



REVISTA DE INVESTIGACIÓN AGRARIA Y AMBIENTAL

Volumen 12 Número 2 – (Julio - Diciembre de 2021)

e-ISSN 2145-6453

ISSN 2145-6097



Revista de Investigación Agraria y Ambiental

Volumen 12 Número 2 – (Julio - Diciembre de 2021) – e-ISSN 2145-6453 - ISSN 2145-6097

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 UNAD

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 CREAFC-SIC
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 - CREAFC.
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 Posgrados, 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: riaa@unad.edu.co

La revista puede consultarse
en su versión electrónica en:

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

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, geografía, 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 legislación 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.



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.



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.



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.

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.



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.



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.



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.



Dialnet es una base de datos de acceso libre, creada por la Universidad de La Rioja (España), que difunde producción científica hispana.



Latindex es un sistema de Información sobre las revistas de investigación científica, técnico-profesionales 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.



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.



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.

6 Indexaciones

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 OAster, 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.



AmeliCA es una infraestructura de comunicación para la publicación académica y la ciencia abierta, sostenida de forma cooperativa y centrada en el modelo de publicación sin fines de lucro para conservar la naturaleza académica y abierta de la comunicación científica. AmeliCA (premio Sparc a la innovación 2019) es impulsada por la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO) y liderada por el Consejo Latinoamericano de Ciencias Sociales (CLACSO), la Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal (Redalyc) y un conjunto de instituciones académicas.



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 cienciométricas (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).



Galardon obtenido por RIAA en el año 2018 como una de las revistas colombianas con mayor visibilidad internacional.

REVISORES ACADÉMICOS

Volumen 12 Número 2, 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.

Adriana María Mesa, Universidad de los Andes, Colombia

Alexander Agudelo, Universidad Nacional de Colombia, Colombia

Ana Cruz Morillo, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Colombia

Ángel Emmanuel Zúñiga, Universidad Nacional Autónoma de México, México

Carlos David Grande, Universidad del Atlántico, Colombia

Carlos Iván Cardozo, Universidad Nacional de Colombia, Colombia

Cintia Celsi, Fundación de Historia Natural Félix de Azara, Universidad Maimónides, Argentina

Daniel Iván Ospina, Universidad Nacional de Colombia, Colombia

David Romero Estévez, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Ecuador

Diana Acosta, Senckenberg Biodiversity and Climate Research Centre (BIK-F), Alemania

Dora Marcela Benítez, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Colombia

Eduardo Vázquez García, Universidad Politécnica de Madrid, España

Elena Peñas Pozo, Consejo Superior de Investigaciones Científicas - CSIC, España

Eliana Marcela Jiménez, Universidad del Valle, Colombia

Erika Andrea Rodríguez, Universidad de Antioquia, Colombia

Esteban Burbano Erazo, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA, Colombia

Gabriela Arrieta Loyo, Universidad Nacional de Colombia, Colombia

Germán Aguilera Arango, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA, Colombia

Guadalupe Virginia Nevárez, Universidad Autónoma de Chihuahua, México

Hermann Rocha Escalante, Universidad Autónoma San Luis Potosí, México

Hugo de Jesús López, Universidad Autónoma de Sinaloa, México

Hugo Ramírez Saad, Universidad Autónoma Metropolitana, México

Iván Andrés Delgado, Universidad de Nariño, Colombia

Iván Javier Pastrana, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA, Colombia

Iván Meléndez Gélvez, Universidad de Pamplona, Colombia

Jarol Ramón Valencia, Universidad de Pamplona, Colombia

Jesús Alfonso Torres, Universidad de La Salle, Colombia

Jesús Geovanny Solarte, Universidad de Nariño, Colombia

Jhonnatan Betancourt, Corporación Universitaria Comfacauca, Colombia

Jorge Andrés Segovia, Universidad Estadual paulista, Brasil

José Luiz Paixão, Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais, Brasil

Josep María Alcañiz, Universidad Autónoma de Barcelona, España

Juan Carlos Copete, Universidad Nacional de Colombia, Colombia

Leonardo Faedo, Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil

Lorena Alejandra Bárbaro, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria da Argentina, Argentina

Lourdes Iveth Macías, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México

Manuel Francisco Polanco, Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Colombia

Manuel Pantoja Guerra, Universidad Popular del Cesar, Colombia

Marlon José Yacometo, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA, Colombia

Martha Olivera Ángel, Universidad de Antioquia, Colombia

Martin Orlando Pulido, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Colombia

Mauricio Peñuela, Pontificia Universidad Javeriana, Colombia

Nasly Yanid Delgado, Universidad del Cauca, Colombia

Nelson Emilio Paz, Corporación Universitaria Comfacaúba, Colombia

Nelson Enrique Arenas, Universidad Antonio Nariño, Colombia

Noé Manuel Montaño, Universidad Autónoma Metropolitana, México

Ramón Liriano González, Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos, Cuba

Ramón Liriano González, Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos, Cuba

Ruth Rebeca Bonilla, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA, Colombia

Sandra Montenegro, Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Colombia

Sarai Agustín Salazar, Universidad de Sonora, México

Silvia Edith Valdés, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, México

Sonia Vázquez Flores, Tecnológico de Monterrey, México

Thabata Cristina Faxina, Universidad do Estado de Santa Catarina, Brasil

Xavier Domene, Universidad Autónoma de Barcelona, España

Zulma Edelmira Rocha, Universidad de Boyacá, Colombia

ÍNDICE

Editorial

Director Editorial – Editor in chief: Gerardo Ojeda
Coeditora - Coeditor: Margarita Bonilla

11

Área Agrícola

1. PROFUNDIDAD DE SIEMBRA Y TAMAÑO DE LAS SEMILLAS: DESARROLLO DE LAS PLÁNTULAS DE FRIJOL MUNGO

SOWING DEPTH AND SEED SIZE ON MUNG BEAN SEEDLING PERFORMANCE

Adriene Vieira de Faria, Eduarda Demari Avrella, Juliana Carolina Alves Horlle,
Claudimar Sidnei Fior, Marília Lazarotto, André Pich Brunes

13

2. INFLUENCE OF SCARIFICATION AND GIBBERELLIC ACID ON SEED DORMANCY AND GERMINATION OF POMEGRANATE SEEDLINGS

*INFLUENCIA DE LA ESCARIFICACIÓN Y EL ÁCIDO GIBERÉLICO EN LA DORMANCIA
Y GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE GRANADA*

Laís Naiara Honorato Monteiro, Antonio Flávio Arruda Ferreira, Gláucia Amorim Faria,
Maria Gabriela Fontanetti Rodrigues, Aparecida Conceição Boliani

25

3. VEGETATIVE GROWTH OF *HYPERICUM PERFORATUM L.* PLANTS TREATED WITH HIGH DYNAMIZED DILUTIONS OVER DIFFERENT GROWING SEASONS

*CRECIMIENTO VEGETATIVO DE PLANTAS DE *HYPERICUM PERFORATUM L.*
TRATADAS CON DILUCIONES ALTAMENTE DINAMIZADAS DURANTE DIFERENTES TEMPORADAS
DE CRECIMIENTO*

Aline Nunes, Daniela Sousa Coelho, Cristian Soldi, Simone Silmara Werner,
Marcelo Maraschin, Pedro Boff, Mari Inês Carissimi Boff

39

4. RESPONSE OF *LUPINUS BRACTEOLARIS* SEEDS TO PRE-GERMINATIVE TREATMENTS AND EXPERIMENTAL CONDITIONS

*RESPOSTA DE SEMENTES DE *Lupinus bracteolaris* a tratamentos pré-germinativos
e condições experimentais*

Luciana Pinto Paim, Eduarda Demari Avrella, Juliana Carolina Alves Horlle,
Claudimar Sidnei Fior, Marília Lazarotto, André Pich Brunes

51

5. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR CON MARCADORES ISSR DE LA COLECCIÓN DE CÍTRICOS DE LA UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS

*MOLECULAR CHARACTERIZATION WITH ISSR MARKERS OF THE CITRUS
COLLECTION FROM THE UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS*

Christian Camilo Castañeda-Cardona, Rogelio Portela-Puerta, Yacenia Morillo-Coronado

67

6. SUELO MINERAL COMO COMPONENTE DE SUSTRATO PARA PLANTAS

MINERAL SOIL AS A COMPONENT OF SUBSTRATE FOR PLANTS

Eduarda Demari Avrella, Luciana Pinto Paim, Marília Tedesco, Gilmar Schafer,
Paulo Vitor Dutra de Souza, Claudimar Sidnei Fior

85

Área Pecuaria

7. RESPUESTA INMUNE EN NEONATOS BOVINOS DE MADRES VACUNADAS Y NO VACUNADAS CON BACTERINA CONTRA NEUMOENTERITIS

IMMUNE RESPONSE IN CALVES BORN TO COWS VACCINATED OR NOT VACCINATED WITH BACTERIN AGAINST NEUMOENTERITIS

María Inés Castrillón Rodríguez, Rómulo Campos Gaona

99

8. CARACTERIZACIÓN DE BLOQUES MULTINUTRICIONALES CON BOVINAZA ENRIQUECIDOS CON UN PREPARADO A BASE DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS

CHARACTERIZATION OF MULTI-NUTRITIONAL BOVINE BLOCKS ENRICHED WITH A PREPARATION BASED ON LACTIC ACID BACTERIA

Henry Yarbey Suarez Romero, Luis Miguel Borrás Sandoval, Carlos Eduardo Rodríguez Molano

115

Área Ambiental

9. ANÁLISIS COMPARATIVO DE EMISIONES DE CO₂ DE UN MOTOR EMPLEANDO DIÉSEL Y BIODIÉSEL

COMPARATIVE ANALYSIS OF CO₂ EMISSIONS OF AN ENGINE USING DIESEL AND BIODIESEL

Carlos A. Ramírez-Velasco, Diego J. Pérez Ortega, Ricardo I. Pereira Martínez, Fabio Andrés Bolaños-Alomía

127

10. IDENTIFICACIÓN Y CLASIFICACIÓN DE SUSTANCIAS QUÍMICAS CANCERÍGENAS EN UNA PLANTA PROCESADORA DE ALIMENTOS CÁRNICOS

IDENTIFICATION AND CLASSIFICATION OF CARCINOGENIC CHEMICAL SUBSTANCES IN A MEAT PROCESSING PLANT

Angela Daniella Arias Daza, Efren Venancio Ramos Cabrera, Zuly Yuliana Delgado Espinosa

147

11. RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL (PGPR): UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA 1990-2019

PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA (PGPR): A SYSTEMATIC REVIEW 1990-2019

Anny M. Posada Castaño, Diana P. Mejía Durango, Diana Polanco-Echeverry, Jaiberth A. Cardona Arias

161

12. PRODUCTOS FARMACÉUTICOS Y DE CUIDADO PERSONAL PRESENTES EN AGUAS SUPERFICIALES, DE CONSUMO HUMANO Y RESIDUALES EN EL DEPARTAMENTO DE CÓRDOBA, COLOMBIA

PHARMACEUTICAL AND PERSONAL CARE PRODUCTS PRESENT IN SURFACE, DRINKING AND WASTEWATER IN THE DEPARTMENT OF CORDOBA, COLOMBIA

Joel Alean Flórez, Daniela Márquez Méndez, Saudith Burgos Núñez, German Enamorado Montes, José Marrugo Negrete

179

13. PROPUESTA CONCEPTUAL PARA LA MITIGACIÓN DE RIESGO POR INUNDACIÓN EN LA UNIDAD DE PLANEAMIENTO ZONAL (UPZ) TIBABUYES, LOCALIDAD DE SUBA

CONCEPTUAL PROPOSAL FOR THE MITIGATION OF FLOODS RISKS IN THE ZONAL PLANNING UNIT TIBABUYES, SUBA LOCALITY

Tatiana Valbuena Villamil, Angie L. Ayala Rodríguez, Didier C. Sierra Flórez, Luz A. Gómez Rodríguez

199

CÓMO CITAR - HOW TO CITE

215

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES – GUIDE FOR AUTHORS

216

**REVISORES ACADÉMICOS -
VOLUMEN 12, NÚMERO 2, 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.

EDITORIAL

Estimados lectores

Hace 1 año, aproximadamente, comenzó esta nueva realidad que vivimos actualmente. La pandemia del COVID-19, sigue vigente. Cada vez estamos mejor adaptados a esta situación y esperamos que pronto podamos obtener una solución a este problema. Entre tanto, los investigadores que nos han seleccionado como medio para difundir su investigación, luchando contra la adversidad, nos han enviado sus trabajos. Nosotros agradecemos profundamente la confianza depositada en nosotros.

Así mismo, agradecemos que aún bajo estas difíciles condiciones, un gran número de investigadores revisaron cuidadosamente cada uno de los artículos que llegaron a nuestras manos y nos ayudaron a seleccionar los artículos que hoy les brindamos a ustedes, nuestros lectores.

Por nuestra parte, desde la Revista de Investigación Agraria y Ambiental – RIAA, seguiremos trabajando fuertemente para mantener una calidad en los contenidos, que nos permita continuar creciendo permanentemente.

En el presente volumen, como es usual, los lectores podrán disfrutar de artículos pertenecientes a las áreas agrícola, pecuaria y ambiental. En el caso del área agrícola, presentamos artículos relacionados con diferentes estudios acerca de la germinación de semillas y crecimiento de plantas en el área agrícola, sobre la respuesta inmune de bovinos y bloques nutricionales en el área pecuaria, y diversos artículos sobre la emisión de CO₂ desde motores, riesgos por inundación en zonas urbanas, compuestos utilizados en la industria cárnica, compuestos industriales liberados en el agua y una revisión sobre rizobacterias en el área ambiental.

Esperamos que los artículos presentados aquí, representen un avance en el conocimiento de las diferentes áreas del saber, incluidas en la revista.

iSaludos cordiales y buenos deseos para lo que resta de año!

Gerardo Ojeda
Editor en jefe – Editor in chief

Margarita Bonilla
Co-editora – Co-editor

PROFUNDIDAD DE SIEMBRA Y TAMAÑO DE LAS SEMILLAS: DESARROLLO DE LAS PLÁNTULAS DE FRIJOL MUNGO

SOWING DEPTH AND SEED SIZE ON MUNG BEAN SEEDLING PERFORMANCE

**¹Adriene Vieira de Faria, ²Kássia de Paula Barbosa, ³Adriana Rodolfo da Costa,
⁴Patricia Costa Silva, ⁵Anaílda Angélica Lana Drumond, ⁶Janaína Borges
de Azevedo França, ⁷Gilzângela Martins Silva**

^{1, 7} Ingeniera Agrícola, Universidad Estadual de Goiás, Unidad Universitaria Santa Helena de Goiás,
Santa Helena de Goiás, Goiás, Brasil. ^{2, 5} Doctor en Ciencias Agrícolas Instituto Federal Goiano, Campus Rio
Verde, Rio Verde, Goiás, Brasil. ^{3, 4} Doctor en Agronomía, Universidad Estadual de Goiás, Unidad
Universitaria Santa Helena de Goiás, Santa Helena de Goiás, Goiás, Brasil.

⁶ Doctor en Ciencias Agrarias, Universidad Estadual de Goiás, Unidad Universitaria de Ipameri, Ipameri, Goiás, Brasil.

¹driicaaxd@gmail.com, ²kassiadepaulabarbosa@hotmail.com,
³adriana.costa@ueg.br, ⁴patricia.costa@ueg.br, ⁵anailda14@yahoo.com.br,
⁶janainaborgesdeazevedofranca@gmail.com, ⁷gilzangela.martins@gmail.com

Citación: Faria, A.V., Barbosa, K.P., Costa, A.R., Silva, P.C., Drumond, A.A., França, J.B., y Silva, G.M. (2021). Profundidad de siembra y tamaño de las semillas: desarrollo de las plántulas de frijol Mungo. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 13 - 24. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3833>

RESUMEN

Contextualización del tema: el frijol mungo es ampliamente cultivado en Asia y en Brasil, y ha surgido como una opción para el cultivo en el segundo cultivo en el Centro Oeste de Brasil, especialmente cuando se pretende la rotación con pastos; sin embargo, la aparición desigual y lenta de las plántulas de frijol mungo puede conducir a retrasos en el desarrollo del cultivo y perjudicar la posición final.

Vacío de investigación: algunas de las condiciones que afectan al establecimiento inicial del cultivo son la profundidad de siembra y el tamaño de la semilla. Estos factores todavía

están siendo discutidos en el entorno científico, especialmente para una cultura recientemente insertada en Brasil.

Propósito del estudio: el objetivo fue evaluar el efecto del tamaño de las semillas y la estandarización de la profundidad de la siembra en el rendimiento de las plántulas de frijol mungo.

Metodología: el ensayo se llevó a cabo en un Latossuelo Rojo, con clima Aw, precipitación media anual de 1300 mm y distribución bimodal. El diseño experimental utilizado fue

completamente aleatorio, en un esquema factorial de 2×3 con 8 réplicas de 25 semillas, con un total de 48 parcelas. Los factores analizados fueron de los tamaños de semilla (3 y 4 mm) y tres profundidades de siembra (1, 2 y 3 cm). Se evaluó el índice de velocidad de emergencia (IVE), las plántulas no emergidas, las plántulas normales, la masa fresca, la masa seca y la longitud de las plántulas. Los datos se sometieron al análisis de varianza y, cuando se aplicaba una probabilidad significativa del 5%, se aplicó una prueba de Tukey para comparar los medios de los factores en estudio.

Resultados y conclusiones: se verificó que, cuando se siembran a 1 cm de profundidad, las semillas de frijol mungo tienen IVE más bajo; sin embargo, obtuvieron un menor porcentaje de plántulas no relevantes para el estudio, y un mayor porcentaje de plántulas normales emergió a una profundidad de 3 cm. Por lo tanto, la profundidad más recomendada para la siembra de frijoles mungo fue de 2 cm, independientemente del tamaño de la semilla utilizada. Lo tamaño de semilla de 4 mm permitió el desarrollo de plántulas con mayor acumulación de materia seca.

Palabras-clave: emergencia de plántulas; índice de velocidad de emergencia; plántulas normales; *Vigna radiata* (L) Wilczek

ABSTRACT

Contextualization: The mung bean is widely cultivated in Asia and Brazil, it has emerged as an option for cultivation in the second crop in the Central West Brazil, especially rotation with grasses is intended; however, the uneven and slow emergence of mung bean seedlings can lead to delays in the development of the crop and impair the final stand.

Knowledge gap: Some of the conditions that affect the initial establishment of the crop are the sowing depth and the size of the seed. These factors are still under discussion in the scientific environment, especially for a culture recently introduced in Brazil.

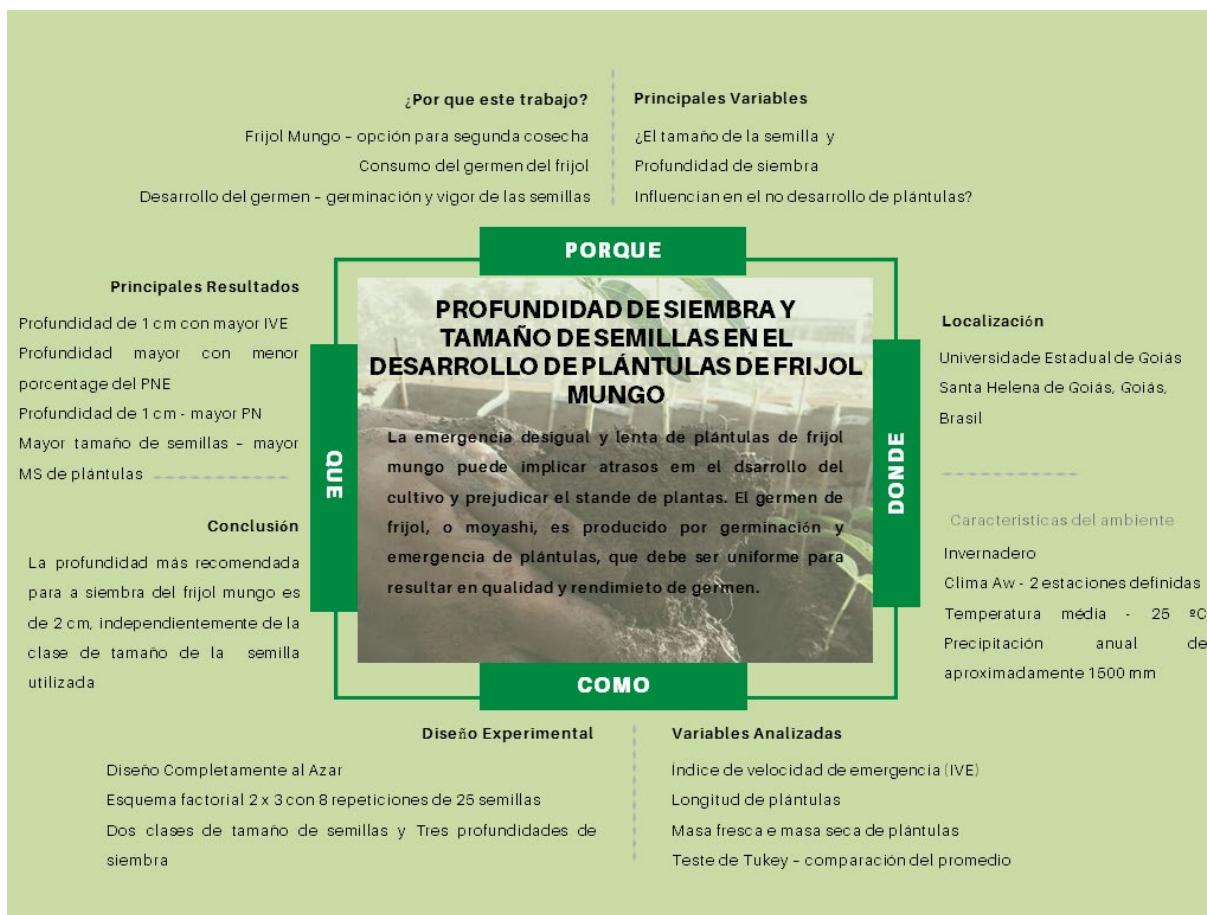
Purpose: the objective was to evaluate the effect of seed size and sowing depth standardization on the performance of mung bean seedlings.

Methodology: The trial was conducted in a Red Latosol, with Aw climate, average annual rainfall of 1300 mm and bimodal distribution. The experimental design used was completely randomized, in a 2×3 factorial scheme with 8 replicates of 25 seeds, totaling 48 plots. The factors analyzed were two seed size (3 and 4 mm) and three sowing depths (1, 2 and 3 cm). The emergency speed index (ISE), non-emerged seedlings, normal seedlings, fresh mass, dry mass and seedling length were evaluated. The data were submitted to variance analysis and, when significant at 5% probability, a Tukey test was applied to compare the means of the factors under study.

Results and conclusions: It was verified that, when sown at 1 cm depth, the seeds of mung bean have lower ISE, however, they obtained a lower percentage of seedlings not relevant for the study, and a higher percentage of normal seedlings emerged than at a depth of 3 cm. Thus, the most recommended depth for the sowing of mung beans was 2 cm, regardless of the size of the seed used. The seed class of 4 mm allowed the development of seedlings with higher dry matter accumulation.

Keywords: Emergency speed index; Normal seedlings; Seedling emergence; *Vigna radiata* (L) Wilczek;

RESUMEN GRÁFICO



Fuente: autores

1. INTRODUCCIÓN

En Brasil, la producción total de frijol en la cosecha 2018/19 fue de 3,02 millones de toneladas, de los cuales 1,88 millones de toneladas son de frijol de colores (*Phaseolus vulgaris L.*), 497 mil toneladas de frijol común negro (*Phaseolus vulgaris L.*) y, 638 mil toneladas de frijol Caupi (*Vigna unguiculata [L.] Walp.*) (Conab, 2019). El frijol es una fuente económica de proteínas, carbohidratos y fibras, además de eso, contiene poca grasa. En la dieta del ser humano se incluye para beneficios nutricionales, especialmente en micronutrientes (Yu-Wei y Wang, 2015).

El frijol Mungo (*Vigna radiata [L.] Wilczek*) es una leguminosa cultivada en muchas regiones

del mundo, especialmente en el continente Asiático (Dikshit et al., 2017). En Brasil, surgió como una buena opción para sembrar en áreas de cultivo de segunda cosecha en diversas regiones del Centro Oeste, especialmente por presentar un ciclo de maduración corto, permitir cosecha mecanizada y ser una opción de exportación para países asiáticos (Farias Neto et al., 2019). Igualmente es una excelente opción en la rotación con pastos, como maíz y trigo (Dahiya et al., 2015). Asociado a lo anterior, aumenta el consumo del brote del frijol, conocido como Moyashi, que posee elevada calidad nutricional (Vieira et al., 2011). El brote es producido por germinación de las semillas y queda listo para consumo de 3 a 7 días

aproximadamente (Silva et al., 2013). El desarrollo del brote depende de la germinación y vigor de las semillas, por eso la calidad debe ser fundamental para garantizar la productividad del frijol mungo (Vieira et al., 2003).

La uniformidad del tamaño de la semilla es una estrategia para mejorar la emergencia de plántulas, dado que las semillas mayores o con mayores densidades pueden poseer un embrión bien formado y mayor cantidad de reserva, lo que hace que sean más vigorosas (Carvalho y Nakagawa, 2012). Steiner et al. (2019) afirmaron que el tamaño de la semilla establece una importante evidencia de calidad fisiológica, pues puede afectar la germinación y el crecimiento de plántulas, especialmente en condiciones estresantes. No obstante, hay evidencia de que puede ocurrir lo opuesto, es decir, que el tamaño de la semilla no afecte el vigor y germinación del frijol común (Mondo et al., 2014).

Otro factor que influye en la emergencia de la plántula es la profundidad de siembra. La profundidad en que se deposita la semilla está ligada directamente a la calidad de la germinación y desarrollo de la planta (Silva et al., 2008). Siembras más profundas, en suelo húmedo y en bajas temperaturas favorecen hongos del suelo, que provocan daños en semillas, además de aumentar el gasto de energía de la plántula paraemerger (Munkvold, 2003). Cuando se siembra en profundidades reducidas, se propicia el ataque de plagas (Jeller y Perez, 1997) o predisponde al estrés térmico y al déficit hídrico, pues la semilla necesita estar cubierta por el suelo húmedo para que el proceso de remojo ocurra (Alves et al., 2014).

No está claro efecto del tamaño de las semillas sobre la calidad fisiológica, especialmente en lo que corresponde al frijol mungo.

Aún hay mucho interés por esclarecer ese cuestionamiento y por obtener conocimiento sobre si existe una relación entre el tamaño y calidad de las semillas, y si esa relación permanece cuando la siembra ocurre en diferentes profundidades. Por esto, existe la necesidad del estudio de nuevas estrategias que se puedan sugerir, especialmente a los pequeños productores. Teniendo en cuenta lo anterior, independientemente del genotipo, el objetivo fue analizar el efecto de la estandarización del tamaño de las semillas y profundidad de siembra en el desarrollo de plántulas de frijol mungo.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la Universidade Estadual de Goiás (Unidad Universitaria Santa Helena de Goiás), en el Sureste Goiano. El área se localizada a 17°48'49" S y 50°35'49" W, a 595 m.s.n.m.. La región posee clima clasificado como Aw, que presenta una estación más seca, no invierno (Alvares et al. 2013). El experimento se realizó en agosto de 2018, período sin precipitaciones en la región, y con temperatura mínima de 20°C y máxima de 32°C. El experimento se llevó a cabo en un área bajo una pantalla de sombra al 50%, en Latossuelo Rojo Distrófico. El agua durante la prueba se suministró mediante microaspersores para mantener la humedad del suelo cerca de la capacidad de campo.

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado, en esquema factorial 2 × 3 con 8 repeticiones de 25 semillas, para un total de 48 porciones. Los factores analizados fueron los tamaños de semillas (3 y 4 mm) y tres profundidades de siembra (1, 2 y 3 cm). Las semillas se clasificaron mediante el cierne con tamices circulares de 3 y 4 mm de diámetro. Se evaluaron las siguientes características:

Índice de velocidad de emergencia (IVE): se observó diariamente la emergencia de las plántulas en un horario definido (entre 9 y 10h de la mañana) hasta su estabilización, de acuerdo con Koch et al. (2015). Se contó el número de plántulas emergidas por día, dividiendo ese número por la cantidad de días transcurridos desde la fecha de siembra; posteriormente, se calculó el índice de velocidad de emergencia de acuerdo con la ecuación 1 propuesta por Maguire (1962).

$$\text{IVE} = (\text{E1}/\text{N1}) + (\text{E2}/\text{N2}) + \dots + (\text{En}/\text{Nn}) \quad (\text{ecuación 1})$$

Donde:

IVE = índice de velocidad de emergencia; E1, E2, ..., En = número de plántulas normales emergidas computadas en el primer conteo, en el segundo conteo y en el último conteo; N1, N2, ..., Nn = número de días de siembra hasta el primer conteo, hasta el segundo conteo y hasta el último conteo.

Se evaluó el porcentaje de emergencia de plántulas normales (PN) al final del análisis del IVE. Se consideraron como plántulas normales aquellas capaces de desarrollarse y originar una planta normal con todas estructuras esenciales bien crecidas, como el sistema de raíz, la parte aérea y las hojas primarias en expansión. Según las Reglas para Análisis de Semillas (RAS) (Brasil, 2009), una plántula normal es aquella que demuestra la capacidad para originar una planta normal; que presente el sistema de raíz vigoroso, la parte aérea bien crecida, número específico de cotiledones, hojas primarias verdes en expansión, yema apical y coleóptilo (Brasil, 2009). Las demás se consideraron plántulas no emergidas (PNE).

Longitud de plántulas (LP): tras la estabilización de la emergencia (eso después de once días de haber sembrado), se analizaron 12 plántulas por sección, se midió la longitud de la parte aérea y raíz, considerando las plántulas normales, y se registraron los resultados en centímetros (cm) (Nakagawa, 1999).

Masa fresca (MF) y masa seca (MS) de plántulas: se utilizaron 12 plántulas normales. Tras la estabilización de la emergencia, estas plántulas se pesaron para adquirir datos de masa fresca. Después, se depositaron las plántulas de cada sección en costales de papel y se llevaron a secar en un invernadero, a una temperatura de 65°C, durante 72 h. Después de este periodo, se pesaron las muestras y se registraron los resultados en g plántula⁻¹, según Nakagawa, (1999).

2.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos en cada variable fueron sometidos a pruebas de normalidad mediante el método de Shapiro-Wilk y de homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene, utilizando el programa estadístico PAST. Después de comprobar los supuestos, se realizó un análisis de varianza asociado con la prueba F y, cuando el nivel de probabilidad fue del 5% ($P<0,05$) se aplicó el test de Tukey ($p<0,05$) con el fin de saber si existían diferencias significativas entre las medias de los factores de tratamiento (profundidad de siembra y tamaño de las semillas) y sus interacciones para cada variable, utilizando el programa estadístico SISVAR (Ferreira, 2011). Adicionalmente, se estudió la relación entre las variables relacionadas con el desarrollo de las plántulas de frijol mungo mediante un análisis de correlación de Pearson a nivel de probabilidad del 5% ($P<0,05$), utilizando el programa estadístico PAST.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 presenta los valores de F provenientes del análisis de varianza para las variables respuestas: Índice de Velocidad de Emergencia (IVE), Plántulas no emergidas (PNE), Plántulas normales (PN), Masa seca (MS), Masa fresca (MF) y longitud de plántula (LP) del frijol Mungo cultivado, en diferentes profundidades

y tamaños de semillas. El factor profundidad presentó diferencias significativas para el IVE, PNE y PN. Sin embargo, el factor del tamaño de las semillas es significativo solo para la MS de las plántulas de frijol mungo. No ocurrió una interacción significativa entre la profundidad de siembra y tamaño de semillas para ninguna de las variables.

