemas de techo verde modulares tienen un desarrollo próspero y afianza la eficiencia en la mejora paisajística, por su parte

Villanueva-Solis, Ranfla, y Quintanilla-Montoya en 2013 indican que los techos verdes ofrecen una eficacia en la reducción de la temperatura que puede llegar a ser hasta de 5,08 °C en eventos de islas de calor.

Movilidad sostenible – sistema público de bicicletas.

Según el Plan Maestro Metropolitano de la Bicicleta del Valle de Aburrá (Área Metropolitana del Valle de Aburrá, 2015) la movilidad sostenible implica adoptar un conjunto de políticas, medios físicos, normativos y operacionales que promuevan métodos de transporte con el menor costo ambiental, económico y social, asegurando que, a través de ellos, se logre una mejora en la calidad de vida de los habitantes presentes y futuros del territorio metropolitano. El Área Metropolitana del Valle de Aburrá en 2015 en su plan maestro metropolitano de la bicicleta, menciona que la aplicación de esta estrategia genera múltiples beneficios, entre ellos la reducción de la contaminación ambiental y sonora.

Con el fin de disminuir la presión sonora producida por los sistemas de movilidad en la comuna tres de la ciudad de San Juan de Pasto, se plantea una movilidad que incorpore la bicicleta en los sistemas de movilidad, fomentando su uso por medio de medidas de regulación de tránsito, construcción y/o adecuación de infraestructura, y creación de servicios y equipamientos complementarios que faciliten su uso en condiciones favorables, cómodas y atractivas.

El fomento del uso de la bicicleta es una de las políticas más empleadas para contrarrestar los efectos negativos del uso de automóviles en los grandes centros urbanos. Tema urgente por tratar según en el plan de acción 2038 de Pasto (Ministerio de Hacienda y Crédito Público. 2015) en la sección transporte y movilidad sostenible.

En este contexto, en los últimos 10 años, los sistemas de bicicletas compartidas se han popularizado en múltiples ciudades del mundo (Shaheen y Lipman, 2007). Para Romo y Gómez (2013) las fuentes de ruido pueden dividirse entre aquellas que, por sus altos niveles, pueden dañar el órgano auditivo y otras que, con niveles más bajos, pueden molestar y/o afectar la salud psicosomática del individuo. Esta estrategia busca reducir los niveles de ruido emitido por el parque automotor y, sobre todo, mitigar las afectaciones en la salud producidas por el ruido, integrando los beneficios a la salud que causa la incursión a una vida deportivamente activa, aligerando la carga automovilística en la red vial y mejorando la fluidez del tráfico.

Bicicleta club de Catalunya (2009), en su Estudio Sobre el Impacto de la Implantación de Sistemas de Bicicletas Públicas en España, concluye que el análisis de los datos obtenidos demostró una serie de tendencias que se dan en los sistemas de bicicletas públicas españoles. Por ejemplo, se constata que existen muchos tipos de sistemas y que la evolución de los que se perciben como exitosos suele ser hacia la automatización. También se ha notado que no solamente las ciudades medianas y grandes implantan con éxito estos sistemas, sino que también las pequeñas pueden implantar sistemas adaptados a sus medidas que les puedan dar buenos resultados.

4. CONCLUSIONES

La comuna tres de San Juan de Pasto tiene una calidad ambiental media. Evidenciando una calidad media en los indicadores de agua superficial, áreas verdes por habitante, porcentaje de población expuesta a ruido por encima del nivel de referencia, población que participa en gestión y educación ambiental, consumo residencial de energía y espacio público efectivo por habitante; y presentando buena calidad

ambiental, con calificación alta en la calidad de aire, disposición adecuada de residuos sólidos, población urbana localizada en zonas de alta amenaza, consumo residencial de agua y porcentaje de suelos de protección urbanos.

Se formularon y priorizaron estrategias enfocadas a ampliar la superficie de área verde por habitante y reducir el porcentaje de población urbana expuesta a ruido por encima del nivel de referencia; y a mejorar la calidad ambiental y la prevención ante impactos ambientales negativos de la comuna tres de la ciudad de San Juan de Pasto, esto a razón de la multiplicidad de los beneficios brindados por las estrategias.

La metodología del ICAU tiene una viabilidad moderada en la aplicación a nivel estratégico de comuna, ya que reconoce una o varias posibilidades para la identificación de los indicadores de calidad ambiental; sin embargo, se evidenciaron problemáticas en la consecución de información en este estudio y en otras regiones del país. Por lo que se ve condicionado el análisis de la información, debido la heterogeneidad de la misma. Aun cuando la calidad ambiental está determinada por una cantidad amplia de indicadores, el uso de los Sistemas de Información Geográfica favorece y enriquece el estudio del ICAU en diferentes dimensiones espaciales.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

Primer autor: investigación, análisis de datos, escritura – borrador original. **Segundo autor:** investigación, conceptualización, escritura – revisión y edición. **Tercer autor:** revisión y edición.

AGRADECIMIENTOS

A la comunidad académica e investigativa de la Universidad de Nariño, programa de Ingeniería Ambiental, Facultad de Ciencias Agrícolas, que

contribuyen en la formación de profesionales idóneos en el campo de la ciencia, tecnología e investigación.

LITERATURA CITADA

- Alcaldía de Pasto (2014). Plan de ordenamiento territorial de Pasto 2014 – 2027: documento técnico soporte. Recuperado de: https://www.pasto.gov.co/index.php/component/phocadownload/category/315-planeacion-2015?download=6756:cartilla_pot_2014_2027_v1
- Alcaldía de Pasto (2014) Plan de ordenamiento territorial de Pasto 2014 – 2027. Cuaderno Diagnóstico Sociocultural. Recuperado de: https://www.pasto.gov.co/index.php/component/phocadownload/category/397-cuadernos-diagnosticos-pot-2015-2027?download=7984:cuaderno_dimension_sociocultural_v4
- Alcaldía de Pasto (2015). Actualización plan de gestión integral de residuos sólidos. PGIRS 2015-2027. Recuperado de: https://www.pasto.gov.co/index.php/transparencia/planes-ambientales?download=14838:actualizacion_plan_de_gestion_integral_de_residuos_solidos_pgirs_2015_2027_v3
- Área Metropolitana del Valle de Aburrá. (2015). Plan Maestro Metropolitano de la Bicicleta del Valle de Aburrá. Recuperado de <https://encicla.metropol.gov.co/Documents/5PMB2030.pdf>
- Aznar, J & Guijarro, F. (2012). *Nuevos métodos de valoración: modelos multicriterio*. 2ª ed, Valencia: Universidad Politécnica.
- Banco de ideas de negocios ambientales sostenibles (BINAS). (2014). Diseño y construcción de Green Roofs (Techos verdes). Recuperado de: https://www.tenerife.es/portalcabtfe/images/PDF/temas/medio_ambiente/TechosVerdesJun15.pdf
- Bicicleta Club de Catalunya. (2009). Estudio sobre el impacto de la implantación de sistemas de bicicletas públicas en España. de https://bicicletapublica.files.wordpress.com/2015/08/bacc_2009_estudio-sobre-el-impacto-de-la-implantacion-de-sistemas-de-bicicletas-publicas-en-espac3b1a.pdf
- Bocquier, P. (2005). World Urbanization Prospects: an alternative to the UN model of projection compatible with the mobility transition theory. *Demographic Research*, 12(9), 197-236.

- Centrales Eléctricas de Nariño S.A. E.S.P. (2019). Informe de Gestión 2019. Recuperado de: <https://www.cedenar.com.co/webcedenar/informe-de-gestion/>
- Charry, M. C., & Gallego Trujillo, M. A. (2018). *Análisis de los obstáculos a los cuatro tipos de innovación tecnológica: caso de las empresas industriales en Colombia* (tesis de pregrado). Universidad de La Sabana, Chía, Colombia.
- Corporación autónoma regional de Nariño CORPONARIÑO. (2011). Plan de ordenamiento del cauce principal del Río Pasto. Recuperado de: <http://www.corponarino.gov.co/expedientes/descontaminacion/porhriopasto.pdf>
- Corporación autónoma regional de Nariño CORPONARIÑO. (2015). Informe de gestión institucional - Vigencia 2014. Recuperado de: <https://docplayer.es/13490011-Informe-de-gestion-institucional.html>
- Corporación autónoma regional de Nariño CORPONARIÑO. (2016). Plan de Gestión Ambiental Regional del departamento de Nariño 2016 – 2036. Recuperado de: <https://corponarino.gov.co/wp-content/uploads/2016/11/PGAR-2016-2036-VF.pdf>
- Corporación autónoma regional de Nariño CORPONARIÑO. (2013). Sistema vigilancia calidad aire. Recuperado de: <http://corponarino.gov.co/tramites-y-servicios/tramites-ambientales/recurso-aire/sistema-vigilancia-calidad-aire/>
- Diakoulaki, D., Mavrotas, G., y Papayannakis, L. (1995) Determining objective weights in multiple criteria problems: The critic Method. *Computers Operational Research*, 22(7), 763-770.
- Empresa Metropolitana de Aseo de Pasto S.A. E.S.P (2018) Informe de gestión 2018. Recuperado de: <http://www.emaspasto.com.co/wp-content/uploads/2019/09/INFORME-DE-GESTI%C3%92N-2018.pdf>
- Escobar, L. (2006). Indicadores sintéticos de calidad ambiental: un modelo general para grandes zonas urbanas. *EURE* (Santiago), 32(96), 73-98.
- Figuroa, J, & Ordóñez, W. (2014). *Caracterización de la evolución urbana en los barrios de la comuna cinco de la ciudad de San Juan De Pasto periodo 1970-2000* (tesis de pregrado). Universidad de Nariño, San Juan de Pasto, Colombia.
- Franco R., J. (2012). Contaminación atmosférica en centros urbanos. Desafío para lograr su sostenibilidad: caso de estudio Bogotá. *Revista Escuela De Administración De Negocios*, (72), 193-204
- Gómez, A., Galarza-Molina, S., y Torres, A. (2018). Propuesta de mejoramiento tecnológico de techos verdes para el clima tropical andino. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina* 28(1), 73-99.
- Guerrero, G., & Gámez, P. (2014). *Evaluación y pre-diseño de cubiertas verdes para la reutilización de aguas lluvias en la universidad militar nueva granada: una perspectiva desde universidad saludable* (Tesis de pregrado). Universidad Militar Nueva Granda, Bogotá, Colombia.
- Instituto de Estudios Urbanos – Universidad Nacional de Colombia. (2017). Debates gobierno urbano. Recuperado de: <https://www.institutodeestudiosurbanos.info/observatorio-de-gobierno-urbano/publicaciones-de-debates-urbanos/1539-debates-de-gobierno-urbano-18/file>
- Instituto de hidrología, meteorología y estudios ambientales IDEAM (2018). Sistemas de vigilancia de calidad del aire. Bogotá, Colombia: *Visor geográfico* Recuperado de: <http://sisaire.ideam.gov.co/ideam-sisaire-web/>
- Instituto geográfico Agustín Codazzi IGAC (2015). Tan solo el 0,3 por ciento de todo el territorio colombiano corresponde a áreas urbanas. Bogotá: *Instituto geográfico Agustín Codazzi*. Recuperado de: <https://igac.gov.co/es/noticias/tan-solo-el-03-por-ciento-de-todo-el-territorio-colombiano-corresponde-areas-urbanas-igac>
- Liévano, J & Giraldo, M. (2017) *Implementación de la calidad ambiental urbana (ICAU) en la localidad de Kennedy, Bogotá* (monografía de especialización). Universidad Piloto de Colombia, Bogotá, Colombia.
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. (2016). Informe nacional de calidad ambiental urbana - Política de Gestión Ambiental Urbana. Recuperado de: http://observatorio.epacartagena.gov.co/wp-content/uploads/2016/11/DOCUMENTO_BASE_ICAU_Actualizacio%C2%A6%C3%BCn_2016_.pdf
- Ministerio de Hacienda y Crédito Público. (2015). Plan de Acción 2038 Pasto, recorrer el buen camino 500 años de tradición. Recuperado de: <https://webimages.iadb.org/PDF/Plan+de+Acci%C3%B3n+Pasto+2038.pdf>

- Montenegro, J & Delgado, D. (2015). *Identificación de áreas óptimas para cubrir el déficit de espacio público en las comunas 3,4 y 5 de la ciudad de San Juan de Pasto* (tesis de pregrado). Universidad de Nariño, San Juan de Pasto, Colombia.
- Mundial-DNP. (2014). Política Nacional para Consolidar el Sistema de Ciudades en Colombia: Conpes 3819. Recuperado de: <https://colaboracion.dnp.gov.co/CDT/Conpes/Econ%C3%B3micos/3819.pdf>
- Osmundson, T., (1999) Roof Garde History, Desing and Construcción, New York, United States: Norton & Company Inc.
- Pinto, D. (2013). *Diseño de un modelo de optimización lineal de logística humanitaria para la ubicación de centros de atención y clasificación de heridos en caso de una erupción volcánica en la ciudad de Pasto* (tesis de pregrado). Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.
- Rojas, A. (2011). Calidad de vida, calidad ambiental y sustentabilidad como conceptos urbanos complementarios. *Revista Venezolana de Sociología y Antropología*, 21(61), 183-189.
- Romo, J., y Gómez, A. (2013). La percepción social del ruido como contaminante. En M. Aguilar, E. Delgado, V. Vázquez y O. Reyes (Ed.), *Ordenamiento territorial y participación social: problemas y posibilidades* (pp.271-293). México: Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático.
- Rosatto, H., Moyano, G., Cazorla, L., Laureda, D., Meyer, M., Gamboa, P., Bargiela, M., Caso, C., Villalba, G., Barrera, D., Pruzzo, L., Rodriguez Plaza, L., Oliveri, A., y Waslavky, A. (2013). Eficiencia de la retención del agua lluvia de cubiertas vegetadas de tipo "extensivo" e "intensivo". *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo*, 45(1), 169-183.
- Schiappacasse, F., Rodríguez, E., Nektarios, P., Gaete, K., y Maturana, L. (2017). Growth of the Chilean plants *Haplopappus macrocephalus* and *Selliera radicans* on an extensive modular green roof system under three irrigation regimes. *Ideasia* (Arica), 35(3), 31-39.
- Servicio Geológico Colombiano (2015). Portal de servicio geológico Colombiano. *Mapa de amenazas*. <https://www2.sgc.gov.co/sgc/volcanes/VolcanGaleras/Paginas/Mapa-de-amenaza.aspx>
- Shaheen, S. & Lipman, T. (2007). Reducing greenhouse emissions and fuel consumption: sustainable approaches for surface transportation. *IATSS Research*, 31(1), 6 - 20.
- SurveyMonkey (S.f.). Tamaño de muestra: *calculadora del tamaño de muestra*. <https://es.surveymonkey.com/mp/sample-size-calculator/>
- Vidal, C. (Ed.). (2012). Guía metodológica para la priorización de proyectos: Un enfoque aplicado a la infraestructura, la logística y la conectividad. Cali, Colombia: Editorial Javeriano.
- Villalba, G., Ariel, Rosatto, Rosato, H., Bienvenido, F., Flores-Parra, I., Botta, G., Laureda, D., y Perez, D. (2017). Techos verdes: Contribución de *Carpobrotus Acinaciformis* al manejo integrado de escurrimientos superficiales urbanos. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo*, 49(2), 169-181.
- Villanueva-Solis, J., Ranfla, A., y Quintanilla-Montoya, A. (2013). Isla de calor urbana: modelación dinámica y evaluación de medidas de mitigación en ciudades de clima árido extremo. *Información tecnológica*, 24(1), 15-24.

Conflicto de Intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses

**Licencia de Creative Commons**

Revista de Investigación Agraria y Ambiental is licensed under a Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional License.

ESTUDIO DEL MANEJO, CLASIFICACIÓN Y RECOLECCIÓN DE FITOSANITARIOS EN EL CULTIVO DE FRÍJOL (*Phaseolus vulgaris*) EN SIBUNDOY PUTUMAYO (COLOMBIA)

MANAGEMENT, CLASSIFICATION AND COLLECTION STUDY OF PHYTOSANITAIRES IN THE BEANS CROP (*Phaseolus vulgaris*) IN SIBUNDOY PUTUMAYO (COLOMBIA)

¹Adriana del Socorro Guerra Acosta, ²Anderson Alexander Mena Pantoja, ³Melaly Estefany Burbano Montenegro, ⁴María Fernanda Burbano Montenegro, ⁵Lizeth María Pardo Potosí

¹Ingeniera Agrónoma, Especialista en Gerencia Ambiental, Magister en Ciencias Agrarias, Instituto Tecnológico del Putumayo docente Titular tiempo completo, Sibundoy Putumayo, Colombia.

²Tecnólogo en Saneamiento Ambiental, Instituto Tecnológico del Putumayo, San Francisco Putumayo, Colombia.

^{3,4,5}Tecnóloga en Saneamiento Ambiental, Instituto Tecnológico del Putumayo, Sibundoy Putumayo, Colombia.

¹aguerra@itp.edu.co ²aamenal7s@itp.edu.co ³meburbano17s@itp.edu.co

⁴mfburbano17s@itp.edu.co ⁵lmpardo17s@itp.edu.co

RESUMEN

Contextualización: El control de plagas, enfermedades, malezas en la producción de fríjol, uno de los cultivos más representativos a nivel económico en el municipio de Sibundoy, se caracteriza por el uso de agroquímicos. La problemática que estos generan se debe abordar desde su origen, manejo y disposición final de residuos post-consumo.

Vacío de investigación: El manejo de productos y residuos fitosanitarios en la producción agrícola ha generado problemas ambientales y a la salud humana a través del tiempo. El uso, almacenamiento, tipo de productos,

disposición final de residuos y seguridad en la aplicación, realizados por los productores agrícolas es un tema poco evaluado en la región. Es por ello conveniente que se estudie la situación actual de esta problemática, que permite tomar decisiones y medidas apropiadas de manejo de este tipo de productos en los sistemas agrícolas.

Propósito del estudio: El objetivo de la investigación fue estudiar el manejo, clasificación y recolección de fitosanitarios en el cultivo de fríjol (*Phaseolus vulgaris*) en Sibundoy Putumayo Colombia.

DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3654>

Metodología: Fue descriptiva, basada en la recolección de información primaria y secundaria, que permitió caracterizar diferentes aspectos, de manera cualitativa y cuantitativa. El análisis se realizó en dos fases. La primera fue la observación directa y aplicación de encuestas en campo, identificación de la manipulación, disposición final de residuos y percepción del riesgo. La fase dos, incluyó la recolección y clasificación de los recipientes de agroquímicos empleados por los agricultores durante 6 meses, la clasificación de los recipientes se realizó de acuerdo a los siguientes parámetros: nombre comercial, componente activo y categoría toxicológica. Además, se llevó a cabo el pesaje de los residuos generados en esta actividad agrícola. La información recolectada fue insumo importante para la realización de un análisis de correspondencia múltiple. La investigación diagnosticó el manejo que los agricultores le dan a los agrotóxicos durante el ciclo productivo de cultivo que son 6 meses, donde se identificó el uso inadecuado desde su recepción, manejo y disposición final.

Resultados y conclusiones: Se recolectaron 554 recipientes en total, 35% corresponden a insecticidas, 25% fungicidas, 20% herbicidas y 18% sin identificación. El total de agricultores a quienes se les realizó la encuesta fueron 51 personas, el 43% de ellos recolectan los envases. En el análisis de conglomerados se obtuvo IV Clúster donde se agrupan los datos de mayor relevancia. Finalmente se concluye que el uso de agroquímicos respecto a su aplicación y disposición final se caracteriza por su inadecuado manejo, en aspectos como la dosificación, almacenamiento, seguridad de los operarios, el cual amenaza el equilibrio de los ecosistemas y la salud de los agricultores.

Palabras clave. Agrotóxico, envase, fitosanitario, sistema agrícola, recolección.

ABSTRACT

Contextualization: The pests, diseases and weeds control in the bean crop production, is one of the most representative crop at the economic level in the Sibundoy municipality, it is characterized by the use of agrochemicals. The problems that these generate must be addressed from its origin, management and final disposal of post-consumer waste.

Knowledge gap: The phytosanitary products and residues management in agricultural production has generated environmental and human health problems over the time. The use, storage, type of products, residues final disposal and safety in the application carried out by agricultural producers, it is a little evaluated subject in the region. Then, it is advisable to study the current situation of this problem, which allows taking decisions and proper handling measures of this type of product in the agricultural systems.

Purpose: The research objective was to study the management, classification and collection of phytosanitary products in the beans cultivation (*Phaseolus vulgaris*) in Sibundoy Putumayo Colombia.