Tabla 1. Valores de F para Índice de Velocidad de Emergencia (IVE), Plántulas no emergidas (PNE), Plántulas normales (PN), Masa seca (MS), Masa fresca (MF) y longitud de plántula (LP) de frijol mungo cultivado en diferentes profundidades (P) y tamaño de semillas (C).

Fuente de variación	GL	IVE	PNE	PN	MS	MF	LP
Profundidad (P)	2	7,987**	3,565*	3,565*	0,345 ^{ns}	1,384 ^{ns}	1,39 ^{ns}
Tamaño (T)	1	0,098 ^{ns}	0,040 ^{ns}	0,040 ^{ns}	41,540**	0,77 ^{ns}	0,786 ^{ns}
P x T	2	0,856 ^{ns}	0,499 ^{ns}	0,499 ^{ns}	1,019 ^{ns}	1,302 ^{ns}	1,265 ^{ns}
Residuo	43	-	-	-	-	-	-
CV (%)	-	18,01	26,56	26,56	11,11	9,53	14,40

GL: Grados de Libertad y CV: Coeficiente de Variación. **, *, ^{ns} – Significativo a 1 y a 5% y no significativo, respectivamente, por la prueba de F.

Fuente: Autores.

De acuerdo con la figura 1, las profundidades de 2 y 3 cm no se diferenciaron entre sí, y a profundidad de 1 cm se obtuvo un menor desempeño para IVE. Biezus et al. (2017) evaluaron diferentes cultivares de cuatro grupos comerciales (Cavalo, Jalo, Carioca y Preto) de frijol comunes (*Phaseolus vulgaris* L.) y encontraron que la deposición de la semilla a 2 cm de profundidad, en un Nitossolo-Latosol, es la más adecuada para los grupos comerciales evaluados, y cuando supera los 2 cm, afecta negativamente a la emergencia y el índice de velocidad de emergencia. Estos autores atribuyeron ese decrecimiento a las condiciones

en que se encuentra la semilla, como temperatura, humedad, calor y ataque de plagas. De esta forma, estos resultados concuerdan con los encontrados en este trabajo con frijol Mungo, donde la profundidad de 1 cm expuso las semillas a condiciones de microclima en la superficie del suelo; a esta profundidad, la temperatura y humedad tuvieron mayor incidencia en la planta. Se percibió que, a menor profundidad, el suelo se seca más rápido y queda con menor proporción de agua; esto influye en el proceso de infiltración de agua en el suelo, así como en la temperatura que calienta la camaña del suelo y evapora el agua.

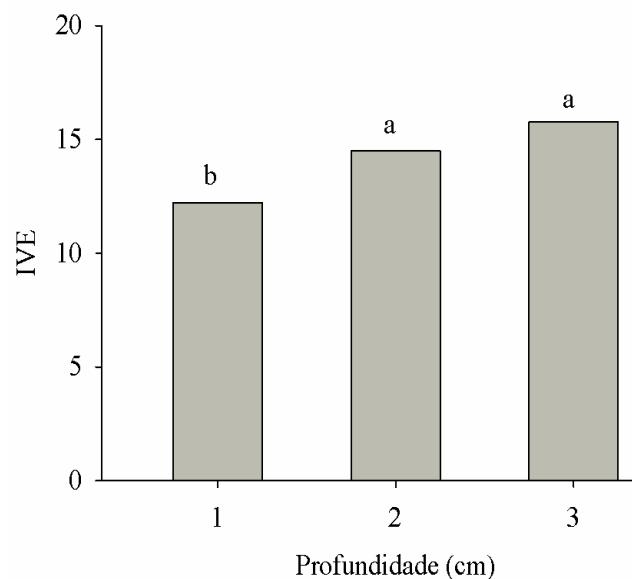


Figura 1. Índice de Velocidad de Emergencia (IVE) de plántulas de frijol Mungo en función de diferentes profundidades de siembra en Latossuelo Rojo. Diferencia mínima significativa (DMS: 2,19). **Fuente:** autores

En la figura 2, se puede percibir que la profundidad de 1 cm produjo un menor porcentaje de plántulas no emergidas en comparación con la profundidad de 3 cm. Este hecho

se puede justificar por el mayor gasto energético que las plántulas sembradas a mayores profundidades tuvieron para llegar a la superficie del suelo.

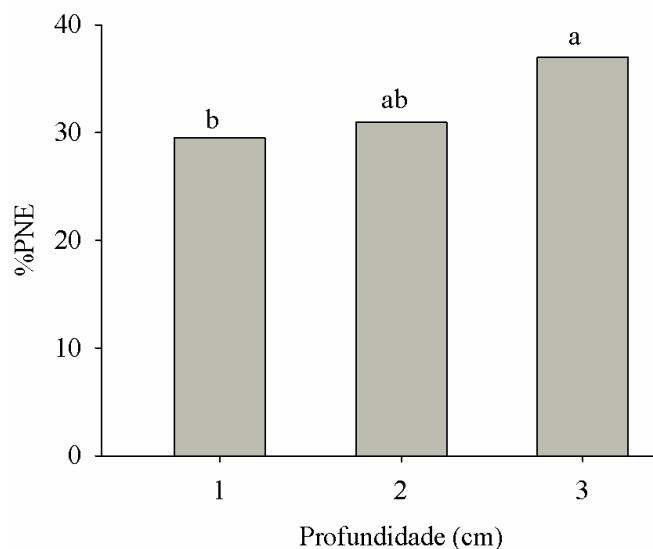


Figura 2. Porcentaje de plántulas no emergidas (PNE) de frijol mungo en función de diferentes profundidades de siembra en Latossuelo Rojo. Diferencia mínima significativa (DMS: 7,39%). **Fuente:** autores

De acuerdo con los resultados registrados en la figura 3, las profundidades de 1 y 2 cm no se diferenciaron entre ellas. No obstante, a 3 cm hubo un menor desempeño para el porcentaje de plántulas normales, comparadas a aquellas sembradas de manera más superficial. Resultados similares para emergencias también fueron encontrados por Pedó et al. (2014), donde se redujo la emergencia de plántulas (PN) con el aumento de la profundidad de siembra de frijoles, atribuyendo esta reducción a la mayor resistencia física impuesta por las capas suelo más denso, lo que proporciona una acción estresante en el desarrollo de la plántula y, consecuentemente, mayor porcentaje de plántulas no emergidas (PNE). Según Biezus et al. (2017), entre mayor sea la capa de suelo que tenga que romper la plántula, aumenta la deposición de semillas debido a que demanda mayor gasto energético de las reservas almacenadas en la semilla; esto afecta negativamente el rápido establecimiento de plántulas en el campo y la uniformidad inicial de las plántulas (Pedó et al., 2014).

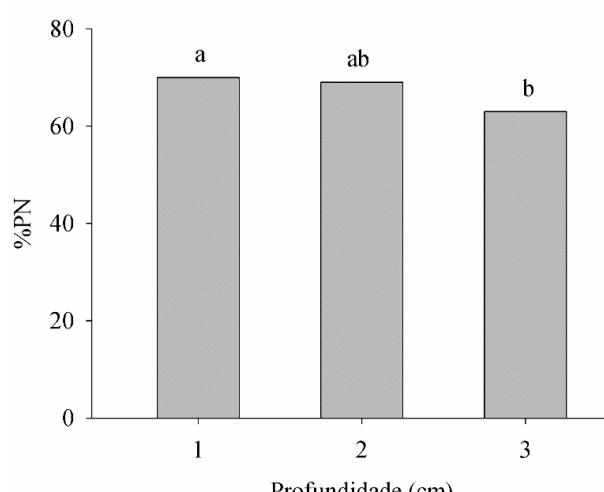


Figura 3. Porcentaje de plántulas normales (PN) de frijol mungo sembradas en diferentes profundidades en Latossuelo Rojo. Diferencia mínima significativa (DMS: 7,39%). **Fuente:** autores

En la figura 4 se puede notar que el mayor tamaño de semilla (4 mm) presentó mejor desempeño en relación a la MS de plántulas de frijol Mungo. Las semillas más grandes o de mayor densidad son aquellas que normalmente tienen embriones bien formados y con mayores cantidades de reservas (Carvalho y Nakagawa, 2012), siendo potencialmente las que producirán plántulas más vigorosas. Carvalho y Nakagawa (2012) describieron que el tamaño de la semilla no siempre afecta la germinación, pero influye en el vigor de la plántula. En consecuencia, las semillas de mayor tamaño generalmente causan un mejor desarrollo en las plántulas; sin embargo, se ha observado que las semillas mayores poseen embriones bien formados y con mayor cantidad de reserva de tejido, por lo tanto, son más vigorosas (Albuquerque et al., 2018); este factor también se observó en el presente trabajo, de acuerdo con lo descrito anteriormente.

Sin embargo, Pereira et al. (2013) afirmaron que, para el cultivo de soya bajo condiciones favorables de humedad, las semillas de mayor tamaño tienen mejor calidad fisiológica y producen plántulas más robustas, en comparación con las semillas de menor tamaño. Perin et al. (2002) observaron que semillas de tres cultivares de frijol de mayor tamaño poseían altura de plantas y biomasa superiores, sugiriendo que las mismas proporcionan un desarrollo inicial más vigoroso. El tamaño de la semilla está ligado a un mayor crecimiento y productividad del cultivo, lo que fomenta procesos metabólicos capaces de garantizar un buen desarrollo de plántulas (Pádua et al., 2010).

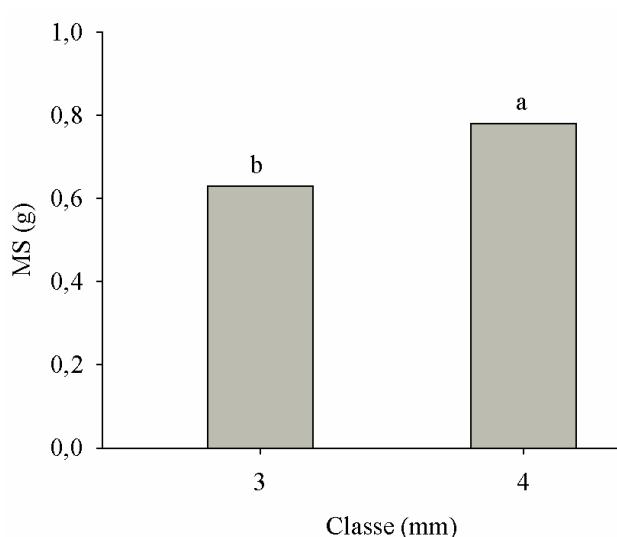


Figura 4. Masa Seca (MS) de Plántulas de frijol mungo en función de diferentes tamaños de semillas (clase). Diferencia mínima significativa (DMS: 0,005 g).

Fuente: autores

Mondo et al. (2014) percibieron que las pruebas de vigor basadas en el crecimiento de plántulas indicaron un probable efecto del tamaño en el desarrollo inicial de las plántulas de frijol a partir de semillas grandes. Pero, de acuerdo con estos autores, el tamaño de las semillas de frijol común no parece afectar la fisiología de la semilla, considerando que independientemente del tamaño, estas presentaron alto poder germinativo; sin embargo, incluso con el mismo poder germinativo, las plántulas de las semillas más grandes (4 mm) mostraron mayor acumulación de masa seca.

La figura 5 muestra las correlaciones de Pearson entre las variables relacionadas con el desarrollo de las plántulas de frijol Mungo. Se percibe una correlación fuerte y positiva entre IVE y PN ($r=0,84$), y una correlación negativa entre el IVE y PNE ($r=-0,84$). Lo anterior muestra que IVE está directamente relacionado con el desarrollo de plántulas normales. La MS de plántulas de frijol Mungo también resultó ser un factor significativo y positivo respecto a las variables IVE ($r=0,41$) y PN ($r=0,36$), pero con menor intensidad. Es decir, las plántulas normales (PN) de frijol Mungo también tuvieron una mayor acumulación de materia seca y un mayor índice de velocidad de emergencia. Es necesario tener en cuenta que estas variables, IVE, PN, PNE y MS, fueron determinantes para diferenciar las profundidades de siembra (Figura 1, 2 y 3) y el tamaño de semillas de frijol mungo (Figura 4).

Amaro et al. (2015) también encontró una correlación significativa entre la masa seca de las plántulas mediante otras pruebas de evaluación la calidad fisiológica de la semilla de frijol común cv. Madrepérola, como IVE, LP, MF. Estos autores sugieren que, por lo tanto, la MS de plántulas es una prueba sensible para diferenciar lotes de semillas, siendo prometedora para evaluar la calidad fisiológica de las semillas de frijol común. De la misma forma, la MS de plántulas es un factor determinante para diferenciar tamaños de semillas de frijol Mungo.

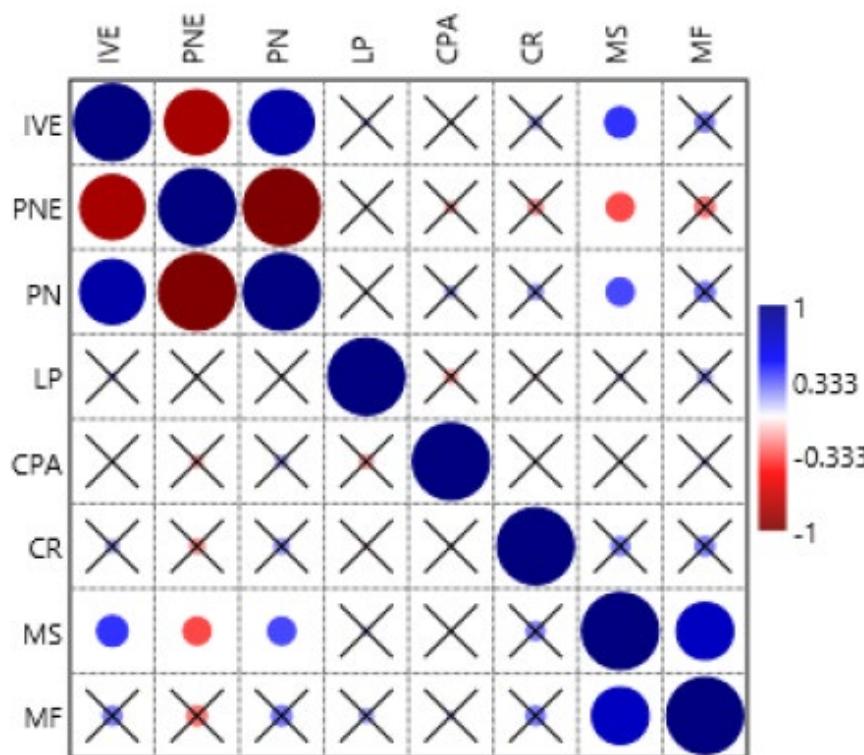


Figura 5. Correlación de Pearson entre las variables relacionadas con el desarrollo de las plántulas de frijol mungo. Índice de Velocidad de Emergencia (IVE), Plántulas no emergidas (PNE), Plántulas normales (PN), Masa seca (MS), Masa fresca (MF) y longitud de plántula (LP) de frijol mungo cultivado en diferentes profundidades y tamaños de semillas. "X" indica correlación no significativa a nivel de 5% entre las variables. **Fuente:** autores

4. CONCLUSIONES

La siembra superficial de semillas de frijol Mungo limita el índice de velocidad de emergencia; sin embargo, a esta profundidad aumenta el porcentaje de plántulas normales.

La profundidad más recomendada para sembrar el frijol Mungo en estas condiciones es de 2 cm, independientemente del tamaño de la semilla utilizada.

El tamaño de semilla de 4 mm posibilita el desarrollo de plántulas con mayor acúmulo materia seca.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

Primer autor: Metodología, realizando el experimento de campo, investigación científica, escritura - borrador original. **Segundo autor:** Investigación, conceptualización, análisis de datos, escritura – revisión. **Tercer autor:** Metodología, logística, investigación científica, análisis de datos, escritura - revisión y edición. **Cuarto autor:** análisis de datos, revisión y edición. **Quinto autor:** Metodología, conceptualización, escritura - revisión y edición. **Sexto autor:** adquisición de materiales, escritura – revisión. **Séptimo autor:** Metodología, realizando el experimento de campo, escritura – revisión.

AGRADECIMIENTOS

Al Departamento Administrativo, Universidad Estadual de Goiás, Unidad Universitaria de Santa Helena de Goiás (UEG), por el apoyo infraestructura y logística de la presente propuesta para desarrollar un semillero de investigación. Así como, estudiantes del curso de ingeniería agrícola que contribuyeron a la excepción del trabajo de campo. Y al profesor Nei Peixoto por poner a disposición semillas de frijol mungo.

LITERATURA CITADA

- Albuquerque, K. A. D., Santos, G. J. S., Machado, M. A. B. L. (2018) Influência do tamanho das sementes na germinação de *Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. var. *Leiostachya* Benth. *Revista Ouricuri*, 8(2):049-057, doi: <https://doi.org/10.29327/ouricuri.v8.i2.a4>
- Alvares, C.A., Stape, J.L., Sentelhas, P.C., Gonçalves, J.L.M., Sparovek, G. (2013) Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, 22(6):711-728. doi: <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>
- Alves, A.U., Cardoso, E.A., Alixandre, T.F., Cavalcante, I.H.L., Beckmann-Cavalcante, M.Z. (2014) Emergência de plântulas de fava em função de posições e profundidades de semeadura. *Bioscience Journal*, 30(1): 33-42.
- Amaro, H.T.R., David, A.M.S.S., Assis, M.O., Rodrigues, B.R.A., Canguçu, L.V.S., Oliveira, M.B. (2015) Testes de vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro. *Revista de Ciências Agrárias* 38(3): 383-389. doi: <https://doi.org/10.19084/rca.16943>
- Biezus, A., Xavier, E., Brusamarello, A.P., Manteli, C., Carvalho, A.F.G. (2017) Emergência e desenvolvimento inicial de plântulas de feijão em diferentes profundidades
- Biezus, A., Xavier, E., Brusamarello, A.P., Manteli, C., Carvalho, A.F.G. (2017) Emergência e desenvolvimento inicial de plântulas de feijão em diferentes profundidades de semeadura. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 12(4): 421-434. doi: <https://doi.org/10.5039/agraria.v12i4a5472>
- Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2009) *Regras para análise de sementes*. ed. 1, Brasília: Mapa/ACS, p. 161
- Carvalho, N.M.; Nakagawa, J. (2012) *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 5. ed. Jaboticabal: FUNEP, 590 p.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento (2019). *Acompanhamento da safra brasileira grãos, Décimo Segundo levantamento Safra 2018/19*. 6(12) p. 1-104.
- Dahiya, P.K., Linnemann, A.R., Van Boekel, M.A.J.S., Khetarpaul, N., Grewal, R.B., Nout, M.J.R. (2015) Mung Bean: Technological and Nutritional Potential. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(5):670-688, doi: <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.671202>
- Dikshit, H.K., Kumari, J., Aski, M., Mishra, G.P., Singh, A. (2017) Outcrossing in Mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) Depends on Cultivars and Seasons. *Biotech Today*, 7(1):82-85, doi: <https://doi.org/10.5958/2322-0996.2017.00014.X>
- Farias Neto, A.L., Nascimento, A.F., Rossoni, A.L., Magalhães, C.A.S., Ituassú, D.R., Hoogerheide, E.S.S., Ikeda, F.S., Fernandes Junior, F., Faria, G.R., Iserhangen, I., Vendurusculo, L.G., Morales, M.M., Carnevalli, R.A. (2019) Embrapa Agrossilvipastoril: Primeiras contribuições para o desenvolvimento de uma Agropecuária Sustentável 1Ed, Sinop (Brasil). Parte 8: Capítulo 16, *Feijão-mungo como perspectiva para a safrinha em Mato Grosso*, p. 635-641.
- Ferreira, D.F. (2011) Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, 35(6):1039-1042, doi: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>
- Jeller, H., Perez, S.C.J.G. (1997) Efeito da salinidade de semeadura em diferentes profundidades na viabilidade e no vigor de *Copaifera langsdorffii* Desf.- Caesalpiniaceae. *Revista Brasileira de Sementes*, 19(2):219-225.
- Koch, F., Gehling, V.M., Pedó, T., Tunes, L.V.M., Villa-
la, F.A., Aumonde, T.Z. (2015) Expressão do vigor de sementes e desempenho inicial de plantas de canola: efeito da profundidade de semeadura. *Revista de Agricultura*, 90(2):193-201, doi: <https://doi.org/10.37856/bja.v90i2.195>
- Maguire, J.D. (1962) Speed of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2(2):176-177.
- Mondo, V.H.V., Costa Neto, C.A., Costa, M.T.M., Nascente, A.S., Lacerda, M.C. (2014) Seed Size Does Not Affect Germination or Seed Vigor of Common Bean. *Seed Technology*, 36(1): 81-88, doi: <https://www.jstor.org/stable/24642290>

Munkvold, G.P. (2003) Epidemiology of Fusarium diseases and their mycotoxins in maize ears. *European Journal of Plant Pathology*, 109(7):705-713, doi: <https://doi.org/10.1023/A:1026078324268>

Nakagawa, J. (1999) Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES, p. 2.1-2.24.

Pádua, G.P.D., Zito, R.K., Arantes, N.E., França Neto, J.B. (2010) Influência do tamanho da semente na qualidade fisiológica e na produtividade da cultura da soja. *Revista Brasileira de Sementes*, 32(3):009-016, doi: <https://doi.org/10.1590/S0101-31222010000300001>

Pereira, W.A., Pereira, S.M.A., Dias, D.C.M.S.F. (2013) Influence of seed size and water restriction on germination of soybean seeds and on early development of seedlings. *Journal of Seed Science*, 35(3):316-322, doi: <https://doi.org/10.1590/S2317-15372013000300007>

Pedó, T.; Segalin, S. R.; Silva, T. A.; Martinazzo, E. G.; Neto, A. G.; Aumonde, T. Z.; Villela, F. A. (2014) Vigor de sementes e desempenho inicial de plântulas de feijoeiro em diferentes profundidades de semeadura. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 9(1):59-64, doi: <https://doi.org/10.5039/agraria.v9i1a3631>

Perin, A., Araújo, A.P., Teixeira, M.G. (2002) Efeito do tamanho da semente na acumulação de biomassa e nutrientes e na produtividade do feijoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37(12):1711-1718, doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2002001200006>

Silva, R.P., Corá, J.E., Furlani, C.E.A., Lopes, A. (2008) Efeito da profundidade de semeadura e de rodas compactadoras submetidas a cargas

verticais na temperatura e no teor de água do solo durante a germinação de sementes de milho. *Ciência e Agrotecnologia*, 32(3): 929-937, doi: <https://doi.org/10.1590/S1413>

Silva, L.R., Pereira, M.J., Azevedo, J., Gonçalves, R.F., Valentão, P., Pinho, P.G., Andrade, P.B. (2013) *Glycine max* (L.) merr., *Vigna radiata* L. and *Mendicago sativa* L. sprouts: A natural source of bioactive compounds. *Food Research International*, 50(1):167-175, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.10.025>

Steiner, F., Zuffo, A.M., Busch, A., Sousa, T.O., Zoz, T. (2019) Does seed size affect the germination rate and seedling growth of peanut under salinity and water stress? *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 49, e54353, doi: <https://doi.org/10.1590/1983-40632019v4954353>

Vieira, R.F., Oliveira, V.R., Vieira, C. (2003) Cultivo do feijão-mungo-verde no verão em Viçosa e em Prudente de Moraes. *Horticultura Brasileira*, 21(1): 37-43, doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-05362003000100008>

Vieira, R.F., Paula Júnior, T.J.P., Jacob, L.L., Lehner, M.S., Santos, J. (2011) Desempenho de genótipos de feijão-mungo-verde semeados no inverno na Zona da Mata de Minas Gerais. *Revista Ceres*, 58(3):402-405, doi: <https://doi.org/10.1590/S0034-737X2011000300022>

Yu-Wei L., Wang Q. (2015) Effect of Processing on Phenolic Content and Antioxidant Activity of Four Commonly Consumed Pulses in China. *Journal of Horticulture*, 2(2):130-132, doi: <https://doi.org/10.4172/2376-0354.1000130>

Conflictos 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.

INFLUENCE OF SCARIFICATION AND GIBBERELLIC ACID ON SEED DORMANCY AND GERMINATION OF POMEGRANATE SEEDLINGS

INFLUENCIA DE LA ESCARIFICACIÓN Y EL ÁCIDO GIBERÉLICO EN LA DORMANCIA Y GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE GRANADA

**¹Laís Naiara Honorato Monteiro, ²Antonio Flávio Arruda Ferreira,
³Glaucia Amorim Faria, ⁴Maria Gabriela Fontanetti Rodrigues,
⁵Aparecida Conceição Boliani**

^{1,3,4 y 5} State University of São Paulo
² Mato Grosso State University

¹laismonteiro@gmail.com, ²arrudaferreira.af@gmail.com, ³glaucia.a.faria@unesp.br,
⁴maria.gf.rodrigues@unesp.br, ⁵aparecida.boliani@unesp.br

Citación: Monteiro, L., Ferreira, A., Faria, G., Rodrigues, M., and Boliani, A. (2021). Influence of scarification and gibberellic acid on seed dormancy and germination of pomegranate seedlings. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 25 – 37. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3852>

ABSTRACT

Contextualization: Due to the importance of pomegranate among fruit species, studies on the physiology of its seeds and the production of seedlings are essential for the expansion of commercial orchards.

Knowledge gap: With the portrayed importance of this crop and its use in various sectors, such as agro-industrial and pharmaceutical products, the development of continuous and straightforward propagation techniques that provide a uniform seedling development will provide favorable conditions for the cultivation and exploitation of the species, improving its use and boosting new research.

Purpose: To evaluate the effect of scarification and immersion in gibberellic acid on the dormancy of pomegranate seeds, aiming at accelerating the emergence and improving the initial growth of seedlings.

Methodology: The sarcotesta was removed and the seeds were scarified. The treatments consisted of a scarified control, a non-scarified control (seeds with and without scarification), and seeds subjected to the concentrations of 500 mg L⁻¹, 1,000 mg L⁻¹, and 1,500 mg L⁻¹ of GA₃. The following variables were evaluated: initial emergence, emergence percentage, mean emergence time, leaf number, stem diameter, shoot length, root length, and total dry matter.

Results and conclusions: The pomegranate cv. Valencian seeds do not have tegument-related dormancy. In order to favor the emergence percentage and the initial growth of pomegranate seedlings, mechanical scarification and immersion of the seeds in GA₃ are dispensed. Scarification and immersion of pomegranate seeds in 500 mg L⁻¹ of GA₃ are recommended to produce seedlings in a shorter time.

Keywords: Cultivar Valenciana; Emergence; Gibberellin; *Punica granatum*; Sarcotesta

RESUMEN

Contextualización: debido a la importancia de la granada en los árboles frutales, los estudios sobre la fisiología de las semillas y la producción de plántulas son esenciales para la expansión de los huertos comerciales.

Vacío de conocimiento: considerando la importancia de este cultivo y su uso en diversos sectores, como el agroindustrial y el farmacéutico, el uso de técnicas de propagación simples y continuas que permiten un desarrollo uniforme de las plántulas proporcionará las condiciones favorables para el cultivo y la explotación de la especie, mejorar su uso e impulsar nuevas investigaciones.

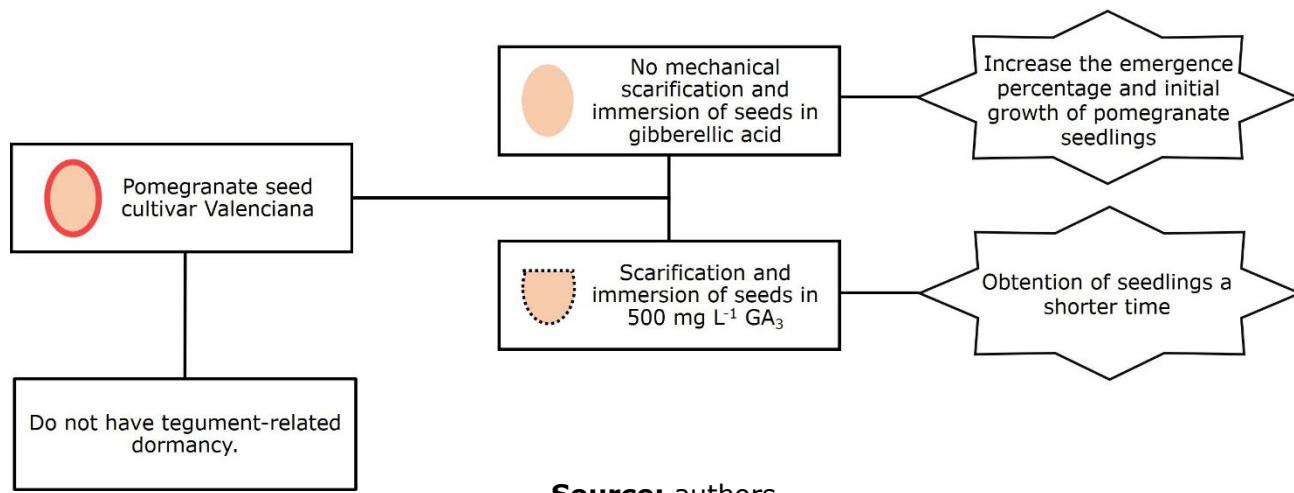
Propósito del estudio: evaluar el efecto de la escarificación y la inmersión en ácido gibberélico en la fase de latencia de las semillas de granada, a fin de acelerar la aparición y mejorar el crecimiento inicial de las plántulas.

Metodología: se retiró la sarcotesta y se escarificaron las semillas. Los tratamientos consistieron en testigo y control (semillas con y sin escarificación) y concentraciones, 500 mg L⁻¹, 1000 mg L⁻¹ y 1500 mg L⁻¹ de GA₃. Se evaluaron las siguientes variables: la emergencia inicial, el porcentaje de emergencia, el tiempo medio de emergencia, el número de hojas, el diámetro del tallo, la longitud del brote, la longitud de la raíz y la materia seca total.

Resultados y conclusiones: las semillas de granada cv. valenciana no tienen dormancia relacionada con el tegumento. Para favorecer el porcentaje de emergencia y el crecimiento inicial de las plántulas de granada, se prescinde de la escarificación mecánica y de la inmersión de las semillas en GA₃. Se recomienda la escarificación y la inmersión de las semillas de granada en 500 mg L⁻¹ de GA₃ para obtener las plántulas en menos tiempo.

Palabras clave: Cultivar Valenciana; Emergencia; Giberelina; *Punica granatum*; Sarcotesta

GRAPHIC SUMMARY



Source: authors

1. INTRODUCTION

Due to the several functional and nutraceutical properties found in the plant, the pomegranate (*Punica granatum*) has gained prominence in the market of fresh fruits, in industry, and in studies regarding its constituents (Asadi *et al.*, 2018).

Among the main substances of these fruits, the phenolic compounds, tannins, flavonoids, and alkaloids are often highlighted (Peixoto *et al.*, 2014). Furthermore, throughout the last decade, studies suggest that this fruit presents antimicrobial properties and high antioxidant power, with the potential for use in the treatment and prevention of cancer, diabetes, and cardiovascular and degenerative diseases (Bensaad *et al.*, 2017).