Methodology: It was descriptive, based on the collection of primary and secondary information, which allowed the different aspects characterization, qualitatively and quantitatively. The analysis was carried out in two phases. The first one was direct observation and field surveys application, handling identification, waste final disposal and risk perception. The phase two included the agrochemical containers collection and classification used by farmers for 6 months. The containers classification was carried out according to the following parameters: trade name, active component and toxicological

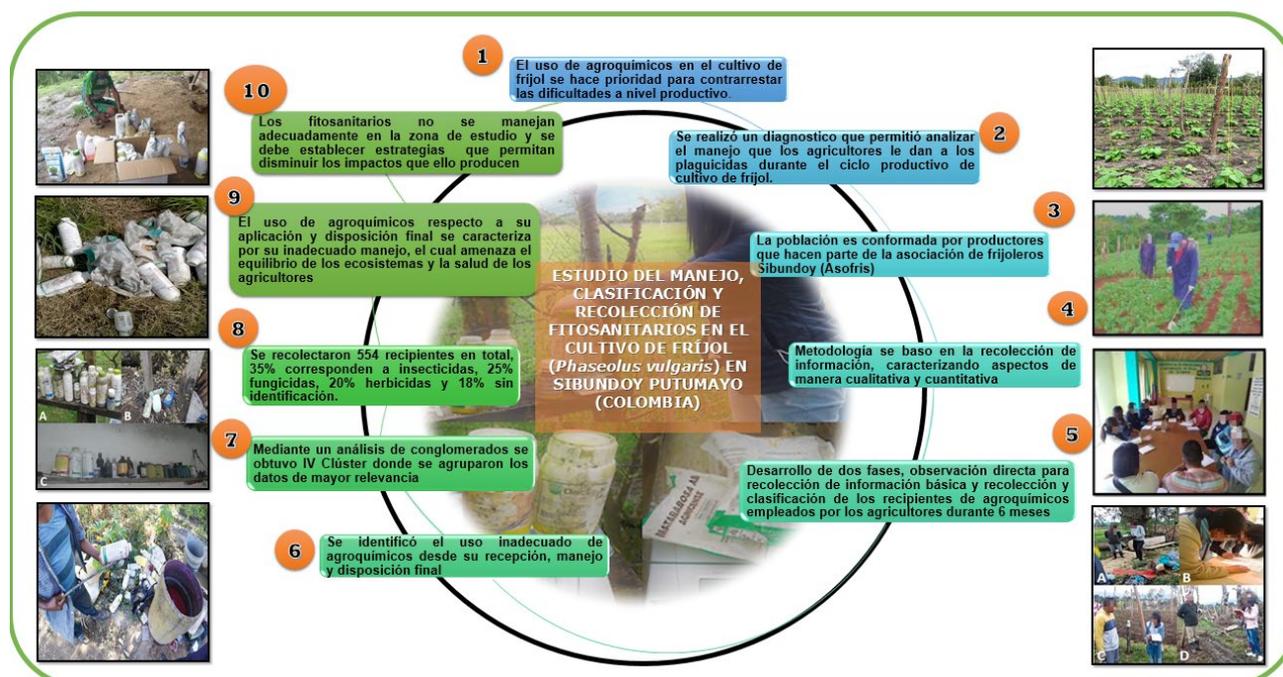
category. In addition, it was carried out the waste weighing generated in this agricultural activity. The information collected was an important input for conducting a multiple correspondence analysis. The investigation diagnosed the handling that farmers give to pesticides during the cultivation productive cycle, which is 6 months, where it was identified the inappropriate use from its reception, handling and final disposal.

Results and conclusions: In total, they were collected 554 containers, 35% correspond to insecticides, 25% fungicides, 20% herbicides and 18% without identification.

The farmers total who were surveyed were 51 people, 43% of them collect the containers. In the conglomerate analysis, it was obtained Cluster IV where are grouped the most relevant data. Finally, it is concluded that the agrochemicals use with respect to their application and final disposal is characterized by their inadequate management, in aspects such as dosage, storage, and operator safety, which threatens the ecosystems balance and the farmers health.

Keywords. Agrototoxic, container, phytosanitary, agricultural system, harvesting.

RESUMEN GRÁFICO



1. INTRODUCCIÓN

Los agroquímicos han contribuido en gran medida al aumento de los rendimientos en la agricultura mediante el control de plagas y enfermedades (Rekha, Naik, y Prasad, 2006). Las plagas pueden llegar a ocasionar hasta un 45% de pérdidas de producción anual de alimentos (Abhilash y Singh, 2008). Con frecuencia, el control químico es el único medio disponible y eficiente para atacar este problema por las altas poblaciones alcanzadas, por los artrópodos y los daños que estos ocasionan.

Estos productos han generado problemas de diversa índole derivados casi siempre de su uso inadecuado. Si en un principio se consideraron como la solución de los problemas fitosanitarios, actualmente la experiencia y el mejor conocimiento de la complejidad de los ecosistemas agrícolas, han demostrado que son un componente más de manejo inadecuado de plagas (Pretty y Waibel, 2005). Debido al incremento en las dosis de agroquímicos y a su manejo inadecuado, se presenta acumulación de residuos en diversos ecosistemas, problemas en la salud humana, daños al medio ambiente, resistencia de los insectos a insecticidas y resurgencia de plagas, incremento de plagas secundarias y disminución de enemigos naturales (Harris, 2000).

Otro problema que se presenta por la mala utilización de fitosanitario es la falta de inocuidad de los productos agrícolas. La exposición a plaguicidas provoca una gama de problemas, cuyos peligros varían de acuerdo con el grado de exposición y manejo de los agroquímicos (Abhilash y Singh, 2008)

La agricultura desempeña un papel crucial en la economía del municipio de Sibundoy. El frijol predomina en la región y es la columna vertebral del sistema económico, destacándose por un manejo convencional en todo el proceso productivo (Levantamiento de suelos, capacidad de uso de las tierras y cobertura terrestre escala 1:25.000).

El objetivo de la investigación fue realizar un estudio del uso de fitosanitarios en el cultivo de frijol del municipio de Sibundoy Putumayo Colombia, durante el periodo del cultivo 6 meses. Esta actividad permitió conocer la disposición de los envases de agroquímicos generados por los agricultores en los sistemas agrícolas evaluados, identificar mecanismos en el proceso de almacenamiento y aplicación de productos agroquímicos, además caracterizar toxicológicamente los productos usados.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

La investigación se realizó en las veredas Villa Fátima, Machindinoy, Tamabioy, El Ejido, Sagrado Corazón de Jesús y Campo Alegre del municipio de Sibundoy departamento del Putumayo (Figura 1), la temperatura media multianual es 16 °C, altitud de la cabecera municipal es de 2100 m, la humedad relativa es del 83% y precipitación promedio anual de 1578 mm (Corpoamazonía, 2010). El número de agrosistemas evaluados fue 51 que correspondió al total de productores encuestados, sin repetir predios por productor, la evaluación se realizó entre los meses de junio a diciembre semestre donde se produce el cultivo en la zona de estudio.

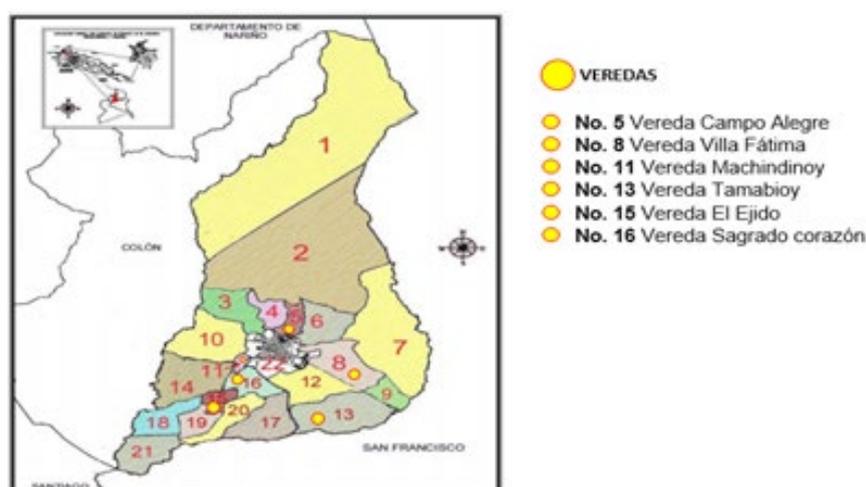


Figura 1. Ubicación del área de estudio en las veredas del municipio de Sibundoy.

Fuente: Plan de Gestión Ambiental Sibundoy Putumayo (2008).

Población

Formada por 59 productores de cultivo de que hacen parte de la asociación de frijoleros de Sibundoy (Asofris).

Muestra

Se tomó una muestra representativa de 51 productores de frijol, mediante la aplicación de la ecuación 1, expuesta por Hidalgo y Argoty citado por (Fernández, 2010).

$$n = \frac{N \times Z_{\alpha}^2 \times p \times q}{d^2 \times (N-1) + Z_{\alpha}^2 \times p \times q} \quad (\text{Ecuacion 1})$$

Donde:

$p \times q = 0,25$ (que corresponde a la probabilidad de acierto y fracaso).

$e = 5\%$ (porcentaje de error estimado) (0.05)

$z = 1,96$ (correspondiente a una confianza del 95%).

$N = 59$ número de agricultores de la población
 $n = 51$ total de productores encuestados y predios evaluados.

Fases metodológicas

Fase 1. Se realizó observación directa a través de visitas a los diferentes agrosistemas,

las cuales permitieron determinar el almacenamiento de los agroquímicos, señalización y equipos usados para la aplicación, de igual manera en esta fase se realizaron encuestas a los agricultores (Figura 2), donde se evaluaron 5 variables:

- **Uso de fitosanitarios:** productos más utilizados, frecuencia, dosis, criterio de aplicación y asistencia técnica.
- **Cultivos sembrados:** área, plagas más frecuentes y alternativas de control.
- **Aspecto socioeconómico del agricultor:** edad, género, tenencia de tierra y hectáreas cultivadas.
- **Condiciones de aplicación segura:** persona responsable de las aplicaciones, lugar de la mezcla, equipo de protección, lectura de etiquetas, conocimiento del nivel de toxicidad, manejo de envases vacíos y sobrantes de productos y mantenimiento de equipo de protección.
- **Condiciones ambientales y percepción del riesgo:** Usos de fuentes de agua, cambios existentes en los recursos naturales, conocimiento de síntomas de intoxicación.



Figura 2. Visita a los sistemas de producción y aplicación de encuestas a los agricultores. **A y B.** Aplicación de encuestas a los agricultores **C y D.** Visitas a sistemas agrícolas.

Fuente: autores

Fase 2. Se realizó jornadas de recolección y clasificación de envases y bolsas vacías de agroquímicos utilizados por los agricultores, durante un periodo de seis meses, (Figura 3) teniendo en cuenta el tipo, nombre comercial,

ingrediente activo, tipo de formulación y categoría toxicológica, también se llevó a cabo el pesaje de estos el cual permitió conocer la cantidad en kilogramos de residuos que se generan (Figura 4).



Figura 3. Recolección y clasificación de envases y papeletas vacías. **A.** Identificación de agroquímicos y papeletas **B.** Recolección de agroquímicos **C.** Clasificación de agroquímicos.

Fuente: autores



Figura 4. Pesaje de residuos de agroquímicos en los sistemas agrícolas. **A y B.** Pesaje de envases de agroquímicos y papeletas vacías
C. Pesaje de papeletas vacías.

Fuente: autores

Análisis estadístico

La información obtenida en las encuestas fue sometida a un análisis multivariado de correspondencia múltiple *Systeme Portable pour l'Analyse de Données* (software usado fue SPAD V 5.0), el cual permite implementar una estrategia de análisis adecuada al tratamiento exploratorio multivariante de grandes tablas de datos. El análisis de correspondencia es un modelo aleatorio, ya que el investigador no tiene control experimental sobre los individuos. El trabajo es eminentemente de tipo descriptivo y el análisis estadístico que se realiza para casos como éste, es un análisis multivariado y que por tratarse de variables categóricas (no cuantitativas), se utilizó una técnica multivariada factorial, el ACM (análisis de correspondencias múltiples), que permite

analizar las relaciones entre las categorías de variables cualitativas a partir de una muestra de n individuos, es una técnica estadística multivariante que busca agrupar elementos (o variables) tratando de lograr la máxima homogeneidad en cada grupo y la mayor diferencia entre los grupos. Uno de los objetivos de la investigación, se basó en la aplicación de encuestas realizadas a diferentes agricultores en veredas del municipio de Sibundoy y por tanto su análisis corresponde a un modelo aleatorio, ya que el investigador no tiene control experimental sobre los individuos.

Se realizó un análisis de conglomerados que permitió establecer los principales factores y el porcentaje de participación que tienen cada una de las variables evaluadas, facilitando realizar las correlaciones más pertinentes dentro de las preguntas planteadas en la encuesta.

Para visualizar mejor los resultados del análisis de conglomerados, con relación a las preguntas planteadas en la encuesta, se elaboró un dendograma. Esta es una herramienta visual que puede ayudar a determinar el número de grupos que podrían representar mejor la estructura de los datos teniendo en cuenta la forma en que se van anidando los clusters y la medida de similitud a la cual lo hacen.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Pesaje de residuos

De acuerdo con los datos obtenidos (Tabla 1) en la recolección y clasificación de los residuos de agroquímicos usados en el cultivo de fríjol, se recolectaron los siguientes.

Tabla 1. Productos identificados en la recolección y clasificación de residuos de agroquímicos

PRODUCTO	TOTAL ENVASES	% USOS EN LA ZONA	PESO kg	% PESO
Insecticidas	196	35,38 %	27,2	35%
Fungicidas	140	25,27 %	19,7	25%
Herbicidas	115	20,76 %	16,3	21%
Sin etiqueta	103	18,59 %	14,5	19%
TOTAL	554	100 %	77,7	100%

Fuente: Autores

Caracterización toxicológica

Tabla 2. Ingredientes activos de insecticidas usados con mayor frecuencia en el cultivo de fríjol

INSECTICIDAS				
INGREDIENTE ACTIVO	NOMBRE COMERCIAL	Nº ENVASES	% USO	CATEGORÍA TOXICOLÓGICA
Clorpirifos etil	Lorsban	31	15,81	III Medianamente Tóxico
Cipermetrina	Cipertox	27	13,77	III Medianamente Tóxico
Profenofos	Curacron	24	12,24	III Medianamente Tóxico
Chlorpyrifos	Pyrinex	21	10,71	III Medianamente Tóxico
Imidacloprid	Invicto	18	9,18	III Medianamente Tóxico
Landacialotrina	Cihalotrina	16	8,16	III Medianamente Tóxico
Lufenuron	Match	16	8,16	III Medianamente Tóxico
Abacmetina	Abamec	14	7,14	III Medianamente Tóxico
Fipronil	Bemol	11	5,61	III Medianamente Tóxico
Diflubenzoron	Dimilin	9	4,59	IV Ligeramente Tóxico
Clorpirifos	Agromil	9	4,59	III Medianamente Tóxico

Fuente: Autores, ficha técnica productos.

La totalidad de los agricultores de fríjol utiliza en un 35.38% insecticidas en su paquete de insumos. Los productores aplican 11 ingredientes activos diferentes por ciclo de cultivo según Tabla 2. Los insecticidas de mayor uso por cultivo son clorpirifos etil con 15,81%, seguido por la Cipermetrina con 13,77% y Profenofos con 12,24% del total. De acuerdo con los resultados

obtenidos en la tabla 2 se puede observar que la categoría toxicológica III de color azul moderadamente toxica es la que predomina en el uso los insecticidas con un 95.37%.

En este contexto, las consecuencias ambientales del uso de insecticidas causan gran preocupación. Por lo general tienen un mayor

impacto en el medio ambiente, los insecticidas se encuentran entre las herramientas agrícolas que están más asociadas con el daño ambiental. Su objetivo específico es eliminar plagas de insectos y por consecuencia puede que tenga un impacto letal o subletal

en organismos que no son su objetivo (por ejemplo, recicladores de nutrientes del suelo, polinizadores de plantas y depredadores de plagas) y contaminar los alimentos producidos para los niveles tróficos superiores (Gregor J., Dominique y Ogusuku, 2008).

Tabla 3. Ingredientes activos de fungicidas usados con mayor frecuencia en el cultivo de fríjol

FUNGICIDAS				
INGREDIENTE ACTIVO	NOMBRE COMERCIAL	Nº ENVASES	% USO	CATEGORÍA TOXICOLÓGICA
Propineb	Antracol	28	20	III Medianamente Tóxico
Chlorothalonil	Daconil	25	17,85	IV Ligeramente Tóxico
Difenoconazole	Score	22	15,71	III Medianamente Tóxico
Carbendazim	Carbendazim	18	12,85	IV Ligeramente Tóxico
Mancozeb	Dithane	18	12,85	IV Ligeramente Tóxico
Benomil	Benomyl	16	11,42	III Medianamente Tóxico
Azoxystrobin	Amistar Top	13	9,28	II Altamente Tóxico

Fuente: Autores, ficha técnica productos.

La Tabla 3 incluye la cantidad de fungicidas utilizados con 7 ingredientes activos diferentes, además en cada fumigación realizan mezclas con un rango entre 11 a 26 veces en un ciclo de producción que dura aproximadamente 6 meses, esto depende de las condiciones ambientales, el manejo agronómico y el precio de demanda en el momento cercano a la cosecha.

Los fungicidas son compuestos que se utilizan para **prevenir, mitigar, repeler o controlar alguna enfermedad en los cultivos**. La principal fuente de contaminación al ambiente por el uso de estos es el **residuo**

que resulta de su aplicación. Aunque su aplicación se restringa a zonas determinadas, su **dispersión es universal**. Se han encontrado restos de plaguicidas incluso en locaciones tan remotas como la Antártida. Cuando son liberados **permanecen inalterados** por largo tiempo en el ambiente. Como son sustancias poco solubles en agua, se evaporan pasando al aire o uniéndose a las partículas del suelo, como vapor o polvo. Pueden ser **transportados grandes distancias** y nuevamente ser depositados a través de lluvias sobre la tierra o aguas superficiales alterando la vida de muchos organismos (Anguiano, y otros, 2011).

Tabla 4. Ingredientes activos de herbicidas usados con mayor frecuencia en el cultivo.

HERBICIDAS				
INGREDIENTE ACTIVO	NOMBRE COMERCIAL	Nº ENVASES	% USO	CATEGORÍA TOXICOLÓGICA
Paraquat	Gramoxone	28	24,34	I Extremadamente Tóxico
Metsulfuron Methyl	Metsulfuron	25	21,73	III Medianamente Tóxico
Glifosato	Glifosato	19	16,52	IV Ligeramente Tóxico
Fomesafen	Flex	16	13,91	III Medianamente Tóxico
Diuron	Diurex	11	9,56	III Medianamente Tóxico
Clomazone 48 EC	Clomazone	9	7,82	II Altamente Tóxico
2.4 D	Aminas Agrogen	7	6,08	III Medianamente Tóxico

Fuente: Autores, ficha técnica de productos.

Según la Tabla 4 los herbicidas de mayor uso ponderado por cultivo son principalmente Paraquat con un 24,34% el cual se aplica para desecar las plantas antes de la cosecha; con características de alta toxicidad según la banda de categoría toxicológica. Metsulfuron Methyl con 22% y Glifosato 16,52% con para preparar el terreno antes de la siembra. Este agroquímico afecta principalmente al recurso suelo, alterando especialmente el componente orgánico (Del Puerto, Suárez y Estrada, 2014).

En los resultados obtenidos con respecto al ingrediente activo se encontró que en la zona los agricultores hacen uso de 25 tipos de agroquímicos, de los cuales 11 son de acción insecticida, siete de acción fungicida y herbicida Tablas 2, 3 y 4. Estos agroquímicos se clasificaron entre las categorías toxicológicas definidas en el decreto 1843 en su artículo 14, como I Extremadamente tóxico, II altamente tóxico, III medianamente tóxico y IV ligeramente tóxico.

Con respecto a la categoría toxicológica, la mayoría de agroquímicos utilizados corresponde a categoría III color azul, medianamente tóxico; las categorías II y IV tienen igual relevancia donde la primera es altamente tóxico al cual

se le debe tener mucho cuidado respecto a la aplicación y dosificación que indica un riesgo alto y se encuentran en su mayoría en el grupo de los insecticidas y el segundo ligeramente tóxico siendo el menos peligroso de acuerdo a la banda de colores se identifica con el color verde; cabe mencionar que en el grupo de los herbicidas se encuentra el único agroquímico (Paraquat) color rojo extremadamente tóxico categoría I el cual debe reemplazarse por productos más seguros y que sean compatibles con programas de manejo integrado.

Los agroquímicos se clasifican y etiquetan según su grado de toxicidad en cuatro categorías: I, II, III y IV. A su vez, clasifica las fincas según el uso de estos insumos: de alto riesgo, aquellas que están al menos en I y II y su frecuencia de aplicación es igual o mayor a dos por mes; como fincas de bajo uso de insumos están aquellas donde solamente se aplican agroquímicos de las clases III y IV y que la frecuencia de aplicación no excede una al mes (Cruz, Trejos, Ser y Giraldo, 2011).

Los agroquímicos se dispersan en el ambiente y se convierten en contaminantes para los sistemas biótico (animales y plantas

principalmente) y abiótico (suelo, aire y agua) amenazando su estabilidad. Las condiciones geomorfológicas de los suelos y las condiciones hidrogeológicas y meteorológicas de las zonas definen la ruta que siguen los mismos en el ambiente. La gran variedad de agroquímicos usados es alta y por consiguiente se hace un mal manejo siendo aplicados en dosis inadecuadas, lo que ha generado inestabilidad en los recursos naturales (Guerrero, 1998).

Cuando los agroquímicos ingresan en las cadenas alimentarias se distribuyen a través de ellas se concentran en cada nicho ecológico y se acumulan sucesivamente hasta que alcanzan una concentración letal para algún organismo constituyente de la cadena, o bien hasta que llegan a niveles superiores de la red trófica (Del Puerto, Suárez y Estrada, 2014).

Análisis de resultados de la encuesta

Aspectos socioeconómicos de los agricultores. El 100% de los agricultores pertenece a la asociación de frijoleros Asofris. Con respecto al género de los productores el 96% son hombres y 4% son mujeres, de los cuales el 44% de los agricultores expuestos a plaguicidas son mayores de 40 años, el 26% corresponde a edades entre 30 y 39 años y el 30% se encuentran en edades entre 23 y 29 años. Con relación a tenencia de tierra, el 65% de los productores cultiva en áreas arrendadas, 23% en usufructo y el 12% en áreas propias, el 53% de los productores manejan un área entre 1 y 2 hectáreas y el 47% de los productores manejan un área de 3 ha.

Condiciones de uso de agroquímicos. Las encuestas realizadas determinaron que el 94% de los agricultores, han recibido asistencia técnica por parte de entidades sobre el uso de agroquímicos para su respectiva aplicación. En este sentido al ser un sistema intensivo de producción se recurre de manera constante

a plaguicidas, por lo que el adecuado conocimiento de su uso y manejo es un requisito básico que constituye un elemento fundamental para orientar y estructurar estrategias que contribuyan a optimizar el uso de estos compuestos, sentando las bases para futuros estudios de evaluación de los efectos de estos productos en la salud humana y los ecosistemas (Ortega Martínez, y otros, 2014)

En la zona de estudio se encontró que para el 84 % de los agricultores el tiempo donde dejan de aplicar productos agroquímicos es de 15 días antes de la cosecha, para algunos productos este periodo es el adecuado. Existen factores que presentan efectos más importantes en la estimación de un periodo de carencia y corresponden al tamaño de la planta al momento de aplicación, especie, técnica y zona agroecológica. La formulación del plaguicida, en general, no produce cambios significativos en la estimación del periodo de carencia, con excepción de algunas formulaciones que permiten la liberación controlada del ingrediente activo (Angioni, y otros, 2011)

La disposición final que los agricultores dan a los envases y bolsas vacías es, la recolección de estos residuos (43%) lavado (35 %), los quemar (18 %) los entierran (4%) otros manejos. Algunas de estas acciones están relacionadas con lo que afirma Arellano (2005) en la que sugiere que enterrar los envases de plaguicidas, así como incinerarlos, es una disposición inadecuada que favorece el deterioro ambiental en las zonas agrícolas. La colocación y acumulación de residuos inutiliza las tierras para otros usos; además representa un riesgo para quienes viven cerca de los vertederos y acumulaciones de desechos, la acumulación indiscriminada de residuos puede convertir el agua en no apta para el consumo humano y el desarrollo de la vida acuática; la quema de residuos de agroquímicos ocasiona deterioro

del aire juntamente con los gases tóxicos generados por la quema de residuos (Contreras Santos, 2008).

Condiciones de una aplicación segura de los agroquímicos. El 100% de los agricultores realizan la aplicación de los agroquímicos. El 84% de los productores consideran que es importante hacer uso de los elementos de protección personal, sin embargo únicamente el 16% hace uso de estos debido a que no los usan porque para ellos es incómodo, aclaran que la asociación a la que pertenecen hace dotación completa de los elementos de protección personal (EPP), entre estos están máscara, gafas, overol, guantes y botas; de igual manera capacita para su uso adecuado.

El elemento de protección personal es cualquier equipo o dispositivo destinado para ser utilizado por el trabajador, para protegerlo de los riesgos y aumentar su seguridad o su salud en el trabajo. Los EPP tienen como función principal proteger diferentes partes del cuerpo, para evitar que un trabajador tenga contacto directo con factores de riesgo que le pueden ocasionar una lesión o enfermedad (Flores, 2012).

La falta de conocimiento adecuado hace que no se haga un buen manejo de los agroquímicos, mencionan además que para la aplicación se rigen por los años de experiencia que llevan cultivando, es decir que no hacen una lectura de etiquetas antes de realizar la aplicación, llevando a dosificaciones excesivas e inadecuadas, la mayoría de agricultores desconocen el aspecto toxicológico, por ende no identifican la categoría toxicológica y su respectivo color de manera precisa desconociendo la información que esta puede brindar.

Aseguran que se brinda información pertinente para conocer la lectura de etiquetas, pero que en la mayoría de las veces no las toman en cuenta debido a que prefieren usar los insumos de acuerdo con la conveniencia del cultivo. Rother (2008) citado por (Arévalo, Bacca y Soto, 2013), afirma que es muy importante recordar que las etiquetas de los plaguicidas tienen un papel crucial en la protección de la salud y el medio ambiente.

El 84% de los agricultores guarda el producto sobrante en su empaque original, el sitio de almacenamiento es la casa de habitación, en donde destinan cuartos separados, se encontró que únicamente el 9% de los agricultores dispone los insumos en sus cultivos en una bodega exclusivamente para almacenar productos fitosanitarios.

Durante las visitas en campo se observó que en ocasiones se utilizan los mismos lugares de almacenamiento de agroquímicos para consumo de alimentos, lo que aumenta el riesgo de envenenamiento accidental para cualquiera de los individuos expuestos. Según (Santillán, 2017), menciona que los sitios de almacenamiento de plaguicidas deben estar aislados de viviendas y centros educacionales, hecho que no se cumple con los agricultores de la zona.

Análisis de correspondencia múltiple (ACM)

Con el Análisis de Correspondencia Múltiple (ACM), según la tabla 5, se pudo determinar que de los 26 factores, los once (11) primeros permiten explicar el 73.37% de la variabilidad total, indicando que el primer factor explica el 10.76%, el segundo el 9.23%, el tercero el 8.48%, entre los tres factores se explica el 28.47% de la variabilidad de la encuesta aplicada a los productores encuestados.

Tabla 5. Valores propios de las variables cuantitativas resultantes del ACM

FACTOR	VALOR PROPIO	PORCENTAJE (%)	PORCENTAJE ACUMULADO
1	0.2332	10.76	10.76
2	0.2001	9.23	20.00
3	0.1837	8.48	28.47
4	0.1649	7.61	36.08
5	0.1529	7.06	43.14
6	0.1365	6.30	49.45
7	0.1214	5.60	55.05
8	0.1166	5.38	60.43
9	0.0994	4.59	65.02
10	0.0914	4.22	69.23
11	0.0897	4.14	73.37

Fuente: Autores

Análisis de conglomerados de las encuestas.**Tabla 6.** Análisis de conglomerados

Grupo	Nº de encuestas	Encuestas	Porcentaje
I	11	41, 2, 37, 23, ,36, 29,17, 39,24, 45, 1	22%
II	18	9, 13, 18, 22, 42, 44, 3, 34, 31, 49, 20,7,27, 5, 15, 11, 51, 35,	35%
III	15	12, 16, 8, 21, 32, 38, 19, 48, 33, 4, 26, 43, 28, 40,14	29%
IV	7	50, 6, 47, 25, 10, 30, 46	14%

Fuente: Autores

De acuerdo con la tabla 6, y figura 5 en el grupo I se incluyen 11 encuestas que corresponde al 22%, el grupo II 18 encuestas equivalentes al 35%, el grupo III 15 encuestas con un

29% finalmente en el grupo IV con 7 correspondiente al 14% de la totalidad de sistemas evaluados respectivamente.

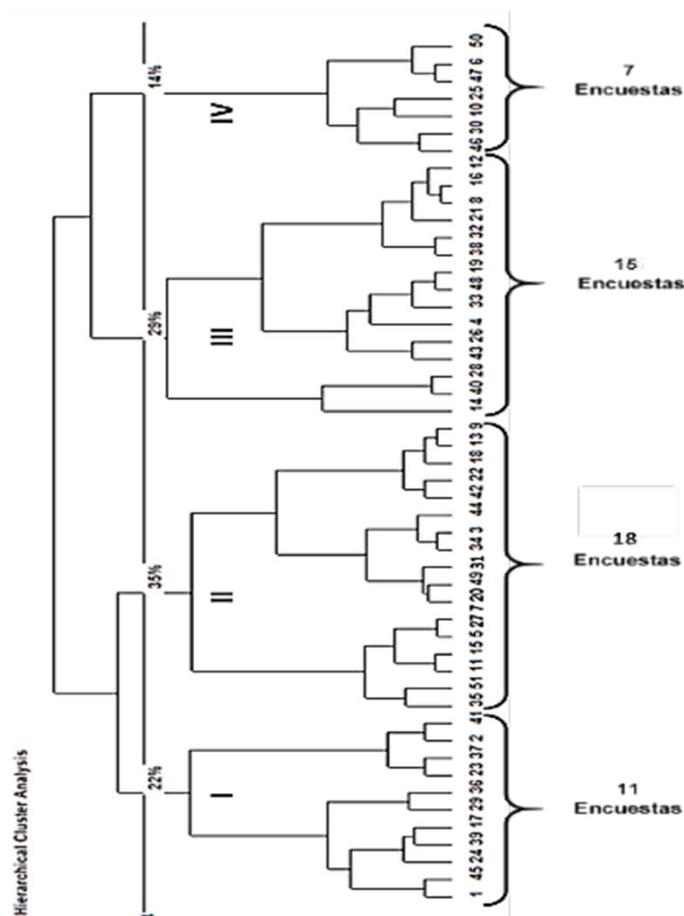


Figura 5. Dendrograma de clúster para encuestas realizadas en campo.

Fuente: Autores

Análisis de clúster (grupo) jerárquico de encuestas

Clúster (Grupo) I/IV

Tabla 7. Caracterización de variables grupo I

Grupo	Nº de encuestas	Encuestas	Porcentaje
I	11	41, 2, 37, 23, ,36, 29,17, 39,24, 45, 1	22%

Fuente: Autores

El grupo (I), incluye 11 encuestas cercana una de la otra y su aproximación al origen de las 51 aplicadas que corresponden al 22% del total, (Tabla 7). Este grupo está caracterizado

porque el área dedicada al cultivo es menor a 2 hectáreas con un 72% de las personas a las que se les aplico la encuesta, además a la pregunta en qué lugar se almacenan los

agroquímicos, los encuestados utilizan un estante, esta práctica es importante debido a que el lugar elegido para los plaguicidas lo cual es positivo ya que de esta manera se minimiza el contacto que puedan tener las personas y el medio ambiente con estos envases los cuales poseen una alta toxicidad, no debe estar cerca de cursos de agua, pozos y otras fuentes de suministro de agua para uso doméstico o para el ganado, ya que éstas podrían contaminarse a raíz de pérdidas o derrames que se produzcan en el almacén. Igualmente, otra variable de gran relevancia de este grupo en cuanto a la disposición de los envases de residuos fue la práctica del triple lavado.

De acuerdo con (Souza y Gebler, 2013), entre los principales determinantes del destino final de envases vacíos de plaguicidas se encuentra el tipo de material que los constituye y su peligrosidad para el medio ambiente, determinada en función de la posibilidad de llevar a cabo el proceso del triple lavado o triple enjuague en

el momento de preparación de los solventes o soluciones indicadas. Según (Said Cometti y Gama Alves, 2010), si estos residuos son desechados en el medio ambiente, pueden contaminar el suelo y la capa freática.

Otro aspecto que tiene en cuenta que el grupo I es la presencia de plagas, donde el *Boerhaavia difusa L* (tostón), es el que predomina con 63%, al respecto (Valencia, 2018), afirma que estas especies significan una verdadera amenaza para la producción agrícola competitiva y sostenible, porque no están respondiendo al control esperado de algunos plaguicidas químicos por igual. En consecuencia, hoy en día se acepta que ninguna alternativa de control individual sería suficiente para reducir la incidencia y el daño causado por las plagas. Por el contrario, se requiere la combinación e integración de diferentes medidas de control químico.

Clúster (Grupo) II/IV

Tabla 8. Caracterización de variables grupo II

Grupo	Nº de encuestas	Encuestas	Porcentaje
II	18	9, 13, 18, 22, 42, 44, 3, 34, 31, 49, 20,7 ,27, 5 , 15, 11, 51, 35,	35%

Fuente: Autores

El grupo (II), se encuentra conformado por 18 encuestas de los 51 agricultores evaluados y que corresponden al 35% del total siendo este el más significativo según tabla 8.

Donde se agruparon aspectos como el área dedicada al cultivo entre 2 a 3 hectáreas, se identificó a diferencia del primer grupo este utiliza una bodega o caseta como almacenamiento de productos a utilizar. Además los agricultores de este grupo la tenencia de tierra es propia, en este aspecto (Padilla, Reyes, Lara, y Pérez,

2012), afirman que los apoyos y el incremento del precio que reciben los productores son una distorsión al aumentar el área sembrada del producto por arriba del equilibrio de mercado, e indirectamente se aumenta el uso de agua, agroquímicos y otros insumos.

La presencia de plagas en este grupo predomina con un 72% haciendo referencia al *Liriomyza trifolii* (minador). Según (Hidroponía, 2015), por la presencia de estas se disminuye la capacidad fotosintética, siendo un aspecto

negativo para la parte ambiental. Existen distintas formas de erradicar esta plaga, pero principalmente los agricultores han optado por hacer uso de agroquímicos en altas dosis, incrementando los impactos a los ecosistemas donde hay diversidad de vidas de fauna y flora.

En este grupo la maleza que más ataca al cultivo es la *Cynodon dactylon* (gramilla) con 66% de los encuestados (Perrachon, 2010), afirma que para erradicarla es necesario una aplicación de glifosato que tiene como objetivo debilitar a la planta y a su vez acabar con los organismos benéficos dejando como consecuencia un desequilibrio en la estabilidad y fertilidad del suelo.

El fungicida más utilizado según al grupo (II) es el Daconil, afirmación que manifiestan el 78% de los encuestados, el cual según la etiqueta correspondiente menciona que dentro de los riesgos ambientales esta que es altamente toxico para especies acuáticas, acabando de manera inmediata con la micro y macrofauna por tal motivo se debe evitar que el producto entre en contacto con ambientes acuáticos. Además, menciona que es prácticamente no toxico para aves y virtualmente no toxico para abejas, pero que de una u otra manera puede alterar su forma de vida normal en un lapso determinado.

Clúster (Grupo) III/IV

Tabla 9. Caracterización de variables grupo III

Grupo	Nº de encuestas	Encuestas	Porcentaje
III	15	12, 16, 8, 21, 32, 38, 19, 48, 33, 4, 26, 43, 28, 40,14	29%

Fuente: Autores

Para el grupo (III) según tabla 9, el cual obtuvo 15 encuestas con 29%, el área cultivada es mayor a 3 hectáreas que corresponde al 80% de los encuestados, los agricultores son arrendatarios, este grupo realiza actividades de recolección de residuos agroquímicos. Resaltando que a mayor número de hectáreas cultivadas será más alto el uso de agroquímicos por ende los impactos a los ecosistemas se incrementarán.

Para el 46% de las personas encuestadas la babosa (*Sarasinula plebeia*), en la zona de estudio estas proliferan fácilmente debido a que la humedad ambiental es alta por encima del 85% y temperaturas medias son condiciones idóneas para su desarrollo.

Cabe mencionar que los agricultores indican que desde que hacen la preparación del suelo

para la siembra al eliminar las malezas también aplican agroquímicos para acabar con la babosa. Pues cuando hay maleza la babosa hace más daño. Según (Avila, Conrado, Galeas y Argueta, 2005), se debe usar agroquímicos para controlar la babosa cuando la cantidad de esta plaga lo amerita, de lo contrario al hacer uso excesivo se puede acabar con la **biodiversidad** y su autorregulación al igual que con los **depredadores naturales**.

Frente a la presencia de enfermedades el 73% de los productores de este grupo manifiestan que Pythium es la enfermedad fungosa que más ataca a los cultivos en la zona de estudio, esta aparece y prolifera en cultivos con alta humedad, puede mantenerse activo durante muchos años en el sustrato del suelo una vez contaminado.

Clúster (Grupo) IV/IV

Tabla 10. Caracterización de variables grupo IV

Grupo	N° de encuestas	Encuestas	Porcentaje
IV	7	50, 6, 47, 25, 10, 30, 46	14%

Fuente: Autores

Con respecto a las 7 encuestas que conforman el grupo (IV) el cual corresponde al 14% del total según tabla 10. Se encontró que este grupo de agricultores quema los envases de residuos agroquímicos, este manejo es inadecuado y puede causar daños ambientales a ecosistema cercanos, según (Díaz, Pagán, & Silva, 2017), el destino correcto de los envases hasta un lugar adecuado evita que estos sean tirados al aire libre y contaminen el medio ambiente. Por lo tanto, hay beneficios de este tipo de logística inversa que proporcionan una mayor preservación del medio ambiente, beneficios para la sociedad y para las generaciones futuras, este autor propone la logística inversa que se aplica o consiste en la devolución de los envases vacíos de plaguicidas, como una contribución al medio ambiente, especialmente, mediante el reciclaje.

La presencia de malezas donde el 100% de los encuestados menciona que el *Polygonum nepalense* (corazón herido) es el que ataca con mayor frecuencia y cantidad.

El fungicida antracol es el más utilizado en los cultivos de este grupo esto lo manifiestan el 85% de los encuestados. Siendo estos el único grupo de sustancias químicas que se aplican deliberadamente en el medio ambiente, con el

objeto de controlar hongos en plantas (Pesticide Action Network, 2010). Sin embargo, la mayoría de los fungicidas no actúan de manera específica sobre el hongo objetivo, ya que afectan simultáneamente a especies no objetivo, alterando el balance ecológico repetidas aplicaciones de productos fitosanitarios tienen consecuencias ambientales, tales como la reducción de la calidad del agua y del suelo, por presencia y acumulación de residuos, sumado al deterioro en la calidad del aire por volatilización de sustancias activas (Viglizzo, Esteban y Ernesto, 2010)

El lugar de almacenamiento el 85% los agricultores encuestados lo realizan en su vivienda, los agricultores y usuarios de plaguicidas deben tener en su finca un lugar adecuado para guardar sus envases lavados y perforados mientras hacen la devolución a la entidad encargada para dicho fin.

Los cuatro grupos de la representación se muestran en la figura 6 la que indica la distribución de las 51 encuestas realizadas a los agricultores sobre el uso y manejo de fitosanitarios, se puede determinar la relación que existen entre las variables predominantes en cada pregunta.

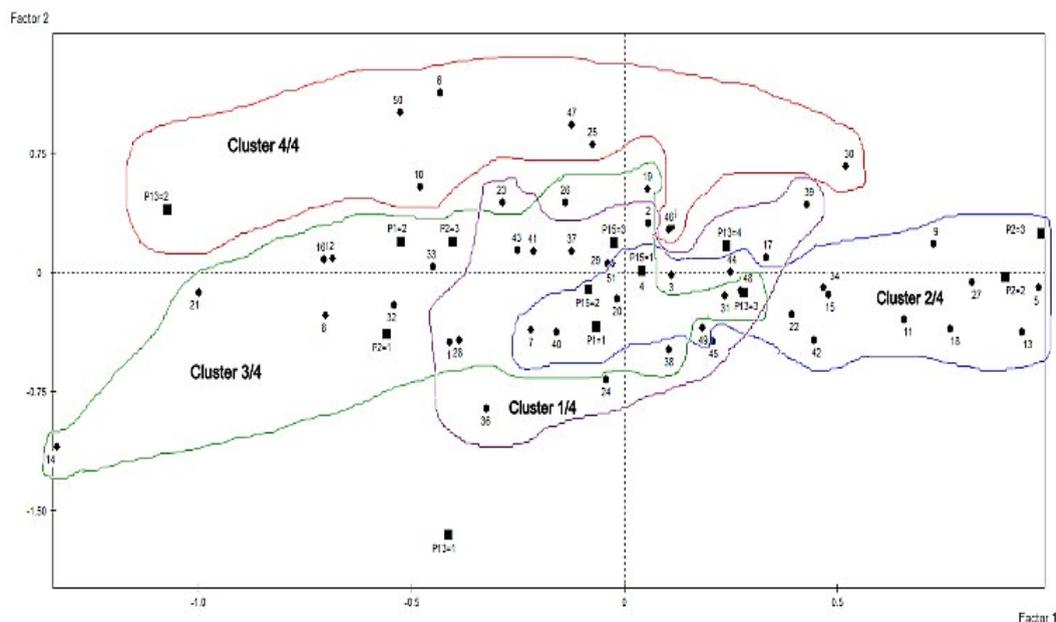


Figura 6. Representación gráfica de las variables y preguntas evaluadas en las encuestas sobre el uso y manejo de agroquímicos en el municipio de Sibundoy Putumayo.

Fuente: Autores

4. CONCLUSIONES

El uso de agroquímicos en la zona de estudio responde a un valor alto con una amplia variedad de 25 ingredientes activos diferentes. Destacándose el grupo de los insecticidas con 11 ingredientes activos. Posterior a estos están los fungicidas y herbicidas a los cuales se agrupan 7 ingredientes activos, con diferentes categorías toxicológicas donde predomina la III de color azul - moderadamente tóxico.

El 43% de los agricultores con respecto a la disposición de los envases y papeletas de agroquímicos vacíos se hace mediante la entrega correspondiente a la empresa Colecta, de los cuales el 35% realiza el triple lavado, pero no hace la adecuada perforación, el 17% y 5% hacen una mala disposición de estos donde para el primer valor se queman y para el segundo se entierran lo cual representa un peligro ambiental.

Para la aplicación de los insumos agrícolas los productores de fríjol en su mayoría no hacen un

manejo adecuado respecto a las dosis ya que en ocasiones prefieren sub dosificar a conveniencia del cultivo, además algunos no utilizan elementos de protección personal durante el momento de preparación de los diferentes productos ni mucho menos cuando hacen su aplicación.

Los agricultores carecen de conocimientos básicos en cuanto a los efectos ambientales que se pueden ocasionar por el manejo inadecuado de los agroquímicos por ende el 11% menciona que no se han presentado cambios en los recursos naturales, mientras que el 88% creen conveniente que las autoridades ambientales deben intervenir.

RECOMENDACIONES

Generar procesos de capacitación teórico práctico que permitan dar a conocer a los agricultores de la zona el uso adecuado de los agroquímicos con el fin de minimizar los impactos negativos al medio ambiente, y que a su vez enseñe la implementación de buenas

prácticas agrícolas como factor positivo para los aspectos del desarrollo sostenible. Implementar estrategias encaminadas a mejorar la disposición final de residuos de envases y papeletas usados para la producción de frijol con el propósito de generar una cultura de cambio frente a este aspecto.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

Primer autor: Metodología, investigación, análisis de datos, conceptualización, logística escritura – borrador original, edición. **Segundo autor:** Investigación, conceptualización, análisis de datos, diagramación, escritura. **Tercer autor:** Investigación, conceptualización, análisis de datos, diagramación, escritura. **Cuarto autor:** Investigación, conceptualización, análisis de datos, diagramación, escritura. **Quinto autor:** Investigación, conceptualización, análisis de datos, diagramación, escritura.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Tecnológico del Putumayo, al Centro de Investigación y extensión Científica y Tecnológica CIECYT, al Dr Hernando Criollo Escobar (Q.E.P.D), docente de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Nariño, por su apoyo en los procesos de la investigación, a los productores de fríjol del municipio de Sibundoy que se vincularon en el proyecto.