These important nutraceutical characteristics of the pomegranate make it an excellent alternative for cultivation as consumers increasingly demand foods with organoleptic quality and good nutritional composition. For this, first, it is necessary to understand the appropriate propagation techniques, involving the physiological

aspects of the seeds, such as dormancy, in order to make the sector promising.

Seedling production is the first stage of the installation of productive orchards. In this context, seeds are of utter importance for the success of agricultural crops since they are designed to produce seedlings to be used as rootstocks. For pomegranate, the use of rootstocks is a reality in the sector, ensuring the production of vigorous genotypes that provide high planting density and reduced fruiting time, using materials with desirable agronomic traits, such as drought tolerance and resistance to pests and diseases, which can be evaluated during development and behavior studies (ValizadehKaji *et al.*, 2020).

Given its importance, the production of pomegranate rootstocks demands great knowledge regarding seed germination and seedling emergence (Batista *et al.*, 2011); however, there are still reports of complications in the literature regarding the obtainment of high

emergence values (Materechera & Seeiso, 2013), leading to the assumption that pomegranate seeds present dormancy.

According to Khadivi-Khub *et al.* (2015) and Aguilera-Arango *et al.* (2020), pomegranate seeds present varied physical dormancy levels in the tegument according to the cultivar, with this behavior greatly influencing cultivation and the production of commercial orchards. In adverse situations related to germinative and emergence processes due to possible seed dormancy, Taiz *et al.* (2017) recommended the use of pre-germinative treatments, such as scarification of the seed coat and seed immersion with plant growth regulators, such as gibberellic acid, and verified that the association of these techniques could intensify the emergence rate and improve plant uniformity (Vasconcelos *et al.*, 2015).

In this perspective, this study aims to evaluate the effect of mechanical scarification and immersion in gibberellic acid on the dormancy of pomegranate seeds, aiming at accelerating germination and the initial seedling growth.

2. MATERIALS AND METHODS

The experiment was performed at the Phytotechny Laboratory of the Department of Phyto-techny, Food Technology, and Socioeconomics of the Faculty of Engineering, UNESP, Ilha Solteira, from August to October 2015. The physiologically mature fruits collected from adult 10-year-old plants of the pomegranate cultivar 'Valenciana' were obtained from a commercial producer in the municipality of Presidente Prudente (22°3'21.24" S latitude, 51°21'35.16" W longitude, and 477.6 m of elevation).

The fruits had their pulp removed, and the seeds were homogenized. Afterward, the sarcotesta was removed by pressing the seeds through a 2 mm mesh sieve under running water (Melo & Seleguini, 2013), and the material was dried

in the shade on absorbing paper sheets for 12 hours. The seeds were divided into two lots, one formed by non-scarified seeds (WITHOUT) (Figure 1A) and another (WITH) formed by seeds scarified with a sandpaper sheet nº 100 in the region opposite to that of radicle emergence (Figure 1B).

The seeds were soaked for four hours in a gibberellic acid solution (Dinâmica®) without aeration. Aiming at overestimating the doses used by Takata *et al.* (2014), the purpose of this study was to verify whether gibberellic acid, at high doses, could improve the emergence conditions of pomegranate seedlings. For this, considering the medium concentration of 1,000 mg L⁻¹, the following treatments were defined: scarified control (seeds with scarification), non-scarified control (seeds without scarification), and three concentrations: low (500 mg L⁻¹ GA₃), medium (1,000 mg L⁻¹ GA₃), and high (1,500 mg L⁻¹ GA₃). In all treatments, the seeds were soaked in GA₃ for four hours. For the control treatment, the seeds were soaked only in deionized water for the same period.

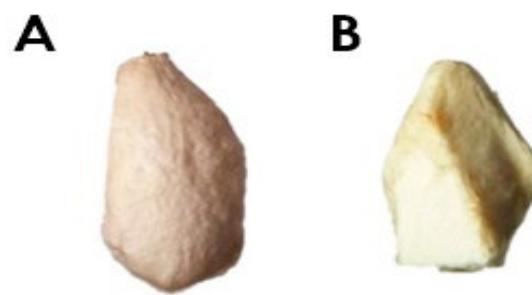


Figure 1. Pomegranate seeds (*Punica granatum*) without (A) and with (B) scarification. 0.7x magnification.

Source: Authors.

The experimental design was completely randomized, in a 2 × 3 factorial arrangement (scarification × concentrations of gibberellic acid) with four replications, each formed by 100 seeds.

After immersion, the seeds were sown in expanded polystyrene trays with 200 cells filled with a commercial organic substrate (Bioplant®), which were installed in a plant nursery equipped with a fan and pad evaporative cooling system (28 ± 2 °C) and controlled irrigation twice a day, for 3 minutes ($1,800 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$). The Bioplant® substrate presented a 0.44 g cm^{-3} density, with 28.30% of compostable organic matter, 15.72% of organic carbon, and a 54/1 ratio of organic carbon and total nitrogen.

The following variables were daily evaluated until the stabilization of emergence: initial emergence, emergence percentage, and mean emergence time (Labouriau, 1983). At 50 days after sowing, the following variables were evaluated: number of leaves, stem diameter (mm), root length (cm), shoot length (cm), and total dry matter (mg). For the total dry matter, the seedlings were placed in paper envelopes and taken to a forced-air circulation oven at 65 °C, where they remained until reaching constant weight (72 hours).

The treatment means were compared by Dunnett's test using the scarified control and non-scarified control means (5%) through the statistical software ACTION STAT 3.7.

The data were analyzed using the software SISVAR (Ferreira, 2019). The assumption of normality was tested by the Shapiro-Wilk test, using the F-test in the analysis of variance to compare the means when a significant difference was found for the factors with two levels (with and without scarification). Tukey's test was used to compare the means of the treatments for the factors with three levels (low, medium, and high concentrations) when a significant difference was found for each variable. All statistical tests were performed at a 5% level of probability.

3. RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 shows the comparisons of the means of the scarified control (seeds with scarification) and non-scarified control treatments (seeds without scarification).

Table 1. Mean initial emergence (IE), emergence percentage (EP), mean emergence time (MET), number of leaves (NL), stem diameter (SD), shoot length (SL), root length (RL), and total dry matter (TDM) of pomegranate seedlings (*Punica granatum*) produced from seeds subjected to scarification and GA_3 concentrations (mg L^{-1}).

TREATMENTS	IE (days)	EP (%)	MET (days-1)	NL	SD (mm)	SL (cm)	RL (cm)	TDM (mg)
WH + 0	10.50	36.00	18.56	8.37	0.53	3.45	7.53	75.60
WT + 0	12.50 ^{ns}	57.00 ^{ns}	22.54 ^{ns}	10.90*	0.62*	4.38 ^{ns}	8.89 ^{ns}	93.60 ^{ns}
WH + 500	7.00 ^{ns(*)}	38.00 ^{ns(ns)}	15.77 ^{ns(*)}	6.55 ^(*)	0.14 ^(*)	3.13 ^{ns(*)}	6.42 ^{ns(*)}	62.73 ^{ns(*)}
WH + 1,000	12.00 ^{ns(ns)}	41.00 ^{ns(ns)}	23.44 ^{ns(ns)}	6.80 ^{ns(*)}	0.26 ^(*)	3.41 ^{ns(*)}	8.14 ^{ns(ns)}	77.12 ^{ns(ns)}
WH + 1,500	10.00 ^{ns(ns)}	42.00 ^{ns(ns)}	15.39 ^{ns(*)}	7.40 ^{ns(*)}	0.24 ^(*)	3.97 ^{ns(ns)}	6.89 ^{ns(*)}	73.66 ^{ns(*)}
WT + 500	15.00 ^{*(ns)}	71.00 ^{*(ns)}	24.50 ^{*(ns)}	8.05 ^{ns(*)}	0.31 ^(*)	3.42 ^{ns(*)}	10.49 ^{*(ns)}	90.42 ^{ns(ns)}
WT + 1,000	13.25 ^{ns(ns)}	66.00 ^{*(ns)}	25.23 ^{*(ns)}	7.20 ^{ns(*)}	0.21 ^(*)	3.35 ^{ns(*)}	8.48 ^{ns(ns)}	86.13 ^{ns(ns)}
WT + 1,500	14.75 ^{*(ns)}	73.00 ^{*(ns)}	24.96 ^{*(ns)}	7.40 ^{ns(*)}	0.24 ^(*)	3.56 ^{ns(*)}	7.42 ^{ns(ns)}	82.51 ^{ns(ns)}

*Significant, nsNot significant by Dunnett test (5% probability). Significance outside parentheses: means related to seeds with scarification (WH); Significance within parentheses: means related to seeds without scarification (WT).

Source: Authors.

When observing the initial emergence, it is seen that, compared to the scarified control (WH+0), the treatments with non-scarified seeds subjected to low and high concentrations of GA₃ (500 and 1,500 mg L⁻¹, respectively) significantly delayed in a few days the beginning of emergence (Table 1). However, compared to the non-scarified control (WT+0), only the treatment with scarified pomegranate seeds subjected to the low concentration of gibberellic acid (500 mg L⁻¹) showed a significant difference, emerging in a shorter time, resulting in 12.50 and 7.00 days, respectively. The variable of initial emergence becomes of utter importance, since it allows knowing the seeds behavior regarding the emergence time in the soil, optimizing the cultivation planning of this crop.

It is noted that when the pomegranate seeds without scarification were associated with the tested concentrations of gibberellic acid, the emergence percentage was statistically higher than in the scarified control (WH+0), with 36%. However, these treatments did not differ from the non-scarified control treatment (WT+0), which showed a 57% emergence rate (Table 1). Therefore, it is seen that the pomegranate seeds germinated regardless of scarification, indicating the absence of physical numbness, since the seed coat did not prevent the inflow of the solution, allowing germination and the later emergence of seedlings.

The contact of the embryo with moisture before the beginning of the germination process may have damaged the emergence of pomegranate seedlings. Moreover, the solution inflow was facilitated with seed scarification due to the difference in water potential between seeds and the medium, providing an accelerated absorption of solutes and causing injuries to seeds due to the reduction of cell membranes integrity, besides the loss of nutrients considered essential to germination (Marcos Filho, 2015).

The same occurred for the mean emergence time, for which the treatments with non-scarified seeds subjected to concentrations of GA₃ were significantly higher than the scarified control (18.56 day⁻¹) and did not differ from the non-scarified control (22.54 day⁻¹). However, for this variable, the absence of scarification and the use of GA₃ for seed immersion increased the time for the occurrence of emergence (Table 1). This shows that pomegranate seeds with an intact seed coat can present higher percentages of emergence without the need for scarification and the use of gibberellin acid, otherwise delaying the emergence of seedlings by a few days.

For the number of leaves, the control treatment and the treatment with scarified seeds subjected to the low concentration of GA₃ (500 mg L⁻¹) showed a significant difference from the non-treated seeds (Table 1). All treatments evaluated were statistically lower than the control (WT+0), which showed the highest number of leaves (10.90). As gibberellins are also synthesized in the seeds (Taiz et al., 2017), the internal content of this hormone in pomegranate seeds was probably sufficient to trigger the physiological processes of germination, emergence, and growth attributes of seedlings.

For stem diameter, all treatments with GA₃ showed significantly lower values than the scarified control (WH+0) and the non-scarified control (WT+0), in which case the pomegranate seeds with an intact seed coat showed larger stem diameter than the scarified seeds, resulting in 0.62 and 0.53 cm, respectively (Table 1).

In general, the shoot length of seedlings whose seeds were subjected to concentrations of GA₃ was not statistically different from the scarified control treatment (WH+0), although

showing significant differences compared to the non-scarified control (WT+0), with the latter being superior (4.38 cm) (Table 1). For root length and total dry matter, the WH+500 and WH+1,500 treatments were statistically lower than the non-scarified control (WT+0), with 8.89 cm and 93.60 mg, respectively.

A significant difference can be observed in the interaction between factors for the initial emergence and for the mean emergence time (Table 2); however, the emergence percentage was only influenced by the isolated factors when performing the analysis of variance by the F-test at 5% of probability.

Table 2. Analysis of variance for initial emergence (IE), emergence percentage (EP), and mean emergence time (MET) of pomegranate seedlings (*Punica granatum*) produced from seeds subjected to scarification and low (500 mg L⁻¹), medium (1,000 mg L⁻¹) and high concentrations (1,500 mg L⁻¹) of GA₃.

Source of Variation	IE (days)	EP (%)	MET (days ⁻¹)
	Mean Square		
Scarification (A)	130.6667*	5280.6667*	268.8082*
Concentration (B)	6.1250 ^{NS}	34.6667 ^{NS}	46.6059*
A x B	22.7617*	34.6667 ^{NS}	36.5351*
C.V. (%)	17.29	21.02	9.92
Scarification			
With	9.67±0.96 B ¹	40.33±3.17 B	18.20±1.27 B
Without	14.33±0.33 A	70.00±3.06 A	24.90±0.51 A
Concentration of GA₃ (mg L⁻¹)			
500	11.00±1.52	54.50±6.59	20.14±1.74 B
1,000	12.63±0.73	53.50±5.39	24.34±0.84 A
1,500	12.38±1.30	57.50±8.14	20.17±1.96 B
General Mean	12.00±0.69	55.17±3.77	21.55±0.97

*Significant and ^{NS}not significant at 5% of probability by the F-test. ¹Same letters in the column (between rows) do not differ from each other by the F-test (5% of probability).

Source: Authors.

The percentage of emergence showed a higher value (70%) when considering the treatments without scarification, differing statistically from those in which the pomegranate seeds were scarified (40.33%) (Table 2). This shows, once again, that the seed coat of the pomegranate seeds is not a limiting factor to their immersion and germination. Monteiro *et al.* (2019), evaluating seedling emergence in seeds of the pomegranate cv. 'Comum' subjected to scarification and immersion in water, concluded that these seeds present a considerable water content in their composition, and, even with

an intact tegument, they still allow the solutes inflow, ensuring seedling emergence without the need for immersion in water or gibberellic acid, as performed in this study.

The absorption of solutes was probably favored when the pomegranate seeds were scarified, with consequent damage to seedling emergence. According to Dalastra *et al.* (2010), for some species, the contact between the embryo and the immersion solution before the beginning of germination may be harmful to this phase, since, when seeds are excessively soaked, the

period in which the membranes have to reorganize causes an excessive release of solutes, damaging the germination process.

Furthermore, the gibberellic acid solution in which seeds were immersed may have caused phytotoxicity, as the excessive presence of GA₃ induces cellular acidification (Miyamoto *et al.*, 2012). Another assumption is that the GA₃ diluted in water may have modified the osmotic potential of the solution and, as a consequence, the water potential, preventing the inflow of water into the seed and impairing seedling emergence (Takata *et al.*, 2014).

Regarding to the percentage of emergence, there was no significant difference between the concentrations of gibberellic acid (Table 2). Corroborating with the exposed, when Takata *et al.* (2014) studied the effect of gibberellin in pomegranate seeds, they observed that the increase in the concentration of GA₃ up to 400 mg L⁻¹ did

not positively influence the emergence percentage of seedlings, concluding that seed immersion in water is a more satisfactory method.

The fastest initial emergence (7 days) was registered in the treatment in which seeds were subjected to mechanical scarification and immersion in the lowest concentration of GA₃ (Table 3). Although the highest emergence percentage was observed in the seedlings produced from non-scarified seeds (Table 2), the initial emergence in these conditions was late compared to the treatment in which the seeds were scarified, demonstrating a greater difference, especially among seeds immersed on the medium and highest concentration of gibberellic acid (Table 3). The same behavior was verified by Osipi *et al.* (2018) when associating pomegranate seeds without scarification with immersion in GA₃, observing a delay in the initial emergence of seedlings compared to the remaining treatments.

Table 3. Initial emergence (IE) and mean emergence time (MET) of pomegranate seedlings (*Punica granatum*) produced from seeds subjected to scarification and low (500 mg L⁻¹), medium (1,000 mg L⁻¹), and high concentrations (1,500 mg L⁻¹) of GA₃.

Concentration of GA ₃ (mg L ⁻¹)	IE (days)	
	Scarification	
	WITH*	WITHOUT ^{NS}
500*	7.00 ± 0.00 B ^b b ²	15.00±0.41 Aa
1,000 ^{NS}	12.00±1.47 Aa	13.25±0.25 Aa
1,500*	10.00±1.92 Ab	14.75±0.63 Aa

Concentration of GA ₃ (mg L ⁻¹)	MET (days ⁻¹)	
	Scarification	
	WITH*	WITHOUT ^{NS}
500*	15.78±0.75 Bb	24.50±0.95 Aa
1,000 ^{NS}	23.45±1.58 Aa	25.23±0.50 Aa
1,500*	15.39±0.99 Bb	24.96±1.29 Aa

*Significant and ^{NS}not significant at 5% of probability by the F-test. ¹Same uppercase letters in the column (between rows) do not differ from each other by Tukey's test at 5% of probability; ²Same lowercase letters in the row (between columns) do not differ from each other by the F-test at 5% of probability.

Source: Authors.

Lower initial emergence values are considered adequate since the rate and uniformity of seed germination and seedling emergence are essential aspects of good seedling formation. The longer the seedling remains in the early stages of development, delaying emergence, the more susceptible it will be to adverse environmental conditions.

The initial emergence and mean emergence time followed the same pattern since, for the second variable, the lowest values were also observed when the pomegranate seeds were scarified and subjected to low (15.78 days⁻¹) and high (15.39 days⁻¹) concentrations of GA₃, differing from the remaining treatments (Table 3). Although the association of seed scarification and immersion in GA₃ was unfavorable to increase the emergence percentage of

pomegranate cv. Valenciana, the combination of scarification and immersion of the seeds in 500 mg L⁻¹ GA₃ reduced the initial emergence and the time to obtain the seedlings (Tables 1 and 3). This may indicate that this cultivar is promising for the production of pomegranate rootstocks since the rapid plant development implies shorter permanence in the plant nursery, providing to the producer several benefits such as lower costs and the more efficient use of this facility.

According to the analysis of variance, the growth variables stem diameter, shoot length and root length of the pomegranate seedlings evaluated in this study, presented a significant difference by the F-test (5% probability) for the interaction between the evaluated factors, as observed in Table 4.

Table 4. Analysis of variance for the number of leaves (NL), stem diameter (SD) (mm), shoot length (SL) (cm), root length (RL) (cm), and total dry matter (TDM) (mg) of pomegranate seedlings (*Punica granatum*) produced from seeds subjected to scarification and low (500 mg L⁻¹), medium (1,000 mg L⁻¹), and high concentrations (1,500 mg L⁻¹) of GA₃.

Sources of variation	NL	SD	SL	RL	TDM
	Mean Square				
Scarification (A)	12.0333*	0.0521*	0.0919 ^{NS}	81.4112*	0.0035*
Concentration (B)	1.7333 ^{NS}	0.0018 ^{NS}	2.6728*	20.1380*	0.0001 ^{NS}
A x B	6.0333*	0.1287*	1.2271*	44.2892*	0.0006*
C.V. (%)	23.52	30.07	17.56	30.39	18.41
Scarification					
Means					
With	6.92±0.26 B ¹	0.21±0.01 B	3.50±0.12	7.15±0.37 B	71.17±29.24 B
Without	7.55±0.17 A	0.26±0.01 A	3.45±0.05	8.80±0.29 A	86.35±18.57 A
Concentration of GA₃ (mg L⁻¹)					
Means					
500	7.30±0.31	0.23±0.02	3.28±0.08 B	8.45±0.52 A	76.58±35.90
1,000	7.00±0.19	0.24±0.01	3.38±0.07 B	8.31±0.37 A	81.63±31.81
1,500	7.40±0.31	0.24±0.01	3.71±0.13 A	7.16±0.37 B	78.09±43.68
General mean	7.23±0.16	0.24±0.01	3.47±0.06	7.97±0.25	78.76±2.14

*Significant and ^{NS}not significant at 5% of probability by the F-test. ¹Same letters in the column (between rows) do not differ from each other by the F-test (5% of probability).

Source: Authors.

The highest number of leaves (8.05 leaves) was observed in the pomegranate seedlings produced from seeds without scarification and soaked in a low concentration of gibberellic acid (500 mg L⁻¹), only differing from the treatment in which the seeds were scarified and subjected to the same concentration of GA₃ (6.55 leaves) (Table 5).

Table 5. Number of leaves (NL), stem diameter (SD), shoot length (SL), root length (RL), and total dry matter (TDM) of pomegranate seedlings (*Punica granatum*) produced from seeds subjected scarification and low (500 mg L⁻¹), medium (1,000 mg L⁻¹) and high concentrations (1,500 mg L⁻¹) of GA₃.

Concentration of GA ₃ (mg L ⁻¹)	NL	
	Scarification	
	WITH ^{NS}	WITHOUT ^{NS}
500*	6.55±0.43 A ¹ b ²	8.05±0.37 Aa
1,000 ^{NS}	6.80±0.32 Aa	7.20±0.21 Aa
1,500 ^{NS}	7.40±0.58 Aa	7.40±0.26 Aa
Concentration of GA ₃ (mg L ⁻¹)	SD (mm)	
	Scarification	
	WITH*	WITHOUT*
500*	0.14±0.01 Bb	0.31±0.01 Aa
1,000*	0.26±0.02 Aa	0.21±0.01 Bb
1,500 ^{NS}	0.24±0.02 Aa	0.24±0.02 Ba
Concentration of GA ₃ (mg L ⁻¹)	SL (cm)	
	Scarification	
	WITH*	WITHOUT ^{NS}
500 ^{NS}	3.13±0.12 Ba	3.43±0.11 Aa
1,000 ^{NS}	3.41±0.12 Ba	3.35±0.06 Aa
1,500*	3.97±0.25 Aa	3.57±0.08 Ab
Concentration of GA ₃ (mg L ⁻¹)	RL (cm)	
	Scarification	
	WITH*	WITHOUT*
500*	6.42±0.60 Ab	10.49±0.54 Aa
1,000 ^{NS}	8.14±0.57 Aa	8.48±0.48 Ba
1,500 ^{NS}	6.90±0.73 Aa	7.42±0.17 Ba
Concentration of GA ₃ (mg L ⁻¹)	TDM (mg)	
	Scarification	
	WITH*	WITHOUT ^{NS}
500*	62.73±2.13 Ab	90.42±2.70 Aa
1,000 ^{NS}	77.12±5.17 Aa	86.13±3.39 Aa
1,500 ^{NS}	73.66±8.07 Aa	82.51±3.33 Aa

*Significant and ^{NS}not significant at 5% of probability by the F-test. ¹Same uppercase letters in the column (between rows) do not differ from each other by Tukey's test at 5% of probability; ²Same lowercase letters in the row (between columns) do not differ from each other by the F-test at 5% of probability.

Source: Authors.

Although the scarification facilitated the solution inflow into the seeds, it was insufficient to provide a higher number of leaves in the pomegranate seedlings, probably due to the exclusive use of gibberellic acid in this study. A distinct response could have been observed if cytokinin was present in the immersion solution since this plant growth regulator induces the transportation of nutrients from other parts of the plant to the leaves, allowing the development of chloroplasts and the increase in photosynthesis (Taiz *et al.*, 2017).

The stem diameter of pomegranate seedlings was larger (0.31 mm) when there was no seed scarification associated with the lowest concentration of gibberellic acid, presenting a superior and significantly different mean from the remaining treatments (Table 5). Likewise, in a study performed by Monteiro *et al.* (2019), seeds of pomegranate cv. Co-mum with intact seed coat resulted in seedlings with larger stem diameters, compared to scarified seeds.

It was observed that, with the increasing concentrations of GA_3 in the immersion of scarified seeds, there was a similarity between increases in the number of leaves and in the stem diameter of pomegranate seedlings. This occurred due to the exchange activities that occur in the seedlings during the growth in diameter, driven by photosynthetic actions and by the translocation of hormones from the apical regions (Larcher, 2006).

A longer shoot length (3.97 cm) was verified when the pomegranate seeds were scarified and soaked in the highest concentration of GA_3 , differing from the remaining treatments (Table 5). This result is in agreement with Taiz *et al.* (2017), when they affirmed that the growth in height is promoted by the stimulus that gibberellin causes on cell division and

elongation. There was no difference between the concentrations of gibberellic acid in the seedlings that originated from non-scarified seeds (Table 5).

While the scarified pomegranate seeds did not differ in root length values in GA_3 concentrations, the seeds with an intact seed coat reduced the results of this variable, and the lowest concentration of gibberellic acid resulted in a root length of 10.49 cm, differing from the remaining treatments (Table 5). These results indicate that, such as reported by Taiz *et al.* (2017), gibberellin does not act expressively by influencing root growth compared to other bioregulators, such as auxin and abscisic acid.

The accumulation of total dry matter was higher in pomegranate seedlings produced from non-scarified seeds, when these were subjected to the lowest concentration of gibberellic acid (90.42 mg), only differing from the treatment in which the seeds were scarified (62.73 mg) (Table 5).

This probably occurred due to the higher values observed for the non-scarified seeds regarding to the number of leaves, stem diameter, and root system length. According to Choudhary & Chakrawar (1982), these results may have led to the general assimilation and redistribution of photosynthates within the plant, resulting in greater dry mass and increasing the incorporation of total dry matter.

Such responses indicate that the pressure through a sieve, under running water, is an efficient method to remove the sarcotesta of pomegranate seeds and, associated to that, the lowest concentration of GA_3 used in this study was sufficiently effective in incrementing the biometric variables, which are essential for seedling growth.

As a recommendation for future studies, it is suggested to evaluate different immersion times in gibberellic acid and different substrates for growing pomegranate rootstocks.

4. CONCLUSIONS

The seeds of the pomegranate cv. Valenciana do not have tegument-related dormancy.

In order to favor the emergence percentage and the initial growth of pomegranate seedlings, mechanical scarification and immersion of seeds in gibberellic acid are dispensed.

Scarification and immersion of pomegranate seeds in 500 mg L⁻¹ of GA₃ are recommended to produce seedlings a shorter time.

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: Data analysis, review and editing. Fourth author: Logistics, review and edition. Fifth author: Resource acquisition, project manager, supervision, conceptualization.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for the financial support.

CITED LITERATURE

- Aguilera-Arango, G.A., Lombo-Ortiz, D.F., Burbano-Erazo, E. & Orduz-Rodriguez, J.O. (2020). Grano de Granado (*Punica granatum* L.), un cultivo con potencial productivo: revisión y situación en Colombia. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 23 (1), 1-15. <https://www.revista.ccba.uday.mx/ojs/index.php/TSA/article/view/3065/1385>

Asadi, M.S., Mirghazanfari, S.M., Dadpay, M. & Nassireslami, E. (2018). Evaluation of wound healing activities of pomegranate (*Punica granatum* - Lythraceae) peel and pulp. *Journal of Research in Medical and Dental Science*, 6 (3), 230-236. <https://doi.org/10.24896/jrmds.20186336>

Batista, P.F., Maia, S.S.S., Coelho, M.F.B., Benedito, C.P. & Guimarães, I.P. (2011). Propagação vegetativa de romã em diferentes substratos. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 6 (4), 96-100. <https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/1053/884>

Bensaad, L.A., Kim, K.H., Quah, C.C., Kim, W.R. & Shahimi, M. (2017). Anti-inflammatory potential of ellagic acid, gallic acid and punicalagin A&B isolated from *Punica granatum*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17 (1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1555-0>

Choudhary, B.K. & Chakrawar, V.K. (1982). Note on the effect of some chemicals on the germination of Rangpur Lime seeds. *Indian Journal of Agricultural Science*, 51 (3), 201-203.

Dalastra, I.M., Pio, R., Entelmann, F.A., Werle, T., Uliana, M.B. & Scarpone Filho, J.A. (2010). Germinação de sementes de noqueira-macacâmia submetidas à incisão e imersão em ácido giberélico. *Ciência e Agrotecnologia*, 34 (3), 641-645. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542010000300016>

Ferreira, D.F. (2019). Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. *Revista Brasileira de Biometria*, 37 (4), 529-535. <https://doi.org/10.28951/rbb.v37i4.450>

Khadivi-Khub, A., Kameli, M., Moshfeghi, N. & Ebrahimi, A. (2015). Phenotypic characterization and relatedness among some Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) accessions. *Trees*, 29 (3), 893-901. <https://doi.org/10.1007/s00468-015-1172-9>

Labouriau, L.G. (1983). *A germinação das sementes*. Washington: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos.

Larcher, W. (2006). *Ecofisiología vegetal*. São Carlos: RIMA Artes e Textos.

- Marcos Filho, J. (2015). *Fisiología de sementes de plantas cultivadas*. Londrina: ABRATES.
- Materechera, A.S. & Seeiso, T.M. (2013). Seed treatment to improve water imbibition and germination of pomegranate (*Punica granatum*). *Acta Horticulturae*, 979, 713-721. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2013.979.80>
- Melo, A.P.C. & Seleguini, A. (2013). Estádio de maturação de frutos e remoção física da sarcotesta na produção de mudas de mamão. *Comunicata Scientiae*, 4 (1), 20-25. <http://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/ri/13902>
- Miyamoto, T., DeRose, R., Suarez, A., Ueno, T., Chen, M., Sun, T., Wolfgang, M.J., Mukherjee, C., Meyers, D.J. & Inoue, T. (2012). Rapid and orthogonal logic gating with a gibberellin-induced dimensionization system. *Nature Chemical Biology*, 8 (5), 465-470. <https://doi.org/10.1038/nchembio.922>
- Monteiro, L.N.H., Boliani, A.C., Ferreira, A.F.A., Rodrigues, M.G.F., Faria, G.A., Silva, M.S.C., Oliveira, M.P., Cunha, S.R. & Ribeiro, L.R. (2019). Implication of some pre-germination treatments on seeds and initial seedling growth of pomegranate (*Punica granatum* L.). *Australian Journal of Crop Science*, 13 (4), 558-565. <https://doi.org/10.21475/ajcs.19.13.04.p1496>
- Osipi, E.A.F., Carvalho, D.U., Cruz, M.A., Osipe, J.B., Cossa, C.A. & Sorace, M.A. (2018). Sarcotesta removal methods and GA₃ treatment on germination of *Punica granatum* L. seeds. *Bioteemas*, 31 (2), 1-8. <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2018v31n2p1>
- Peixoto, E.C.T.M., Moreira, G.M.B., Figueiredo, A., Matsumoto, L.S., Silva, R.M.G. & Domingues, P.F. (2014). Extrato aquoso de *Punica granatum* Linn. no tratamento de mastite bovina subclínica. *Cadernos de Agroecologia*, 9 (1), 1-5. <http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/cad/article/view/15497/10059>
- Takata, W., Silva, E.G., Corsato, J.M. & Ferreira, G. (2014). Germinação de sementes de romazeiras (*Punica granatum* L.) de acordo com a concentração de giberelina. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36 (1), 254-260. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-2945-269/13>
- Taiz, L., Zeiger, E., Moller, I. A. & Murphy A. (2017). *Fisiología e desenvolvimento vegetal*. Porto Alegre: Artmed.
- ValizadehKaji, B., Abbasifar, A., Bagheri, H., Zandievakili, G. & Daryabeigi, A. (2020). First report: grafting of three Iranian commercial pomegranate cultivars on drought tolerant rootstocks. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 7 (1), 69-79. <https://doi.org/10.22059/IJHST.2020.284659.304>
- Vasconcelos, L.H.C., Vendruscolo, E.P., Vasconcelos, R.F., Santos, M.M. & Seleguini, A. (2015). Utilização de métodos físicos e de fitorreguladores para superação de dormência em sementes de pinha. *Journal of Neotropical Agriculture*, 2 (4), 20-24. <https://periodicosonline.uems.br/index.php/agrineo/article/view/267>

Conflictos 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.

VEGETATIVE GROWTH OF *HYPERICUM PERFORATUM* L. PLANTS TREATED WITH HIGH DYNAMIZED DILUTIONS OVER DIFFERENT GROWING SEASONS

CRECIMIENTO VEGETATIVO DE PLANTAS DE *HYPERICUM PERFORATUM* L. TRATADAS CON DILUCIONES ALTAMENTE DINAMIZADAS DURANTE DIFERENTES TEMPORADAS DE CRECIMIENTO

**¹Aline Nunes, ²Daniela Sousa Coelho, ³Cristian Soldi, ⁴Simone Silmara Werner,
⁵Marcelo Maraschin, ⁶Pedro Boff, ⁷Mari Inês Carissimi Boff**

¹ Master in Plant Production, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, Brazil.

² PhD in Biotechnology and Biosciences, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, Brazil.

³ PhD in Organic Chemistry, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, Brazil.

⁴ PhD in Sciences, Agricultural Research and Rural Extension Company of Santa Catarina, Lages, Brazil.

⁵ PhD in Biochemistry, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, Brazil.

⁶ PhD in Ecology of Production and Conservation of Natural Resources, Research and Rural Extension Company of Santa Catarina, Lages, Brazil. ⁷ PhD in Production Ecology and Resource Management, Santa Catarina State University, Lages, Brazil.

¹alinenunes_bio@hotmail.com; ²daniela.sousacoelho@gmail.com; ³cristian.soldi@ufsc.br;

⁴simonewerner@epagri.sc.gov.br; ⁵m2@cca.ufsc.br; ⁶pboff@epagri.sc.gov.br; ⁷mari.boff@udesc.br

Citación: Nunes, A., Coelho, D., Soldi, C., Werner, S., Maraschin, M., Boff, P., and Boff, M. (2021). Vegetative growth of *Hypericum perforatum* L. plants treated with high dynamized dilutions over different growing seasons. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 39 – 49. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.4237>

ABSTRACT

Contextualization: The species *Hypericum perforatum* is widely used as a treatment for several diseases, especially depression. This plant is not native to Brazil and, therefore, it is not planted in the country. Brazil has high rates of occurrence of depression, same as the whole Latin America, being considered a public health problem, so its cultivation is considered as a potential treatment tool.

Knowledge gap: The cultivation of the species in the country is still inefficient, as the plant does

not reach an adequate stage for flowering. Thus, further studies regarding the vegetative growth and the establishment of *H. perforatum* are needed, as it can provide great economic and health autonomy by addressing a public interest, using a treatment with practically no side effects, reducing drug costs for the country.

Purpose: Evaluate the effects of high dynamized dilutions and the influence of the seasons on vegetative growth and contents of bioactive compounds in *Hypericum perforatum* plants.

Methodology: Experiments were performed in two seasons: Spring/Summer and Summer/Autumn. The experimental plot consisted of 12 plants and 4 repetitions, totaling 48 plants per treatment. Five treatments were used consisting of homeopathic preparations of *Kali carbonicum*, *Natrum muriaticum*, *Phosphorus*, and *Silicea terra* at 12CH, and distilled water as control. The height of the longest branch, the total number of branches, shoot dry weight, and a number of dark glands were evaluated, as well as the amounts of phenolic compounds.

Results and conclusions: Homeopathic preparations affected *H. perforatum* plants differently over the cultivated seasons. In the Spring/Summer experiment, the *Silicea terra* treatment promoted higher plant growth than *Phosphorus*, but a similar rate to that of the other treatments. In the Summer/Autumn experiment, the homeopathies *Kali carbonicum*, *Natrum muriaticum*, and *Phosphorus* increased the vegetative growth in comparison to control. It was observed that in the experiment carried out in the Spring/Autumn, the plants of *H. perforatum* had difficulty in development. The formation of dark glands was not stimulated by the use of homeopathic preparations. The hypericin compound was not detected in any sample of *H. perforatum* leaves. This suggests the need for an extended cultivation time for the naphthodianthrone compound to accumulate in the dark glands.

Keywords: Hypericin; Homeopathy; Medicinal plant; St. John's wort

RESUMEN

Contextualización: la especie *Hypericum perforatum* se usa ampliamente como tratamiento para varias enfermedades, especialmente la depresión. Esta planta no es originaria de Brasil y, por lo tanto, no se planta en el país. Brasil tiene altas tasas de ocurrencia

de depresión, al igual que toda América Latina, siendo considerado un problema de salud pública, por lo que su cultivo se considera una posible herramienta de tratamiento.

Vacío de conocimiento: el cultivo de la especie en el país aún es ineficiente, ya que la planta no alcanza una etapa adecuada para la floración. Por lo tanto, es necesario llevar a cabo estudios adicionales sobre el crecimiento vegetativo y el establecimiento de *H. perforatum*, ya que puede proporcionar una gran autonomía económica y sanitaria, al atender un interés público usando un tratamiento que prácticamente no tenga efectos secundarios, lo que reduce los costos de los medicamentos para el país.

Propósito del estudio: evaluar los efectos de las diluciones altamente dinamizadas y la influencia de las estaciones sobre el crecimiento vegetativo y el contenido de compuestos bioactivos en plantas de *Hypericum perforatum*.

Metodología: los experimentos se realizaron en dos estaciones: Primavera/Verano y Verano/Otoño. La parcela experimental constó de 12 plantas y 4 repeticiones, para un total de 48 plantas por tratamiento. Se utilizaron cinco tratamientos que consistieron en preparaciones homeopáticas de *Kali carbonicum*, *Natrum muriaticum*, *Phosphorus* y *Silicea terra* a 12CH y agua destilada como control. Se evaluó la altura de la rama más larga, número de ramas, peso seco del brote y número de glándulas oscuras, así como las cantidades de compuestos fenólicos.

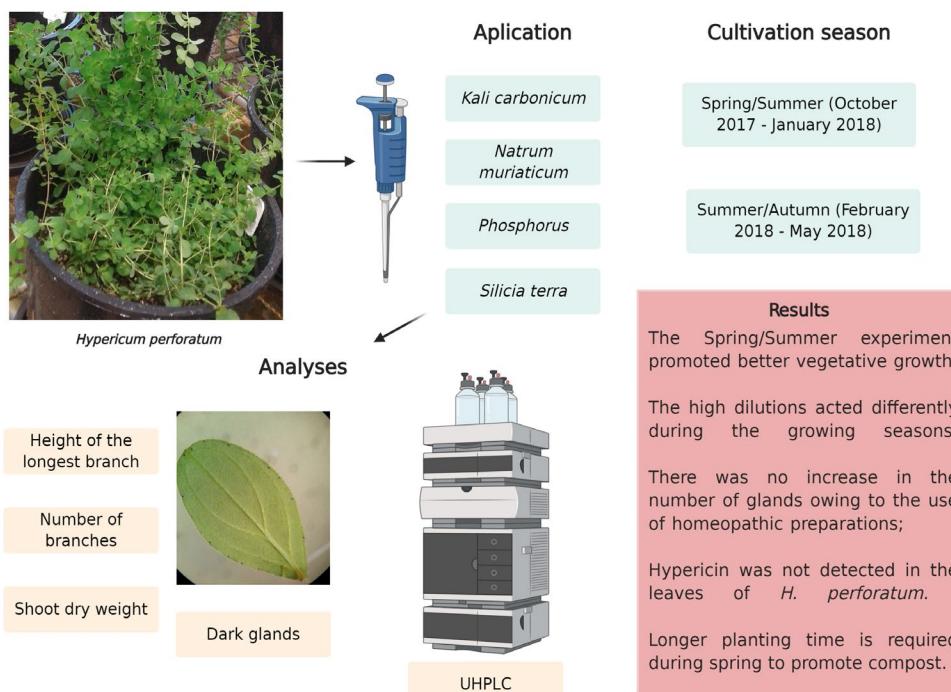
Resultados y conclusiones: las preparaciones homeopáticas afectaron a las plantas de *H. perforatum* de manera diferente durante las temporadas de cultivo. En el experimento de Primavera/Verano, el tratamiento con *Silicea terra* promovió un mayor crecimiento de las plantas que el *Phosphorus*, pero a una tasa similar a la de los otros tratamientos. En el experimento

Verano/Otoño, las homeopatías *Kali carbonicum*, *Natrum Muriaticum* y *Phosphorus* aumentaron el crecimiento vegetativo en comparación con el control. Se observó que en el experimento realizado en la Primavera/Otoño, las plantas de *H. perforatum* tuvieron dificultad de desarrollo. La formación de glándulas oscuras no fue estimulada por el uso de preparaciones homeopáticas.

El compuesto de hipericina no se detectó en ninguna muestra de hojas de *H. perforatum*. Esto sugiere la necesidad de un tiempo de cultivo prolongado para que el compuesto de naftodiantrona se acumule en las glándulas oscuras.

Palabras clave: Hipericina; Homeopatía; Planta medicinal; Hierba de San Juan

GRAPHIC SUMMARY



Source: authors

1. INTRODUCTION

Hypericum perforatum, known as St. John's wort, has been used as a medicinal plant to treat different human diseases, mainly mild and moderate depression (Ng et al., 2017). The biological activity of *H. perforatum* is attributed to more than ten classes of secondary metabolites, including anthraquinones/naphthodianthrone, phloroglucinol, flavonoids, xanthones, volatile oils, vitamin C, tannins, proteins, carotenoids, and coumarins.

However, hypericin and hyperforin have been the main compounds studied in this medicinal plant because of their well-known antidepressant effects (Mullaicharam and Halligudi, 2018).

Hypericin, an anthraquinone derivative, is naturally found in the yellow flowers of *H. perforatum*. It has antidepressant activity, resulting from an inhibitory effect on the neuronal uptake of norepinephrine, dopamine, γ -amino

butyric acid and L-glutamate. It is accumulated in specialized morphological secretory structures known as dark glands (Gaid et al., 2016). Previous studies have reported that hypericin concentrations will depend on different factors, such as planting and harvesting time, the phenological stage of plants at harvest and use of appropriate treatments for phytosanitary maintenance (Southwell and Bourke, 2001).

Native from Europe, Asia, and North Africa, the species *H. perforatum* can abundantly grow up on pastures, roadsides, and environments modified by human activity (Crompton et al. 1998). However, the adaptation and cultivation of *H. perforatum* in Brazil is still ineffective, because the plant does not reach a proper size (~ 60 cm) and does not reach an adequate stage to flower. Considering the high therapeutic potential of *H. perforatum*, it needs to be grown in ecological systems, so that there are no negative changes in the content of medicinal compounds that provide efficiency against diseases, such as depression (Faron et al., 2004).

Regulated by Normative Instruction No. 17/2014 by the Ministry of Agriculture, Cattle and Supplying for organic production (Ministério da Saúde, 2014b), homeopathic preparations have proven to be an effective and residue-free technology for use in agriculture (Teixeira and Carneiro, 2017; Sen et al., 2018). The application of homeopathic preparations can help the cultivation of medicinal plants on a more sustainable basis, eventually improving plant growth, and secondary metabolites biosynthesis and accumulation (Pereira et al., 2019).

In addition to the choice of residual-free treatments in medicinal plants (Ministério da Saúde, 2014a), the period of cultivation of the species needs to be determined, as this factor will also be determinant for the production

of biomass and the biosynthesis of bioactive compounds. According to Soni et al. (2015), the growing season influences the availability and the amounts of bioactive compounds in medicinal plants, determining their phytotherapeutic potential. Planting and/or harvesting at the wrong time may impair the yield of secondary metabolites pharmacologically relevant, so it is very important to identify the best seasons for cultivation. In this sense, this study aimed to evaluate the use of high dynamized dilutions and the influence of seasons on the vegetative growth and content of phenolic compounds in *Hypericum perforatum* plants.

2. MATERIALS AND METHODS

Cultivation of *Hypericum perforatum*:

The experiments were carried out in a culture room with controlled temperature and light at the Laboratory of Plant Health and Homeopathy and also in a greenhouse at the Epagri Experimental Station, located in the city of Lages (50° 19'46.93" W, 27° 48'28.746" S), Santa Catarina state, southern Brazil.

Two experiments were performed as follows: The Spring/Summer experiment, from October 2017 to January 2018 and the Summer/Autumn experiment, from February 2018 to May 2018. *H. perforatum* seeds were acquired from Feltrin Seeds®, showing a 64% germination rate, according to the manufacturer.

For production of the seedlings, the seeds were sown in a sowing tray filled with vermiculite and black earth, in a 2:1 ratio. The experiment used a randomized block design and the sowing trays were separated into blocks and transferred to a growth room at 25 °C and 16h/8h photoperiod, under luminous intensity set up at 2.338 LUX provided by LED lamps. The sowing trays were placed on a plastic tray containing 200 mL until the seeds' emergence, 15 days. Five treatments were used,

consisting of homeopathic preparations in the 12CH (twelfth order of the Hahnemannian centesimal dilution) of *Kali carbonicum*, *Natrum muriaticum*, *Phosphorus*, and *Silicea terra* and distilled water as a control. The matrices of the homeopathic preparations were acquired in a compounding pharmacy at 6CH. The preparations at 12CH were made according to the Brazilian Homeopathic Pharmacopeia (Ministério da Saúde, 2011).

The selection of homeopathic preparations was carried out using repertory language and in consultation with medical sources. The main characteristics of the species *H. perforatum* were analyzed, such as: sensitivity to cold, need for constant water and light, photosensitivity, and fragility. Using the materials listed, and according to the Homeopro® software, it was determined which homeopathic best approached the level of similarity.

All experiments were performed in a double-blind analysis, namely, the operator was unaware of the treatment to be used. *H. perforatum* seedlings were treated twice a week, dispensing 1 mL of homeopathic preparations per sowing cell directly in the soil, totaling eight applications in a 30-day experimental period.

Six weeks after sowing, the treated seedlings, with approximately 6 cm in height, were transplanted into pots (four plants per pot) and taken to a greenhouse. The experimental plot consisted of 12 plants and 4 repetitions, totaling 48 plants per treatment. 8.7 liters pots containing vermiculite, black soil, and sheep manure were used (1:1:1, v/v/v). 195 g natural phosphate per 360 liters of compost were used. In the greenhouse, homeopathic treatments were applied twice a week again and extended for one month until the end of the experiment, at 60 days after sowing.

After seed germination (15 days), two assessments per week were performed to measure the height of the main branch. The measurements were done from the base of the stem up to the highest leaf, and 17 evaluations of the main branch were carried out. At the end of the experiment (75 days), plant height, total number of branches and shoot dry weight were evaluated.

Sample collection and dark gland count:

All the samples of the Spring/Summer experiment were collected in February 2019; whereas, for the Summer/Autumn experiment samples were harvested in June 2019. Dark glands were counted from a destructive sample of five leaves from each plant, totaling 240 leaves per treatment. The counting of dark glands was performed using a stereoscopic microscope (25x) on the adaxial face of the leaves. The remaining materials (leaves and roots) were placed in a force-air drying oven for 48 h at 50 °C.

Preparation of hydroalcoholic extracts:

After comparing the data obtained in the general average of the dark gland count, the samples treated with the homeopathic preparation *Silicea terra* 12CH and the control ones were selected for further chromatographic analysis. The extracts were obtained by maceration using commercial ethyl alcohol 92% (v/v) and 36g and 29g dry shoot samples of the control plants and *Silicea terra*-treated plants, respectively, from the Spring/Summer experiment. Similarly, for the Summer/Autumn experiment, 1.05 g and 1.39g for plants treated with water and *Silicea terra*, respectively. Grinding was performed with 48 plants that were divided into four repetitions. The material was kept under maceration at room temperature and protected from light for seven days. After filtration, the solvent was removed by rotary evaporation at 45 °C to obtain the

crude hydroalcoholic extract. The extracts obtained for each maceration step were combined, frozen, and lyophilized, yielding four crude extracts per treatment.

Ultra-Performance Liquid Chromatography (UPLC): The hydroalcoholic preparations of *H. perforatum* extracts were submitted to UPLC analysis for hypericin characterization. The samples were prepared by removing the nonpolar components by solid-liquid extraction using *n*-hexane as an extractor solvent. 0.5 g hydroalcoholic extract were added in 2 mL of *n*-hexane, and the procedure was repeated twice. All samples were analyzed in triplicate. The analytical standard of the hypericin compound (Sigma-Aldrich 95%) was used for identification of the target compound, according to its retention time and UV-vis spectroscopic profile.

The experiments were conducted using an Ultimate 3000 RS UPLC System (Thermo-Fisher Scientific, USA) as proposed by Brolis et al. (1998). Chromatographic separation was performed by using a reverse-phase C18 column (FR-Thermo Scientific 250×4.6 mm, 5 µm) coupled with a C18 guard column (Phenomenex®), thermostated at 33°C, and a diode array detector (DAD). The mobile phase was eluted at flow rate at 1mL/min using the following linear gradient program (Brolis et al., 1998): A) water acidified with phosphoric acid 85% (99.7: 0.3 v/v); B) acetonitrile; C) methanol. Injection volume was 10 µl, and hypericin detection was achieved at wavelengths 240 nm, 270 nm, 320 nm, and 400 nm.

Statistical analysis: For the study variables (height of the largest branch, number of branches and shoot dry weight) one way analysis of variance (ANOVA - F test) was used for each season, and the assumptions of the model were checked using the Bartlett test

(homoscedasticity) and the Shapiro-Wilk test (normality). In cases in which the assumptions of the model were not satisfied, the transformation proposed by Box-Cox was used, applying the optimal lambda for transformation. In cases where there was a significant effect of the treatments, the means were compared by Tukey's test.

To describe the behavior of the plant height variable over time, the logistic model was used, given by:

$$y_{ij} = \frac{\beta_{1i}}{\left(1 + e^{\frac{\beta_{2i}-t_j}{\beta_{3i}}}\right)} + \varepsilon_{ij} \quad (1)$$

(Equation 1)

where: β_{1i} represents the parameter associated with the asymptote for the *i*th treatment,

β_{2i} is the parameter representing the numerical value associated with time at the curve's inflection point for the *i*th treatment. At this

point the height value will be $\frac{\beta_{1i}}{2}$. β_{3i} is the scale parameter associated with the *i*th treatment, t_j is the time in days associated with *j*th obser-

vation and ε_{ij} is the error associated with the *j*th observation of the *i*th treatment.

The treatments were compared using the confidence intervals of the model parameters. All analyses were performed with the aid of scripts written in the R language, considering a 5% significance level.

Retention time (min) and mean of the peak area (%) are presented for the chromatographic analyses performed by UHPLC.

3. RESULTS AND DISCUSSION

Cultivation: The vegetative growth of *H. perforatum* in the Spring/Summer experiment was higher ($p < 0.05$) in plants treated with the homeopathic preparation with *Silicea terra* compared to the ones treated with

Phosphorus, but it was similar to that of the other treatments. In the Summer/Autumn experiment, the treatments with *Natrum muriaticum* and *Kali carbonicum* provided the highest vegetative growth, and were statistically different from the control (Figure 1).

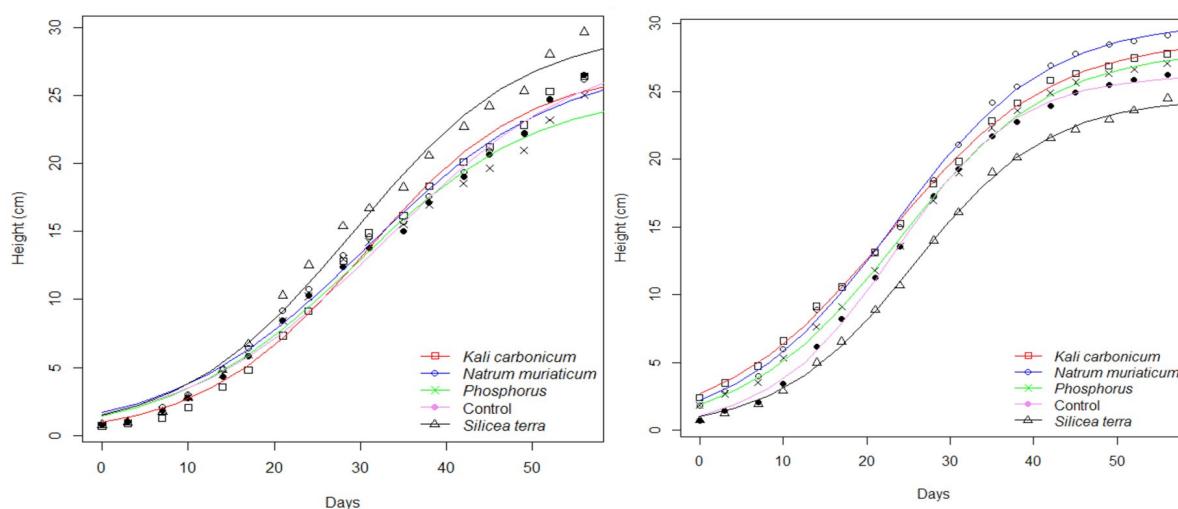


Figure 1. Vegetative growth of the main branch of *Hypericum perforatum* plants with high dilution treatments. A) Spring/Summer experiment; B) Summer/Autumn experiment.

Source: authors.

The plants treated with *Silicea terra* were higher in comparison to those treated with *Phosphorus*, but their height was similar to that of plants treated with *Kali carbonicum*, *Natrum muriaticum*, and to the height of the control treatment in the Spring/Summer experiment. In the Summer/Autumn experiment, *Natrum muriaticum*-treated plants differed from the *Silicea terra*-treated ones, but not from homeopathic preparations with *Kali carbonicum* and *Phosphorus*.

As far as growth period is concerned, the Spring/Summer plants treated with *Silicea terra* took 4 and a half days longer, on average, to reach 50% of the estimated height than plants treated with *Phosphorus*. For the Summer/Autumn experiment, *Silicea terra* was shown to act on plant height differently when compared to the Spring/Summer experiment, with a shorter time to reach 50% of the estimated height in comparison to other treatments.

Table 1. Vegetative growth of *Hypericum perforatum* over time in two growing seasons and treated with homeopathic preparations.

Treatment	β_1 (plant height/cm)	β_2 (growing time/days) **	β_1 (plant height/cm)	β_2 (growing time/days) **
	Spring/Summer			Spring/Summer
Kali-c	26.96 ab	30.53 a	28.91 a	22.57 b
Nat-m	27.56 ab	30.62 a	30.17 a	23.24 ab
Phos	25.34 b	29.49 a	28.04 ab	23.81 ab
Sil	29.99 a	29.19 a	24.53 c	25.71 a
Control	28.80 ab	32.91 a	26.22 bc	23.33 b

*Means followed by the same letter in the column within each variable do not differ significantly from one another (5% significance). Kali-c = *Kali carbonicum*; Nat-m = *Natrum muriaticum*; Phos = *Phosphorus*; Sil = *Silicea terra*.

**Estimated time for plant height to reach 50% of total growth. The parameter β_1 corresponds to the height (cm) of the plant over time and the parameter β_2 represents the number of days that the plant reaches 50% of the height estimated by the asymptote.

Source: Authors.

At the end of the experiment, the height of the longest branch in Spring/Summer plants was lower when the plants were treated with the homeopathic preparations *Kali carbonicum* and *Natrum muriaticum*. *Phosphorus*, *Silicea terra*, and the control treatments presented the highest averages. For the Summer/Autumn experiment, no statistical differences were detected for the treatments (Table 2).

Table 2. Average height of the longest branch and number of branches (\pm standard error) of *Hypericum perforatum* plants treated with homeopathic preparations in two growing seasons.

Treatment	Height of longest branch (cm)	Number of branches	Shoot dry weight (g)
Spring/Summer experiment			
Kali-c	37.88 \pm 2.03 b	21.68 \pm 3.05 ab	22.90 \pm 3.26 ns
Nat-m	38.33 \pm 2.02 b	18.92 \pm 1.77 b	22.49 \pm 3.24
Phos	41.92 \pm 2.27 ab	22.02 \pm 1.63 ab	28.20 \pm 4.46
Sil	44.89 \pm 2.58 ab	30.85 \pm 3.54 a	29.20 \pm 5.19
Control	48.53 \pm 2.42 a	29.21 \pm 3.64 ab	35.94 \pm 4.86
Mean and error	42.32 \pm 1.12	24.62 \pm 1.39	27.74 \pm 2.04
Summer/Autumn experiment			
Kali-c	37.39 \pm 1.20 ns	2.00 \pm 0.39 ns	1.75 \pm 0.19 ns
Nat-m	39.29 \pm 1.24	2.44 \pm 0.38	1.96 \pm 0.20
Phos	37.88 \pm 1.52	1.47 \pm 0.28	1.38 \pm 0.21
Sil	34.70 \pm 1.59	3.17 \pm 0.41	1.40 \pm 0.15
Control	36.41 \pm 1.19	2.13 \pm 0.60	1.51 \pm 0.17
Mean and error	37.19 \pm 0.62	2.23 \pm 0.20	1.59 \pm 0.09

*Means followed by the same letter in the column do not differ significantly from one another (5% significance). ns= non-significant. Kali-c = *Kali carbonicum*; Nat-m = *Natrum muriaticum*; Phos = *Phosphorus*; Sil = *Silicea terra*.

Source: Authors.

The average number of branches of *H. perforatum* plants in the Spring/Summer experiment was higher with the *Silicea terra* treatment, unlike the *Natrum muriaticum*-treated plants, but similar to control and the other treatments. In the Summer/Autumn experiment, there were no statistical differences among the treatments for height and number of branches.

Regarding the influence of homeopathy on agriculture, Bonato and Silva (2003) state that homeopathic preparations behave like energy and, when dynamized, the wave frequency remains fixed, with variation only on its amplitude, thus being able to alter the responses in a negative or positive way. Homeopathic

medical materials act in the form of vibration, acting on the amplitude of the wave and consequently reflecting on biological organisms (Kolisko and Kolisko, 1978; Silva et al., 2005). Andrade and Casali (2011) state that medical materials react on the electromagnetic field differently, depending on the vitality of the plant. Thus, the performance in the organisms will depend on the chosen homeopathic preparation, the Hahnemannian centesimal used, and even the application method.

Dark glands: The number of dark glands present in the leaves of *H. perforatum* did not differ according to the homeopathic preparations and the control (Table 3).

Table 3. Number of dark glands in the leaves of *Hypericum perforatum* over time in two growing seasons and treated with homeopathic preparations.

Treatments	Dark glands (nº)	
	Spring/Summer experiment	Summer/Autumn experiment
<i>Kali carbonicum</i> 12CH	14.76 ± 0.44 ns	12.75 ± 0.54 ns
<i>Natrum muriaticum</i> 12CH	15.39 ± 0.41	13.37 ± 0.37
<i>Phosphorus</i> 12CH	14.64 ± 0.65	12.20 ± 0.43
<i>Silicea terra</i> 12CH	16.41 ± 0.56	13.28 ± 0.34
Control	16.24 ± 0.51	12.54 ± 0.38
Mean and error	15.51 ± 0.24	12.83 ± 0.19

*Means followed by the same latter in the column do not differ significantly from one another (5% significance). ns = non-significant.

Source: Authors.

The number of dark glands may vary according to the growth stage of *H. perforatum* plants and, consequently, it affects the production of hypericin. Kladar et al. (2015) reported that phenological stages, such as flowering (pre-bloom, full-bloom, and post-bloom), influence the secondary metabolite pathways of plants.

Chromatographic analysis: The hypericin substance was targeted, but there was no peak in the crude extract chromatograms that corresponded to its retention time. Other peaks with absorptions at wavelengths 240 nm, 270 nm, 320 nm were detected, but they could not be identified. In the Spring/Summer experiment, the hydroalcoholic extracts

of the control and *Silicea terra*-treated plants presented 11 peaks in the chromatograms, while in the Summer/Autumn experiment, 12 peaks were detected in both treatments. The detected peaks mostly showed more nonpolar compounds that appeared in the final retention times.

Rizzo et al. (2019) reported that the biosynthesis of hypericin and even other metabolites are related to the development of dark glands. The authors explained that leaves are the parts used in therapeutic treatment, but flowers are the ones that have more dark glands and, consequently, more hypericin. At the time of cultivation performed in this study, there was no time to flowering, which presumably determined the non-detection of the compound. In this study, as *H. perforatum* plants were grown only for 75 days, one could speculate that plants did not reach the growth and developmental stages required for the biosynthesis and accumulation of hypericin, regardless of growing seasons.

4. CONCLUSIONS

Homeopathic remedies affected plants of *H. perforatum* differently during the growing seasons. Higher averages were observed in plant cultivation when planting started in Spring compared to Summer. The compound of interest, hypericin, was not detected in any sample of leaves of *H. perforatum*. This suggests the need for a longer cultivation time so that biosynthesis and accumulation of such secondary metabolite can occur in the dark glands.

AUTHOR'S CONTRIBUTION

First author: Methodology, research, data analysis, conceptualization, writing, original outline. **Second author:** Methodology, data analysis, review. **Third author:** Methodology, data analysis, review. **Fourth author:** Methodology, data analysis, review. **Fifth**

author: Methodology, data analysis, review.

Sixth author: Resource acquisition, supervision, review. **Seventh author:** Resource acquisition, supervision, review.

ACKNOWLEDGMENTS

The FAPESC Project 2015TR1067 and the Support Fund for the Maintenance and Development of Higher Education (FUMDES, in Portuguese), through the Santa Catarina University Scholarship Program UNIEDU.