LITERATURA CITADA

Abhilash, y Singh, N. (2008). *Pesticide use and application: An Indian Scenario*. India: Pubmed. (pág 7)

Angioni, A., Dedol, F., Garau, A., Sarai, G., Cabras, P., y Cabon, P. (2011). Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes. En *Journal of Environmental Science and Health*, (pág. 8). United States: MIARMatriz de Información para el Análisis de Revistas.

Anguiano, O., Souza, M., Ferrari, A., Soleño, J., Pechen, A., y M, C. (4 de Junio de 2011). *La Reserva*. Obtenido de Los plaguicidas y sus efectos sobre el medio ambiente : http://www.lareserva.com/home/plaguicidas_pesticidas_efectos_medio_ambiente

Arévalo C., A., Bacca, T. & Soto G., A. (2014). Diagnóstico del uso y manejo de plaguicidas en fincas productoras de cebolla junca *Allium fistulosum* en el municipio de Pasto Nariño. *Revista Luna Azul*, 38, 132-145. Recuperado de <http://lunazul.uncaldas.edu.co/index.php?option=content&task=view&id=898>

Avila, F., Conrado, A., Galeas, W., y Argueta, R. (2005). *Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentaria*. Obtenido de <http://www.fao.org/3/a-at785s.pdf>

Contreras Santos, M. J. (26 de Agosto de 2008). *revistas.unal.edu.co*. Obtenido de Universidad Nacional de Colombia: Santa Fé de Bogota Colombia <https://revistas.unal.edu.co/index.php/tsocial/article/view/14084/14844>

Corporación para el desarrollo del sur de la Amazonia Corpoamazonia (Ed.). (2010). Plan de Ordenación y Manejo de la cuenca alta del río Putumayo. Mocoa: Corpoamazonia, WWF y Asociación Ampora, 130 p.

CRUZ C., G.; TREJOS P., J.F.; SERNA G. C.A.; CALDERÓN C., P.A. Evaluación de ingredientes activos de plaguicidas aplicados en sistemas de producción cafeteros certificados y no certificados en Cundinamarca y Santander *Revista Cenicafé* 62(1):17-31.2011 <http://www.academia.edu/37059949/EVALUACION%20DE%20INGREDIENTES%20ACTIVOS%20DE%20PLAGUICIDAS%20APLICADOS%20EN%20SISTEMAS%20DE%20PRODUCCION%20CAFETEROS%20CERTIFICADOS%20Y%20NO%20CERTIFICADOS%20EN%20CUNDINAMARCA%20Y%20SANTANDER>

Del Puerto, A., Suárez, S., y Estrada, D. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*. 2014;52 (3):372-387 <http://www.scielo.sld.cu/pdf/hie/v52n3/hig10314.pdf>

Diaz, M., Pagán, M., y Silva, S. (2017). Logística inversa de envases de plaguicidas: percepción de los pequeños y medianos productores agrícolas. *Redalyc*, 16.

Fernández, P. (01 de Diciembre de 2010). *FIES-TERRA*. Obtenido de Determinación del tamaño muestral: <https://www.fisterra.com/mbe/investiga/9muestras/9muestras2.asp>

Guerrero, Ricardo. (1998). *Monómeros*. Obtenido de Fertilización de cultivos en clima frío: Santafé de Bogotá. Colombia, Monómeros Colombo Venezolanos S.A. (E.M.A.) <http://www.monmeros.com/descargas/dpmanualfrio.pdf>

Harris, J. (2000). *Chemical Pesticide Markets, Health Risks and Residues*. Reino Unido: CABI.

- Flores, K. (2012). *Importancia del uso de elementos de protección personal* Karol Flores Ingeniería en prevención de riegos. <https://karolfloresl.blogspot.com/2012/11/importancia-del-uso-de-elementos-de.html>
- Gregor J.D., Dominique, E., y Ogusuku, E. (2008). Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2008; 25(1):74-100. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v25n1/a11v25n1.pdf>
- Hidroponía. (11 de Septiembre de 2015). *HIDROPONÍA. mx*. Obtenido de HIDROPONÍA. mx- El Blog de Hydro Environment: <http://hidroponia.mx/como-afecta-a-los-cultivos-el-minador-de-hoja/J>
- Ortega-Martinez LD, Martínez-Valenzuela C, Huerta-De la Peña A, Ocampo-Mendoza J, Sandoval-Castro E, Jaramillo-Villanueva JL (2014) Uso y manejo de plaguicidas en invernaderos de la región norte del estado de Puebla, México. *Acta Universitaria* 24: 3-12. <http://www.acuedi.org/ddata/8463.pdf>
- Padilla, L., Reyes, E., Lara, I., y Pérez, Ó. (2012). Competitividad, eficiencia e impacto ambiental de la producción de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Zacatecas, México. *SciELO*, 15.
- Perrachon, Julio. (2010). *Julio*. Obtenido de ¿Cómo controlar la gramilla? *Revista del Plan Agropecuario* https://www.planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R116/R116_38.pdf
- Pesticide Action Network. (2010). *Environmental effects of pesticide*. EUROPE.
- Pretty, & Waibel. (2005). *Paying the Price: The Full Cost of Pesticides*. En: Pretty, J.N. (comp.), *The Pesticide Detox: Towards a More Sustainable Agriculture*. Londres.
- Rekha, Naik, & Prasad. (2006). Pesticide residue in organic and conventional food-risk. *Journal of Chemical Health and Safety*. 13(6), 12-19. doi:10.1016/j.chs.2005.01.012 <https://sci-hub.st/https://doi.org/10.1016/j.chs.2005.01.012>
- Santillán, Andrea. (2017). *Dspace Escuela Superior Politécnica de Chimborazo*. Obtenido de diagnóstico del uso y manejo de plaguicidas en cuatro comunidades del Cantón Guamote, provincia de Chimborazo. Riobamba Ecuador <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/6651/1/3T0843.pdf>
- Said Cometti, J. L., y Gama Alves, I. T. (07 de Mayo de 2010). Responsabilidad Post-Consumo y Logística Reversa: El Caso de los Embalajes de Agrotóxicos en Brasil. *Sustentabilidade Debate*.
- Souza, V., y Gebler, L. (2013). Análise de cenário envolvendo embalagens. *Ecotoxicologia e Medio Ambiente*, 8. Pesticidas: Revista de ecotoxicología e medio ambiente, ISSN 0103-7277, Vol. 23, 2013, págs. 75-82 <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5007021>
- Valencia, E. (24 de Septiembre de 2018). *Crop science Colombia*. Obtenido de Las Súper Plagas agrícolas: <https://www.cropscience.bayer.co/es-CO/Centro-de-Noticias/Noticias/2018/05/Super-Plagas.aspx>
- Viglizzo, Ernesto F y Jobbágy Esteban (2010). *Expansión de la frontera agropecuaria en Argentina y su impacto ecológico-ambiental*. Argentina. https://www.researchgate.net/publication/275345088_Expansion_de_La_Frontera_Agropecuaria_En_Argentina_Y_Su_Impacto_Ecologico-Ambiental

Conflicto de Intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses

**Licencia de Creative Commons**

Revista de Investigación Agraria y Ambiental is licensed under a Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional License.

EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN OCUPACIONAL A RUIDO EN MICROEMPRESAS DE MADERA DE LA CIUDAD DE NEIVA EN EL 2019

OCCUPATIONAL NOISE EXPOSURE ASSESSMENT IN WOODEN MICROENTERPRISES OF NEIVA CITY IN 2019

¹Ingrith M. Romero Méndez, ²Dinory Serrato Rojas, ³Roberson Daniel Bernal Medina, ⁴Jhonathan Cabrera Urriago

¹Magíster en Tecnología Ambiental y Recursos Hídricos, Docente de Administración en Seguridad y Salud en el Trabajo de la Corporación Universitaria Minuto de Dios- UNIMINUTO, Neiva, Colombia.

²Magíster en Educación, Especialista en Higiene Industrial, Docente de Administración en Seguridad y Salud en el Trabajo de la Corporación Universitaria Minuto de Dios- UNIMINUTO, Neiva, Colombia.

^{3,4}Profesional en Administración en Salud Ocupacional, Corporación Universitaria Minuto de Dios- UNIMINUTO, Neiva, Colombia.

¹iromeromend@uniminuto.edu.co, ²dinory.serrato@uniminuto.edu.co,
³rbernalmed1@uniminuto.edu.co, ⁴jcabreral@uniminuto.edu.co

RESUMEN

Contextualización: la evaluación de la exposición a ruido es un componente indispensable en los programas de prevención de pérdida auditiva para reconocer trabajadores vulnerables, proponer medidas de control y/o evaluar las medidas implementadas.

Vacío de conocimiento: en Colombia, hay un número limitado de trabajos que abordan la exposición a ruido y las medidas de control de este.

Propósito del estudio: la exposición ocupacional a ruido en el área operativa de dos microempresas de la ciudad de Neiva fue

evaluada mediante dosimetría y sonometría. Dichas empresas se dedican a la comercialización de madera aglomerada empleando máquinas especializadas como sierras verticales y enchapadoras.

Metodología: inicialmente se realizó una caracterización de las condiciones de trabajo, luego se realizaron las mediciones de ruido siguiendo la estrategia basada en la labor conforme la ISO 9612-2010.

Resultados y conclusiones: los niveles de presión sonora equivalente (73,0 y 82,4 dB (A)) encontrados a partir de sonometría

se asemejan a los reportados en talleres de carpintería y fábricas de muebles. Los resultados de la dosimetría revelaron que los operarios de la sierra vertical y el de la enchapadora se exponen a diario a niveles de ruido entre 88,50 y 89,9 dB (A) que superan el valor límite permisible (85 dB) para un tiempo de exposición de 8 horas, como se estipula por la resolución 1792 de 1990. Sin embargo, los operarios de las microempresas de madera aglomerada evaluados no se encuentran sobreexuestos a ruido gracias a la atenuación que brindan los protectores auditivos utilizados.

Palabras clave: contaminación acústica; higiene industrial; industria maderera; salud ocupacional.

ABSTRACT

Contextualization: The noise exposure assessment is an essential component of hearing loss prevention programs to recognize vulnerable workers, to propose control measures and / or to evaluate the measures implemented.

Knowledge gap: In Colombia, there is a limited number of works that address noise exposure and its assessment.

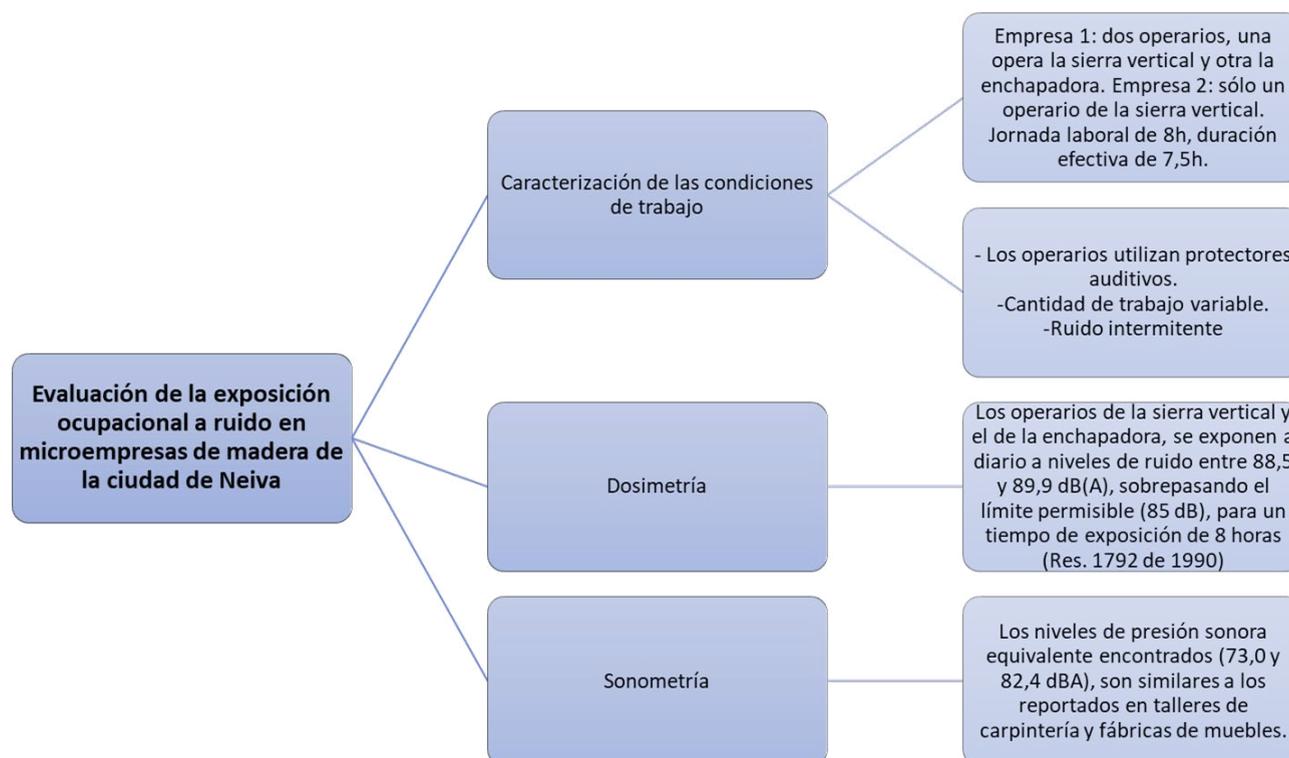
Purpose: Occupational noise exposure in the operating area of two microenterprises in the city of Neiva was evaluated by dosimetry and sonometry. These companies are dedicated to the commercialization of chipboard using specialized machines such as vertical saws and veneers.

Methodology: Initially, a diagnosis of working conditions was made; later, noise measurements were carried out following the work-based strategy pursuant ISO 9612-2010.

Results and conclusions: The equivalent sound pressure levels (73,0 and 82,4 dB (A)) registered by the sonometry system are similar to those reported in carpentry workshops and furniture factories. The dosimetry results reveal that the vertical saw and the veneer machine operators are exposed 8 hours daily to noise levels between 88,50 and 89,9 dB (A), which exceed the permissible limit value (85 dB), as stipulated by resolution 1792 of 1990. However, the chipboard microenterprise operators evaluated were not overexposed to noise thanks to the attenuation brought by the hearing protectors used.

Keywords: Industrial hygiene; noise pollution; occupational health; wood industry

RESUMEN GRÁFICO



1. INTRODUCCIÓN

El ruido en el ambiente de trabajo se genera comúnmente por la operación de máquinas y herramientas. Debido a la dureza del material que procesan, las empresas del sector maderero emplean máquinas de trabajo pesado para aserrar, cortar, picar y arreglar la madera, que son fuentes de ruido. Se ha encontrado que los niveles de ruido producidos por las sierras de aserradero en operación varían de 80 hasta 120 dB (Owoyemi et al., 2017). La normatividad colombiana, en la Resolución 1792 de 1990, se adhiere a los criterios del Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional (NIOSH) y de la Conferencia Americana de Higienistas Industriales Gubernamentales (ACGIH), al admitir un máximo de 85 dB para una jornada de trabajo de 8 horas, ya que, a niveles superiores a este, se incrementa la posibilidad de pérdida de la audición. Sin embargo, la norma colombiana admite intervalos de variación de ruido cada 5 dB, que es menos

protectora del trabajador que la variación de 3 dB (Ministerio de la Protección Social, 2006).

Debido a la exposición a elevados niveles de ruido, los trabajadores del sector industrial son susceptibles a los efectos asociados a este factor, como el estrés, irritabilidad, trastornos del sueño, incremento de la presión arterial, pérdida de la capacidad auditiva, entre otros (Ganime et al., 2010). A nivel mundial se estima que el 16% de la pérdida auditiva incapacitante en adultos se atribuye al ruido ocupacional, pero este porcentaje puede variar entre el 7 y el 21% en las distintas regiones, siendo mayor en los países en vía de desarrollo (Nelson et al., 2005). Al menos 432 millones de adultos presentan pérdida auditiva incapacitante, siendo la elevada exposición a ruido una de las causas (WHO, 2019). Precisamente, las patologías auditivas, ocupan el segundo lugar entre las enfermedades laborales más

reportadas a las ARL en Colombia, después de las lesiones musculoesqueléticas (MinTrabajo, 2013) y el Ministerio de Salud y Protección Social han estimado que la prevalencia de pérdida de audición por exposición a ruido entre la población laboralmente activa (25 a 50 años) es de un 14%. La prevalencia de hipoacusia ocupacional inducida por ruido del orden del 20% y 44% en trabajadores de la madera ha sido corroborada por autores como Sierra y Bedoya (2016) y Robinson et al. (2015), respectivamente. Además, en estudios realizados en trabajadores de diferentes industrias se ha encontrado elevada asociación entre altos niveles de exposición al ruido y riesgo de accidentes laborales y lesiones (Picard et al., 2008; Palmer et al., 2008), razones suficientes para ejercer controles sobre el ruido en el ambiente laboral.

En este sentido, las mediciones de los niveles de ruido son fundamentales para obtener un diagnóstico del grado de riesgo asociado a este factor que facilite la toma de decisiones respecto a las medidas de prevención por adoptar para el control del ruido. Ha habido una gran preocupación por el ruido industrial en el sector maderero; se han desarrollado investigaciones en Grecia (Ntalos y Papadopoulos, 2013), Arabia Saudí (Noweir et al., 2014b), Nepal (Robinson et al., 2015) y Colombia (Sierra y Bedoya, 2016), que coinciden en que, en estas industrias, los niveles de ruido llegan a superar el límite permisible de los 85 dB. Los resultados del estudio desarrollado por Sierra y Bedoya (2016), indican que el riesgo por exposición a ruido en aserríos está entre medio y alto. No obstante, la literatura todavía no presenta estudios que aborden la exposición a ruido en empresas que laboran con madera aglomerada, que son las que más abundan en nuestro contexto. Además, autores como Acero, Jaimes y Romero (2016)

refieren que el ruido es un problema de salud pública que se presenta en el país y que ha sido muy poco analizado.

Por esto, el presente estudio tuvo por objetivo evaluar la exposición ocupacional a ruido en dos microempresas de madera aglomerada de la ciudad de Neiva, en el segundo semestre del año 2019. Para esto, se caracterizaron las condiciones laborales y operativas en las empresas, se verificaron los niveles de sonido percibidos por los trabajadores del área operativa mediante dosimetría y se estimó la exposición a ruido por puesto de trabajo mediante sonometría.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo, de corte longitudinal, en dos microempresas de madera de la ciudad de Neiva que comercializan principalmente madera aglomerada y cuyas operaciones incluyen el corte y enchapado de esos materiales.

Inicialmente se llevó a cabo la caracterización de las condiciones de la labor en cada empresa, para conocer sus instalaciones, maquinaria, horario laboral, cargos, número de trabajadores, así como el empleo de elementos de protección personal (EPP) y la existencia de sistemas de control de ruido.

En la medición de la exposición al ruido, se aplicó la estrategia de medición basada en la labor, teniendo en cuenta que era muy complicado discriminar por tareas ya que estas se desarrollaban en períodos muy variables. Se siguieron las recomendaciones de medición según la ISO 9612-2010, para la dosimetría y sonometría. Los instrumentos de medición utilizados fueron Dosímetro marca 3M, modelo The Edge 5 y Sonómetro clase 1, marca Casella, modelo CEL-633C, ambos con certificado de calibración vigente.

En cuanto al plan de medición de la presión sonora, según la ISO, la duración total mínima de las mediciones con el dosímetro para grupos inferiores a 5 personas debe ser de 5,5 horas; de este modo, con el dosímetro se realizaron tres mediciones de 55 minutos cada día, por dos días consecutivos, bajo condiciones ambientales similares. Las mediciones se efectuaron en dos trabajadores de la empresa 1 y uno de la empresa 2.

A partir de las lecturas registradas con el dosímetro, se calcularon parámetros como el nivel de presión sonora continuo equivalente ponderado A, el nivel diario de exposición al ruido ponderado A, la dosis y el nivel de sonido percibido por el trabajador que utiliza protector auditivo.

Para calcular el nivel de presión sonora continuo equivalente ponderado A, $L_{p,A,eqT,n}$, se utilizó la ecuación 1:

$$L_{p,A,eqT_e} = 10 \lg \left(\frac{1}{N} \sum_{n=1}^N 10^{(0,1 \times L_{p,A,eqT,n})} \right) \text{dB}$$

(Ecuación 1)

Donde:

$L_{p,A,eqT,n}$: es el nivel de presión sonora continuo equivalente ponderado A, de la medición n.
 n: es el número de la medición de trabajo
 N: el número total de las mediciones de trabajo.

A partir de la ecuación 2 se calculó el nivel diario de exposición al ruido ponderado A, $L_{EX,8h}$, de cada trabajador:

$$L_{EX,8h} = L_{p,A,eqT_e} + 10 \lg \left[\frac{T_e}{T_0} \right] \text{dB}$$

(Ecuación 2)

Donde:

$L_{p,A,eqT,e}$: es el nivel de presión sonora continuo equivalente ponderado A para la duración efectiva de la jornada laboral.

T_e : es la duración efectiva de la jornada laboral.
 T_0 : es la duración de referencia, $T_0 = 8h$

La dosis promedio (D) en porcentaje, se determinó a través de la ecuación 3:

$$D = \left[\frac{C_1}{T_1} + \frac{C_2}{T_2} + \dots + \frac{C_n}{T_n} \right] \times 100 \text{ (Ecuación 3)}$$

Donde:

C: Es el tiempo real de exposición para cada nivel de presión sonora (NPSI).