LITERATURE CITED

- Andrade, F.M.C., and Casali, V.W.D.C. (2011). Homeopatia, agroecologia e sustentabilidade. *Revista Brasileira de Agroecologia*, 6(1), 49-56.
- Bonato, C.M., and Silva, E.P. (2003). Effect of the homeopathic solution Sulphur on the growth and productivity of radish. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 25(2), 259-263.
- Brolis, M., Gabetta, B., Fuzzti, N., Pace, R., Panzeri, F., and Peterlongo, F. (1998). Identification by high-performance liquid chromatography-diode array detection-mass spectrometry and quantification by high-performance liquid chromatography-UV absorbance detection of active constituents of *Hypericum perforatum*. *Journal Chromatography A*. 825, 9-16. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(98\)00697-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(98)00697-9)
- Crompton, C.W., Hall, I.V., Jensen, K.I.N., and Hildebrand, P.D. (1998). The biology of Canadian weeds. 83. *Hypericum perforatum* L. Canadian Journal of Plant Science, 68(1), 149-162. <https://doi.org/10.4141/cjps88-015>
- Faron, M.L.B., Perecin, M.B., Lago, A.A., Bovi, O.A., and Maia, N.B. (2004). Temperatura, nitrato de potássio e fotoperíodo na germinação de sementes de *Hypericum perforatum* L. e *H. brasiliense* Choisy. *Bragantia*, 63(2), 193-199. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052004000200004>
- Gaid, M., Haas, P., Beuerle, T., Scholl, S., and Beerhues, L. (2016). Hyperforin production in *Hypericum perforatum* root cultures. *Journal of Biotechnology*, 222, 47-55. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.02.016>
- Kladar, N., Srđenović, B., Grujić, N., Bokić, B., Rat, M., Anačkov, G., and Božin, B. (2015). Ecologically and ontogenetically induced variations in phenolic

- compounds and biological activities of *Hypericum maculatum* subsp. *maculatum*, Hypericaceae. Brazilian Journal of Botany, 38(4), 703-705. <https://doi.org/10.1007/s40415-015-0177-3>
- Kolisko, E., and Kolisko, L. (1978). Agriculture of tomorrow. 2. ed. England: Acorn Press.
- Ministério da Saúde. (2011). Farmacopeia homeopática brasileira. 3 ed. São Paulo: Andrei.
- Ministério da Saúde. (2014). Instrução Normativa nº 4, de 18 de junho de 2014. Determina a publicação do Guia de orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de Produto Tradicional Fitoterápico. Brasília.
- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2014). Instrução Normativa nº 17, de 18 de junho de 2014. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*. Brasília.
- Mullaicharam, A.R., and Halligudi, N. (2018). St John's wort (*Hypericum perforatum* L.): A Review of its Chemistry, Pharmacology and Clinical Properties. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 1(1), 5-11. <http://doi.org/10.1211/0022357011775910>
- Ng, Q.X., Venkatanarayanan, N., and Ho, C.Y.X. (2017). Clinical use of *Hypericum perforatum* (St John's wort) in depression: A meta-analysis. *Journal of Affective Disorders*, 210, 211-221. <http://doi.org/10.1016/j.jad.2016.12.048>
- Pereira, M.M.A., Martins, A.D., Morais, L.C., Dória, J., Cavalcanti, V.P., Rodrigues, F.A., Pasqual, M., and Luz, J.M.Q. (2019). The Potential of Agro-homeopathy Applied to Medicinal Plants —A Review. *Journal of Agricultural Science*, 11(4), 500-506. <http://doi.org/10.5539/jas.v11n4p500>
- Rizzo, P., Altschmied, L., Stark, P., Rutten, T., Gündel, A., Scharfenberg, S., Franke, K., Bäumlein, H., Wessjohann, L., Koch, M., Borisjuk, L., and Sharbel, T.F. (2019). Discovery of key regulators of dark gland development and hypericin biosynthesis in St. John's Wort (*Hypericum perforatum*). *Plant Biotechnology Journal*, 17(12), 2299-2312. <http://doi.org/10.1111/pbi.13141>
- Sen, S., Chandra, I., Khatun, M.A., Chaterjee, S., and Das, S. (2018). Agrohomeopathy: an emerging field of agriculture for higher crop productivity and protection of plants against various stress conditions. *International Journal of Research and Analytical Reviews*, 5(4), 52-56. <http://doi.org/10.1729/Journal.18583>
- Silva, W.R.G., Rodrigues, S.C.P., Storace, J.E.O., and Carvalho, J.C.T. (2005). The ultra high dilutions and its virtual structures. *Ärztezeitschrift für Naturheilverfahren*, 46(10), 614-618.
- Soni, U., Brar, S., and Gauttam, V.K. (2015). Effect of seasonal variation on secondary metabolites of medicinal plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(9), 3654-3663. <http://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-822>
- Southwell, I.A., and Bourke, C.A. (2001). Seasonal variation in hypericin content of *Hypericum perforatum* L. (St. John's Wort). *Phytochemistry*, 56(5), 437-441. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00411-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00411-8)
- Teixeira, M.Z., and Carneiro, S.M.T.P.G. (2017). Effects of homeopathic high dilutions on plants: literature review. *Revista de Homeopatia*, 80(3/4), 104-120.

Conflictos 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.

RESPONSE OF *LUPINUS BRACTEOLARIS* SEEDS TO PRE-GERMINATIVE TREATMENTS AND EXPERIMENTAL CONDITIONS

RESPOSTA DE SEMENTES DE *LUPINUS BRACTEOLARIS* A TRATAMENTOS PRÉ-GERMINATIVOS E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

¹Luciana Pinto Paim, ²Eduarda Demari Avrella

³Juliana Carolina Alves Horlle, ⁴Claudimar Sidnei Fior

⁵Marília Lazarotto, ⁶André Pich Brunes

¹Master in Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

²Doctorate in Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

³Graduate student in agronomy, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

⁴Doctorate in Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

⁵Doctorate in Forestry Engineering, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brasil.

⁶Doctorate in Seed Science and Technology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

¹lucianappaim@bol.com.br, ²dudademari@hotmail.com, ³julianahorlle@gmail.com,

⁴csfior@ufrgs.br, ⁵marilia.lazarotto@ufpel.edu.br, ⁶andre.brunes@gmail.com

Citación: Paim, L.P., Avrella, E.D., Horlle, J.C., Fior, C.S., Lazarotto, M., and Brunes, A.P. (2021). Response of *Lupinus bracteolaris* seeds to pre-germinative treatments and experimental conditions. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 51 – 66. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.4278>

ABSTRACT

Contextualization: *Lupinus bracteolaris* is a heliophile species that vegetates lowlands, open slopes and sandstone hills.

Knowledge gap: Despite this great rusticity, there is little information about the species and its propagation, especially regarding the germination of its seeds.

Purpose: Evaluate the seeds of *Lupinus bracteolaris*, through pre-germinative treatments, substrate, temperature, luminosity, and water

absorption, to understand the initial germination processes of the species.

Methodology: Fruits were collected from 20 matrix plants, then the seeds were processed and submitted to the following tests: Pre-germinative methods (six treatments at 25 °C; substrates and temperatures (sand and paper at 20, 25 and 30 °C); photoblast test (white light, diffuse-green light and continuous dark under 20 °C) and the imbibition curve (control and scarification between

sandpaper under 20 °C). **Evaluations:** Percentage of germination and formed seedlings, germination speed index, average germination time and seedling formation, using a completely randomized design.

Results and conclusions: The results of the analyzed variables showed relevance for the pre-germinative treatment between sandpapers for 20 seconds, in addition, the substrate paper Germibox and the temperature of 20 °C were the most suitable during the germination of the seeds of *Lupinus bracteolaris*, which were classified as neutral photoblastics and without dormancy.

Keywords: Luminosity; native lupine; seed germination; substrate; temperature; without dormancy

RESUMO

Contextualização: *Lupinus bracteolaris* é uma espécie heliófila que vegeta campos baixos, taludes descobertos e morros areníticos.

Lacuna de conhecimento: Apesar dessa alta rusticidade, há poucas informações sobre a espécie e a sua propagação, principalmente no que diz respeito à germinação de suas sementes.

Objetivo do estudo: Avaliar as sementes de *Lupinus bracteolaris*, por meio de tratamentos pré-germinativos, substrato, temperatura,

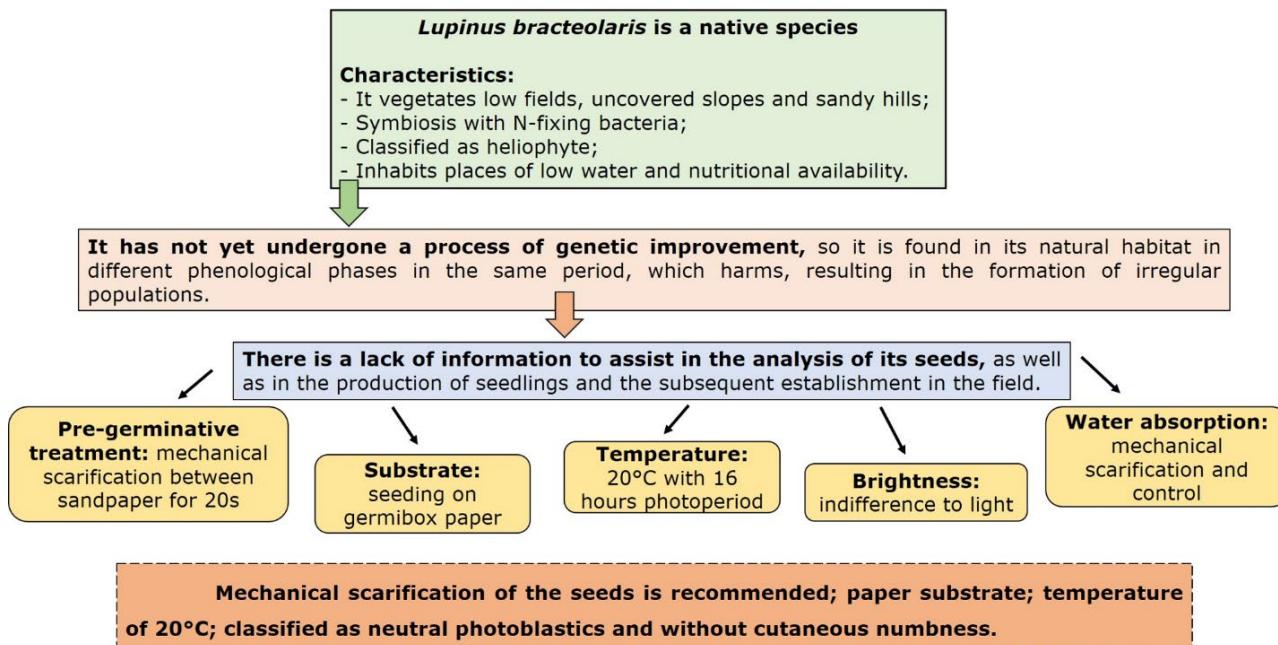
luminosidade e absorção de água, para compreender os processos iniciais de germinação da espécie.

Metodologia: Coletaram-se frutos em 20 plantas matrizes, posteriormente realizou-se o beneficiamento das sementes e as submeteram aos testes: Métodos pré-germinativos (seis tratamentos sob 25 °C); substratos e temperaturas (areia e papel sob 20, 25 e 30 °C); teste de fotoblastia (luz branca, luz verde difusa e escuro contínuo sob 20 °C) e a curva de embebição (controle e escarificação entre lixas sob 20 °C). Avaliações: Percentual de germinação e de plântulas formadas, índice de velocidade de germinação, tempo médio de germinação e de formação de plântulas, utilizando-se delineamento inteiramente casualizado.

Resultados e conclusões: Os resultados das variáveis analisadas mostraram relevância para o tratamento pré-germinativo entre lixas por 20 segundos, além disso, o substrato papel Germibox e a temperatura de 20 °C foram os mais adequados durante a germinação das sementes de *Lupinus bracteolaris*, as quais foram classificados como fotoblásticos neutros e sem dormência.

Palavras-chave: Germinação de sementes; luminosidade; sem dormência; substrato; temperatura; tremoço nativo

GRAPHIC SUMMARY



Source: authors

1. INTRODUCTION

Lupinus bracteolaris Desr. (= *L. czermakii* Michel) (Fabaceae) is an annual species popularly known as native lupine, with erect growth of 30 to 40 cm in height. It vegetates in places in full sun, granite and sandstone hills, lowlands and road slopes (Pinheiro and Miotto, 2001). It presents stem and leaf structures with many trichomes, favoring their development in places with low water availability, in addition to having active nodules in the roots; therefore, it shows the symbiosis with nitrogen-fixing bacteria. Due to these characteristics, it is assumed that the species has developed important strategies to survive in poor-sandy soils and adjacent to areas affected by sanding, which makes it promising for revegetation projects.

Similar to the species *Lupinus albescens* Hook. & Arn., also native to the region of Rio Grande do Sul State (Paim et al., 2019), *Lupinus bracteolaris* can also be found in its natural habitat under different phenological phases; that is,

some plants with the presence of flowers or fruits and/or seeds in the same period, which according to Cremonez et al. (2013), results in the formation of irregular populations. There is little information available in the literature about this species, especially on its propagation and regarding seed germination. To allow recommendations for the application of plants of this species in the field, or for seedling production, studies on the need for pre-germinative treatments and environmental conditions that accelerate and standardize the initial germination processes are necessary.

Lupinus bracteolaris presents seeds with a hard and resistant tegument, therefore, it is believed that the use of pre-germinative treatments may favor the increase of their permeability to water and gases, according to Guedes et al. (2013), allowing the beginning of germination processes. Pre-germination treatments contribute not only to rapid seed

germination, but also to a higher efficiency in the uniformity of seedling establishment in adverse environments (Santos *et al.*, 2011). In addition, the proper use of substrate and temperature in seed germination may favor the speed and percentage of germinated seeds, because the substrate acts to retain sufficient amounts of water and oxygen, and the temperature activates certain biochemical reactions during germination processes (Ministério da Agricultura, 2009, Taiz *et al.*, 2017). According to Marcos Filho (2015), the correct knowledge of these factors will result in the expression of the maximum germination potential in a shorter period of time.

Besides humidity and temperature, the presence and intensity of light is of great influence on the life cycle of plants. Those factors directly affect the percentage and speed of germinated seeds (Cosmo *et al.*, 2017). The plants can be positively or negatively influenced by light. Thus, the seeds can be classified as aphotoblastic or neutral (germination indifferent to light), positive photoblastic (greater germination under light) and negative photoblastic (greater germination in the dark) (Kerbauy, 2008). Therefore, it is essential to use methods adjusted for each species, since this may optimize propagation, reducing emergence failures and/or maximizing seedling formation (Lessa *et al.*, 2013).

Specific studies on pre-germination methods, substrates, temperatures, luminosity and water absorption by seeds are extremely important, especially in species that are little explored and that may act in the restoration of degraded environments, as most native species. As a result, the objective of this work was to evaluate the seeds of *Lupinus bracteolaris*, through pre-germinative treatments, substrate, temperature, luminosity, and water absorption, to understand the initial germination processes of the species.

2. MATERIALS AND METHODS

Seed collection and processing

In December 2015, *Lupinus bracteolaris* fruits (Figure 1A) were collected from approximately 20 matrix plants *in situ*, close to an arenization core (Figure 1B) in the municipality of São Francisco de Assis, State of Rio Grande do Sul ($29^{\circ}35'29.19''$ S latitude and $55^{\circ}22'10.41''$ W longitude) (Figure 1C). The weather in the region is characterized as humid subtropical of the Cfa-type, according to the classification of Köppen, with an average annual rainfall of 1,750 mm, well distributed. The average temperature of the coldest month varies between -3 and 18 °C, and the warmest month it exceeds 22 °C (Alvares *et al.*, 2013).

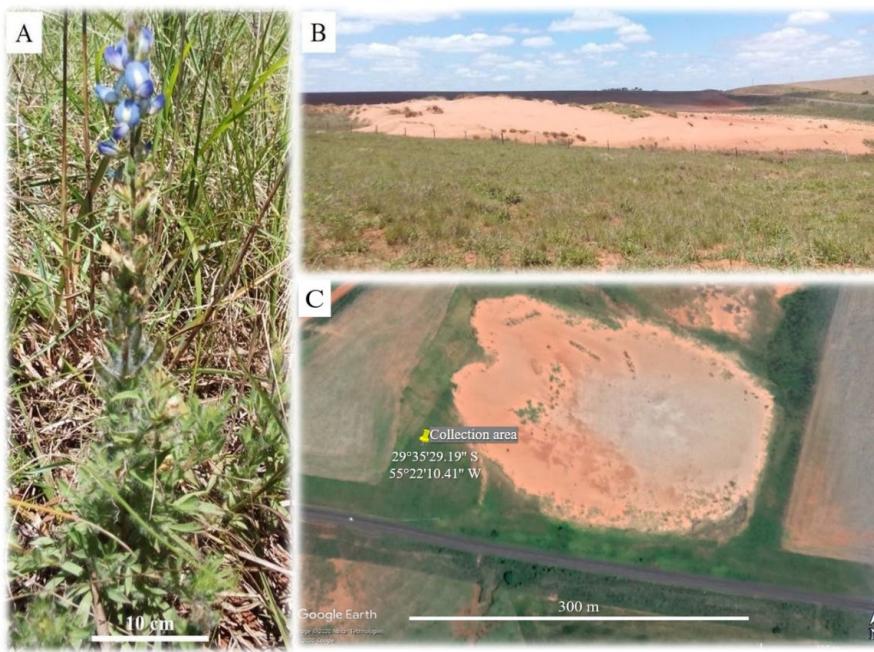


Figure 1. A *Lupinus bracteolaris* specimen in situ (A), collected near an arenization focus (B), the area located in the municipality of São Francisco de Assis-RS (C). Source: Google Earth, 2018.

After the collection, the fruits were taken to the Horticulture Biotechnology Laboratory of the Department of Horticulture and Silviculture of the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS) in Porto Alegre, RS. They were placed on a greenhouse bench with 70 % of light interception, without temperature and relative humidity control, for drying and finishing dehiscence. At the end of the process, the seeds were processed through manual collection and homogenization in only one batch.

This batch of seeds was submitted to water content evaluation, in three 0.5 g replicates, using the method of percentage difference in mass after drying in an oven at 105 ± 3 °C until constant weight (Ministério da Agricultura, 2009). Later, during the execution of the tests, the seeds were packed in 2.0 L transparent polyethylene bags, with a zip-type closure system, each bag with about 500 mL of seeds. Then, the seeds remained at a temperature of 5 to 8 °C, in a household fridge.

In all tests, before sowing, the seeds were submitted to the disinfestation process through immersion in 70 % (v/v) ethanol for 30 seconds, followed by sodium hypochlorite 2.0 % (a.i.), with 0.01 % concentrated detergent (Tween 20®), for 10 minutes. To remove residues from these disinfestation agents, three rinses were performed in autoclaved deionized water.

Pre-germinative treatments

The seeds were subjected to six treatments: Control (T1); mechanical scarification between sandpaper No. 120 for 20 and 40 seconds (T2 and T3); immersion in water (500 ml) for 24 hours at an ambient temperature of ± 25 °C (T4); thermal shock in water at 50 °C and 100 °C for 10 minutes until cool in an ambient temperature of ± 25 °C (T5 and T6). Subsequently, the seeds were placed to germinate in a BOD-type incubator chamber with a constant temperature of 25 °C.

The pre-germinative treatment by the method of mechanical scarification between sandpaper No. 120 followed the methodology recommended for *Lupinus albescens* native species in the work of Paim et al. (2019).

Substrates and temperatures

The seeds used in this test were previously treated with mechanical scarification between sandpaper No. 120 for 20 seconds, due to its easy execution and the highlight for most of the analyzed variables, after which they were sown on the substrates sand and paper. These treatments were carried out at temperatures of 20, 25 and 30 °C, in a BOD-type incubator chamber.

Photoblastic test

Seeds scarified between sandpaper No. 120 for 20 seconds were sown on paper and kept at a constant temperature of 20 °C in a BOD-type incubator chamber. The light conditions were: White light, diffuse green light (with an intensity of 1,300 lux) and absence of light. In light treatments, the irradiance was approximately 30 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. The white light was provided by fluorescent lamps (30 W), the diffuse green light was obtained by wrapping the transparent-plastic Gerboxes with green cellophane paper (double layer, juxtaposed), while in the treatment with absence of light, the boxes were wrapped in aluminum foil and packed in a cardboard box, aiming to totally prevent the incidence of light in the seeds during the germination process.

Imbibition curve

Seeds submitted to the control treatments (without scarification) and mechanical scarification between sandpaper No. 120 for 20 seconds were sown on paper and taken to the environment with a constant temperature of 20 °C in a BOD-type incubator chamber.

During the imbibition monitoring, the seeds were evaluated by means of successive weighing every 2 hours, for the first 12 hours and every 12 hours until 50 % of the seeds of each repetition showed radicle protrusion. At each weighing, the seeds were removed from the Gerboxes, placed on paper towels to remove the excess of water and weighed on a precision scale (0.001 g capacity). After weighing, the seeds returned to their respective boxes and remained under a controlled environment. After the last weighing, the water content of the seeds was determined (Ministério da Agricultura, 2009).

The percentage increase in mass in relation to the initial mass, for each evaluation time was calculated through the formula:

$$\text{Formula 1: Mass gain (\%)} = \frac{\text{Final mass (g)}}{\text{Initial mass (g)}} \times 100$$

The sowing of the tests above occurred on Germibox paper, with the exception of the substrate by temperature test, which was on sand. In each replicate, a sheet (previously sterilized in an autoclave for 20 minutes) was used, moistened with autoclaved deionized water at the proportion of 2.5 times the dry paper mass (Ministério da Agricultura, 2009).

The papers were packed in transparent plastic Gerbox, which were individually arranged in transparent polyethylene bags, that is, to avoid excessive respiration. When sand was used as a substrate, it was previously autoclaved and at the time of sowing, hydrated with autoclaved deionized water up to 60 % of the water holding capacity (Ministério da Agricultura, 2009).

All experiments were conducted under a 16-hour photoperiod of light in incubator chambers of the BOD type (Biochemical Oxygen Demand). The tests described below are in the chronological phase of execution.

The evaluations of all the tests described above consisted of the daily count of the number of germinated seeds and normal seedlings formed, except in the treatment with absence of light from the photoblast test, which was developed at the end of the experiment. The parameter used in germination was the protrusion of the radicle and in the formation of seedlings, those that had a normal aerial part and root system formed (Ministério da Agricultura, 2009).

At the end of the analysis period, when in three consecutive evaluations there was no emergence and seedling formation, approximately on the 18th day, after the installation of the experiment, the following variables were calculated: Germination percentage (G) and formed seedlings (FS), according to the total of normal seedlings; the germination speed index (GSI), according to the formula suggested by Maguire (1962); the average germination time (AGT) and the average seedling formation time (SFT), according to the formula proposed by Silva and Nakagawa (1995). The calculated variables were as follows:

Germination (G) and formed seedlings (FS):

$$\text{Formula 2: } G \text{ or FS} = \frac{N}{100} \times 100$$

Where: N = Number of seeds germinated at the end of the test. Unity: %.

Germination speed index (GSI):

$$\text{Formula 3: } GSI = \sum \frac{n_i}{t_i}$$

Where: n_i = number of seeds that germinated in time 'i'; t_i = time after installation of the test; i = 1 → 18 days. Unity: Dimensionless.

Average germination time (AGT):

$$\text{Formula 4: } AGT = \frac{\sum n_i t_i}{\sum n_i}$$

Where: n_i = number of seeds germinated per day; t_i = incubation time; i = 1 → 18 days. Unit: Days.

The experimental design used in this study was the completely randomized (CRD), in a single-factor scheme for the tests of pre-germinative treatments, photoblastism and water absorption curve. The substrate and temperature test were performed in a two-factor arrangement (2 × 3), where the first factor was the substrates sand and paper, and the second the temperatures of 20, 25 and 30 °C. For all the tests above, four replicates of 25 seeds were used, totaling 100 seeds per treatment, with the exception of the photoblast test, in which five replicates were used.

Statistical Analysis

The data were submitted to Bartlett's normality test and, after analysis of variance (ANOVA), followed by comparison of means through the MSD test (Minimum Significant Difference) at the level of 5 % probability of error, using the features of CoStat 6.4 software. Being that, when the tests were performed with two factors, the analysis of variance was tested to verify the interaction between the factors.

3. RESULTS AND DISCUSSION

On the day following the collection, the seeds of *Lupinus bracteolaris* had a water content of 6.82 %. Thus, the seeds from the field showed a very low value, possibly indicating that the degree of seed maturity was nearing completion. In the laboratory, the completion of the seed maturation process was observed in only 15 days, by changing the color of the vegetables from gray-yellow to totally dark gray, in addition to opening all the vegetables and releasing the seeds. These results show the

importance of determining the water content, in order to assist in the interpretation of the maturation phases of the seeds collected in the field. Particularly, in the case of species with little information available in the literature, as is the case of *Lupinus bracteolaris*, and mainly because the seeds collected in natural populations are in different phenological stages, some plants with the presence of flowers or fruits and/or seeds, providing irregular phases within the same population.

Pre-germinative treatments

The first study carried out to accelerate the germination phase of *Lupinus bracteolaris* seeds showed superior results in the T2 treatment (mechanical scarification with sandpaper No. 120, for 20 seconds), for the variables: Germination percentage, seedling formation and speed index germination (Table 1) but did not differ statistically from treatment T3 (mechanical scarification with sandpaper No. 120 for 40 seconds).

Table 1. Average percentage of germination (G) and seedling formation (SF), germination speed index (GSI), average germination time (AGT) and seedling formation time (SFT), under six pre-germination treatments to accelerate the germination process of *Lupinus bracteolaris* seeds.

Treatment	Description	G (%)	SF (%)	GSI	AGT (days)	SFT (days)
T1	Control	19 b	19 b	0.99 b	6.65 abc	9.80 a
T2	MSS for 20 seconds	80 a	80 a	4.41 a	8.19 c	13.39 b
T3	MSS for 40 seconds	78 a	78 a	3.88 a	8.44 bc	13.17 b
T4	IW for 24 hours at room temperature)	20 b	20 b	1.47 b	6.23 a	8.58 a
T5	IW at 50 °C for 10 minutes	18 b	18 b	0.87 b	5.55 ab	9.96 a
T6	IW at 100 °C for 10 minutes	17 b	17 b	0.77 b	5.72 ab	9.86 a
CV (%)		18.81	18.61	29.40	19.02	14.82
Value p		P < 0.001	P < 0.001	P < 0.001	P = 0.0402	P < 0.01
Transformed data		-	-	-	Asen	-

MSS = mechanical scarification between sandpaper No. 120; IW = immersion in water; CV = coefficient of variation.
In the column, means followed by the same letters do not differ, by the DMS test (p <0.05).

Source: Authors.

In other species from the same family, the method of mechanical scarification with sandpaper also showed superior results in the seed germination processes, as well as a high rate of germination speed, as for *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (Pereira et al., 2011) and *Lupinus albescens* (Paim et al., 2019). This

is mainly due to the fact that mechanical scarification causes cracks in the tegument of the seeds, therefore increasing the permeability to water and gases, promoting the beginning of imbibition processes and, consequently, germination (Carvalho and Nakagawa, 2012, Guedes et al., 2013).

Thus, seed scarification becomes a highly relevant method to standardize and increase germination speed. In addition, it is an important technique in the germination of other native species, such as *Macroptilium martii* Benth. (Araújo *et al.*, 2014a) and *Lupinus albescens* (Paim *et al.*, 2019), Fabaceae species that inhabit extreme areas of low water availability and poor soils in the Caatinga and Pampa biomes, respectively.

The comparison between the results of the seed treatments, with the locals of occurrence of the species *Lupinus bracteolaris* and *Lupinus albescens* (Paim *et al.*, 2019), that is, sandy soils of arenitic origin, shows that the results found, under the ecophysiological aspect, corroborate the work of Rovedder *et al.* (2010), in which the authors mention that the propagules dispersed in these environments are susceptible to the action of wind and water erosive processes, which contributes to the rupture in the seed tegument, simulating a mechanical scarification resulting from the sand abrasion effects.

The average time of germination and seedling formation showed shorter periods for treatment T4 (immersion in water for 24 hours at room temperature) (Table 1); nevertheless, the application of this treatment becomes

impracticable, since the average of germinated seeds was only 20 %. A shorter average germination time is justified in the T4 treatment due to the fact that the few seeds that germinated in a short period of time had a permeable tegument. Because the treatment was not effective in overcoming the physical barrier to germination, the seeds able to germinate were pre-soaked and started the germination process during the treatment.

According to the results obtained in the pre-germinative treatment test, where, for most of the variables analyzed, the treatment regarding scarification between sandpapers was superior, in addition to its easy execution, it was adopted as the standard for further experiments.

Substrates and temperatures

The analysis of variance showed interaction between the two factors for the variables of germination percentage and seedling formation, as well as for the average germination time (Table 2). For the germination speed index and the average time of seedling formation, there was no interaction between temperatures and substrates, with a significant effect only for these factors analyzed separately (Table 2).

Table 2. Analysis of variance for germination percentage (G), seedling formation (SF), average germination time (AGT), seedling formation time (SFT) and germination speed index (GSI) under three temperatures and two substrates in *Lupinus bracteolaris* seeds.

Value p	G (%)	SF (%)	AGT (days)	SFT (days)	GSI
Substrates	P < 0.001	P < 0.001	P < 0.001	P < 0.021	P < 0.001
Temperatures	P < 0.04	P < 0.004	P < 0.001	P < 0.001	P < 0.003
Interaction	P < 0.001	P < 0.001	P < 0.021	p = 0.323 ^{ns}	p = 0.642 ^{ns}
CV (%)	14.12	15.47	13.37	12.27	18.70
Overall Average	74	72	8	13	4

CV = coefficient of variation. ^{ns} = not significant at 5 % probability of error.

Source: Authors

The germination percentage did not differ significantly in the sand substrate for temperatures of 20 and 25 °C, reaching 79 and 70 % of germinated seeds, respectively; this is also observed in the variable seedling formation, at both temperatures (Table 3). It was observed that the lower temperatures promoted the germination and the formation of seedlings in the sand substrate, because the highest temperature tested (30 °C) resulted in non-germinated seeds and seedlings with malformation; specifically, essential structures of the aerial part and root with reduced size.

In the case of the paper substrate, no significant differences were found between the temperatures tested, with an overall mean of 84 % for germination and seedling formation (Table 3). Likewise, the species *Dioclea violaceae* Mart. (Zucareli et al., 2010) presented similar results when the seeds were submitted to temperatures of 20, 25 and 30 °C, using the paper substrate. As a result, the paper stood out as an important substrate for these species, as it provided germination at all temperatures evaluated, with no identification of critical temperatures at this stage. According to Pilau et

al. (2012), the knowledge of temperature and substrate factors are fundamental in the beginning of germination processes, due to the peculiar characteristics among the species.

The average germination time is an easily measured variable that can be used to determine the vigor of the seeds, as according to Carvalho et al. (2012) a rapid germination and seedling emergence are important attributes for the formation of quality seedlings. For *Lupinus bracteolaris* seeds, there was a shorter average germination time in the sand substrate at 20 °C (6.85 days), while on paper, the shortest time was for temperatures of 20 and 25 °C, with an average of 5.91 and 6.15 days, respectively (Table 3).

In both substrates (sand and paper), it was found that the lowest temperatures (20 and 25 °C) promoted accelerated germination of seeds. It is assumed that mild temperatures may have triggered certain biochemical reactions during the germination process, which boosted specific enzyme systems (Marcos Filho, 2015).

Table 3. Germination percentage (G) of seedling formation (SF) and average germination time (AGT), under three temperatures and two substrates in *Lupinus bracteolaris* seeds.

Temperatures	Substrates	G (%)	SF (%)	AGT (days)
20 °C		79 Aa	79 Aa	6.85 Aa
25 °C	Sand	70 Aa	70 Aa	10.38 Ba
30 °C		45 Bb	31 Bb	11.5 Ba
20 °C		83 Aa	83 Aa	5.91 Aa
25 °C	Paper	81 Aa	81 Aa	6.15 Ab
30 °C		86.7 Aa	86.7 Aa	8.13 Bb

Averages of temperatures followed by uppercase letters and means of substrates followed by lowercase letters, do not differ by the DMS test ($p < 0.05$).

Source: Authors.

The highest rate of germination speed of 5.79 was found for the paper substrate, in addition, this substrate also provided a shorter average time for seedling formation, with an average of 11.64 days (Table 4). The paper substrate also provided satisfactory germination speed index results in works with other species, such as for *Albizia edwallii* (Hoehne) Barneby & J. W. Grimes (Duarte et al., 2015) and *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. (Miranda et al., 2012).

Therefore, the paper substrate was more successful for a greater number of variables

during the germination and seedling formation of the *Lupinus bracteolaris* species. It should be observed that the use of an appropriate substrate has a great influence on the germination of species, as is the case with paper, which is the most used in the tests and it has the advantage of maintaining constant humidity for long periods (Ministério da Agricultura, 2009). This is very important as the size of the seed can change the requirement for the amount of water, as well as the sensitivity or not to light and the ease in the course of seedling analysis (Ministério da Agricultura, 2009).