T: Es el tiempo máximo de exposición permitido para cada nivel de presión sonora (NPSI)

Para el cálculo del nivel de sonido percibido por el trabajador que utiliza protector auditivo, se siguió el procedimiento indicado por la NIOSH (Ecuaciones 4,5 y 6), citado en la GATI-HNIR del Ministerio de protección social:

$$NRR_{\text{corregido}} = NRR_{\text{protector}} - 7$$

(Ecuación 4)

$$\text{Corrección NIOSH} = NRR_{\text{corregido}} - (NRR_{\text{corregido}} \times 0,25)$$

(Ecuación 5)

$$\text{Nivel percibido por el trabajador} = \text{Nivel de exposición} - \text{Corrección NIOSH}$$

(Ecuación 6)

Para evaluar los niveles sonoros en determinados momentos de la labor, se utilizó la soneometría. esta se realizó mediante barrido alrededor de las máquinas donde se encontraba el trabajador, tomando tres puntos diferentes. En cada punto se realizaron mediciones de 15 minutos, dos días diferentes, en condiciones ambientales similares. Con los datos se determinaron los parámetros $L_{p,A,eqT,n}$ y $L_{EX,8h}$. También se quiso conocer la distribución de frecuencias del ruido al que están expuestos los trabajadores de la empresa 1.

Comparación estadística de los niveles de presión sonora

Los resultados de las mediciones se analizaron a través de medidas descriptivas como la media y la desviación estándar (σ). Utilizando Jamovi, se compararon los niveles de presión sonora obtenidos por empresa. Jamovi es un software estadístico libre de fácil manejo que cuenta con módulos de estadística robusta, mediación y moderación, cálculo de poder estadístico, análisis factorial confirmatorio, entre otros (Sánchez Villena, 2019).

Para el análisis se conformaron dos grupos, el grupo 1 correspondía a los niveles de presión sonora obtenidos en la empresa 1 y el grupo 2 a los niveles de presión registrados en la empresa 2. Las hipótesis fueron:

H0: ambos grupos presentan medias iguales y no tienen diferencias significativas.

H1: ambos grupos presentan medias diferentes y tienen diferencias significativas.

La evaluación de la hipótesis nula (H0) se realizó por medio del test paramétrico de Welch's que es una alternativa al Student's cuando las varianzas de ambos grupos son distintas. Se utiliza para comparar las medias de una variable cuantitativa continua entre dos grupos independientes determinando si existen diferencias significativas entre estas (Laguna, 2014). Pertinente en este caso donde los niveles de presión sonora constituyen la variable cuantitativa dependiente y las empresas 1 y 2 la variable cualitativa dicotómica.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de las condiciones de trabajo

Las empresas donde se realizaron las mediciones de ruido cuentan con área de ventas y área operativa dispuestas consecutivamente.

Sin embargo, en la empresa 1, el área operativa está separada del área de ventas por un muro de ladrillo. Por otra parte, en la empresa 2, solo hay una separación parcial con una lámina de madera y vidrio, dichas separaciones constituyen un control de ingeniería de ruido. Se evidenció que, en el área de operación, en la empresa 1, hay dos trabajadores permanentes que laboran ocho horas diarias de lunes a sábado (medio día), uno maneja la sierra vertical (marca STRIEBIG); responsable del corte de material y el otro la enchapadora (marca BRANDT); una máquina que da acabado a la madera aglomerada fijando una lámina blanca. Por otro lado, en la empresa 2, solo hay un trabajador que opera la sierra vertical de la misma marca.

La jornada laboral de ese personal comprende actividades como la recepción y organización de materiales, planificación del trabajo, el corte o enchapado de materiales y dos descansos al día de quince minutos. Como su trabajo empieza aproximadamente media hora después de encender las máquinas, se consideró una duración efectiva de la jornada laboral de 7,5 h.

El ruido en esos ambientes laborales es intermitente debido a que la actividad de corte o enchapado de madera aglomerada es variable, depende de la cantidad de trabajo que resulta en el día. Se observó que los trabajadores utilizan elementos de protección auditiva. En la empresa 1, cuentan con protectores tipo copa FONO SAMURAI STEELPRO SNR 27 DB ISP, de la marca Steelpro Safety, que tienen un nivel de reducción de ruido (NRR) de 23 dB. Por otra parte, el trabajador de la empresa 2 utiliza un protector FONO PELTOR H10/OPTIME 105, tipo copa de la marca 3M, cuyo NRR es de 30 dB. Ambos protectores son certificados bajo la norma ANSI S3.19.

Niveles de ruido ocupacional

Al evaluar la exposición personal a ruido según la labor, se comprobó que los operarios de la sierra vertical (Tabla 1) reciben aproximadamente un nivel diario de exposición al ruido ponderado A, $L_{EX, 8h}$, de 89,1 dB y 89,9 dB, con una incertidumbre expandida ($UL_{EX, 8h}$) asociada de 3,0 dB y 3,3 dB respectivamente, para una probabilidad de cobertura unilateral del 95% ($k=1,65$). Por otra parte, el operario de la enchapadora se somete diariamente a un nivel de ruido ponderado A de 88,50 dB, con una incertidumbre expandida asociada de 3,3 dB. Esos niveles de ruido superan el valor límite permisible de 85 dB para una jornada de 8 horas, dispuesto por la resolución 1792 de 1990. De acuerdo con la misma resolución, para los niveles sonoros hallados, corresponden

tiempos máximos de exposición de 4 a 5 horas, tomando como referencia una exposición al 50% de la dosis (80 dB). Además, conforme la GATI-HNIR, los trabajadores de esas empresas se clasifican en "Muy alta exposición", por estar expuestos a dosis superiores a 85 dB(A), lo cual requiere que se sometan a evaluaciones médicas continuas.

No obstante, gracias al empleo continuo de protectores auditivos, los niveles de ruido percibidos por dichos trabajadores son menores de 85 dB, como se observa en la tabla 1, garantizando la exposición a dosis inferiores a 50%. Sin embargo, el control de ruido en el trabajador debe ser la última medida a adoptar, primero deben considerarse los controles en la fuente y en el medio (NIOSH, 1998).

Tabla 1. Niveles de ruido percibido por los operarios

Máquina		Niveles de presión sonora (dBA)					σ	Nivel de presión sonora equivalente (L_p, A, eqT)	Nivel de exposición de ruido diario ponderado A ($L_{EX, 8h}$)	Dosis (sin protección)	Nivel de ruido percibido
		$L_p, A, eqT, 1$	$L_p, A, eqT, 2$	$L_p, A, eqT, 3$	Media						
Empresa 1	Sierra vertical	89,6	89,3	88,9	89,3	0,4	89,3 dB	89,1 dB	171%	77,1 dB	
		89,1	89,2	89,9	89,4	0,4					
Empresa 2	Sierra vertical	86,9	89,9	88,9	88,6	1,5	90,2 dB	89,9 dB	194%	72,7 dB	
		90,6	91,8	91,5	91,3	0,6					
Empresa 1	Enchapadora	87	88,1	89,3	88,1	1,2	88,79 dB	88,5	158%	76,5 dB	
		86,8	90,2	90,1	89,0	1,9					

Fuente: Autores

Los resultados de la evaluación sonora por puesto de trabajo en el área operativa (Tabla 2), exhiben que los niveles de ruido diario ($L_{EX, 8h}$) están por debajo del límite permisible de exposición, ya que oscilan entre 73,0 dB y 82,4 dB. El $L_{EX, 8h}$ en la enchapadora fue mayor que en la sierra vertical porque se presentó

la condición de que ambas máquinas operaron simultáneamente.

Posiblemente, los niveles de $L_{EX, 8h}$, obtenidos a partir de las mediciones con el sonómetro fueron inferiores a los registrados con el dosímetro porque este último integra, en un solo

valor (dosis), la magnitud de la energía recibida en un período de tiempo, que es un acumulado de la exposición. En contraste, el sonómetro mide el nivel de sonido en un solo punto en el tiempo, proporciona una instantánea del sonido en un momento determinado, siendo útil

cuando el sonido es estable con poca variación (Johnson, s. f.). Por esta razón la GATI-HNIR sugiere el empleo de dosímetros para la medición de ruido en ambientes de trabajo donde los niveles de sonido fluctúan.

Tabla 2. Niveles de sonido percibidos en el puesto de trabajo

		Niveles de presión sonora (dBA)					σ	Nivel de presión sonora equivalente (L_p, A, eqT)	Nivel de exposición de ruido diario ponderado A (LEX, 8h)
	Máquina	$L_p, A, eqT, 1$	$L_p, A, eqT, 2$	$L_p, A, eqT, 3$	Media				
Empresa 1	Sierra vertical	70,5	69,8	74,2	71,5	2,4	79,0 dB	73,3 dB	
		71,6	79,8	85,1	78,8	6,8			
Empresa 2	Sierra vertical	71,5	70,4	75,7	72,5	2,8	78,8 dB	73,0 dB	
		68,4	70,2	76,8	71,8	4,4			
Empresa 1	Enchapadora	53,5*	72,3	84,8	70,2	15,8	82,7 dB	82,4 dB	
		83,5	84,7	84,5	84,2	0,6			

Fuente: Autores

En estudios de evaluación de ruido en entornos laborales de talleres de carpintería y empresas de furnitura (Noweir et al., 2014; Robinson et al., 2015) se hallaron niveles de L_p, A, eqT , en el rango de 77,9 y 79,4 dB (A) próximos a los encontrados en el presente estudio.

La variación de los niveles sonoros de un día para otro y entre empresas de actividades semejantes, se deben a las múltiples variables que intervienen en la generación de ruido. Además de las características del material, cantidades y espesor de la pieza trabajada, los niveles de ruido dependen también del tipo y ajuste de la máquina, velocidad de corte, número de trabajadores y máquinas involucradas, otra variable es el sistema de extracción de viruta, donde el ruido varía en función de

la velocidad y el diseño del sistema (NTP-ISO 9612, 2010; Instituto Andaluz de Prevención de Riesgos Laborales, s. f.).

Comparación estadística de los niveles de presión sonora

Los niveles de presión sonora presentados en las Tablas 1 y 2 se compararon entre empresas mediante la hipótesis nula (H_0 : ambos grupos presentan medias iguales y no tienen diferencias significativas) empleando el test de Welch's a un nivel de significancia (α) de 0,05 como alternativa al Student's, debido a que las varianzas de los grupos fueron diferentes (Jajmovi, 2019).

Como se observa en la Tabla 3, dado que $p > 0,05$ se acepta la hipótesis nula y por lo tanto

los estadísticos de los grupos que se compararon, en este caso los niveles de presión sonora no fueron significativamente diferentes entre las empresas evaluadas con una probabilidad mayor del 95%. Otros estudios en la industria maderera (Noweir et al., 2014; Sierra Calderón y Bedoya Marrugo, 2016) reportaron variaciones de los niveles de presión sonora entre empresas similares sin embargo no evaluaron estadísticamente dicha diferencia.

Tabla 3. Resultado prueba de hipótesis

Variable dependiente	Variable de grupo	p
Niveles de presión sonora (n=36)	Empresas	0,387

Fuente: Autores

4. CONCLUSIONES

En las condiciones operativas evaluadas en el presente estudio, se corroboró que los trabajadores del área operativa de empresas que comercializan madera aglomerada están expuestos a niveles de ruido diario ($L_{EX, 8h}$) que superan el límite permisible de 85 dB para una jornada laboral de 8h, como precisa la resolución 1792 de 1990. A pesar de esto, el uso de protectores auditivos garantiza que esos trabajadores no se encuentren sobreexuestos a este factor.

Este es uno de los primeros estudios que aborda el ruido ocupacional en microempresas de madera aglomerada donde se emplean máquinas modernas como sierras verticales y enchapadoras. Los niveles de presión sonora equivalente (L_p, A, eqT) hallados en este estudio se aproximan a los encontrados en algunos talleres de carpintería (Noweir et al., 2014) y fábricas de muebles (Robinson et al., 2015); sin embargo, resultan inferiores cuando se comparan con los L_p, A, eqT reportados en aserríos (Kolodziej y Cruz, 2013; Pozo, 2010;

Sierra y Bedoya, 2016) también empleando sonometría. Probablemente debido a que las máquinas que utilizan en esas empresas son más rústicas y antiguas.

Como en este estudio fueron pocas las empresas evaluadas y las mediciones limitadas, se recomienda ampliar la muestra de estudio y adoptar una estrategia de medición de jornada completa para corroborar la diferencia entre los resultados que proporcionan los instrumentos de medición de ruido. Asimismo, se recomienda un análisis sonoro de las máquinas para conocer los principales focos generadores de ruido para actuar sobre estos.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

Ingrith M. Romero Méndez: metodología, investigación, análisis de datos, conceptualización, escritura – revisión y edición. **Dinory Serrato:** asesoría técnica y recolección de datos. **Roberson Daniel Bernal Medina:** recolección de datos y procesamiento de los mismos. **Jhonathan Cabrera Urriago:** gestión de equipos de medición, recolección de datos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimiento especial al equipo del semillero JIASSO del Programa de Administración de la Salud Ocupacional de Neiva, que colaboró en la ejecución de la investigación. A la profesora Dinory Serrato, Roberson Bernal, Jhonathan Cabrera y Juan Carlos Morales. El presente artículo se deriva del trabajo desarrollado por Bernal R. y Cabrera J. (2019) y dirigido por la autora.

LITERATURA CITADA

Acero, J., Jaimes, M., y Romero, G. A. (2016). Generación de mapas de ruido (industrial) desde sistemas de información geográfica. Un acercamiento desde la literatura. *Revista Tecnura*, 20 (49), 152. doi: 10.14483/udistrital.jour.tecnura.2016.3.a10

- Bernal R. y Cabrera J. (2019). Evaluación del riesgo asociado al ruido en trabajadores de empresas comercializadoras de madera aglomerada de la ciudad de Neiva (tesis de pregrado). Corporación Universitaria Minuto de Dios, Neiva, Colombia.
- Ganime, J. F., Almeida da Silva, L., Robazzi, M. do C. C., Valenzuela, S., y Faleiro, S. A. (2010). El ruido como riesgo laboral: Una revisión de la literatura. *Enfermería Global*, (19). doi:10.4321/S1695-61412010000200020
- Instituto Andaluz de Prevención de Riesgos Laborales. (2013). *Guía de buenas prácticas contra el ruido en la industria de la madera.pdf*. Recuperado de <https://www.juntadeandalucia.es/export/drupaljda/Gu%C3%ADa%20de%20buenas%20practicas%20contra%20el%20ruido%20en%20la%20industria%20de%20la%20madera.pdf>
- Johnson, P. T. (s. f.). *Noise Exposure: Explanation of OSHA and NIOSH Safe-Exposure Limits and the Importance of Noise Dosimetry*. Recuperado de https://www.etymotic.com/downloads/dl/file/id/47/product/307/noise_exposure_explanation_of_osh_a_and_niosh_safe_exposure_limits_and_the_importance_of_noise_dosimetry.pdf
- Kolodziej, F.S y Cruz R. E. (2013). Exposición al Ruido Ambiental y Laboral de los Trabajadores de una Industria Maderera. Argentina: Estructplan. Recuperado de <https://estructplan.com.ar/exposicion-al-ruido-ambiental-y-laboral-de-los-trabajadores-de-una-industria-maderera/>
- Laguna C. (2014). *Inferencia paramétrica: relación entre variables cualitativas y cuantitativas*. Recuperado de <http://www.ics-aragon.com/cursos/salud-publica/2014/pdf/M2T08.pdf>
- Ministerio del Trabajo (2013). *Segunda Encuesta Nacional de Condiciones de Seguridad y Salud en el Trabajo en el Sistema General de Riesgos Laborales*. Recuperado de <https://fasecolda.com/cms/wp-content/uploads/2019/08/ii-encuesta-nacional-seguridad-salud-trabajo-2013.pdf>
- Ministerio de la Protección Social. (2006). Guía de atención integral de salud ocupacional basada en la evidencia para Hipoacusia Neurosensorial Inducida por ruido en el trabajo, GATI-HNIR. Recuperado de: <https://www.minsalud.gov.co/Documentos%20y%20Publicaciones/GATISO-HIPOACUSIA%20NEROSENSORIAL.pdf>
- Nelson, D. I., Nelson, R. Y., Concha-Barrientos, M., y Fingerhut, M. (2005). The global burden of occupational noise-induced hearing loss. *American Journal of Industrial Medicine*, 48(6), 446-458. doi:10.1002/ajim.20223
- NTP-ISO 9612. (2010). *Acústica. Determinación de la exposición a ruido laboral. Método de ingeniería*. Recuperado de https://www.academia.edu/9753456/Determinaci%C3%B3n_de_la_exposici%C3%B3n_a_ruido_laboral_ISO_9612_2010
- Noweir, M. H., Bafail, A. O., y Jomoah, I. M. (2014). Noise Pollution in Metalwork and Woodwork Industries in the Kingdom of Saudi Arabia. *International Journal of Occupational Safety and Ergonomics*, 20(4), 661-670. doi:10.1080/10803548.2014.11077068
- Ntalos, G. A., y Papadopoulos, A. N. (2013). Noise Emission Levels in Greek Wood and Furniture Processing Industry. *Journal of the Institute of Wood Science*, 17(2), 99-103. doi:10.1179/wsc.2005.17.2.99
- Owoyemi, M. J., Falemara, B., y Owoyemi, A. J. (2017). Noise Pollution and Control in Wood Mechanical Processing Wood Industries. *Biomedical Statistics and Informatics*, 2(2): 54-60. doi: 10.11648/j.bsi.20170202.13
- Palmer, K. T., Harris, E. C., y Coggon, D. (2008). Chronic health problems and risk of accidental injury in the workplace: A systematic literature review. *Occupational and Environmental Medicine*, 65(11), 757-764. doi:10.1136/oem.2007.037440
- Picard, M., Girard, S. A., Simard, M., Larocque, R., Leroux, T., y Turcotte, F. (2008). Association of work-related accidents with noise exposure in the workplace and noise-induced hearing loss based on the experience of some 240,000 person-years of observation. *Accident Analysis & Prevention*, 40(5), 1644-1652. doi:10.1016/j.aap.2008.05.013
- Pozo, E. F. (2010). Estudio de Ruido Generado en la Industria Maderera en la Ciudad de Cuenca y sus efectos a la Salud (Tesis de maestría). Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador. Recuperado de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2585/1/tm4335.pdf>
- Robinson, T., Whittaker, J., Acharya, A., Singh, D., y Smith, M. (2015). Prevalence of noise-induced

- hearing loss among woodworkers in Nepal: A pilot study. *International Journal of Occupational and Environmental Health*, 21(1), 14-22. doi:/10.1179/2049396714Y.00000000084
- Sánchez Villena, A. (2019). Uso de programas estadísticos libres para el análisis de datos: Jamovi, Jasp y R. *Revista Perspectiva*, 20(1), 112-114. doi:10.33198/rp.v20i1.00026
- Sierra Calderón, D. D., y Bedoya Marrugo, E. A. (2016). Prevalencia de hipoacusia neurosensorial inducida por ruido en empresas del sector madera de la ciudad de Cartagena. 2015. *Nova*, 14(25), 47. doi:10.22490/24629448.1726
- WHO. (2019). Deafness and Hearing Loss. World Health Organization. Recuperado de <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/deafness-and-hearing-loss>

Conflicto de Intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses

**Licencia de Creative Commons**

Revista de Investigación Agraria y Ambiental is licensed under a Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional License.

MÉTODOS DE ESCARIFICACIÓN QUÍMICA Y SUS EFECTOS EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb.

METHODS OF CHEMICAL SCARIFICATION AND THEIR EFFECTS ON THE GERMINATION OF SEEDS OF *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb.

¹Virleydys Ríos-Geovo, ²Leonomir Córdoba-Tovar, ³Pedro Luis Ramírez Mosquera, ⁴José Harry Copete Arroyo, ⁵Pablo Andrés Ramos Barón

¹Ingeniera Agroforestal Especialista en Implementación de Buenas Prácticas Agropecuarias.

²Biólogo estudiante de Doctorado en Estudios Ambientales y Rurales. ³Ingeniero Agroforestal, ⁴ingeniero agrónomo Magister en Ciencias de la Educación. ⁵Ecólogo Doctor en Estudio y Manejo de Conflictos

^{1, 3, 4}Universidad Tecnológica del Chocó "Diego Luís Córdoba". Quibdó, Colombia

^{2, 5}Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia

¹virleydys28@hotmail.com, ²leonomir-cordoba@javeriana.edu.co ³siso.pedro@gmail.com

⁴d-jose.copete@utch.edu.co, ⁵p.ramos@javeriana.edu.co

RESUMEN

Introducción: la *Ochroma pyramidale* es una especie con alto potencial restaurador y se adapta fácilmente en áreas perturbadas; sin embargo, la germinación de la semilla se ve afectada por ser ortodoxa y experimentar latencia.

Vacío de conocimiento: variación de la capacidad germinativa entre distintos tratamientos y condiciones ambientales.

Propósito del estudio: evaluar el porcentaje de germinación de semillas de *O. pyramidale* por medio de diferentes métodos de escarificación química.

Metodología: se aplicó un diseño experimental de tres bloques, tres repeticiones y 15 unidades de ensayos. Los tratamientos fueron: T1 (agua caliente a 80°C), T2 (NaClO al 0,5%), T3 (NaClO al 1,0%), T4 (NaClO al 2,0%), T5 (HCl al 1%).

Resultados y conclusiones: la germinación de semillas de *O. pyramidale* en todos los tratamientos inició al cuarto día después de la siembra con algunas diferencias de semillas germinadas entre tratamiento con respecto al primer día de germinación con algunas variaciones entre tratamientos. El mayor porcentaje de germinación ocurrió en el tratamiento 1

DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3727>

(T1) con 88 semillas (59%), seguido del tratamiento 2 (T2) con 65 (43%). El tratamiento 1 (agua 80°C) tuvo mayor influencia en la germinación de semillas de *O. pyramidale*. Por lo tanto, se concluyen que los tratamientos por ebullición no solo contribuyen en el incremento de la germinación, sino que además las semillas logran mayor velocidad germinativa.

Palabras clave: escarificación química, semillas, germinación, latencia.

ABSTRACT

Introduction: *Ochroma pyramidale* is a species with high restorative potential and adapts easily in disturbed areas; however, seed germination is affected by being orthodox and experiencing dormancy.

Knowledge gaps: Variation in germination capacity between different treatments and different environmental conditions.

Purpose: To evaluate the germination percentage of *O. pyramidale* seeds by means of

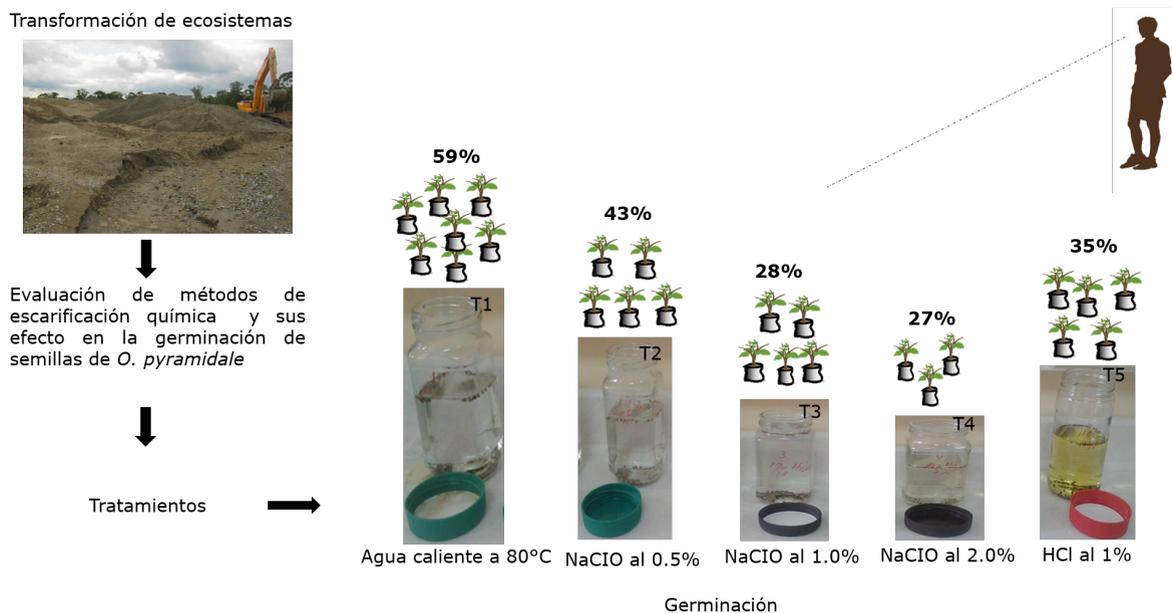
different chemical scarification methods.

Methodology: An experimental design of three blocks, three replicates and 15 test units was applied. The treatments were: T1 (hot water at 80°C), T2 (0.5% NaClO), T3 (1.0% NaClO), T4 (2.0% NaClO), T5 (1% HCl).

Results and conclusions: Germination of *O. pyramidale* seeds in all treatments started on the fourth day after sowing with some differences in germinated seeds between treatments with respect to the first day of germination with some variations between treatments. The highest percentage of germination occurred in treatment 1 (T1) with 88 seeds (59%), followed by treatment 2 (T2) with 65 (43%). Treatment 1 (water 80°C) had the greatest influence on the germination of *O. pyramidale* seeds. Therefore, boiling treatments not only contributed to increase germination, but also the seeds achieved a higher germination rate.

Keywords: chemical scarification, seeds, germination, dormancy.

RESUMEN GRÁFICO



Fuente: autores

1. INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas tropicales alojan la mayor diversidad biológica del planeta en casi todas las formas de vida (Gentry, 1988; Gaston, 2000; Hartshorn, 2002). La gran diversidad se debe a condiciones geográficas, ambientales y complejidad ecológica (Duivenvoorden, 1995; Gentry, 1998; Hartshorn, 2002). Por esto, la variedad de especies vegetales y animales que albergan estos ecosistemas favorecen el sostenimiento de la vida (Galeano, 2000; Hartshorn, 2002). A nivel global los ecosistemas naturales están siendo amenazados por actividades antrópicas de tipo extractivista (Patnaik, 2018; Agus et al., 2020), como deforestación, ganadería, minería y asentamiento humano, las cuales implican cambio de uso del suelo (Etter et al., 2008; Shi et al., 2009; Agus et al., 2020). Estas actividades generan transformación del paisaje, pérdida de servicios ecosistémicos y contaminación (Marrugo-Negrete et al., 2015b; Valois-Cuesta & Martínez-Ruiz, 2016; Patnaik, 2018). Esta problemática despierta interés por el desarrollo de investigaciones enfocadas a demostrar los efectos de actividades económicas sobre el ambiente y sus componentes, como también proponer alternativas de gestión (Shi et al., 2009; Marrugo-Negrete et al., 2015b; Valois-Cuesta & Martínez-Ruiz, 2016; Palacios-Torres et al., 2018).

Una alternativa de mitigación ha sido y sigue siendo la recuperación de ecosistemas a través de especies forestales con potencial restaurador (Marenco et al., 2003); sin embargo, existen especies que tienen semillas ortodoxas, es decir, tiene cubierta dura lo cual dificulta la aceleración de su germinación tal como ocurre con *O. pyramidale* (Herrera & Alizaga, 1999). *O. pyramidale* ha sido objeto de múltiples estudios debido a su importancia ecológica y su potencial para recuperar áreas degradadas (Whitmore & Wool-Khoun, 1983; Toledo-González et al., 2019). Tiene amplia distribución

geográfica que va desde las Antillas, suroeste de México, Ecuador, Colombia, Brasil y Bolivia (Sandi & Flores, 2010) y es pionera e indicadora de paisajes degradados y recién perturbado (Whitmore & Wooi-Khoun, 1983; Marenco et al., 2003).

Muchos de los estudios han estado enfocados a probar diferentes métodos para acelerar la germinación con el propósito de elegir y proponer el método más apropiado para facilitar procesos de restauración (Whitmore & Wooi-Khoun, 1983; Toledo-González et al., 2019). Los principales métodos empleados para la germinación de semillas de *O. pyramidale* han sido el físico (agua a 80°C) y químico (ácido sulfúrico) (Herrera & Alizaga, 1999). Adicionalmente, dentro de los métodos pre-germinativos más utilizados son el físico que consiste en raspar o lijar la semilla, y biológico el cual consiste en remojar las semillas en agua (Carmacho et al., 2018). En cuanto a la efectividad de los métodos, la mayoría de los estudios documentan que por medio de métodos físicos a temperatura > 60°C se logran porcentajes de germinación entre el 64 (Herrera & Alizaga, 1999) y 68% (Toledo-González et al., 2019). Este interés se debe en gran parte a que la semilla por ser ortodoxa y tener latencia física, presenta dificultad de germinación (Herrera & Alizaga, 1999; Jiménez et al., 2017).

A pesar de las múltiples investigaciones que existen sobre el tema, aún se requiere información sobre la variación de la capacidad germinativa en distintos tratamientos y bajo diferentes condiciones ambientales (Espitia et al., 2016; Toledo-González et al., 2019). Este estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de diferentes métodos de escarificación química en la germinación de semillas de *O. pyramidale* aplicando cinco tratamientos: T1 (agua caliente a 80°C), T2 (hipoclorito de sodio NaClO

0,5%), T3 (hipoclorito de sodio NaClO 1,0%), T4 (hipoclorito de sodio NaClO 2,0%) y T5 (ácido clorhídrico HCl al 1%). Particularmente, el estudio experimental responde a la necesidad de generar información útil para la toma de decisión en torno a la recuperación ambiental.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se realizó en el municipio de Quibdó capital del departamento del Chocó, Colombia.

Quibdó se ubica geográficamente 5°41'32" N y 76°39'29" O (Figura 1) y ecológicamente corresponde a las zonas de vida de bosque muy húmedo tropical (bmh- T) y bosque pluvial tropical (pb-T). Se caracterizan por altas precipitaciones y temperaturas superiores a 24°C (Holdridge, 1967). Se registran precipitaciones entre 5.000 y 10.000 mm al año. Una evaporación media variada durante el año. Los meses de mayor evaporación son abril (140,2 mm) y septiembre (146,3 mm) (Gómez & Cadena, 2018).

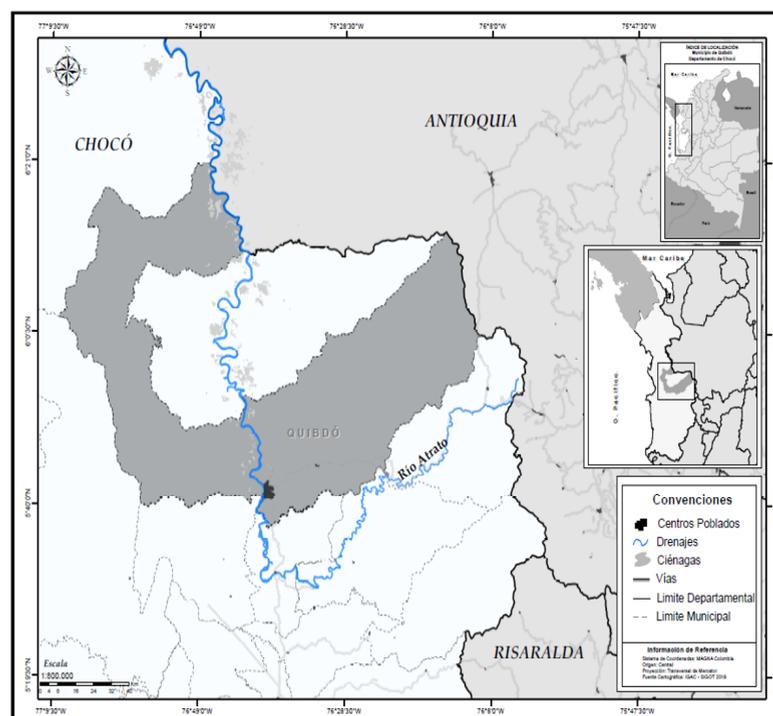


Figura 1. Ubicación geográfica del área de estudio.

Fuente: Elaborado por el Geógrafo Juan Camilo Ospino Contreras.

Método

Se aplicó un diseño de tres bloques completamente aleatorio y tres repeticiones. El estudio se realizó mediante cinco fases descritas a continuación en la figura 2. La fase 1 consistió en la adquisición de las semillas. Se obtuvieron semillas certificadas de la tienda agro SEMICOL S.A.S, Bogotá. En la fase 2, se construyó un vivero con techo de plástico temporal

de 5,25m² con dimensiones de 3,5 m de largo por 1,5 m de ancho, en el cual se establecieron tres bloques de 1m de ancho por 1m largo.

En la fase 3, se desarrolló el proceso de escarificación química aplicando cinco tratamientos (T1, T2, T3, T4, T5) en el laboratorio del grupo de investigación "Sistemas Productivos de la Universidad Tecnológica del Chocó".

El T1 consistió en someter las semillas en agua caliente a 80°C hasta enfriar. Después, se dejaron en remojo con agua a temperatura ambiente durante dos días cambiándoles el agua diariamente. T2 se remojaron en solución de hipoclorito de sodio NaClO al 0,5% durante 15 minutos. Luego se vertió la solución junto con las semillas sobre un colador de malla de alambre y se lavó con agua hasta que el olor a cloro desapareciera. Posteriormente, se colocaron en remojo con agua expuestas a temperatura

ambiente durante dos días. En el T3 y T4 se aplicó el mismo procedimiento con la diferencia de concentración NaClO al 1,0% por 15 min y NaClO al 2,0% por 15 min respectivamente. Por último, en el T5 las semillas se remojaron en ácido clorhídrico HCl al 1% durante 1 minuto. Se vertió la solución junto con las semillas sobre un colador de malla de alambre y se lavó con agua hasta que el olor a cloro desapareciera. Luego se pusieron en remojo con agua a temperatura ambiente durante dos días.

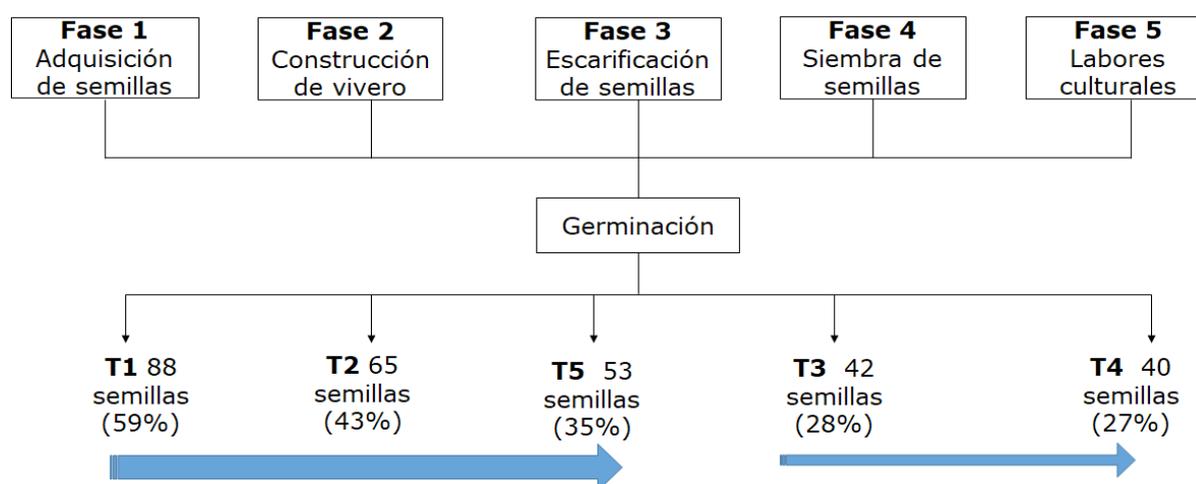


Figura 2. Metodología del ensayo. Las flechas en color azul indican los porcentajes de mayor a menor en función a los tratamientos aplicados.

Fuente: Autores.

La fase 4 consistió en la siembra de semillas. En cada tratamiento se sembraron 50 semillas y 250 en cada bloque para un total de 750 semillas. Las distancias de siembra fueron de

2 cm entre semilla y 2 cm entre surco dando como resultado de 15 unidades experimentales (Figura 3). Se utilizó como único sustrato arena sencilla desinfectada con agua caliente.

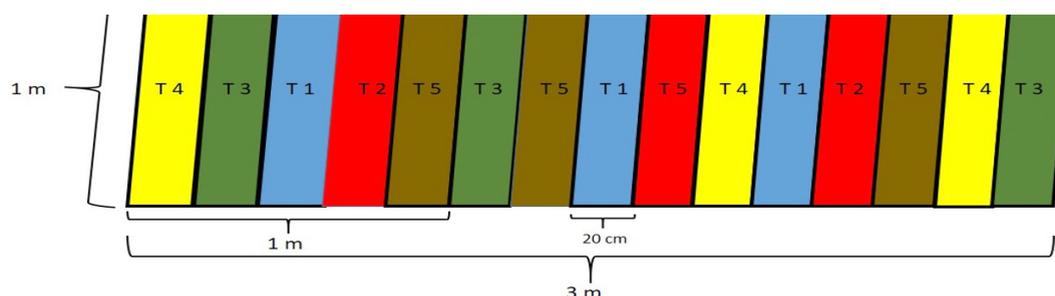


Figura 3. Representación gráfica del diseño experimental utilizado.

Fuente: Autores.

La fase 5 consistió en desarrollar actividades diarias de monitoreo y control (Figura 4). El monitoreo de la germinación se realizó todos los días a las 4:00 pm durante 30 días. Las variables evaluadas fueron germinación, supervivencia y vigor de semillas. Para cuantificar el porcentaje de germinación se aplicó la ecuación 1, y para el vigor de semillas la ecuación 2.

Germinación

(1): $PG = (SG/SS) * 100$ donde PG (porcentaje de germinación), SG (semillas germinadas) y SS (semillas sembradas).

Vigor germinativo

(2): $VG = VM * GDM$, donde VM es el valor máximo o pico que se presenta entre los valores de germinación y se obtienen dividiendo porcentaje acumulado de germinación y la cantidad de días que se tarda la germinación; y GDM es la germinación media diaria calculada como la razón entre el porcentaje final de germinación y el número de días transcurridos para llegar el porcentaje final. En síntesis, el vigor es un valor compuesto único que refleja en un solo valor los cambios en el pico de germinación, la germinación total y la velocidad de germinación de las semillas (Czabator, 1962).



Figura 4. (A) Lote de semillas, (B) aplicación de tratamientos, (C) adecuación de vivero, (D) inicios de la germinación de semillas de *O. pyramidale*

Análisis de datos

Una vez que se verificara que los datos cumplieran el supuesto de normalidad, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) ajustado a un modelo de efectos mixtos a un nivel de confianza de 0.05. Este modelo explica las variaciones y efectos de una variable en el tiempo, y determina diferencias entre variables. Los tratamientos y bloques se codificaron como efectos fijos, donde los bloques fueron denominados como

replicas quedando el modelo de la siguiente manera (porcentaje de germinación vs tratamientos, replicas). Adicionalmente, los datos del valor máximo o pico de germinación acumulada se trataron con un ANOVA de un factor para determinar diferencia entre tratamientos en función a la velocidad máxima de germinación. Los datos se reportan como media más desviación estándar. Para ambas pruebas se utilizó el paquete estadístico Minitab versión 19.1.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

Germinación

La germinación de semillas de *O. pyramidale* en todos los tratamientos inició al cuarto día después de la siembra con algunas diferencias de semillas germinadas entre tratamiento con respecto al primer día de germinación. Por ejemplo, en los tratamientos T2 y T5 del bloque 1, al primer día de inicio germinaron 15 y 12 respectivamente, mientras que en el T1 del bloque 3 fueron 26 semillas. Por el contrario, en el T5 del

bloque 2, la germinación inicio al quinto día, T3 bloque 3 al quinto día, y T4 bloque 3 al séptimo día. Adicionalmente, se observó germinación hasta los 30 días de observación.

El porcentaje de germinación media diaria por tratamiento fue mayor en el T1 (4,4%) y T2 (3,2%). Mientras que en el T3 (2,4%), T4 (1,7%) y T5 (2,7%). Finalmente, el mayor porcentaje de germinación general ocurrió en el tratamiento uno (T1) con 88 semillas (59%), seguido del tratamiento dos (T2) con 65 (43%), T3 42 (28%), T4 40 (27%) y T5 35 (35%) (Figura 5, Tabla 1).

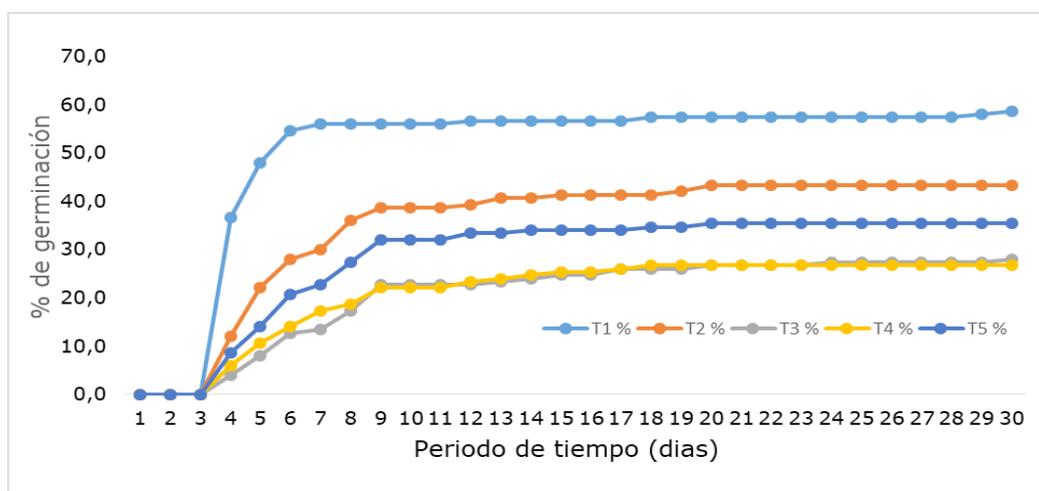


Figura 5. Porcentaje de germinación acumulado.

Fuente: Autores.

Tabla 1. Comparación del porcentaje de germinación acumulado diario.

Tratamientos	Media	Agrupación*
I	3,849	A
II	2,45	B
V	1,948	Bc
IV	1,42	C
III	1,356	C

*Las medias que no comparte una letra son significativamente diferentes con P-Valor <0.05.

Fuente: Autores.

En cuanto al tiempo medio de germinación (TMG) en el T4 y T3 las semillas alcanzaron la mayor velocidad y dispersión de germinación con 9 y 11 semillas respectivamente. En el resto de tratamientos se distribuyó de la siguiente manera: T1 (6 semillas), y T2 y T5 ambos con 7 semillas. El análisis de varianza (ANOVA) indica que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en función al porcentaje de germinación. Es decir, los resultados de la prueba permiten aceptar la hipótesis nula revelando que no existen efectos significativos de los tratamientos sobre la variable de respuestas (porcentaje de germinación de semillas de *O. pyramidale*) (Tabla 2). La desviación estándar estimada del error aleatorio según el modelo fue de 0,182 y $R^2 = 31,62\%$, lo cual indica que el modelo explica el 31,6% de las variaciones de la germinación en los tratamientos.

Tabla 2. Resultados del análisis de varianza para la germinación de semillas de *O. pyramidale* entre tratamientos

Fuente	Varianza	% total	Valor Z	p-valor
Tratamientos	0,0102	23,44%	0,6430	0,260*
Error	0,0333	76,56%	2,2360	
Total	0,0435			

*p > 0.05.

Fuente: Autores.

Vigor germinativo

Los valores de vigor germinativo de las semillas presentaron variaciones entre tratamientos. Los mayores valores en el T1 del bloque dos (55,5), seguido del T5 del bloque uno (33,4) (Tabla 3). Esto indica que, por medio del T1, las semillas de *O. pyramidale* alcanzan

la mayor velocidad, o pico más alto para su germinación. Al mismo tiempo, el efecto es estadísticamente significativo con respecto a los demás tratamientos (Figura 6).