Table 4. Germination speed index (GSI) and the average seedling formation time (SFT) of *Lupinus bracteolaris* sown on two substrates and in an environment with three temperature regimes.

Substrates	GSI	SFT (days)	Temperatures	GSI	SFT (days)
Paper	5.79 a	11.64 a	20 °C	5.40 a	11.25 a
			25 °C	3.96 b	14.49 b
Sand	2.67 b	14.98 b	30 °C	2.98 c	14.55 b
CV (%)	18.70	12.27	CV (%)	18.70	12.27
Value p	P < 0.001	P < 0.01	Value p	P < 0.01	P < 0.01

CV = coefficient of variation. Means followed by equal letters in the column do not differ from each other, using the DMS test ($p < 0.05$).

Source: Authors

In relation to temperatures, the treatment of 20 °C showed superior results for the variable germination speed index with a value of 5.40, moreover, this temperature also had a shorter average time of seedling formation, this being 11.25 days (Table 4), resulting in suitable conditions for *Lupinus bracteolaris* seeds to express their vigor. Knowing the optimal temperature in relation to the maximum or minimum becomes important, since extreme temperatures imply a reduction in the speed of germination processes, causing the exposure of seedlings to adverse factors for long periods, which can lead to reduction of the germination rate (Baskin and Baskin, 2014).

Low temperatures delay the germination and growth of seedlings, due to the reduction in the activities of enzymes involved in respiration and metabolism (Marcos Filho, 2015); However, in relation to *Lupinus bracteolaris*, laboratory results have shown that mild temperatures benefit the species, so it appears that in the field, its germination phase coincides naturally with a period of lower temperatures.

It was found that the temperature of 20 °C was the most relevant and promising in the germination of *Lupinus bracteolaris*, in the same way as the use of the paper substrate. These two factors showed greater adequacy

in the germination of the species, according to most of the variables analyzed and the visualization of fewer fungi in the seeds, resulting in the formation of healthy seedlings and of uniform size (aerial part and roots).

Photoblast

The results of the photoblast test did not highlight significant differences between treatments for the percentage of seed germination (Table 5). It is likely that the characteristics of the species promoted its germination in wide light conditions, thus providing the development of phenotypic plasticity, allowing to classify *Lupinus bracteolaris* seeds as neutral photoblastic. Similar results were also found for *Lupinus albuscens*, another species native to the sands region (Paim *et al.*, 2019).

Table 5. Germination percentage of *Lupinus bracteolaris* seeds under different light conditions.

Treatments	Germination (%)
Green light	87
Continuous dark	77
White light	76
CV	12.37
Value p	0.1937 ^{ns}

CV = coefficient of variation. ^{ns} = not significant at 5% probability of error.

Source: Authors

Water absorption curve

Imbibition was observed in both the control and the pre-germinative treatments with mechanical scarification for 20 seconds; however, only the scarified seeds showed a higher mass gain in less time in the three stages of germination (Figure 2). Therefore, it was observed that only the seeds submitted to the pre-germinative treatment followed the three-phase

pattern mentioned by Marcos Filho (2015), but the imbibition in the control treatment indicates the absence of physical dormancy in the seeds of the species.

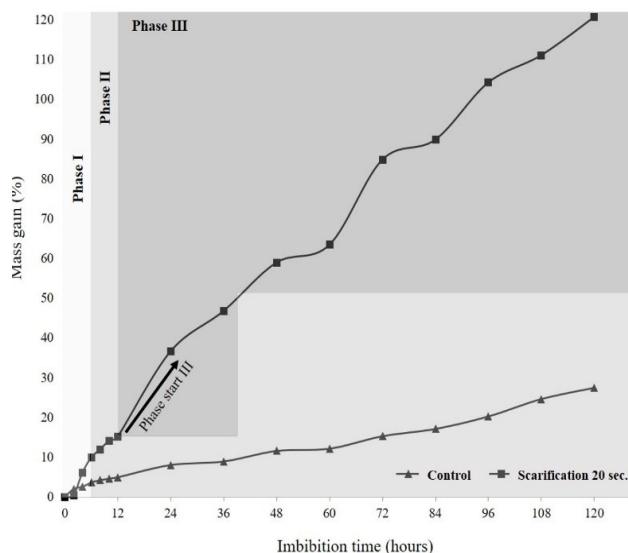


Figure 2. Water absorption curve in *Lupinus bracteolaris* seeds under pre-germinative treatment with mechanical scarification for 20 seconds and control (without scarification).

Source: Authors

The three-phase pattern presents important phases for the germination process, from water imbibition by the seeds to the beginning of the growth of the embryo. Thus, it was observed that after soaking, the scarified seeds absorbed water rapidly, reaching a level of approximately 12 % increase in mass, after 8 hours (phase I), about 67 % more than the control in this same period. This first imbibition phase is a consequence of the difference in water potential of the seed and the medium, this is a physical process in which the seed absorbs water for its rehydration until it reaches the equilibrium point, which does not depend on the viability of the seeds and the length of stay varies from species to species (Marcos Filho, 2015).

The second phase is known as stationary, preparatory biochemistry or growth-inducing, which will activate the degradation of reserves that will be used as an energy source for the reactivation of the embryo (Portes *et al.*, 2018). There is usually a reduction in water absorption and in the respiratory processes (Araújo *et al.*, 2014a) in this phase, as occurred in the *Lupinus bracteolaris* seeds which gained only 3 % in a period of 4 hours. Nevertheless, water absorption and mass gain were observed due to the treatment with mechanical scarification providing the opening of channels and the removal of the waxy layer, which promoted the entry of water at a greater speed, a fact that shows the lack of dormancy in the species seeds. According to Araújo *et al.* (2014b), seeds with dormancy may present this phase longer and with low mass gain.

The third phase started after 12 hours, with an increase in water absorption and a 60 % mass gain in the seeds in relation to phase II, consequently, beginning the protrusion of the radicle in this phase. Oliveira and Bosco (2013) corroborate that, at this stage there is an increase in the water content of the seeds and the emission of primary root. Therefore, the three-phase process of germination of *Lupinus bracteolaris* seeds was completed in 120 hours, when 50 % of the seeds of each repetition germinated.

The duration of each phase of germination can vary according to the tegument permeability and the size of the seed, as well as the conditions used during the imbibition process, such as temperature and substrate (Carvalho and Nakagawa, 2012). In view of this, the absorption curve showed that there was imbibition in both treatments, which allows us to conclude that the seed coat of *Lupinus bracteolaris* does not present impermeability, it just needs a longer period for the imbibition process. Thus,

it is evident that the use of pre-germinative treatment with mechanical scarification accelerates the absorption of water, and, consequently, the germination processes. due to the opening of channels on the tegument. This method causes small fractures in the seed tegument, favoring greater permeability during imbibition and, thus, water absorption occurs more rapidly through tissues and speeds up the depletion of endosperm reserves (Shimizu *et al.* 2011).

Most species belonging to the Fabaceae family commonly develop seeds of impermeable and resistant integuments, acting as barriers in the absorption of water and subsequent biochemical reactions inside it. However, it is a condition that limits the germination of many plant species. Nevertheless, seeds that germinate in less than 28 days of sowing under natural conditions of the environment are not considered with integumentary dormancy (Baskin and Baskin, 2014). Therefore, the results of this work indicate that the seeds of the native species *Lupinus bracteolaris* have no tegument dormancy, due to the fact that germination occurs naturally in less than 28 days.

In addition, the different species belonging to the genus *Lupinus* (American, European and African) are considered as highly tolerant to dry habitats and poor nutrient soils (Elbandy and Rho, 2014; Martínez Alcalá *et al.* 2010). Therefore, some natives of this group can be denominated pioneers, as they are the first to colonize newly-impacted and/or disturbed soils; namely, soil with little vegetation and exposed to adverse edaphoclimatic factors (light, rain, wind, soil, etc.). This information is in line with observations made in this study, as the collection sites of *Lupinus bracteolaris* seeds are commonly sunny, low fields, slopes of roads with exposed soil and areas adjacent to sandy soils.

4. CONCLUSIONS

Lupinus bracteolaris shows a positive response to pre-germinative treatment through mechanical scarification of its seeds, indicating a limitation in water absorption due to the semi-permeable resistance of the propagule casings.

For the analysis of its seeds, the substrate paper Germibox and the temperature of 20 °C are the most appropriate among those tested, reaching the formation of normal seedlings about 11 days after the beginning of the test.

Lupinus bracteolaris seeds can be classified as neutral photoblastic and, although there is no tegument dormancy, water absorption is slow in the absence of a scarification treatment.

AUTHOR'S CONTRIBUTION

First author: Methodology, research, data analysis and original draft writing. **Second author:** Methodology, research and original draft writing. **Third author:** Research and original draft writing. **Fourth author:** Review and editing. **Fifth author:** Review and editing. **Sixth author:** Review and editing.

ACKNOWLEDGMENTS

The present study was carried out with support from CAPES (Higher Education Personnel Improvement Coordination), CNPq (National Council for Scientific and Technological Development) and FAPERGS (Foundation for Research Support of the State of Rio Grande do Sul) that contributed to the development of the work.

LITERATURE CITED

Alvares, C.A., Stape, J.L.; Sentelhas, P.C.; Gonçalves, J.L.M. and Spavorek, G. (2013). Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, 22(6), 711-728. <http://dx.doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>

Araújo, A.M.S.; Torres, S.B.; Nogueira, N.W.; Freitas, R.M.O. and Carvalho, S.M.C. (2014a). Caracterização morfométrica e germinação de sementes de *Macroptilium martii* BENTH. (Fabaceae). *Revista Caatinga*, 27(3), 124-131.

Araújo, R.F.; Zonta, J.B.; Araújo, E.F.; Donzeles, S.M.L. and Costa, G.M. (2014b). Curva de absorção de água em sementes de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). *Idesia*, 32(2), 5-10. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292014000200002>

Baskin, C.C. and Baskin, J.M. (2014). *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. San Diego: Elsevier Science & Technology Books.

Carvalho, N.M. and Nakagawa, J. (2012). *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. Jaboticabal: FUNEP.

Carvalho, T.C.; Grzybowski, C.R.S.; Ohlson, O.C. and Panobianco, M. (2012). Comparação da qualidade fisiológica de sementes de soja convencional e de sua derivada transgênica. *Revista Brasileira de Sementes*, 34(1), 164-170. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222012000100020>

Cosmo, N.L.; Gogosz, A.M.; Rego, S.S.; Nogueira, A.C. and Kuniyoshi, Y.S. (2017). Morfologia de fruto, semente e plântula, e germinação de sementes de *Myrceugenia euosma* (O. Berg) D. Legrand Myrtaceae). *Floresta*, 47(4), 479-488. <http://dx.doi.org/10.5380/rf.v47i4.46933>

Cremonez, P.A., Feroldi, M., Feiden, A., Rossi, E.D., Nadaleti, W.C. and Antonelli, J. (2013). Tremoço: Manejo e aplicações. *Acta Iguazu*, 2, 98-108.

Duarte, M.M.; Milani, J.E.F.; Blum, C.T. and Nogueira, A.C. (2015). Germinação e morfologia de sementes e plântulas de *Albizia edwallii* (Hoehne) Barneby & J. W. Grimes. *Revista Caatinga*, 28 (3), 166-173. <https://doi.org/10.1590/1983-21252015v28n319rc>

Elbandy, M. and Rho, J. (2014). New flavone-di-C-glycosides from the seeds of Egyptian lupin (*Lupinus termis*). *Phytochem Lett*, 9, 127-131. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2014.05.006>

Guedes, R.S.; Alves, E.U.; Santos-Moura, S.S.; Costa, E.G. and Melo, P.A.F.R. (2013). Tratamentos para superar dormência de sementes de *Cassia fistula* L. *Biotemas*, 26(4), 11-22, 2013. <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2013v26n4p11>

- Kerbauy, G.B. (2008). *Fisiología Vegetal*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Lessa, B.F.T.; Ferreira, V.M.; Araújo Neto, J.C. and Souza, R.C. (2013). Germinação de sementes de *Emilia coccinea* (Sims) G. DON em função da luminosidade, temperatura, armazenamento e profundidade de semeadura. *Semina*, 34(6), suplemento 1, 3193-3204. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n6Supl1p3193>
- Maguire, J.D. (1962). Speed of germination – aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2(2), 176-177.
- Marcos Filho, J. (2015). *Fisiología de semillas de plantas cultivadas*. Londrina: ABRATES.
- Martínez-Alcalá, I.; Walker, D.J. and Bernal, M.P. (2010). Chemical and bio-logical properties in the rhizosphere of *Lupinus albus* alter soil heavy metal fractionation. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 73, 595-602. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.12.009>
- Ministério da Agricultura. (2009). *Regras para análise de sementes*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília.
- Miranda, C.C.; Souza, D.M.S.; Manhone, P.R.; Oliveira, P.C. and Breier, T.B. (2012). Germinação de sementes de *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. com diferentes substratos em condições laboratoriais. *Floresta e Ambiente*, 19(1), 26-31. <http://dx.doi.org/10.4322/floram.2012.004>
- Oliveira, A.B. and Bosco, M.R.O. (2013). Biometria, determinação da curva de absorção de água em sementes e emergência inicial de plântulas de *Copernicia hospita* Martius. *Revista Brasileira de Agroecologia*, 8(1), 66-74.
- Paim, L.P.; Avrella, E.D.; Luchesse, J.; Freitas, E.M.; Lazarotto, M. and Fior, C.S. (2019). Seed analysis of *Lupinus albescens* Hook. & Arn. *Iheringia, Série Botânica*, 74, e2019010. <https://doi.org/10.21826/2446-82312019v74e2019010>
- Pereira, M.O.; Souza-Leal, T.; Lagazzi, G. and Pedroso-de-Moraes, C. (2011). Avaliação de métodos de escarificação na superação de dormência de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (Fabaceae: Caesalpinoideae). *Revista em Agronegócio e Meio Ambiente*, 4, 119-129.
- Pilau, F.G.; Somavilla, L.; Battisti, R.; Schwerz, L. and Kulczynski, S.M. (2012). Germinação de sementes de crambe em diferentes temperaturas e substratos. *Semina: Ciências Agrárias*, 33(5), 1825-1830. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33n5p1825>
- Pinheiro, M. and Miotto, S.T.S. (2001). *Flora ilustrada do Rio Grande do Sul, Leguminosae: Faboideae, gênero Lupinus L., number sixty*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Portes, R.G.R.; Silva, F.D.; Silva, U.E.S. and Salvi, J.S. (2018). Curva de embebição e interferência da luz na germinação de sementes de rosa-do-deserto (*Adenium obesum* (Forssk.), Roem. & Schult.). *South American Journal of Basic Education*, 5(1), 9-19.
- Rovedder, A.P.M.; Eltz, F.L.F.; Drescher, M.S.; Dorneles, F.O. and Schenato, R.B. (2010). Espaçamento entre linhas e densidade de semeadura em revegetação com espécie de tremoço visando à recuperação de solo degradado. *Ciência Rural*, 40(9), 1955-1960. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782010005000135>
- Santos, A.R.F.; Silva-Mann, R. and Ferreira, R.A. (2011). Water pre-hydration as priming for *Moringa oleifera* Lam. seeds under salt stress. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14(1), 201-207.
- Shimizu, E.S.C.; Pinheiro, H.A.; Costa, M.A. and Filho, B.G.S. (2011). Aspectos fisiológicos da germinação e da qualidade de plântulas de *Schizolobium amazonicum* em resposta à escarificação das sementes em lixa e água quente. *Revista Árvore*, 35, 791-800. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622011000500004>
- Silva, J.B. and Nakagawa, J. (1995). Estudos de fórmulas para cálculo de velocidade de germinação. *Abrates*, 5, 62-73.
- Taiz, L.; Zeiger, E.; Moller, I.M. and Murphy A. (2017). *Fisiología e desenvolvimento vegetal*. Porto Alegre: Artmed.
- Zucareli, V.; Amaro, A.C.E.; Silvério, E.V. and Ferreira, G. (2010). Métodos de superação da dormência e temperatura na germinação de sementes de *Dioclea violacea*. *Semina*, 31, suplemento 1, 1305-1312. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2010v31n4Sup1p1305>

Conflictos 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.

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR CON MARCADORES ISSR DE LA COLECCIÓN DE CÍTRICOS DE LA UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS

MOLECULAR CHARACTERIZATION WITH ISSR MARKERS OF THE CITRUS COLLECTION FROM THE UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS

**¹Christian Camilo Castañeda-Cardona, ²Rogelio Portela-Puerta,
³Yacenia Morillo-Coronado**

¹ Ingeniero Agrónomo, Esp. en Biotecnología Agraria. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. Universidad de los Llanos. Villavicencio, Colombia. ² Estudiante de Ingeniería Agronómica. Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia. ³ Ingeniera Agrónoma. Doctora en Mejoramiento Genético de Plantas. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. AGROSAVIA. Palmira, Colombia.

¹christian.castaneda@unillanos.edu.co, ²rogelio.portela@unillanos.edu.co,

³ymorillo@agrosavia.co

Citación: Castañeda-Cardona, C., Portela-Puerta, R., y Morillo-Coronado, Y. (2021). Caracterización molecular con marcadores ISSR de la colección de cítricos de la UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 67 – 84. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3884>

RESUMEN

Contextualización: los cítricos son una de las especies arbóreas más cultivadas en todo el mundo. Poseen una gran importancia económica por su producción es mayor a cualquier otro frutal.

Vacío de conocimiento: pese a la gran demanda de cítricos en Colombia, se conoce muy poco acerca del origen y la diversidad genética. Asimismo, no se han realizado estudios de caracterización molecular de las variedades de cítricos de la colección de la Universidad de los Llanos, los cuales son importantes para implementar estrategias de conservación y uso potencial de los recursos genéticos.

Propósito del estudio: evaluar la diversidad genética de cuatro variedades de cítricos (Naranja Tangelo, Naranja Valencia, Mandarina Arrayana y Limón Castilla), establecidas en la Universidad de los Llanos con siete cebadores ISSR.

Metodología: la caracterización molecular se realizó en los laboratorios de Biotecnología Vegetal y Genética y Reproducción Animal de la Universidad de los Llanos. Se generó una matriz binaria de ausencia y presencia. La similitud genética entre los individuos se calculó utilizando el coeficiente de similitud de Nei y Li (1979). El análisis clúster se realizó por el método UPGMA y se generó un dendrograma utilizando el paquete

estadístico NTSYS, versión 2.02 PC. Se estimó la heterocigosidad insesgada, el porcentaje de loci polimórficos y el *f* estadístico insesgado con un intervalo de confianza del 95%, utilizando el paquete estadístico TFPGA, versión 1.3.

Resultados y conclusiones: se obtuvo un total de 80 bandas, de las cuales el 86.25% fueron polimórficas. La heterocigosidad estimada promedio para la población total fue de 0.29, que evidencia una moderada diversidad genética. Los cebadores CGA y AG fueron los de mayor aporte a la estimación del polimorfismo genético. Se encontró poca diferenciación genética ($F_{st} = 0.03$). A un nivel de similitud de 0.42 se formaron siete grupos, siendo los grupos 1 y 2 los que agruparon la mayor cantidad de genotipos de las cuatro especies, siendo en su mayoría de mandarina Arrayana y de naranja Tangelo. Los siete cebadores fueron significativos para la estimación de la diversidad genética en cítricos y constituyen una herramienta con gran potencial para posteriores trabajos de mejoramiento en esta especie.

Palabras Clave: *Citrus*; Diferenciación genética; Germoplasma; Microsatélites; Variabilidad Genética

ABSTRACT

Contextualization: Citrus trees are one of the most cultivated tree species in the world. They are of great importance since their production is greater than that of any other fruit tree.

Knowledge gap: Despite the great demand for citrus fruits in Colombia, there is limited knowledge about the origin and genetic diversity. Likewise, molecular characterization studies of citrus varieties established in the work collection of the Universidad de los Llanos have not been carried out, which is of vital importance to implement conservation strategies and potential use of genetic resources.

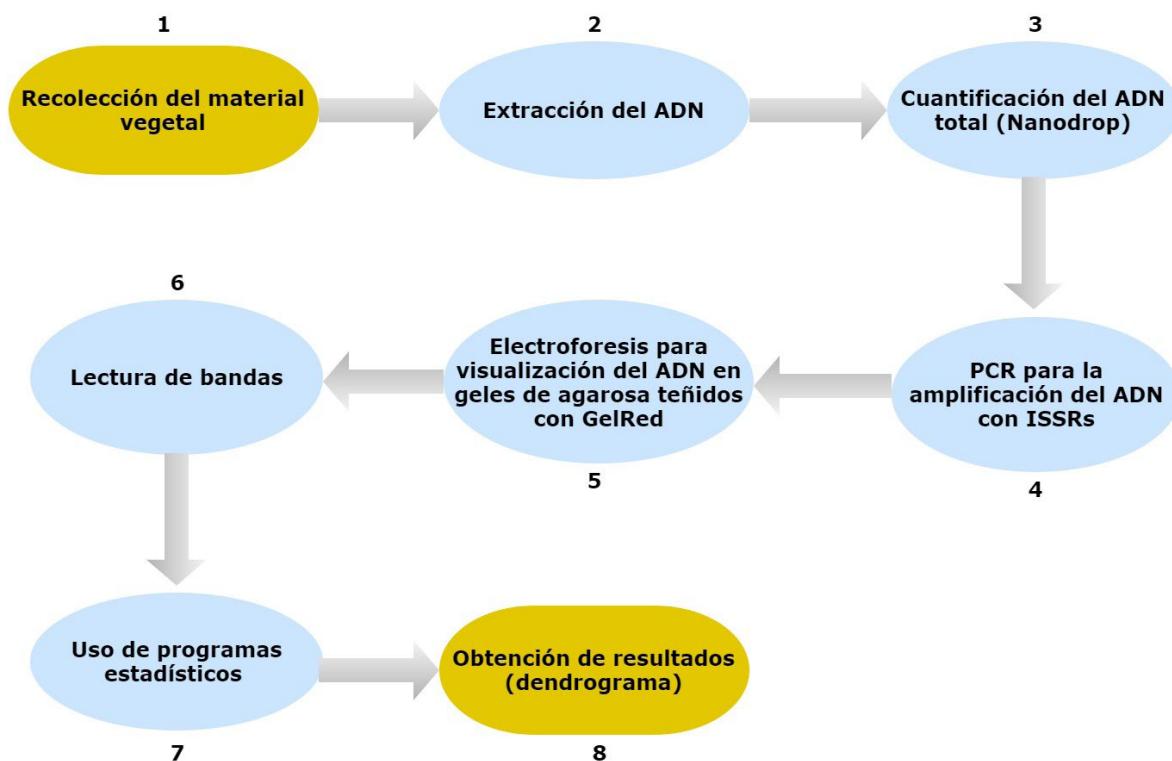
Purpose: to evaluate the genetic diversity of four citrus varieties (Tangelo orange, Valencia orange, Arrayana mandarin and Castilla lemon), established at the University of the Llanos with seven ISSR primers.

Methodology: The molecular characterization was carried out in the Plant Biotechnology and Animal Reproduction and Genetics laboratories of the Universidad de los Llanos. A binary matrix of absence and presence was generated. The genetic similarity between the individuals was calculated using the coefficient of similarity of Nei and Li (1979). The cluster analysis was performed by the UPGMA method and a dendrogram was generated using the NTSYS statistical package, version 2.02 pc. The unbiased heterozygosity, the percentage of polymorphic loci, and the unbiased *f* statistic were estimated with a 95% confidence interval, using the TFPGA statistical package, version 1.3.

Results and conclusions: A total of 80 bands were obtained, of which 86.25% were polymorphic. The average estimated heterozygosity for the total population was 0.29, which shows a moderate genetic diversity. The CGA and AG primers were the ones with the greatest contribution to the estimation of genetic polymorphism. Little genetic differentiation was found ($F_{st} = 0.03$). At a level of similarity of 0.42, seven groups were formed, with groups 1 and 2 being the ones that grouped the largest number of genotypes of the four species, being mostly Arrayana mandarin and Tangelo orange. The seven primers were significant for the estimation of genetic diversity in citrus fruits and constitute a tool with great potential for further improvement work in this species.

Keywords: *Citrus*; Genetic Differentiation, Germplasm; Microsatellite; Genetic Variability

RESUMEN GRÁFICO



Fuente: autores.

1. INTRODUCCIÓN

Los cítricos son un género que alberga 150 especies, de las que se destacan la naranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck), la mandarina (*Citrus reticulata* Blanco), el limón (*Citrus limon* L. Osbeck), la lima (*Citrus aurantifolia* Christm) y la toronja (*Citrus paradisi* Macfad), originarias del sudeste asiático, en los territorios de Malasia, China, Filipinas e Indonesia (Anderson *et al.*, 1996). Son de gran importancia a nivel mundial, ubicándose entre las 11 frutas más producidas en el mundo; en el cuarto puesto está la naranja, en el sexto las mandarinas, tangerinas y clementinas, y en el undécimo, las limas y limones (FAOSTAT, 2017). En el año 2016 se produjeron más de 124 millones de toneladas de cítricos en el mundo, donde Colombia aportó 239 mil toneladas (FAOSTAT, 2017).

En Colombia, la producción de cítricos tuvo su máxima producción en el año 2013 con 650 mil toneladas en un área de 38 mil hectáreas. Después, hubo una reducción en el área de siembra en el año 2015 que redujo la producción en 100 mil toneladas; sin embargo, en años posteriores hasta el año 2018 el sector citrícola se recuperó llegando a las 600 mil toneladas. Este cultivo se concentra en la zona de Piedemonte Llanero y en la región frutícola del Ariari. Para el año 2018 el departamento del Meta tuvo un área de 6650.6 ha; siendo el primero con la mayor área total sembrada en el país, equivalente al 17.68%, alcanzando una producción de 104.79 t, y un rendimiento de 1.76 t/ha. Este departamento ocupó el tercer puesto en producción con el 17.46% sólo siendo antecedidos

por los departamentos del Valle y el Quindío (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2019; Sánchez et al., 2020). La citricultura en el departamento del Meta tiene una trayectoria de más de 50 años. Desde la introducción de las primeras especies por parte de colonos, se ha logrado una adecuada adaptabilidad, dando lugar a cultivares con diferentes niveles de productividad y rentabilidad entre los que se destacan en orden de importancia, la naranja Valencia, la lima ácida Tahití y la mandarina Arrayana (Orduz et al., 2012).

Los recursos fitogenéticos son de gran importancia a nivel mundial ya que proporcionan la seguridad alimentaria y se sustenta a través de ellos el desarrollo de la agricultura para responder a los cambios ambientales y socioeconómicos de determinado país o determinada región (FAO, 2020). Los Bancos de germoplasma con mayor número de colecciones de cítricos se encuentran ubicados en Japón, China, EEUU, Francia y España; siendo Japón el país con mayor número de especies conservadas, manteniendo seis colecciones de más de 1200 genotipos (García, 2013). Los bancos de germoplasma con mayor número de colecciones de cítricos en Colombia están a cargo de Corpóica (actualmente Agrosavia), con 205 accesiones diferentes, de las cuales 44 son materiales nacionales y 161 materiales extranjeros, que incluyen variedades mejoradas, variedades obsoletas y variedades de agricultores (Valencia et al., 2010). Los recursos fitogenéticos de los cítricos en el departamento del Meta se concentran en los cultivos establecidos en el Piedemonte Llanero, donde se han evaluado por el Centro de Investigación La Libertad de Corpóica (Agrosavia) 13 variedades provenientes de tres especies (*C. sinensis* (L.) Osbeck, *C. paradisi* Macf., *C. reticulata* Blanco) y dos híbridos (*C. sinensis* (L.) Osbeck x *C. reticulata* Blanco y *C. reticulata* Blanco x *C. paradisi* Macf.) del género *Citrus* (Orduz et al., 2012).

El uso de marcadores moleculares es ya una actividad permanente para la caracterización y el manejo de los bancos de germoplasma (Barkley et al., 2006). Estas técnicas permiten detectar duplicados en las colecciones, corroborar la identidad de las entradas, establecer relaciones genéticas entre introducciones, realizar estudios taxonómicos y de diversidad genética, entre otros.

Varios marcadores han sido utilizados para caracterizar la diversidad genética en cítricos, como los reportados por Al-Nadabi et al. (2018), quienes evaluaron la relación genética de 27 cultivares de cítricos y seis accesiones silvestres utilizando AFLP. Los marcadores de ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD) han sido utilizados para identificar especies de cítricos (Munankarmi et al., 2014; Shahzadi et al., 2016). Se han realizado varios estudios filogenéticos utilizando SNP, que van desde 67 a 1457 (Curk et al., 2016; Garcia-Lor et al., 2015; Ollitrault et al., 2012); además, también se han utilizado este tipo de marcadores para estudios de diversidad genética y análisis de la estructura poblacional en germoplasma de cítricos como los llevados a cabo por Yu et al. (2018). Igualmente, los marcadores SSR han sido ampliamente utilizado en estudios filogenéticos de cítricos (Barkley et al., 2006; Garcia-Lor et al., 2012), así como en la identificación de híbridos de *Citrus aurantifolia* con *Citrus limon* (Bermúdez et al., 2017) e híbridos de limón (Carrillo et al., 2018). Más recientemente, diferentes marcadores moleculares como los de secuencia polimórfica amplificada y cortada (CAPS) de cpDNA (Yamamoto et al., 2013; Ninomiya et al., 2015; Fujii et al., 2016; Nonaka et al., 2017; Dorji y Yapwattanaphun, 2015; Froelicher et al., 2011), se han utilizado para la identificación, análisis de parentesco y filogenia de especies o cultivares de cítricos.

Entre las técnicas de marcadores basados en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), los marcadores conocidos como Inter-Secuencias Simples Repetitivas (ISSRs), son uno de los más sencillos y ampliamente utilizados (Singh et al., 2014). Su iniciador para PCR está compuesto de una secuencia microsatélite como (GACA)n anclada al extremo 3' o 5' por dos a cuatro nucleótidos arbitrarios usualmente degenerados (Zietkiewicz et al., 1994). De esta manera se amplifica una región situada entre dos microsatélites cercanos que incluyan los nucleótidos complementarios. Estos marcadores son polimórficos en la naturaleza, abundantes en el genoma, y combinan los beneficios de los marcadores AFLP y SSR con la universalidad de los marcadores RAPD (Henareh et al., 2016). Los marcadores ISSR son informativos sobre las especies de las que no se dispone de secuencias del genoma y presentan una alta reproducibilidad (Morillo et al., 2018), y tienen la capacidad de examinar y diferenciar rápidamente entre individuos estrechamente relacionados entre sí (Zietkiewicz et al., 1994). El mayor inconveniente de los marcadores de la ISSR es que son dominantes y se heredan en forma Mendeliana, por lo que pueden influir en la estimación de la diversidad genética.

Los marcadores ISSR se han utilizado para el mejoramiento genético de plantas, en lo relacionado con la caracterización del germo-plasma de especies vegetales y la evaluación de la diversidad genética (Castañeda-Cardona et al., 2020; Vargas et al., 2020, Martínez et al., 2020); estudios filogenéticos de diferentes especies (Varshney et al., 2005); para la identificación de marcadores de ADN vinculados a rasgos agronómicos; entre otros. Shahsavary et al. (2007) y Yang et al.

(2010), son algunos de los que han empleado estos marcadores en cítricos, para estudios de diversidad genética y las relaciones filogenéticas entre especies del género Citrus. Sharafi et al. (2017), evaluaron la diversidad genética de 19 cultivares de cítricos utilizando marcadores microsatélites SSR, ISSR y marcadores de secuencias polimórficas amplificadas (CAPs).