Tabla 3. Vigor germinativo de semillas de *O. pyramidale* por tratamiento durante los 30 días de observación. VM (valor máximo o pico de germinación), GMD (germinación media diaria), VG (vigor de germinación)

Tratamientos	Bloques	VM	GMD	VG
T1	1	1,3	0,9	1,2
T2		4,9	6,8	32,9
T3		4,3	4,0	17,3
T4		3,0	2,9	8,8
T5		5,6	6,0	33,4
T1	2	5,7	9,7	55,5
T2		2,1	2,2	4,7
T3		4,4	3,1	13,8
T4		2,4	2,0	4,7
T5		2,2	1,4	3,2
T1	3	0,8	2,7	2,1
T2		1,2	0,6	0,7
T3		0,8	0,2	0,2
T4		1,3	0,1	0,2
T5		1,2	0,6	0,7

Fuente: Autores.

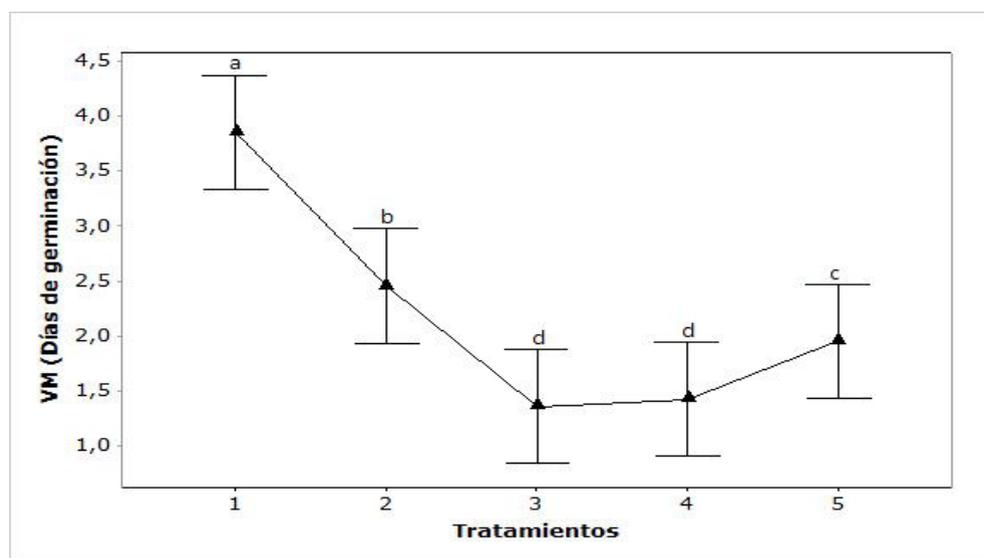


Figura 6. Análisis germinativo en función al valor o pico máximo de germinación de semillas de *O. pyramidale* a los cuatro días. T1 ($3,84 \pm 2,62$; $P < 0,001$), T2 ($2,45 \pm 1,29$), T3 ($1,35 \pm 0,63$), T4 ($1,42 \pm 0,68$) y T5 ($1,94 \pm 0,98$)

Discusión

Los hallazgos de este ensayo demuestran que el método físico (agua caliente) ejerce mayor efecto en la germinación de las semillas de *O. pyramidale*. La germinación ocurrió al cuarto día después de la siembra en todos los tratamientos con algunas diferencias en cuanto al número de semillas germinadas entre tratamientos. Estos resultados son similares a los reportados por Camacho et al., (2018) quienes reportan la germinación en todos los tratamientos (sin alteración, semillas en remojo durante 6 horas e incisión) a los cuatro días después de la siembra. En contraste, difieren con Rojas-Rodríguez & Torres-Córdoba, (2009) y Ríos-García et al., (2016) quienes indica que la germinación ocurre a los ocho días posterior a la siembra.

El mayor porcentaje (59%) se observó en el T1 (agua 80°C). Lo cual coincide con lo reportado por Herrera & Alizaga, (1999) quien evalúa varios tratamientos (ácido giberélico 0, 100, 200 y 300mg/L, y nitrato de potasio 0,0,4, 0,8 y 1,2mg/L, agua a 80°C (0, 1, 2, y 3

minutos), y a 40°C (0, 24, 48 y 72 horas) obteniendo el 68% de germinación por medio de tratamientos por ebullición, siendo este el mayor porcentaje obtenido en comparación con el resto de tratamientos. Toledo-González et al., (2019) observan entre siete tratamientos, porcentajes entre el 62 y 69% en tratamientos que incluyeron agua caliente (100°C) con diferentes tiempos de exposición (tres y diez segundos) siendo los mayores porcentajes con diferencias estadísticamente significativas con respecto a los demás tratamientos evaluados. Por su parte, Rojas-Rodríguez & Torres-Córdoba, (2009) indican que aunque los porcentajes de germinación de *O. pyramidale* varíen entre 60 y 84%, pueden verse afectados por la calidad de la semilla.

Otras observaciones como las de Jiménez et al., (2017) informan que, a 80°C con exposición durante tres minutos, el porcentaje se ubica en un 8,76% y 19,14% cuando las semillas se exponen a 100°C por 15 segundos. Al contrario, Toledo-González et al., (2019) señalan que a 100°C tres segundos el porcentaje se

ubica en un 64%. Adicionalmente, la impermeabilidad de la cubierta, factores intrínsecos como agua, gases, tipo de sustrato y luz también pueden tener influencia en las variaciones de germinación Figueroa & Jaksic, (2004); Rojas-Rodríguez & Torres-Córdoba, (2009) y Jiménez et al., (2017).

Por consiguiente, Herrera & Alizaga, (1999) y Toledo-González et al., (2019) confirman que los tratamientos por ebullición facilitan el rompimiento de la testa de la semilla como resultado del impacto de la temperatura, lo cual favorece positivamente la germinación. Adicionalmente, es posible que el enriquecimiento de sustrato con polvillo de coco combinado con agrolita 1:2, perlita y vermiculita 70:20:10 aumente la probabilidad de obtener altos porcentajes germinativos de semillas de *O. pyramidale* y de otras especies forestales debido al contenido de nutrientes y citocinas Ayala-Sierra & Valdez-Aguilar, (2008); Patiño et al., (2011); Ríos-García et al., (2016) y Toledo-González et al., (2019). Adicionalmente y aunque el tiempo y condición de almacenamiento no fueron objeto de estudio, Zalamea et al., (2015) señalan que el periodo y condiciones de almacenamiento pueden afectar de alguna manera la proporción de semillas de *O. pyramidale*. Por lo tanto, Espitia et al., (2016) sugieren que las condiciones y tiempo de almacenamiento pueden ser factores importantes en los procesos de germinación de semillas forestales (*Cedrela odorata*, *Cariniana pyriformis*, *Anacardium excelsum*, *Bombacopsis quinata* y *Schizolobium parahybum*). Por lo tanto, Ríos García et al., (2018) informan que, en especies como *Cochlospermum vitifolium*, y *Quararibea funebris* a cero meses de almacenamiento se logran porcentajes del 99,6% de germinación, mientras que a los 12 meses del 71,3%.

En definitivas, el efecto de los tratamientos por ebullición sobre la germinación de semillas forestales puede variar en función a las características naturales de la especie. Por ejemplo, en semillas de algarrobo (*Hymenaea courbaril* L.), a 80°C y cinco minutos se muestra un porcentaje del 20%. Por contrario, con ácido clorhídrico HCl al 98% (cinco y diez minutos) y ácido sulfúrico H₂SO₄ 98% (diez minutos) se logra hasta un 90% de germinación (Orozco-Cardona et al., 2010), guayacán (*Guaiaecum coulteri* A.) con agua a 60°C diez minutos (51,1%) (Sánchez-Soto et al., 2017). En contraste, en el abarco (*Cariniana pyriformis* Miers) bajo inmersión en agua a temperatura ambiente durante 24 horas se obtiene un 29,1% (Pinilla et al., 2016).

4. CONCLUSIONES

El 59% de la germinación de semillas de *O. pyramidale* se obtuvo por medio del tratamiento por ebullición (agua 80°C) siendo el mayor porcentaje, en comparación con el resto de tratamiento. Los tratamientos por ebullición pueden ser la mejor elección para acelerar los procesos de germinación de semillas de *O. pyramidale*. Esto posiblemente se deba a la influencia de la temperatura en el rompimiento de la testa de la semilla. Además, este estudio demuestra que el efecto de los tratamientos por ebullición no solo contribuye al incremento de la germinación, sino que, además las semillas logran mayor velocidad germinativa, lo cual es una buena señal a la hora de tomar de decisiones rápidas relacionadas con procesos de recuperación ambiental.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

Primer autor: metodología, investigación, conceptualización, análisis de información, **Segundo autor:** análisis de datos, escritura – revisión y edición. **Tercer autor:** investigación,

análisis de información. **Cuarto autor:** logística, supervisión y adquisición de recursos. **Quinto autor:** revisión, conceptualización y escritura.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al grupo de investigación en Sistemas Productivos de la Universidad Tecnológica del Chocó y al grupo de investigación Institucionalidad y Desarrollo Rural de la Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá. También agradecen a los revisores ya que sus comentarios y sugerencias contribuyeron a mejorar sustancialmente el manuscrito.

LITERATURA CITADA

- Agus, C., Ilfana, Z. R., Azmi, F. F., Rachmanadi, D., Widiyatno, Wulandari, D., Santosa, P. B., Harun, M. K., Yuwati, T. W., & Lestari, T. (2020). The effect of tropical peat land-use changes on plant diversity and soil properties. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 17(3), 1703–1712. <https://doi.org/10.1007/s13762-019-02579-x>
- Ayala-Sierra, A., & Valdez-Aguilar, L. A. (2008). El polvo de coco como sustrato alternativo para la obtención de plantas ornamentales para trasplante. *Revista Chapingo, Serie Horticultura*, 14(2), 161–167. <https://doi.org/10.5154/rchsh.2006.04.018>
- Camacho, R., Odelanti, M., Garcia, D., Merino, P., & Loor, W. (2018). Aceleración de la germinación de semillas de balsa (*Ochroma pyramidale*) por medio de métodos físicos y biológicos Acceleration. *UTCiencias*, 5(3), 207–213.
- Czabator, F. (1962). *Germination Value: An index combining speed and completeness of pine seed germination*. 8(4), 386–396. <https://doi.org/10.1093/forestscience/8.4.386>
- Espitia, M., Cardona, C., & Araméndiz, H. (2016). Pruebas de germinación de semillas de forestales nativos de Córdoba, Colombia, en laboratorio y casa-malla. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 19(2), 307–315. <https://doi.org/10.31910/rudca.v19.n2.2016.84>
- Etter, A., McAlpine, C., & Possingham, H. (2008). Historical patterns and drivers of landscape change in Colombia since 1500: A regionalized spatial approach. *Annals of the Association of American Geographers*, 98(1), 2–23. <https://doi.org/10.1080/00045600701733911>
- Figueroa, J. A., & Jaksic, F. M. (2004). Latencia y banco de semillas en plantas de la región mediterránea de Chile central. *Revista Chilena de Historia Natural*, 77(1), 201–215. <https://doi.org/10.4067/s0716-078x2004000100016>
- Galeano, G. (2000). Forest use at the Pacific Coast of Choco, Colombia: A quantitative approach. *Economic Botany*, 54(3), 358–376. <https://doi.org/10.1007/BF02864787>
- Gaston, K. J. (2000). Global patterns in biodiversity. *Nature*, 405, 220–227. <https://doi.org/10.1038/35012228>
- Gómez, B., & Cadena, M. (2018). Validación de las fórmulas de evapotranspiración de referencia (ET_o) para Colombia. In *IDEAM-METEO/002*. <http://www.ideam.gov.co/documents/21021/21147/Evapotranspiracion+de+Referencia+ETo+para+Colombia.pdf/12700c18-c492-40cc-8971-46f48f144824>
- Herrera, J., & Alizaga, R. (1999). Ruptura de la latencia en semillas de balsa (*Ochroma pyramidale*). *Tecnología En Marcha*, 13, 34–40.
- Holdridge, L. R. (1967). Life zone ecology. In *Tropical Science Center*. <https://doi.org/Via10.1046/j.1365-2699.1999.00329.x>
- Jiménez, E., Garcías, L., Carranza, M., Carranza, H., Morante, J., Martínez, M., & Cuásquer, J. (2017). Germination and growth of *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb. in Ecuador. *Scientia Agropecuaria*, 8(3), 243–250. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2017.03.07>
- Marenco, R., Gil, G., & Goncalves, J. (2003). Leaf micronutrient concentrations and potential photosynthesis in *Ochroma pyramidale* established in a degraded land. *Acta Amazonica*, 33(1), 23–31. <https://doi.org/10.1590/1809-4392200331031>
- Marrugo-Negrete, J., Pinedo-Hernández, J., & Díez, S. (2015b). Geochemistry of mercury in tropical swamps impacted by gold mining. *Chemosphere*, 134, 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.03.012>
- Orozco-Cardona, A. F., Franco-Herrera, N., & Taborda-Beltrán, L. A. (2010). Evaluación de tres métodos de escarificación en semillas de algarroba (*Hymenaea courbaril* L.). *Revista Universidad Del Quindío*, 9, 36–41.

- Palacios-Torres, Y., Caballero-Gallardo, K., & Olivero-Verbel, J. (2018). Mercury pollution by gold mining in a global biodiversity hotspot, the Choco biogeographic region, Colombia. *Chemosphere*, 193, 421–430. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.160>
- Patiño, C., Mosquera, F., & González, R. (2011). Efecto inductor del agua de coco sobre la germinación de semillas y brotamiento de los cormos de la hierba de la equis *Dracontium graymianum*. *Acta Biologica Colombiana*, 16(1), 133–142.
- Patnaik, R. (2018). Impact of Industrialization on Environment and Sustainable Solutions - Reflections from a South Indian Region. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 120(1), 0–8. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/120/1/012016>
- Pico, Y., Belenguer, V., Corcellas, C., Diaz-Cruz, M. S., Eljarrat, E., Farré, M., Gago-Ferrero, P., Huerta, B., Navarro-Ortega, A., Petrovic, M., Rodríguez-Mozaz, S., Sabater, L., Santín, G., & Barcelo, D. (2019). Contaminants of emerging concern in freshwater fish from four Spanish Rivers. *Science of the Total Environment*, 659, 1186–1198. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.366>
- Pinilla, H., Medina, H., Torres, J., Cordoba, S., Cordoba, J., Mosquera, Y., & Martinez, M. (2016). Propagación y crecimiento inicial del abarco (*Cariniana pyriformis* Miers), utilizando semillas silvestres. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 7, 87–97.
- Ríos-García, C. A., Orantes-García, C., Moreno-Moreno, R. A., & Farrera-Sarmiento, O. (2016). Viabilidad y germinación de semillas de Jopi (*Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb.) (Malvaceae). *Lacandonia*, 10(December), 7–10. https://www.researchgate.net/publication/313746805_Viabilidad_y_germinacion_de_semillas_de_Jopi_Ochroma_pyramidale_Cav_ex_Lam_Urb_Malvaceae
- Ríos García, C. A., Orantes García, C., Moreno Moreno, R. A., & Farrera Sarmiento, Ó. (2018). Efecto del almacenamiento sobre la viabilidad y germinación de dos especies arbóreas tropicales. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 5(13), 103. <https://doi.org/10.19136/era.a5n13.1161>
- Rojas-Rodríguez, F., & Torres-Córdoba, G. (2009). Árboles del Valle Central de Costa Rica: reproducción Grumichama. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 15(37), 70–72. <https://doi.org/10.18845/rfmk.v15i37.3603>
- Sánchez-Soto, B. H., Pacheco-Aispuro, E., Lugo-García, G. A., Reyes-Olivas, Á., & García-Moya, E. (2017). Métodos de escarificación en semillas de *Guaicum coulteri*, especie amenazada del bosque tropical caducifolio del norte de Sinaloa, México. *Gayana - Botánica*, 74(2), 262–268. <https://doi.org/10.4067/S0717-66432017000200262>
- Sandi, C., & Flores, M. (2010). *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb. In A. Vozzo (Ed.), *Manual de semillas de arboles tropicales* (pp. 571–573). <https://rngr.net/publications/manual-de-semillas-de-arboles-tropicales/completo>
- Shi, Z., Chen, L., & Hao, J. (2009). *The effects of land use change on environmental quality in the red soil hilly region, China: A case study in Xianning County*. 295–306. <https://doi.org/10.1007/s10661-008-0231-8>
- Toledo-González, K. A., Levy-Tacher, S. I., Macario-Mendoza, P. A., & de Nova-Vázquez, J. A. (2019). Germination of two varieties of

Ochroma pyramidale (Cav. Ex Lam.) urb. From the Lacandon Jungle, Chiapas. *Revista Chapin-go, Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, 25(1), 85–94. <https://doi.org/10.5154/r.rchs-cfa.2018.06.046>

Valois-Cuesta, H., & Martínez-Ruiz, C. (2016). Vulnerabilidad de los bosques naturales en el chocó biogeográfico colombiano: Actividad minera y conservación de la biodiversidad. *Bosque*, 37(2), 295–305. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002016000200008>

Whitmore, T., & Wooi-Khoon, G. (1983). Growth Analysis of the Seedlings of Balsa, *Ochroma Lagopus*. In *New Phytologist* (Vol. 95, Issue 2, pp. 305–311). <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1983.tb03497.x>

Zalamea, P. C., Sarmiento, C., Elizabeth Arnold, A., Davis, A. S., & Dalling, J. W. (2015). Do soil microbes and abrasion by soil particles influence persistence and loss of physical dormancy in seeds of tropical Pioneers? *Frontiers in Plant Science*, 5(JAN). <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00799>

Conflicto de Intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses



Licencia de Creative Commons

Revista de Investigación Agraria y Ambiental is licensed under a Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional License.

CÓMO CITAR

Volumen 12 (1) año 2021

RIAA (2021a). Revisores Académicos de los artículos publicados en el Volumen 12, Número 1 de la Revista de Investigación Agraria y Ambiental – RIAA, Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD. Ojeda G. & Bonilla M. (Dir. Ed.). Comité Editorial y Científico: Sardans, J., Perfect, E., Bachmann, J., Sobral, A., Figueiredo, E., Domene, X., Gandini, M., Bessa, F., Zúñiga, H., Abanto, C., Rodríguez, S., Bacca, R., Fernández, F., Vargas, J., Jaimes, E., Pulido, M. e-ISSN-2145-6453. Revisor: [nombre], pp 7-8.

ÁREA AGRÍCOLA

Castellanos, L., Torrado, J.M., y Céspedes N. (2021). Alternativas biológicas para el control de *Fusarium oxysporum* en arveja en pamplona, Norte de Santander. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(1), 13 – 28. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3650>

Cardona-Villadiego, C.E., Araméndiz-Tatis, H., Cardona-Ayala, C.E., y Espitia-Camacho, M.M. (2021). Evaluación agronómica y nutricional de ocho líneas de frijol caupí (*Vigna unguiculata [L.] walp.*). *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(1), 29 – 38. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3709>

León, M.D., y Mancheno, M.X. (2021). Actividad antifúngica de compuestos fenólicos de tara (*Caesalpinia spinosa*) frente a *Fusarium graminearum*. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(1), 39 – 50. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3755>

Ramos, E.V., Delgado, Z.Y., y Jiménez, O.D. (2021). Efecto del ácido salicílico en el control de la Septoriosis y su efecto de rendimiento en dos cultivares de trigo. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(1), 51 – 62. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3853>

ÁREA PECUARIA

González, I.M., Castro, F.F., Angarita, F.J., y Rivera-Calderón, L.G. (2021). Utilización de PCR para la identificación de Piroplasmosis equina en un criadero de Jamundí (colombia). *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(1), 63 – 71. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3543>

ÁREA AMBIENTAL

Amaringo, F., y Molina, F. (2021). Evaluación toxicológica del agua y los sedimentos en el embalse La Fe, Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(1), 73 – 87. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3826>

Ararat, M.C., Sanclemente, O.E., y Vergara, L. (2021). Efecto de la dosificación de CO₂ en la cinética de crecimiento de microalgas *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus obliquus*. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(1), 89 – 100. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3482>

Aguirre-Noyola J. L, Romero Ramírez Y, Ruvalcaba Ledezma J. C, Forero Forero A. V, León Rodríguez R, and Toribio Jiménez J (2021). Biosurfactants produced by metal-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from *Zea mays* rhizosphere and compost. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(1), 101 – 112. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3849>

Calvache, D.A., Pejendino, J.C., y Ceballos, A.J. (2021). Estrategias para el mejoramiento de la calidad ambiental en la comuna tres, San Juan de Pasto. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(1), 113 – 132. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3617>

Guerra, A.S., Mena, A.A., Burbano, M.E., Burbano, M.F., y Pardo, L.M. (2021). Estudio del manejo, clasificación y recolección de fitosanitarios en el cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*) en Sibundoy putumayo (Colombia). *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(1), 133 – 152. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3654>

Romero, I.M., Serrato, D., Bernal, R.D., y Cabrera, J. (2021). Evaluación de la exposición ocupacional a ruido en microempresas de madera de la ciudad de Neiva en el 2019. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(1), 153 – 163. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3660>

Ríos-Geovo, V., L, Córdoba-Tovar, L., Ramírez, P.L., Copete, J.H., y Ramos, P.A. (2021). Métodos de escarificación química y sus efectos en la germinación de semillas de *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(1), 165 – 177. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3727>

INSTRUCCIONES PARA AUTORES

La **Revista de Investigación Agraria y Ambiental (RIAA)** es una publicación oficial de la Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente (ECAPMA) de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), destinada a publicar artículos resultado de las investigaciones originales en el área agraria y ambiental y áreas de conocimiento afines.

La Revista de Investigación Agraria y Ambiental (RIAA) y su misión en ser divulgadores de la investigación en áreas agrarias y las otras ciencias involucradas en las que se abarcan en todas las disciplinas dentro de las áreas de las ciencias agrarias y ambientales (OCDE) a través de artículos de investigación, estudios de casos y artículos de revisión resultantes del trabajo de los investigadores nacionales e internacionales.