El objetivo de este trabajo fue caracterizar cuatro variedades de cítricos (Naranja Tangelo, Mandarina Arrayana, Naranja Valencia, Limón Castilla) de la colección de trabajo de la Universidad de los Llanos con marcadores ISSR, con el fin de contribuir al conocimiento de la diversidad genética de los cítricos más usados en la región, y planear estrategias de manejo y conservación de los recursos fitogenéticos, así como el establecimiento de programas de mejoramiento de la especie.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Para la caracterización molecular de la diversidad genética se evaluaron 44 genotipos de cítricos pertenecientes a la colección de trabajo de la Unidad Agrícola Experimental Barcelona de la Universidad de los Llanos (Villavicencio/Meta, Colombia), localizada a 4°04'30" latitud Norte y 73°34' 58" de longitud Oeste, a 469 m.s.n.m. Los 44 genotipos se distribuyeron en cuatro variedades así: 11 de Naranja Valencia (NV), 18 de Mandarina Arrayana (MA), 10 de Naranja Tangelo (NT) y cinco de Limón Castilla (LC) (Tabla 1). Para la extracción de ADN se tomaron al azar de cada genotipo dos a tres hojas jóvenes y en buen estado fitosanitario, las cuales se almacenaron en bolsas ziploc que contenía sílica gel, para ser llevadas al laboratorio para su análisis respectivo.

Tabla 1. Genotipos de cítricos utilizados en la caracterización molecular con marcadores ISSR.

Muestra	Especie	Identificación de la muestra	Muestra	Especie	Identificación de la muestra
1	Naranja Valencia	NV1	23	Naranja Valencia	NV7
2	Mandarina Arrayana	MA1	24	Mandarina Arrayana	MA10
3	Naranja Valencia	NV2	25	Mandarina Arrayana	MA11
4	Naranja Tangelo	NT1	26	Naranja Tangelo	NT6
5	Naranja Tangelo	NT2	27	Naranja Valencia	NV8
6	Naranja Tangelo	NT3	28	Naranja Tangelo	NT7
7	Mandarina Arrayana	MA2	29	Naranja Valencia	NV9
8	Mandarina Arrayana	MA3	30	Naranja Valencia	NV10
9	Naranja Valencia	NV3	31	Limón Castilla	LC3
10	Mandarina Arrayana	MA4	32	Mandarina Arrayana	MA12
11	Naranja Valencia	NV4	33	Mandarina Arrayana	MA13
12	Mandarina Arrayana	MA5	34	Mandarina Arrayana	MA14
13	Mandarina Arrayana	MA6	35	Naranja Tangelo	NT8
14	Naranja Tangelo	NT4	36	Naranja Tangelo	NT9
15	Limón Castilla	LC1	37	Limón Castilla	LC4
16	Mandarina Arrayana	MA7	38	Mandarina Arrayana	MA15
17	Mandarina Arrayana	MA8	39	Naranja Tangelo	NT10
18	Limón Castilla	LC2	40	Mandarina Arrayana	MA16
19	Naranja Tangelo	NT5	41	Mandarina Arrayana	MA17
20	Naranja Valencia	NV5	42	Mandarina Arrayana	MA18
21	Naranja Valencia	NV6	43	Naranja Valencia	NV11
22	Mandarina Arrayana	MA9	44	Limón Castilla	LC5

Fuente: Autores

Extracción de ADN y amplificación de marcadores ISSR

El ADN genómico se obtuvo mediante el protocolo de extracción de ADN propuesto por Doyle & Doyle (1990). Para la evaluación de la calidad y cantidad el ADN obtenido se realizaron geles de agarosa al 0.8% corridos en tampón TBE 0.5X (Tris-borato 0045M; EDTA 0.001M) a 80 voltios, 400 mA por 45 minutos y teñidos con GelRed®, utilizando para ello una cámara horizontal marca Maxicell Primo EC-340. Para la cuantificación de ADN total se utilizó el método de espectrofotometría en ácidos nucleicos a través del Nanodrop. El ADN cuantificado se diluyó en agua tipo HPLC a un volumen total de 100 µL a 20 ng/µL y se almacenó a -20 °C.

Para el estudio de diversidad genética se utilizaron siete cebadores ISSR (Tabla 2). El coctel de amplificación se preparó en un tubo estéril de microcentrifuga de 1.5 ml y consistió de Buffer 1X, MgCl₂ 1.5 mM, DNTPs 0.2 mM, Taq Polimerasa 1U, cebador 2 µM y ADN genómico 20ng, para un volumen final de 25 µL por muestra. La amplificación se llevó a cabo en un termociclador marca THERMO SCIENTIFIC modelo TCA0001. Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: desnaturización inicial a 95°C por 5 minutos, seguida de una nueva desnaturización a 95 °C por 30 segundos; hibridación a una temperatura comprendida entre 50 °C y 58 °C por 45 segundos (dependiendo del cebador utilizado, ver tabla 2); elongación a 72 °C por 2 minutos, 37 ciclos desde la desnaturización a la elongación; y por último una extensión final a 72 °C por 7 minutos. En cada ensayo de amplificación se incluyó un control negativo o blanco sin ADN para verificar la ausencia de contaminación. Los productos de la PCR se separaron por electroforesis en geles de agarosa al 1.2% a 100V, en solución de TBE 0.5X (Tris-Borato-EDTA), durante 90 minutos.

Posteriormente, se visualizaron en un transiluminador U/V Scientific modelo GL-3120.

Tabla 2. Cebadores utilizados para estudiar la diversidad genética en *Citrus* spp.

Cebador	Secuencia (5' a 3') *	T° hibridación
CCA	DDB(CCA)5	55
CGA	DHB(CGA)5	58
AG	HBH(AG)7A	50
CT	DYD(CT)7C	55
TG	HVH(TG)7T	55
CA	DBDA(CA)7	50
ACA	BDB(ACA)5	50

*Las designaciones son usadas para los sitios degenerados: H (A ó T ó C); B (G ó T ó C); V (G ó A ó C); D (G ó A ó T); Y (C ó T).

Fuente: Autores.

Análisis estadístico

Se generó una matriz binaria de presencia (1) y ausencia (0) con base en la información de las amplificaciones. La similitud genética entre los genotipos se estimó con el coeficiente de Nei y Li (1979). El análisis de agrupamiento se realizó con el programa SAHN de NTSYS (Numerical Taxonomy System for personal Computer, versión 2.02 PC) utilizando el método UPGMA, método gráfico de agrupamiento por parejas, que usa el promedio aritmético no ponderado. El dendrograma que indica la agrupación de los genotipos se construyó con el programa TREE de NTSYS -pc. Se calculó el coeficiente de correlación cofenética, que es una medida entre los valores de similitud del dendrograma y los de la matriz original de similitud. Este análisis se realizó utilizando los procesos COPH y MXCOMP del

paquete NTSYS-pc. Se realizó un análisis de correspondencia múltiple (ACM) para asociar columnas y filas de la matriz binaria determinando el nivel de asociación o determinar proximidad (Joseph, 1992).

Para estimar la diversidad genética se utilizaron los parámetros de heterocigosidad insesgada (H_e), número y porcentaje de loci polimórficos utilizando el programa estadístico TFPGA (Tools For Population Genetic Analyses, versión 1.3, 1997) y se determinó el f estadístico insesgado con un intervalo de confianza del 95% (Wright, 1978). Igualmente, con este programa se construyó un dendrograma obtenido de la mezcla de los

datos de todos los individuos dentro de las variedades, con el fin de observar el nivel de similitud entre ellas. Se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) mediante el programa GenAlex versión 6.2 (Peakall y Smouse, 2012) con 999 permutaciones, con el fin de determinar las diferencias entre y dentro de los grupos formados.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diversidad genética

Los siete cebadores ISSR generaron 80 patrones de bandas, de las cuales 69 fueron polimórficas. El número de bandas oscilaron entre ocho para el cebador CA y 14 para los cebadores AG y CT (Tabla 3).

Tabla 3. Número de bandas, número y porcentaje de loci polimórficos, heterocigosidad estimada (H_e), coeficiente de diferenciación genética (F_{st}) de siete cebadores ISSR evaluados en 44 genotipos de cítricos.

Cebador	No. bandas totales	No. de Loci Polimórficos	% Loci polimórficos	H_e	F_{st}
ACA	11	10	90.91	0.285	0.035
CA	8	7	87.5	0.281	0.012
CCA	11	10	90.9	0.317	0.091
TG	9	9	100	0.347	0.006
AG	14	11	78.57	0.252	0.031
CGA	13	12	92.31	0.293	0.007
CT	14	10	71.43	0.227	0.026
Total	80	69	87.374	0,286	0.030

Fuente: Autores.

Los cebadores AG y CGA fueron los que obtuvieron el mayor número de bandas polimórficas con valores de 11 y 12, respectivamente.

En la figura 1 se visualiza el patrón de bandas generado por el cebador AG.

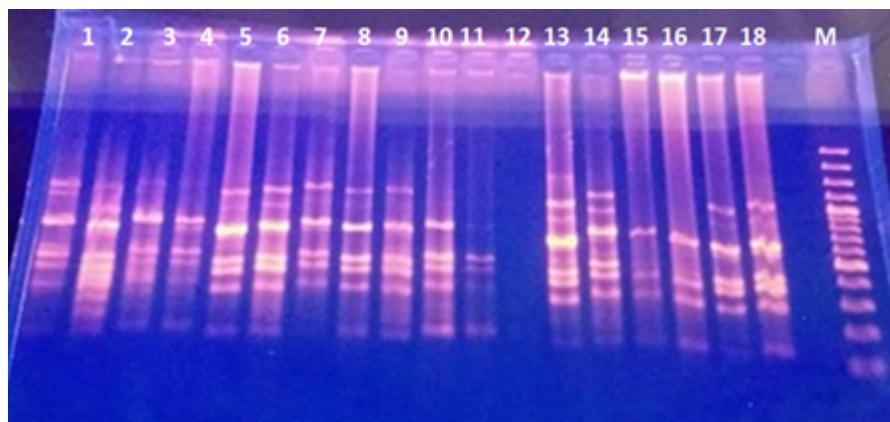


Figura 1. Patrón de bandas generadas por el cebador ISSR (AG)_n. **M:** marcador molecular; **12:** Control.

Fuente: Autores.

La heterocigosidad estimada (H_e) estuvo comprendida entre 0.22 y 0.34 para los cebadores CT y TG, respectivamente, donde el promedio total para población evaluada fue de 0.29. Esto evidencia una moderada diversidad genética, indicando de esta manera la existencia de una importante fuente de diversidad en cítricos que puede ser explotada en programas de mejoramiento actuales y futuros. Un alto valor de polimorfismo fue detectado con los siete cebadores evaluados (87.37%), donde el cebador TG fue el presentó el mayor porcentaje de loci polimórficos (100), seguido por el AG (92.31%).

considerados de gran utilidad para detectar polimorfismo, no solo en cítricos sino en especies relacionadas. El menor valor lo obtuvo CT correspondiente al 71.43%.

Los resultados encontrados son similares a los reportados por Munankarmi et al. (2018), quienes, al evaluar la diversidad genética en 60 cultivares de lima ácida (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle) colectados en diferentes localidades del este de Nepal, utilizando 21

marcadores polimórficos ISSR, encontraron una moderada diversidad genética, con valores de H_e que fluctuaron entre 0.173 y 0.215.

Por su parte Kumar et al. (2010), encontraron una baja heterocigosidad estimada de 0,12 en su estudio de diversidad de *Citrus indica*, con marcadores moleculares ISSR, lo que indica un bajo nivel de diversidad genética en esta especie. Sin embargo, estos marcadores lograron diferenciar el origen de cada uno de las introducciones dentro de cada taxón con un polimorfismo moderado (38-56%).

En contraste, Al-Nadabi et al. (2018), en su estudio de diversidad genética de 27 cultivares de cítricos y seis accesiones silvestres con marcadores AFLP, utilizando combinaciones de cuatro pares de cebadores, encontraron que todos los cultivares y accesiones de cítricos presentaron una baja diversidad genética ($H = 0.0281$ a 0.1300), con porcentajes de loci polimórficos que fluctuaron entre 8 y 35%. Las poblaciones de las seis accesiones de cítricos silvestres mostraron un nivel muy bajo

de diversidad genética (<0.0700). Igualmente, Martínez (2013) en su estudio de diversidad genética y estructura poblacional de 111 genotipos de *Citrus* spp. (99 individuos de mandarinas, 5 Tangelos, 4 Naranjas, 1 toronja y 2 limas ácidas), con ocho marcadores RAM's también conocidos como ISSR y 14 marcadores microsatélites, encontró una heterocigosidad promedio esperada (H_e), para toda la población de 0.36, y un porcentaje de loci polimórficos del 96%, lo que indica una alta diversidad genética de los genotipos evaluados. Según Scarano (2003), la variabilidad genética en los cítricos está relacionada con el alto número de unidades taxonómicas (especies e híbridos), apomixis, alta compatibilidad sexual entre los cítricos con especies relacionadas y la alta frecuencia de mutaciones.

Algunas hipótesis sobre el origen de los cultivares de naranjas, toronjas y limones, argumentan que estos se originaron a partir de plántulas nucleares; en consecuencia, la diversidad genética en estos grupos es relativamente baja (Luro et al., 2008). Por el contrario, en los cultivares de mandarinas, pomelos y cidros se encuentran altos niveles de diversidad genética, debido a que muchas de sus variedades surgieron a través de la hibridación sexual. Para el caso de los grupos de los limones, mediante análisis isoenzimático, se han reportado bajas tasas de polimorfismo intraespecífico y son relativamente homocigotos (Nicolosi et al., 2007; Ollitrault et al., 2010).

El coeficiente de diferenciación genética (F_{st}), obtenido al evaluar los 44 genotipos de cítricos pertenecientes a la colección de trabajo de la Universidad de los Llanos, con siete marcadores ISSR, fue de 0.03, con una desviación estándar de 0.0047, lo que indica poca

diferenciación genética de acuerdo con Wright (1978), donde los valores de F_{st} comprendidos entre 0.0 y 0.05 muestran poca diferenciación genética (Tabla 3). Lo anterior puede también explicarse por el flujo de genes entre las especies evaluadas. La baja diferenciación genética encontrada en *C. sinensis*, al igual que en los géneros como *Fortunella* y *Poncirus*, se debe a que cada una de sus numerosas formas cultivadas ha sido propagada a partir de un progenitor único por vía asexual mediante injertos, esquejes, acodos y embrionía nucelar, lo que asegura el mantenimiento de la misma constitución genética en la descendencia que forma una variedad hortícola (cultivar) o clonal (Webber, 1943).

En un estudio de diversidad genética con 51 introducciones de naranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck), Morillo et al. (2009) encontraron un valor de F_{st} de 0.07, con una desviación estándar de 0.01, los cebadores que mayor aporte hicieron a la diferenciación genética fueron CCA y CA, con un F_{st} de 0.11 para cada uno, lo que indica poca diferenciación genética. Los resultados se deben posiblemente a que las naranjas tienen una estrecha base genética, y que la variabilidad puede deberse a diversos factores como la hibridación, mutación o tipo de reproducción.

Análisis clúster

El análisis clúster basado en el coeficiente de similitud de Nei-Li (1979) usando el método de agrupamiento genético promedio (UPGMA) diferenció los 44 genotipos de cítricos en siete grupos a un nivel de similitud del 42% (Figura 2). Se encontró un coeficiente (r) de correlación cofenética de 0.96, lo cual indica que el dendrograma representa fielmente los valores de la matriz de similitud.

Como se puede observar en la figura 2, los grupos 1 y 2 son los que concentran la mayor cantidad de genotipos evaluados pertenecientes a las variedades de Naranja Tangelo (NT), Naranja Valencia (NV), Mandarina Arrayana (MA) y Limón Castilla (LC), donde el grupo 1 contó con 16 genotipos, en tanto que el grupo 2 con 21. Cabe resaltar que este último concentró la mayor cantidad de genotipos de mandarina (*C. reticulata*). El resto de grupos (G3 al G7) estuvieron representados por un bajo número de genotipos. Los grupos 4 y 7 fueron los que se presentaron un mayor valor de similitud correspondiente al 60%.

En general, los agrupamientos no mostraron una diferencia relevante entre las cuatro variedades de cítricos consideradas en este estudio, lo cual es consistente con el valor de Fst de 0.03 encontrado; sin embargo, la técnica ISSR proporcionó una información valiosa sobre las relaciones genéticas entre las variedades establecidas en la colección. No se observó un patrón claro que diferencie a los genotipos, es muy probable que eso se deba a la utilización de una variedad común para la realización de los injertos, ya que los genotipos incluidos en este estudio estaban injertados sobre mandarino cleopatra (*Citrus reshni* ex Tanaka), siendo este patrón el más utilizado como portainjertos para especies comerciales de mandarinas, naranjas y limas ácidas (Martínez, 2013).

En el dendrograma, los individuos pertenecientes a naranja, mandarina y limón, se

distribuyen a lo largo de los siete grupos formados, lo cual es el resultado de los diferentes cruzamientos entre distintas especies de cítricos, principalmente cidros, mandarinas, naranjo amargo, naranjo dulce, pummelos, y micranthas. Carbonell-Caballero et al. (2015) muestran que los genomas del cloroplasto del género Citrus contienen una "memoria" de la herencia paterna además de la materna, lo cual ha permitido construir y reforzar los conocimientos sobre las relaciones filogenéticas existentes dentro de este género. De este modo se puede conocer el origen de los principales grupos varietales de cítricos que se comercializan actualmente (Ibañez et al., 2015).

Algunos estudios basados en caracteres bioquímicos (Scora, 1975) y morfológicos (Barret y Rhodes, 1976) sugieren que la mayoría de especies del género Citrus son probablemente híbridos directos o híbridos sucesivos de tres especies ancestrales (*C. medica* L. -cidro-, *C. reticulata* -mandarinas- y *C. maxima* (Burm.) Merr. -zamboas-). Estudios basados en diversidad morfológica (Ollitrault et al., 2003) y en metabolitos secundarios (Fanciullino et al., 2006) confirmaron la importancia de estas tres especies en el origen de la mayoría de cítricos comestibles y la contribución mayor de la diferenciación entre estas especies en la diversidad fenotípica global de los cítricos. Además, *C. micrantha* Wester (Papeda) es considerado un ancestro de la lima mejicana (*C. aurantifolia* (Christm.) Swing) (Federici et al., 1998; Nicolosi et al., 2000; Ollitrault et al., 2012).

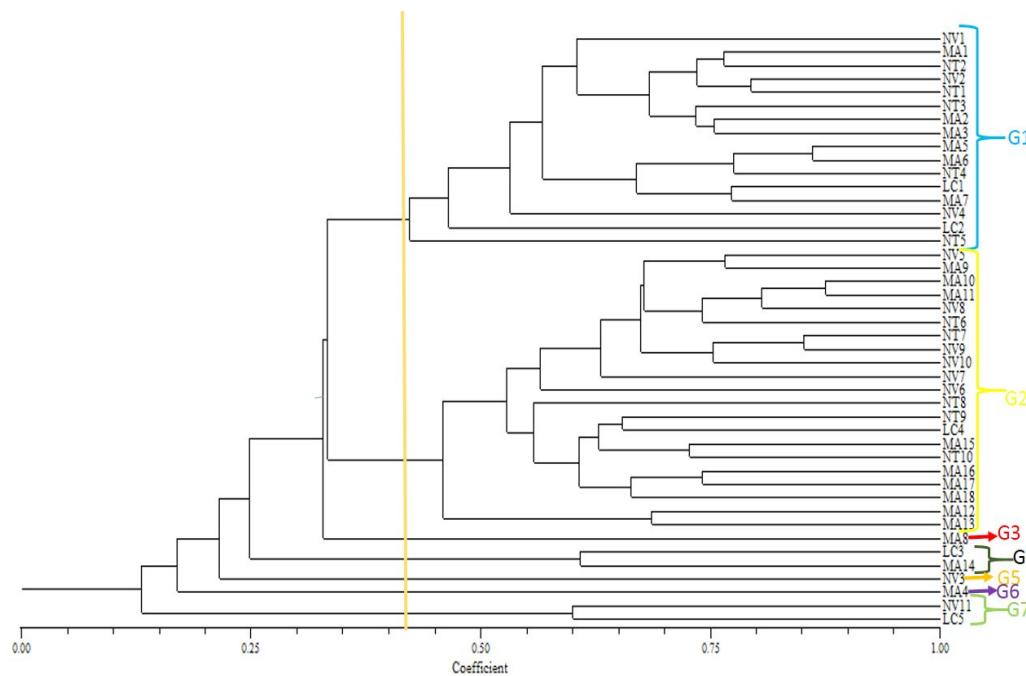


Figura 2. Dendrograma de la estructura genética de 44 genotipos de cítricos basado en el coeficiente de Nei -Li y calculado de los datos combinados de siete marcadores ISSR.

Fuente: Autores.

En el Análisis de Correspondencia Múltiple (ACM), se corrobora nuevamente lo presentado en el dendrograma. No se observó un patrón claro que diferencie a los genotipos, originando de esta forma dos grandes grupos (A y B), conteniendo cada uno de ellos individuos representantes de las cuatro variedades (MA, NT, NV y LC) (Figura 3). Lo anterior, posiblemente se deba a la presencia de alelos compartidos entre los individuos, así como también a un ancestro común.

Lo anterior es consistente con lo encontrado por Morillo et al. (2009), en su estudio de caracterización molecular de 34 accesiones de naranja *Citrus sinensis* L. Osbeck del Banco de Germoplasma Corpoica-Palmira (actualmente Agrosavia) con 19 marcadores microsatélites, donde los agrupamientos no mostraron una marcada diferenciación en cuanto a la clasificación de las naranjas en blancas, navel y sanguinas.

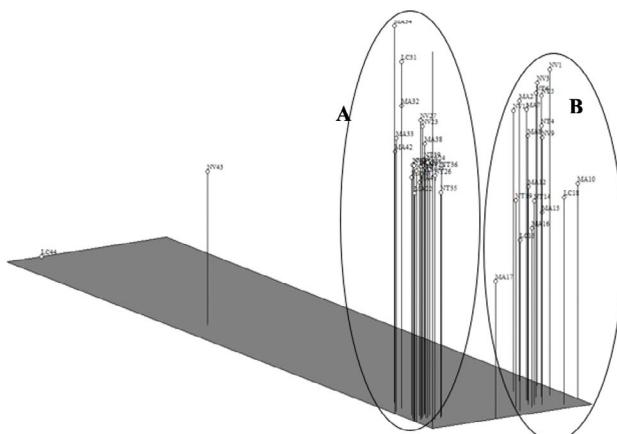


Figura 3. Análisis de Correspondencia Múltiple (ACM) de 44 genotipos de *Citrus* spp. evaluados y construido con los datos obtenidos de siete marcadores ISSR.

Fuente: Autores.

Al analizar las cuatro variedades se puede observar que el Limón Castilla y la Naranja Valencia fueron las que presentaron una mayor similitud, lo que las permitió unirse en un solo grupo (Figura 4). Esto confirma las relaciones genéticas entre estas especies. Nicolosi et al. (2000) propuso que el limón surgió del cruce directo entre el naranjo

amargo (*C. aurantium*) y un cidro (*C. medica*). Esta teoría fue apoyada por Gulsen y Roose (2001) y Ollitrault et al. (2012). La Mandarina Arrayana se agrupó con la Naranja Tangelo. Este agrupamiento obedece a que la Naranja Tangelo es producto del cruzamiento entre la mandarina (*C. reticulata*) y el pomelo (*C. paradisi*).

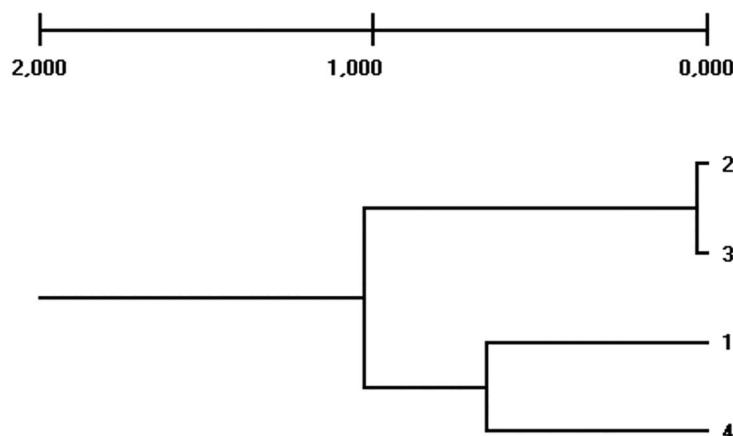


Figura 4. Dendrograma obtenido con el método UPGMA usando el programa TFPGA para las cuatro variedades de cítricos establecidas en la colección de trabajo de la Universidad de los Llanos (Villavicencio, Meta).

1. Limón Castilla. 2. Mandarina Arrayana. 3. Naranja Tangelo. 4. Naranja Valencia.

Fuente: Autores.

Existen varias teorías acerca del origen de las naranjas dulces donde algunos autores afirman que *C. sinensis* (L.) Osb., está emparentado con *C. reticulata*, pero muestran rasgos introgresados en su genoma, procedentes del ancestro *Citrus maxima* (Nicolosi, 2007 y Ollitrault et al., 2012). La relación más cercana con *C. reticulata* sugiere que los naranjos dulces no son híbridos directos, sino que probablemente sean híbridos retrocruzados de primera o segunda generación con el genoma de mandarina (Barrett y Rhodes, 1976; Nicolosi et al., 2000). Roose et al. (2009) sugieren que *C. sinensis* proviene de un retrocruce 1 (BC1) [$(C. maxima \times C. reticulata) \times C. reticulata$]. La publicación de los genomas de referencia nuclear (Xu et al., 2013; Wu et al., 2014) y

cloroplástico (Bausher et al., 2006) de los cítricos, permite realizar estudios mucho más detallados y profundos sobre el origen, la domesticación y las relaciones filogenéticas del género *Citrus*.

El análisis de Varianza Molecular (AMOVA) realizado para las cuatro variedades evaluadas, mostró que el 99% de la variación observada se explica por el componente dentro de los grupos, y el 1% se explica por la diferenciación entre los grupos (Tabla 4). Esto pone de evidencia la necesidad de incrementar el número mayor de individuos dentro de las variedades de cítricos, que presenten una amplia variabilidad genética, con el fin de explotar el potencial genético existente, e identificar variantes aleáticas que pueden

generar nuevas combinaciones favorables para las características de importancia económica en cítricos. Además, el alto nivel de variación a nivel

intraespecífico, podría ser utilizado para planear estrategias de manejo y conservación de este importante recurso fitogenético.

Tabla 4. Análisis de varianza molecular (AMOVA) entre y dentro de los grupos utilizando siete cebadores ISSR.

Fuente de variación	GI	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Componentes de variación	%
Entre grupos	3	52.801	17.6	0.227	1%
Dentro grupos	40	609.881	15.247	15.247	99%
Total	43	662.682		15.474	100%

Fuente: Autores

4. CONCLUSIONES

Los marcadores moleculares son herramientas poderosas para dilucidar la diversidad genética, determinar el parentesco y revelar las relaciones filogenéticas entre las diferentes especies de cítricos. Mediante el análisis con marcadores tipo ISSR se encontró una gran similitud genética entre las variedades de naranjas Tangelo y Valencia, mandarina Arrayana y Limón Castilla de la colección de la Universidad de los Llanos y, por ende, una moderada diversidad genética, que se podría aprovechar en futuros trabajos de mejoramiento genético de la especie, encaminados a la obtención de nuevas variedades de cítricos de alta calidad y rendimiento, que respondan a las necesidades de los productores y demás actores de la cadena productiva, además de optimizar la conservación y uso de estos recursos genéticos existentes, que son de gran importancia económica en el departamento del Meta.

Igualmente, el entendimiento de la taxonomía, las relaciones filogenéticas y la diversidad genética del género *Citrus*, permitirá ampliar la oferta de materiales para aumentar las zonas de cultivo.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

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

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración de los estudiantes Sergio Rivera y Daniela Oyola por su asistencia en la colecta del material vegetal y el apoyo en las actividades de laboratorio. A la Universidad de los Llanos, principalmente al Laboratorio de Biotecnología y Cultivo de Tejidos Vegetales de la Escuela de Ingeniería en Ciencias Agrícolas por la disponibilidad de sus instalaciones y del personal dedicado en apoyar la academia y la investigación.