Proceso de arbitraje de manuscritos

La recepción formal de artículos se hará única y exclusivamente a través de la plataforma de gestión editorial de la revista, Open Journal System – OJS (<http://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/index>).

Nota: aquellos manuscritos que sean remitidos al correo electrónico no serán considerados para iniciar el proceso editorial.

El equipo de gestión editorial realiza la verificación inicial a los manuscritos postulados y revisa que estén orientados a las temáticas de RIAA y conforme a las normas de la publicación. Aquellos que no cumplan con la lista de chequeo inicial serán devueltos al autor.

Los artículos que acaten los lineamientos editoriales establecidos por la revista iniciarán la

fase de asignación de revisores. El equipo editorial seleccionará expertos en el tema para que evalúe el manuscrito bajo la modalidad de doble ciego. Estos expertos serán académicos, especialistas o árbitros *ad hoc* de reconocida credibilidad en el ámbito nacional y/o internacional. Los revisores dictaminarán sobre originalidad, relevancia, pertinencia y contenido y registrarán su decisión en el Formato para concepto de evaluación. En caso de obtener evaluaciones positivas, se le notificará al autor para que incorpore dichas observaciones y continúe dentro del proceso editorial.

Una vez adaptado el artículo, el autor deberá remitirlo nuevamente al equipo editorial, dentro de los plazos establecidos para ello, junto con una comunicación especificando las modificaciones efectuadas y cuáles no, indicando los motivos de la negativa. En caso de que un artículo obtenga un concepto favorable y otro desfavorable, será un integrante el comité editorial y/o científico el encargado de dirimir cualquier controversia y cuyo concepto y recomendación editorial será definitiva. Las decisiones del Comité Editorial son inapelables.

Las correcciones ortográficas en el texto son hechas directamente por el equipo editorial de la revista, sin consultar a los autores, además tiene la autonomía de revisar el documento y compararlo con softwares anti-plagio con miras de asegurar la originalidad del manuscrito, luego de este proceso, el comité emitirá observaciones que el autor debe acatar previo a la evaluación por pares. Sin embargo, una versión final antes de impresión y/o publicación en la página web de la RIAA será enviada a los autores para su aprobación. Se considera

que la versión final es aceptada si el autor no responde en los tiempos estimados.

La recepción de un manuscrito no obliga a la publicación del mismo. La revisión de los manuscritos se hará respetando el derecho de los autores a la confidencialidad en cuanto a la información, resultados y esfuerzo creativo. Así mismo, se respetará el derecho a la confidencialidad de los revisores y editores.

Política de acceso libre

RIAA proporciona acceso público y gratuito a todo su contenido con el fin de promover un mayor intercambio global del conocimiento y fomentar la lectura y citación de los originales publicados. RIAA no tolera ninguna forma de plagio (total, parcial o conceptual). En caso de identificar algún plagio, además de informar al autor el retiro del artículo, buscará advertir a los autores plagiados. RIAA se acoge a lo establecido en la política de plagio de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD).

Política de acceso libre

RIAA proporciona acceso público y gratuito a todo su contenido con el fin de promover un mayor intercambio global del conocimiento y fomentar la lectura y citación de los originales publicados. RIAA no tolera ninguna forma de plagio. (total, parcial o conceptual). En caso de identificar algún plagio, además de informar al autor el retiro del artículo, buscará advertir a los autores plagiados. RIAA se acoge a lo establecido en la política de plagio de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD).

Periodicidad

RIAA es una publicación semestral (enero-junio y julio-diciembre).

Idioma

Los manuscritos enviados pueden estar escritos en español o inglés.

Tipología de manuscritos

La RIAA admite las siguientes tipologías de artículos:

Artículo de investigación: se asocia a la divulgación de productos de investigación en sentido estricto. Su estructura debe contar con:

- Introducción
- Materiales Y Métodos
- Resultados y Discusión
- Conclusiones
- Agradecimientos
- Literatura citada

Artículo de revisión: es la sistematización, análisis y balance de lo investigado sobre un problema en particular y tiene por objeto dar cuenta de sus referentes conceptuales, metodológicos y epistemológicos, además de los avances y tendencias del campo investigado. Se caracteriza por presentar una cuidadosa revisión analítica de por lo menos 50 referencias bibliográficas. Un 60% de la literatura citada debe provenir de investigaciones publicadas en los últimos 4 años.

La estructura que se propone es:

- Introducción
- Planteamiento de la temática
- Recuperación Bibliográfica
(en forma de tablas, pictogramas, mapas conceptuales entre otros)
- Discusión De Los Hallazgos
- Conclusiones
- Agradecimientos
- Literatura Citada

La postulación formal de los artículos de revisión estará sujeta al previo análisis y verificación de la temática y pertinencia del asunto abordado por parte del equipo editorial. En ese sentido, la carta para la solicitud de publicación del artículo de revisión se recibirá de manera inicial a través del correo electrónico de

la revista y una vez cuente con el respectivo aval de los editores, se le solicitará al autor realizar envío a través de OJS para el respectivo proceso editorial.

Artículo de reflexión: es un texto donde el autor presenta resultados de una investigación con una perspectiva analítica, interpretativa y crítica, basado en observaciones o fuentes originales.

Estructura:

- Introducción
- Planteamiento de la temática
- Desarrollo
- Conclusiones
- Agradecimientos
- Literatura citada

Remisión del manuscrito

Como parte del proceso de envío, los autores están obligados a comprobar que su envío cumpla todos los elementos que se muestran a continuación. Se devolverán a los autores aquellos envíos que no cumplan estas directrices.

La Revista de Investigación Agraria y Ambiental se acoge a la cultura de la originalidad para el desarrollo de la producción intelectual de la institución y por esta razón todos los artículos postulados serán sometidos a verificación con la herramienta **Turnitin**. En caso que el informe arroje un % de similitud superior al 30% y no derivarse de un trabajo de grado o tesis de postgrado, el equipo editorial tendrá la autonomía de retirar el artículo del proceso editorial.

Lista de comprobación inicial:

1. El manuscrito es inédito, no se ha publicado previamente, ni está siendo postulado simultáneamente a otra publicación.
2. Cumple con los lineamientos establecidos en las Instrucciones para Autores.

3. Se emplea la plantilla diseñada para la presentación de manuscritos.
4. Se han registrado todos los autores en el envío. Este paso es indispensable para evitar retrasos posteriores en el proceso, edición y publicación del artículo.
5. En el apartado "Comentarios para el editor" tendrá la opción de sugerir 3 posibles evaluadores, con su respectivo nombre, afiliación institucional y correo electrónico.
6. Citas y referencias redactadas según estilo APA.
7. Emplea tesauros para la construcción de palabras clave.

Formato general del documento

- Documento en formato Word
- Tamaño de papel carta (21.5 x 27.9 cm) y márgenes 3 cm superior, 2.5 cm izquierda, 3 cm inferior y 2 cm derecha, a una sola columna.
- Tipo de letra Verdana, tamaño 10.
- Espacio interlineal de 1.15 cm.
- Se recomienda que la extensión de los manuscritos postulados para publicación no exceda las 4000 palabras (incluyendo tablas, figuras y literatura citada), y hasta 6000 palabras para los artículos de revisión (incluyendo tablas, figuras y literatura citada).
- Si tiene figuras que ocupen una página completa (dos cuartillas), le recomendamos que lo coloque como anexo al documento. Esta figura quedará enlazada en el espacio web donde se alojará su artículo y en el caso de la versión impresa se maneja con código QR.

Título y autores

El título no debe exceder 15 palabras. Debe describir el contenido del artículo de manera clara y concisa, evitando el uso de palabras ambiguas, abreviaturas y signos de interrogación y exclamación.

Para cada uno de los autores que aparecen en el encabezado se debe proporcionar: nombre completo, último título académico obtenido o estudios actuales, filiación institucional, ciudad y país, correo electrónico. Omite cargos, grados docentes, nombres de grupo de investigación, reconocimientos, etc.

Resumen

El resumen identifica el objetivo y expone de manera breve la metodología, los resultados y las conclusiones del estudio. No deberá exceder las 350 palabras, tampoco incluir citas bibliográficas o abreviaturas, excepto aquellas que sean ampliamente conocidas. Según sea el idioma original del manuscrito deberá incluirlo en un segundo idioma (inglés y español).

Palabras clave

Se sugiere emplear una lista de cuatro a siete palabras, presentadas en orden alfabético y separadas por punto y coma (;).

No repita palabras que se encuentren en el título. Evite el uso de palabras en plural y frases. Idealmente emplee palabras normalizadas o descriptores del tesoro AGROVOC, UNESCO y que sean aceptadas por bases de datos internacionales.

Resumen gráfico

Es una representación concisa y visual de los principales hallazgos de la investigación. Deberá permitir al lector comprender rápidamente la esencia del artículo e incentivar su lectura.

Será requisito que todos los artículos aceptados incluyan esta imagen.

Tablas y figuras

Las tablas deben explicarse por sí solas y no duplican lo planteado en el texto, sino que lo sustituyen o complementan.

Dentro del texto refiérase a la tabla de la siguiente forma, (Tabla 1). Presente los datos en una tabla real sin líneas y columnas, a espacio sencillo, sin divisiones verticales ni divisiones internas. Se deben utilizar unidades del Sistema Internacional (SI). Las abreviaturas y acrónimos deben ser explicados como notas al pie en cada tabla. En ningún caso se admitirán tablas en formato apaisado.

Un ejemplo de la presentación de una tabla es:

Tabla 1. Ejemplo de la presentación de una tabla

Número de la muestra	Nombre	Apellido	Departamento
M1	Milton	Rodríguez	Cundinamarca
M2	Alberto	Ruiz	Cundinamarca
M3	Ricardo	Cadena	Cundinamarca

Fuente de consulta: adaptado de: XXXXX.

Dentro de la categoría de figuras se incluyen gráficos, imágenes, fotos, y cada una de ellas debe tener su correspondiente leyenda y fuente, en caso de ser de su propia autoría mencionarlo. Las abreviaturas y acrónimos deben ser explicados en la leyenda de la figura. Las figuras deben ser enviadas en formato **.jpg**, **.gif** o **.png** y deben tener la calidad necesaria para su publicación (más de 1024 píxeles). Un ejemplo de figura:

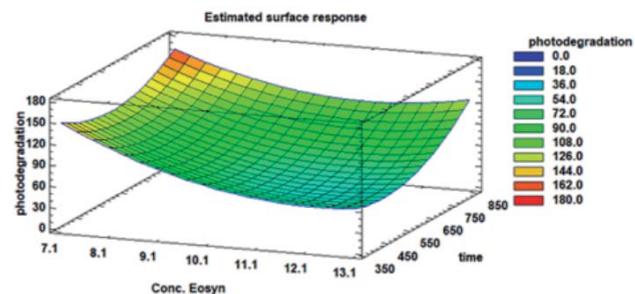


Figura 1. Título de la figura. Leyenda de la figura, el tipo de letra verdana tamaño 9. Fuente de: xx

Ecuaciones

Todas las ecuaciones se enumeran al lado de la misma de la forma ecuación 1 citadas en el texto como (ecuación 1). Las ecuaciones se sugieren que se desarrollen en el editor de ecuaciones de *Microsoft Word* o a través de la aplicación de *Mathtype*.

Contribución de la autoría

En esta sección se explica cuál fue la contribución de cada autor al artículo. Ejemplo: Primer autor: Metodología, investigación, análisis de datos, conceptualización, escritura – borrador original. Segundo autor: Investigación, conceptualización, análisis de datos, escritura – revisión y edición. Tercer autor: Logística, revisión y edición. Cuarto autor: análisis de datos, revisión y edición. Quinto autor: Adquisición de recursos, administrador del proyecto, supervisión, conceptualización, escritura – revisión y edición.

Agradecimientos

Esta sección se utilizará para hacer un reconocimiento a aquellas personas o instituciones que han hecho contribuciones sustanciales al trabajo o han prestado asistencia en la investigación (técnica, financiera, logística, intelectual, entre otras.). Los agradecimientos deben ir como una sección separada después de la discusión y antes de las referencias. Se incluye aquí, las referencias de los proyectos que hicieron posible el estudio.

Literatura citada

Deberán incluirse todas aquellas fuentes o autores que fueron citados en el cuerpo del documento. Nunca deberá referenciarse un autor que no haya sido citado y viceversa. Tenga en cuenta que no se admitirán artículos sin referencias. Un 60% de las citas debe provenir de investigaciones publicadas en los últimos 10 años.

Esta lista se organiza en orden alfabético y sin enumerar, y cada una debe tener sangría francesa. Para la referenciación de números o volúmenes de alguna publicación usar números arábigos y no romanos.

Forma básica:

Apellido, A.A., Apellido, B.B., y Apellido, C. C. (Año). Título del artículo. *Nombre de la revista*, volumen (número), pp-pp.

Solo utilice fuentes electrónicas que correspondan a publicaciones con respaldo institucional, cuyo contenido no pueda ser modificado o eliminado en el futuro. No utilice información proveniente de páginas comerciales o sitios de opinión.

El formato de la literatura citada debe seguir la normas APA, en cuanto a citación de artículos científicos, libros, capítulos de libro, páginas Web, tesis de doctorado, maestría y pregrado, informes, reportes, etc.

Anexos

Si tiene figuras que ocupen una página completa (dos cuartillas) o información adicional relevante del estudio, pero que por su extensión no es posible situarla en el texto principal, le recomendamos que lo coloque como anexo al documento (Anexo 1, Anexo 2, etc.). Esta figura quedará enlazada en el espacio web donde se alojará su artículo y en el caso de la versión impresa se maneja con código QR.

*** Se sugiere que los autores usen la plantilla diseñada para los artículos presentados a la revista: <https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/about/submissions> ***

GUIDE FOR AUTHORS

The Journal of Agrarian and Environmental Research (RIAA) is an official publication of the School of Agricultural, Livestock and Environment Sciences (ECAPMA) of the National Open and Distance University (UNAD), destined to publish articles resulting from the original investigations in the agrarian and environmental area and related areas of knowledge in animal production, agriculture and sustainable use of natural resources. As examples of related areas, mention, among others, Ethics, Ecology, Sociology, Geography, History, Law and Economics, when dealing with perspectives of development, styles of agriculture, agrarian history, development sustainable, of environmental ethics, of agrarian and environmental policy, environmental, forestry and agrarian legislation or of significant and innovative contributions with a systemic, interdisciplinary and / or transdisciplinary vision.

The mission of RIAA is to promote communication and collaboration between national and international researchers through the dissemination and transfer of knowledge related to agricultural sciences and the environment, to strengthen the generation of new knowledge. The subjects in which RIAA publishes its research products are:

1. Agroecology and sustainable production models
2. Animal physiology and nutrition
3. Ethology and animal welfare
4. Land use and management
5. Principles and strategies of environmental management
6. Rural development, Education and Social projection
7. Biotechnology and alternative energies
8. Agroforestry systems, agroforestry, agrobiodiversity
9. Clean technologies
10. Integral management of solid waste
11. Environmental Modeling and risk management
12. Climate change
13. Diagnosis and pollution control
14. Animal and environmental ethics
15. Alternative processes for water treatment.

Article arbitration process

The editor receives the postulated manuscripts for publication and reviews that are oriented to the RIAA themes and in accordance with the publication rules. After this, the originals pass to the Editorial Committee for the appointment of external peers. All originals are submitted to arbitration in the double-blind modality, at least two pairs, which must be academics, specialists or *ad hoc* arbitrators. According to the opinion of the peers (which is recorded in the format for evaluation concept), the authors are requested or not to make major or minor modifications and the adaptation of the originals to the editorial policy of the journal.

In the event that a document presents a favorable and unfavorable concept, it will be sent to a third evaluator whose opinion will be final, with the Editorial Committee in charge of resolving any dispute that may arise with respect to the evaluations, and it is the instance that decides which articles will be published, the decisions of the Editorial Committee are unappealable.

The orthographic corrections in the text are made directly by the editorial Committee of the journal, without consulting the authors, it also has the autonomy to review the document and compare it with anti-plagiarism software in order to ensure the originality of the manuscript, after this process, the committee will issue observations that the author must comply with prior to the peer evaluation.

However, a final version prior to printing and / or publication on the RIAA website will be sent to the authors for approval. It is considered that the final version is accepted if the author does not respond in the estimated times.

The reception of a manuscript does not oblige the publication thereof. The revision of the manuscripts will be done respecting the right of the authors to the confidentiality regarding the information, results and creative effort. Likewise, the right to confidentiality of reviewers and editors will be respected.

Remission of the manuscript

As part of the submission process, authors are required to verify that their submission meets all the elements shown below. Authors who do not comply with these guidelines will be returned to the authors.

Initial checklist:

1. The manuscript is unpublished, it has not been previously published, nor is it being simultaneously submitted to another publication.
2. It complies with the guidelines established in the Instructions for Authors.
3. The template designed for the presentation of manuscripts is used.

4. All authors have been registered in the shipment. This step is essential to avoid further delays in the process, editing and publication of the article.
5. SUGGEST 5 POSSIBLE EVALUATORS with their respective name, affiliation and email. Add the data in the box called "Comments for the EDITOR". If you wish, you can mention the possible evaluators with whom you have a conflict of interest and who do not want you to review your manuscript.
6. references written according to APA style.
7. Use thesauri for the construction of keywords.

Free Access policy

RIAA provides free public access to all its content to promote a greater global exchange of knowledge and encourage the reading and citation of published originals. RIAA does not tolerate any form of plagiarism (total, partial or conceptual). In case of identifying any plagiarism, in addition to informing the author of the withdrawal of the article, it will seek to warn the plagiarized authors. RIAA accepts the provisions of the plagiarism policy of the National Open and Distance University (UNAD).

Frequency

RIAA is a biannual publication (January-June and July-December).

Language

Submitted manuscripts may be written in Spanish or English.

Postulation of manuscripts

The RIAA has several types of articles:

- Research Articles
- Review articles
- Reflexion articles
- working paper

Research articles are associated with the dissemination of research products in the strict sense. This manuscript format should have: introduction, materials and methods, results and discussion, conclusions, acknowledgments and cited Literature.

On the other hand, **the review article** is the systematization, analysis and balance of the research on a problem and aims to account for their conceptual, methodological and epistemological references, in addition to the advances and trends of the field investigated. It is characterized by presenting a careful analytical review of at least 50 bibliographical references. 60% of the cited literature must come from research published in the last 4 years. The structure that must have is: introduction, approach of the subject, bibliographic recovery (in the form of tables, pictograms, conceptual maps among others.), Discussion of the findings, conclusions, acknowledgments and literature cited.

Then the **Reflexion's article** is a text where the author presents results of a research with an analytical, interpretative and critical perspective, based on observations or original sources. Structure: Introduction, Approach of the theme, Development, Conclusions, Acknowledgments and Literature cited.

General format of the document

Document in Word format. Letter paper size (21.5 x 27.9 cm); margins 3 cm upper, 2.5 cm left, 3 cm lower and 2 cm right, to a column. Font Verdana, size 10. Interlinear space of 1.5.

It is recommended that the extension of manuscripts postulated for publication does not exceed 4000 words (including tables, figures and literature cited); 6000 words for review articles.

If you have figures that occupy a complete page (two pages), we recommend that you place it as an annex to the document. This figure will be linked in the web space where your article will be housed and in the case of the printed version, it will be handled with a QR code.

Titles and authors

The title must not exceed 15 words. You must describe the content of the article clearly and concisely, avoiding the use of ambiguous words, abbreviations and question marks and exclamation marks.

For each of the authors that appear in the header, you must provide: full name, last academic degree obtained or current studies, institutional affiliation, city and country, email. Omit charges, teaching degrees, research group names, recognitions, etc.

Tables and figures

The tables must be explained by themselves and do not duplicate what is stated in the text, but replace or complement it.

Within the text refer to the table as follows: (Table 1). Present the data in a real table without lines and columns, in single space, without vertical divisions or internal divisions. International System (SI) units must be used. Abbreviations and acronyms should be explained as footnotes in each table. In no case will tables be allowed in landscape format. An example of the presentation of a table is:

Table 1. Example of the presentation of a table

Number of the sample	Name	surname	Providence
M1	Milton	Rodríguez	Cundinamarca
M2	Alberto	Ruiz	Cundinamarca
M3	Ricardo	Cadena	Cundinamarca

Source: xxxxx

Within the category of figures include graphics, images, photos, and each one of them must have its corresponding legend and source, in case it is of its own authorship to mention it. The abbreviations and acronyms must be explained in the legend of the figure. The figures must be sent in .jpg .gif or .png format and must have the necessary quality for publication (more than 1024pixels).

Equations

All the equations are listed next to it in the equation form 1 cited in the text as (equation 1). The equations are suggested to be developed in the Microsoft Word equation editor or through the Mathtype application.

References and bibliographical citations

All those sources or authors that were cited in the body of the document should be included. An author who has not been cited must never be referenced and vice versa. Keep in mind that articles without references will not be accepted. 60% of citations must come from research published in the last 10 years.

This list is organized in alphabetical order and without enumeration, and each one must have French indentation. For the reference of numbers or volumes of some publication, use Arabic and non-Roman numerals.

Basic form:

Surname, A.A., Surname, B.B., and Surname, C. C. (Year). Article title. *Name of the journal*, volume (number), ##-##.

Only use electronic sources that correspond to publications with institutional support, whose content can not be modified or eliminated in the future. Do not use information from commercial pages or opinion sites.

Format of the cited literature must follow the APA standards, in terms of citation of scientific articles, books, book chapters, Web pages, doctoral, master and undergraduate theses, reports, reports, etc.

Annexes

If you have figures that occupy a full page or additional relevant information from the study, but due to their length it is not possible to place it in the main text, we recommend to place this information as an annex to the document (Annex 1, Annex 2, etc.). This information will be linked to the web space, where your article will be hosted and, in the case of the printed version, it is managed with code QR.

*** It is suggested that the authors use the template designed for the articles submitted to the magazine:

<https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/ria/about/submissions>