LITERATURA CITADA

- Al-Nadabi, H., Khan, M., Al-Yahyai, R., y Al-Sadi, A. (2018). AFLP Fingerprinting Analysis of Citrus Cultivars and Wild Accessions from Oman Suggests the Presence of Six Distinct Cultivars, Agriculture (Pol'nohospodárstvo), 64(4), 173-182. <https://doi.org/10.2478/agri-2018-0018>

- Anderson, C. M., Banfi, G., Beñatena, H., Casafus, C. M., Costa, N. B., Danos, E., Fabiani, A., Gárran, S. M., Larocca, L., Marco, G., Messina, M., Mika, R., Mousques, J., Plata, M. I., Ragone, M., Rivas, R., Vaccaro, N. C., y Vazquez, Daniel. (1996). Manual para productores de naranja y mandarina INTA, & R. M. Anahí Fabiani (Ed.), Manual para productores de naranja y mandarina de la región del río Uruguay (págs. 1-6). Argentina: Secretaría de Agricultura, Pesca y Alimentación. Recuperado el 15 de abril de 2020, de https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_manual_citricultura_cap1.pdf
- Barkley, N.A., Roose, M.L., Krueger, R.R., y Federici, C.T. (2006). Assessing genetic diversity and population structure in a citrus germplasm collection utilizing simple sequence repeat markers (SSRs). *Theoretical and Applied Genetics*, 112(8): 1519-1531. Doi: 10.1007/s00122-006-0255-9
- Barrett, H.C., y Rhodes, A.M. (1976). A numerical taxonomic study of affinity relationships in cultivated Citrus and its close relatives. *Systematic Botany*, 1, 105-136. <https://doi.org/10.2307/2418763>
- Bausher, M.G., Singh, N.D., Lee, S.B., Jansen, R.K., y Daniell H. (2006). The complete chloroplast genome sequence of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck var 'Ridge Pineapple': organization and phylogenetic relationships to other angiosperms. *BMC Plant Biology*, 6, 21. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-6-21>
- Bermúdez-Guzmán, M., Guzmán-Rodríguez, L., García-Mariscal, K., Palmeros-Suárez, P., y Orozco-Santos, M. (2017). Identificación de híbridos de *Citrus aurantifolia* × *Citrus limon* utilizando marcadores de secuencias simples repetidas (SSR). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(6): 1397-1408. Recuperado de: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342017000601397&lng=pt&nrm=iso
- Carbonell-Caballero, J., Alonso, R., Ibañez, V., Térol, J., Talon, M., y Dopazo, J. (2015). A phylogenetic analysis of 34 chloroplast genomes elucidates the relationships between wild and domestic species within the genus Citrus. *Molecular Biology and Evolution*, 32(8): 2015-2035. Doi: 10.1093/molbev/msv082
- Carrillo-Medrano, S., Gutierrez-Espinosa, M., Robles M., y Izquierdo, S. (2018). Identificación de híbridos de limón mexicano mediante marcadores moleculares SSR. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 9. 11. <https://doi.org/10.29312/re-mexca.v9i1.844>
- Castañeda-Cardona, C. C., Morillo-Coronado, Y., y Morillo, A. C. (2020). Assessing the genetic diversity of *Dioscorea alata* and related species from Colombia through inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 80(4): 608-616. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392020000400608>
- Curk, F., F. Ollitrault, A. Garcia-Lor, F. Luro, L. Navarro, y P. Ollitrault. (2016). Phylogenetic origin of limes and lemons revealed by cytoplasmic and nuclear markers. *Annals of Botany*. 117(4): 565-583. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw005>
- Dorji, K., y Yapwattanaphun, C. (2015). Assessment of the genetic variability amongst mandarin (*Citrus reticulata* blanco) accessions in bhutan using AFLP markers. *BMC Genetics*, 16(1):39-48. <https://doi.org/10.1186/s12863-015-0198-8>
- Doyle, J. – Doyle, J. L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. In Focus, 12(1): 13-15. JJ Doyle, JL Doyle - Focus, 1990 - researchgate.net
- Fanciullino, A.L., Dhuique-Mayer, C., Luro, F., Casanova, J., Morillon, R., y Ollitrault, P. (2006). Carotenoid diversity in cultivated citrus is highly influenced by genetic factors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 4397-4406. <https://doi.org/10.1021/jf0526644>
- Food and Agriculture Organization. (2020). Comisión de recursos genéticos para la alimentación y la agricultura: Recursos fitogenéticos. Recuperado de: <http://www.fao.org/cgrfa/topics/plants/es/>
- Food and Agriculture Organization Statistical. (2017). Citrus fruit fresh and processed statistical bulletin 2016. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/a-i8092e.pdf>
- Federici, C.T., Fang, D.Q., Scora, R.W., y Roose, M.L. (1998). Phylogenetic relationships within the genus Citrus (Rutaceae) and related genera as revealed by RFLP and RAPD analysis. *Theoretical and Applied Genetics*, 96: 812-822. Recuperado de: <https://link.springer.com/article/10.1007/s001220050807>
- Froelicher, Y., Mouhaya, W., Bassene, JB., Costantino, G., Kamiri, M., Luro, F., Morillon, R., y Ollitrault, P. (2011). New universal mitochondrial PCR markers reveal new information on maternal citrus phylogeny. *Tree Genetics and Genomes*, 7: 49-61. <https://doi.org/10.1007/s11295-010-0314-x>

- Fujii, H., Ohta, S., Nonaka, K., Katayose, Y., Matsumoto, T., Endo, T., Yoshioka, T., Omura, M., y Shimada, T. (2016). Parental diagnosis of satsuma mandarin (*Citrus unshiu* marc.) revealed by nuclear and cytoplasmic markers. *Breeding Science*, 66(5): 683-691. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.16060>
- García, A. (2013). Organización de la diversidad genética de los cítricos. Universitat Politècnica de València: Departamento de biotecnología. Valencia: España. Tesis doctoral, 1(1), 18. Recuperado de <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/31518/Versi%C3%B3n3.Tesis%20Andr%C3%A9s%20Garc%C3%A1A-Da-Lor.pdf>
- Garcia-Lor, A., Luro, F., Navarro, L., y Ollitrault, P. (2012). Comparative use of InDel and SSR markers in deciphering the interspecific structure of cultivated citrus genetic diversity: a perspective for genetic association studies. *Molecular Genetics and Genomics*, 28: 77-94. <https://doi.org/10.1007/s00438-011-0658-4>
- Garcia-Lor, A., Luro, F., Ollitrault, P. & Navarro, L. (2015). Genetic diversity and population structure analysis of mandarin germplasm by nuclear, chloroplastic and mitochondrial markers. *Tree Genetics & Genomes* 11(6):1-15. <https://doi.org/10.1007/s11295-015-0951-1>
- Gulsen O, Roose ML. (2001). Chloroplast and nuclear genome analysis of the parentage of lemons. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 126: 210-215. <https://doi.org/10.21273/JASHS.126.2.210>
- Henareh, M., Dursun, A., Abdollahi-Mandoulakani, B., y Haliloglu, K. (2016). Assessment of genetic diversity in tomato landraces using ISSR markers. *Genetika*, 48: 25-35. <https://doi.org/10.2298/GENS1601025H>
- Ibañez, V., García Usach, A., Carbonell Caballero, J., Alonso, R., Terol, J., Dopazo, J., y Talón, M. (2015). El origen de las especies cultivadas de cítricos. *Levante Agrícola: Revista internacional de cítricos*, 426, 74-79. Recuperado de: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5145911>
- Joseph, H. A. R. T. R. B. W., (1992). Multivariate data. 3 Ed. s.l.: Analysis with Readings.
- Kumar, S., Narayan, S., Narayanan, J., y Nair K. (2010). ISSR polymorphism in Indian wild orange (*Citrus indica* Tanaka, Rutaceae) and related wild species in North-east India. *Scientia Horticulturae*, 123(3): 350-359. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.10.008>
- Luro, F., G.Constantino, J. Terol, X. Argout, T. Allario , Wincker P., M. Talon , Ollitrault, P., y Morillon R. (2008). Transferability of the EST-SSRs developed on Nules clementine (*Citrus clementina* Hort ex Tan) to other citrus species and their effectiveness for genetic mapping. *BMC Genomics* 9, 287. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-287>
- Martínez, M. F. (2013). Caracterización molecular de genotipos de mandarinas Citrus spp. mediante marcadores RAM's (Microsatélites Amplificados al Azar) y Microsatélites. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, 141 págs. Recuperado de <http://bdigital.unal.edu.co/12773/1/7609502.2013.pdf>
- Martínez, M. A., Morillo, A. C., y Reyes-Ardila, W. (2020). Characterization of the genetic diversity in Passiflora spp. in the Boyacá Department, Colombia. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 80(3): 342-351. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392020000300342>
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2019). Agronet. Recuperado el 15 de abril de 2020, de Agronet: <https://www.agronet.gov.co/estadistica/Paginas/home.aspx?cod=1>
- Morillo, A.C., Morillo, Y., Chagüeza, Y., Caicedo, A., y Muñoz, J.E. (2009). Caracterización de la diversidad genética en naranja y comparación del polimorfismo de microsatélites amplificados al azar (RAM's) usando electroforesis de poliacrilamida y agarosa. *Acta Agronómica*, 58(4): 234-244. Recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-28122009000400002&script=sci_abstract&tlang=es
- Morillo, A.C., González, J., y Morillo, Y. (2018). Caracterización de la diversidad genética de uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 16, 26-33. Doi: 10.18684/bsaa.v16n1.631.
- Munankarmi, N.M.; Shrestha, R.L.; Rana, N.; Shrestha, J.K.C.; Shrestha, S.; Koirala, R.; Shrestha, S. (2014). Genetic diversity assessment of Acid lime (*Citrus aurantifolia*, Swingle) landraces of Nepal using RAPD markers. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 2(3): 315-327. <https://doi.org/10.3126/ijasbt.v2i3.10950>
- Munankarmi, Nabin., Rana, Neesha., Bhattacharai, Tribikram., Shrestha, Ra., Joshi, Bal., Baral, Bikash y Shrestha, Sangita. (2018). Characterization of the Genetic Diversity of Acid Lime (*Citrus*

- aurantifolia (Christm.) Swingle) Cultivars of Eastern Nepal Using Inter-Simple Sequence Repeat Markers. *Plants*, 7, 46. <https://doi.org/10.3390/plants7020046>
- Nei, M., y Li, W.H. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleas. *Proceedings of the National Academic of Sciences of United states of America*, 79, 5267-5273. Doi: 10.1073/pnas.76.10.5269
- Nicolosi, E., Deng, Zn., Gentile, A., La Malfa, S., Continella, G., y Tribulato, E. (2000). Citrus phylogeny and genetic origin of important species as investigated by molecular markers". *Theoretical and Applied Genetics*, 100(8): 1155-1166. Doi: 10.1007/s001220051419
- Nicolosi, E. (2007). "Origin and taxonomy" in, *Citrus Genetics Breeding and Biotechnology Chapter 3*. Ed. I. Ahmad Khan. 19-43. Doi: 10.1079/9780851990194.0000
- Ninomiya, T., Shimada, T., Endo, T., Nonaka, K., Omura, M., y Fujii, H. (2015). Development of citrus cultivar identification by caps markers and parentage analysis. *Horticultural Research*. (Japan), 14: 127-133. Doi: 10.2503/hrj.14.127
- Nonaka, K., Fujii, H., Kita, M., Shimada, T., Endo, T., Yoshioka, T., y Omura, M. (2017). Identification and parentage analysis of citrus cultivars developed in japan by caps markers. *The Horticulture Journal*, 86(2): 208-221. <https://doi.org/10.2503/hortj.OKD-026>
- Ollitrault, F., Terol, J., Martin, A., Pina, J.A., Navarro, L., Talon, M., y Ollitrault, P. (2012). Development of InDel markers from Citrus clementina (Rutaceae) BAC-end sequences and interspecific transferability in Citrus. *American Journal of Botany*, 99: 268-273. Doi: 10.3732/ajb.1100569
- Ollitrault, F., Terol, J., Pina, J.A., Navarro, L., Talon, M., y Ollitrault, P. (2010). Development of SSR markers from Citrus clementina (Rutaceae) BAC end sequences and interspecific transferability in Citrus. *American Journal of Botany*, 97, e124-9. Doi: 10.3732/ajb.1000280
- Ollitrault, P., Jacquemond, C., Dubois, C., y Luro, F. (2003). Citrus. In: Hannon P, Seguin M, Perrier X, Glaszmann JC (eds). *Genetic diversity of cultivated tropical plants*. Montpellier/Enfield, NH: CIRAD/Science Publishers, Inc., 193-217.
- Ollitrault, P., Terol, J., Garcia-Lor, A. et al. (2012). SNP mining in C. clementina BAC end sequences; transferability in the Citrus genus (Rutaceae), phylogenetic inferences and perspectives for genetic mapping. *BMC Genomics*, 13(13). <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-13>
- Peakall, R., y Smouse, P. (2012). GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28(19), 2537-2539. doi: 10.1093/bioinformatics/bts460
- Orduz, J., y Mateus, D. (2012). Generalidades de los cítricos y recomendaciones agronómicas para su cultivo en Colombia. cap 2. Pp. 49-88. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/10567/561>
- Roose, M., Federici, C., Mu, L., Kwok, K., y Vu, C. (2009). Map-based ancestry of sweet orange and other citrus variety groups. In: Gentile A, Tribulato E. (eds.) *Second International Citrus Biotechnology Symposium*. Catania, Italy, 28. Doi: 10.1007/s001220051419
- Sánchez de Prager, M., Perea Morera, E., Prager Mosquera, M., Ángel Sánchez, D., Ortiz Ríos, J.C., Gallego, J.M. y Sanclemente Reyes, O.E. (2020). Capítulo 2. Biodiversidad del suelo. Su importancia para el manejo sustentable de agroecosistemas. En S. Sarandón (Ed.). *Biodiversidad, agroecología y agricultura sustentable*. La Plata, Argentina. ISBN: 978-950-34-1948-9. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP). Pp 37- 51. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/109141>
- Scarano, M., Tusa, N., Abbate, L., Lucretti, S., Nardi, L., y Ferrante, S. (2003). Flow cytometry, SSR and modified AFLP markers for the identification of zygotic plantlets in backcrosses between 'Femminello' lemon cybrids (2n and 4n) and a diploid clone of 'Femminello' lemon (Citrus limon L. Burm. F.) tolerant to mal secco disease. *Plant Science*, 164: 1009-1017. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(03\)00088-8](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(03)00088-8)
- Scora RW. (1975). On the history and origin of citrus. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 102, 369-375. <https://doi.org/10.2307/2484763>
- Shahsavar, A., Izadpanah, K., Tafazoli, E., y Tabatabaei, B. S. (2007). Characterization of citrus germplasm including unknown variants by inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. *Scientia Horticulturae*, 112(3), 310-314. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scientia.2006.12.039>
- Shahzadi, K., Naz, S., y Ilyas, S. (2016). Genetic diversity of citrus germplasm in Pakistan based on

- random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. In *Journal of Animal and Plant Sciences*, (26), 1094–1100. Recuperado de: <http://www.thejaps.org.pk/docs/v-26-04/27.pdf>
- Sharafi, A., Asadi, A., y Sharafi, Ali. (2017). Molecular genetic diversity assessment of Citrus species grown in Iran revealed by SSR, ISSR and CAPS molecular markers. *Journal of Science and Research*, 2(8): 22-27. <https://doi.org/10.26910/issn.2528-8083vol2iss8.2017pp22-27>
- Singh, P.K. H., Sharam, N., Srivastava., y Bhagawant, S. (2014). Analysis of genetic diversity among wild and cultivated chickpea genotypes employing ISSR and RAPD markers. *American Journal of Plant Sciences*, 5: 676-682. <https://doi.org/10.4236/ajps.2014.55082>
- Valencia, R., Lobo, M., y Ligarreto, G. (2010). Estado del arte de los recursos genéticos vegetales en Colombia: Sistema de Bancos de Germoplasma. Agrobiodiversidad, Corpocia Cienc. Tecnol. Agropecu, 11(1): 85-94. Recuperado de <http://revista.corpoica.org.co/index.php/revista/article/view/198/203>
- Vargas, J. E. E., Aguirre, N. C., y Coronado, Y. M. (2020). Study of the genetic diversity of tomato (*Solanum* spp.) with ISSR markers. *Revista Ceres*, 67(3): 199-206. Doi: <https://doi.org/10.1590/0034-737x202067030005>
- Varshney, R.K., Graner, A., y Sorrells, M.E. (2005). Genetic microsatellite markers in plants: Features and applications. *Trends in Biotechnology*. 23, 48–55. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2004.11.005>
- Webber, H. J. (1943). Plant characteristics and climatology. En: H.J. Webber y L.D. Batchelor, dirs. *The Citrus Industry*. Berkeley: University of California. Press. 1:41-69.
- Wright, S. (1978). Evolution and the genetics of populations. Variability within and among natural populations, Vol. 4. 590.
- Wu, G., Terol, J., Ibanez, V. (2018). Genomics of the origin and evolution of Citrus. *Nature* 554: 311-316. <https://doi.org/10.1038/nature25447>
- Xu, Q., Chen, L., y Ruan, X. (2013). The draft genome of sweet orange (*Citrus sinensis*). *Nature genetics* 45: 59-66. <https://doi.org/10.1038/ng.2472>
- Yamamoto, M., Tsuchimochi, Y., Nonaka, T., Koga, T., Kitajima, A., Yamasaki, A., Inafuku-Teramoto, S., Yang, X., Yang, X., y Zhong, G. (2013). Diversity of chloroplast DNA in various mandarins (*Citrus* spp.) and other citrus demonstrated by CAPS analysis. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 82(2):106–113. <https://doi.org/10.2503/jjshs1.82.106>
- Yang, Y., YueZhi, P., Xun, G., y MouTian, F. (2010). Genetic variation in the endangered Rutaceae species *Citrus hongheensis* based on ISSR fingerprinting. *Genetic Resources and Crop Evolution* 57: 1239-1248. <https://doi.org/10.1007/s10722-010-9571-7>
- Yu, Y., Chen, C., Huang, M., Yu, Q., Du, D., Mattia, M. R., y Gmitter, F. G. (2018). Genetic Diversity and Population Structure Analysis of Citrus Germplasm with Single Nucleotide Polymorphism Markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 143(6), 399-408. <https://doi.org/10.21273/JASHS04394-18>
- Zietkiewicz E, Rafalski A., y Labuda D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* 20:176-18. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1151>

Conflictos 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.

SUELO MINERAL COMO COMPONENTE DE SUSTRATO PARA PLANTAS

MINERAL SOIL AS A COMPONENT OF SUBSTRATE FOR PLANTS

**¹Eduarda Demari Avrella, ²Luciana Pinto Paim,
³Marília Tedesco, ⁴Aquelis Armiliato Emer, ⁵Gilmar Schafer,
⁶Paulo Vitor Dutra de Souza, ⁷Claudimar Sidnei Fior**

^{1,3,4,5,7}Doctorado en Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Departamento de Horticultura e Silvicultura, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

²Maestría en Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Departamento de Horticultura e Silvicultura, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

⁶Doctorado en Agronomía, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Departamento de Horticultura e Silvicultura, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

¹dudademari@hotmail.com, ²lucianappaim@bol.com.br, ³Marilia_tedesco@hotmail.com,
⁴aquelis_emer@hotmail.com ⁵schafer@ufrgs.br, ⁶pvdSouza@ufrgs.br, ⁷csfior@ufrgs.br

Citación: Avrella, E.D., Paim, L.P., Tedesco, M., Emer, A.A., Schafer, G., de Souza, P.V., y Fior, C.S. (2021). Suelo mineral como componente de sustrato para plantas. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 85 – 98.

DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.4111>

RESUMEN

Contextualización: el término “sustrato” refiere a todo el material poroso, que, asociado a un contenedor, proporciona anclaje y suficientes niveles de agua y oxígeno al desarrollo de las plantas.

Vacío de conocimiento: la mayoría de los sustratos se forman mezclando dos o más materiales en proporciones variables; sin embargo, cuando algunos materiales se adjuntan a la formulación, suelen generar alteraciones que pueden ser desventajosas, según de su aplicación.

Propósito del estudio: determinar los efectos del uso del suelo mineral en la caracterización

química y física, cuando se utiliza como componente de formulaciones de sustratos para las plantas.

Metodología: se empleó un argisol rojo distrófico típico, que se autoclavó, tamizó (malla 4,75 mm) y posteriormente se mezcló bajo diferentes proporciones (0, 25, 50, 75 e 100%) con turba de *Sphagnum* o polvo-de-coco (v/v). Las mezclas se sometieron a la caracterización física, química y biológica. Se empleó el diseño estadístico enteramente al azar, con tres repeticiones por tratamiento. Los datos se sometieron al análisis de varianza y regresión polinomial ($P < 0,05$).

Resultados y conclusiones: Al añadirse suelo en la formulación de los sustratos hubo disminución en la conductividad eléctrica y manutención del pH, además del aumento en las densidades aparentes en base húmeda y seca, y reducción en la porosidad total, espacio de aireación, disponibilidad y capacidad de retención de agua. Además, se encontraron hongos y nematodos en el suelo, que pueden ser patógenos. Por lo tanto, el empleo de suelo mineral como componente de sustrato, además de generar formulaciones con características de cultivo inadecuadas, pudiendo influenciar negativamente el crecimiento y desarrollo vegetal, provoca daños ambientales debido a su extracción, conllevando a una producción insostenible a largo plazo.

Palabras clave: características físicas; características químicas; invernadero; producción de plantas

ABSTRACT

Contextualization: Substrate means all porous materials, which, associated with a container, provides anchoring and sufficient levels of water and oxygen for the development of plants.

Knowledge gap: Most substrates are formed by mixing two or more materials in varying proportions; however, when some materials are incorporated to the formulation, they tend to generate alterations, which can be disadvantageous, depending on their application.

Purpose: To determine the effects of the use of mineral soil in the chemical and physical

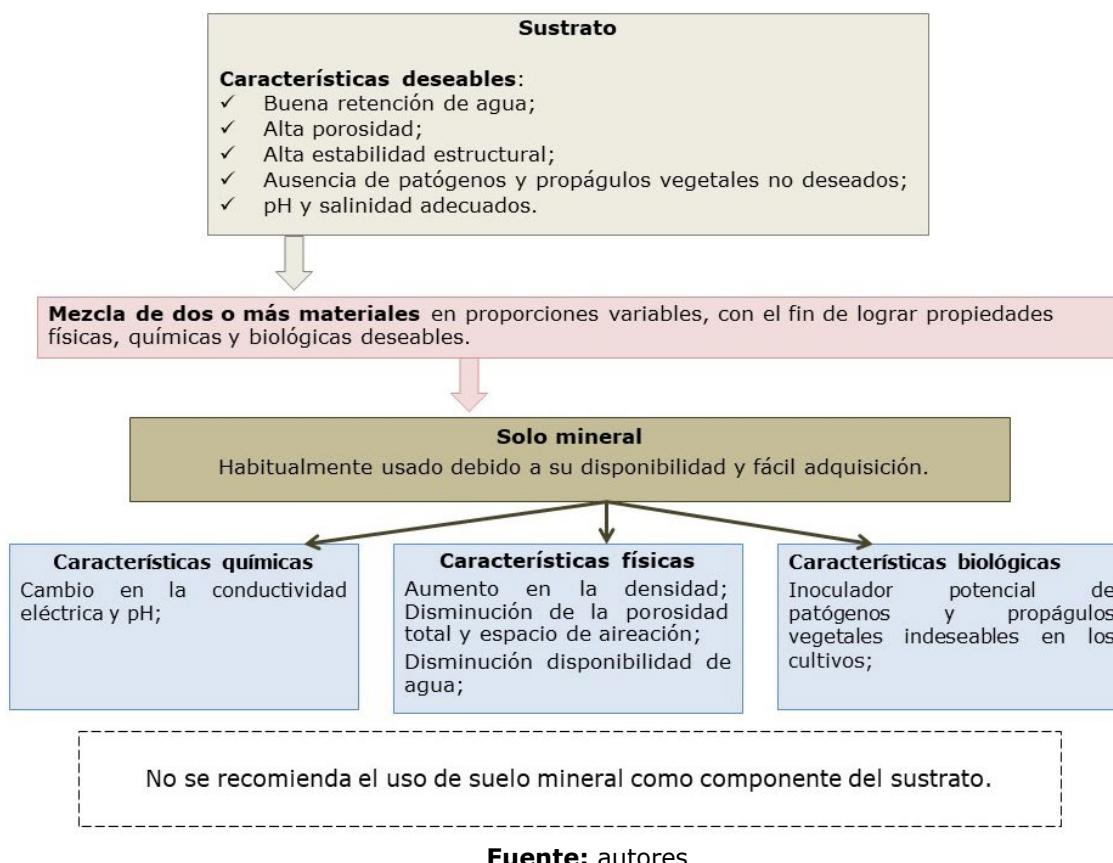
characterization, when it is used as a component of formulations of substrates for plants.

Methodology: A typical dystrophic red argisol was used, which was autoclaved, sieved (4.75 mm mesh) and subsequently mixed under different proportions (0, 25, 50, 75 and 100%) with *Sphagnum* peat or coconut fiber (v / v). The mixtures were subjected to physical, chemical and biological characterization. The statistical design was completely randomized, with three repetitions per treatment. The data were added to the variance analysis and polynomial regression ($P < 0.05$).

Results and conclusions: When soil was added in the formulation of the substrates, there was a decrease in electrical conductivity and pH maintenance, in addition to an increase in apparent densities on wet and dry basis, and a reduction in total porosity, aeration space, availability and capacity of water retention. In addition, fungi and nematodes were found in the soil, which can be an inoculator for pathogens. Therefore, the use of mineral soil as a substrate component, in addition to generating formulations with inadequate cultivation characteristics that may have a negative influence on plant growth and development, causes environmental damage due to its extraction, leading to unsustainable long-term production.

Keywords: physical characteristics; chemical characteristics; greenhouse; plant production

RESUMEN GRÁFICO



1. INTRODUCCIÓN

El actual desarrollo del cultivo de plantas en contenedores e invernaderos ha ido aumentando la demanda por tecnologías que optimicen la producción de plantas, buscando su estandarización y calidad (Ceccagno *et al.*, 2019a). Los avances tecnológicos en la elección de insumos y manejo durante el cultivo son esenciales para mantener condiciones favorables para el crecimiento y desarrollo de las plantas (Caldeira *et al.*, 2008, Saidelles *et al.*, 2009). En este sentido, para proporcionar un desarrollo óptimo de la planta, es esencial utilizar sustratos con características físicas, químicas y biológicas adecuadas (Schafer *et al.*, 2015).

Se entiende por sustrato para plantas el entorno donde se desarrollan las raíces de las plantas que crecen fuera del suelo *in situ* (Kämpf, 2005), es decir, asociado a un contenedor. Por

lo tanto, los sustratos son medios porosos que proporcionan anclaje y niveles suficientes de agua y oxígeno para un desarrollo óptimo de las plantas (Vence, 2008). La condición para el desarrollo de plantas en contenedores es diferente al observado en campo, principalmente debido al espacio disponible para las raíces, el intercambio de gases y la dinámica del agua. En consecuencia, para satisfacer las necesidades de las plantas, el sustrato debe tener diferentes características del suelo *in situ* (Kämpf, 2005). Además, entre los requisitos, un sustrato debe tener buena retención de agua; alta porosidad; alta estabilidad estructural con fibras resistentes a la descomposición; ausencia de patógenos y propágulos vegetales no deseados; potencial de hidrógeno (pH) y salinidad adecuados; y disponibilidad en una escala que cumpla a las demandas (Kämpf, 2005).

Es difícil encontrar un sustrato con un solo componente que cumpla con las características deseables para el desarrollo óptimo de un determinado cultivo. Como resultado, la mayoría de los sustratos se forman mezclando dos o más materiales en proporciones variables, con el fin de lograr propiedades físicas, químicas y biológicas deseables (Kämpf, 2005, Schafer *et al.*, 2015). Por lo tanto, usar un componente puro o usarlo en una mezcla es una decisión que se toma con base en los objetivos de uso y las características de estos componentes. Sin embargo, algunos materiales, incluso si presentan ciertas propiedades satisfactorias, cuando se incorporan a las formulaciones pueden causar cambios desventajosos, dependiendo de la aplicación.

Cuando el suelo mineral, un componente que todavía se usa con frecuencia debido a su disponibilidad y fácil adquisición, se incorpora a la formulación de sustratos, promueve la compactación durante todo el ciclo de cultivo, generando características no deseadas (Ludwig *et al.*,

2010). Sin embargo, la información es escasa que presentan qué características del sustrato realmente cambian con la adición de suelo mineral en la formulación de sustratos. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue determinar los efectos del uso del suelo mineral en la caracterización química y física, cuando se utiliza como componente del sustrato para las plantas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Departamento de Horticultura y Silvicultura de la Facultad de Agronomía de la Universidad Federal del Río Grande del Sur (UFRGS), en Porto Alegre, RS, en 2018.

Los componentes de los sustratos utilizados fueron turba de *Sphagnum*, polvo-de-coco (fibra del mesocarpio triturada - Golden Mix tipo PM) y un argisol rojo distrófico típico (clase de textura de arcilla arenosa, arena = 488 g kg⁻¹; arcilla = 265 g kg⁻¹ y limo = 247 g kg⁻¹), cuyas propiedades físicas y químicas se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Parámetros químicos y físicos de turba de *Sphagnum*, polvo-de-coco y suelo mineral.

	Turba de <i>Sphagnum</i>	Polvo-de-coco	Suelo mineral
Conductividad eléctrica (mS cm ⁻¹)	0,75	0,57	0,04
Potencial de hidrógeno (Ph)	4,73	5,32	4,76
Densidad húmeda (kg m ⁻³)	303,97	356,50	1.146,98
Densidad seca (kg m ⁻³)	96,10	85,71	996,04
Porosidad total (%)	93,45	91,80	62,48
Espacio de aireación (%)	29,56	27,64	21,03
Aqua asimilable (%)	34,59	34,97	20,09
Aqua fácilmente asimilable (%)	29,57	28,43	16,84
Aqua de reserva (%)	5,66	6,54	3,25
Aqua difícilmente disponible (%)	29,30	29,19	21,36
CRA 10 (%)	64,56	64,16	41,45
CRA 50 (%)	35,28	35,73	24,61
CRA 100 (%)	29,63	29,19	21,36

CRA = capacidad de retención de agua.

Fuente: Autores.

El suelo utilizado se recogió y luego se sometió a autoclave (120 °C y 1,2 atm, durante 1 hora, en dos días consecutivos) y se tamizó en una malla de 4,75 mm. Las composiciones del sustrato consistieron en mezclas de suelo mineral (SM) con turba de *Sphagnum* (TS) o polvo-de-coco (PC), en las proporciones 0, 25, 50, 75 y 100% (v/v) de suelo mineral en relación con cada uno de los otros dos materiales, que se consideran componentes básicos. Todas las mezclas se caracterizaron por sus propiedades químicas y físicas.

En el análisis químico, se consideraron las evaluaciones de conductividad eléctrica y potencial de hidrógeno (pH), en una dilución sustrato-agua de proporción 1:5 (v/v), de acuerdo con la Instrucción Normativa nº 17, del 21 de mayo de 2007, del Ministerio de Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento de Brasil (MAPA, 2007).

En la caracterización física se determinaron las densidades húmeda y seca, por el método de auto compactación (Hoffmann, 1970). Las determinaciones de porosidad total, espacio de aireación, agua asimilable, agua fácilmente asimilable, agua de reserva, agua difícilmente disponible y capacidad de retención de agua fueron realizados bajo tensiones de 0, 10, 50 y 100 hPa, utilizando embudos de tensión, de acuerdo con los principios de De Bocht y Verdonck (1972), que consiste en las mediciones de las variables del contenido hídrico volumétrico en función de la tensión aplicada, resultando en los parámetros que relacionan volúmenes relativos de agua y aire. Según estos autores, la porosidad total corresponde a la humedad presente en las muestras saturadas (0 hPa); el espacio de aireación se refiere al volumen de agua retenido entre las tensiones de 0 y 10 hPa; el agua asimilable se refiere al volumen de agua entre 10 y 100 hPa; el agua fácilmente asimilable, entre 10 y 50 hPa; el agua de reserva, entre 50 y 100 hPa; y agua

difícilmente disponible corresponde al volumen de agua que queda en el material después de haber sido sometido a una tensión de 100 hPa.

Los tratamientos se organizaron en un diseño completamente al azar, con 10 composiciones de sustrato (100%TS+0%SM; 75%TS+25%SM; 50%TS+50%SM; 25%TS+75%SM; 0%TS+100%SM; 100%PC+0%SM; 75%PC+25%SM; 50%PC+50%SM; 25%PC+75%SM y 0%PC+100%SM), y los análisis se realizaron por triplicado. Los datos se sometieron a las pruebas de Shapiro-Wilk y Bartlett para verificar la normalidad y la homogeneidad de las variaciones, respectivamente. Después de cumplir con estos presupuestos, se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) un factor, seguido de comparación de medias (test de Fisher LSD – *Least Significant Difference*) y de una regresión polinómica ($P < 0,05$), con la ayuda de los programas estadísticos Costat 6.4 y SigmaPlot 11.0. Las regresiones fueron validadas mediante ANOVA de cada modelo probado; sin embargo, los datos de agua fácilmente asimilable para mezclas entre el suelo y el polvo-de-coco se transformaron a $1/x$, para adaptarse a la distribución normal de los residuos.

Además, se envió una muestra de suelo (sin pasar por el proceso de esterilización en autoclave) al Laboratorio de Diagnóstico y Consultoría Fitosanitaria - Agronómica, para el análisis biológico de cultivos, en medios de cultivo BDA y Agua-Agar por dilución en serie, siguiendo metodología descrita por Alfenas *et al.* (2016).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir del análisis de la caracterización química y física de las formulaciones de los sustratos analizados, se observó que la adición de suelo mineral a los materiales polvo-de-coco y turba de *Sphagnum* influyó significativamente en todos los parámetros evaluados (Tabla 2).

Los resultados del análisis de regresión mostraron una disminución en la conductividad eléctrica con la adición de suelo mineral en la formulación (Figura 1). En cualquier caso, este resultado no debe considerarse inapropiado, ya que los bajos valores de conductividad eléctrica facilitan el ajuste de la fertilización mediante la incorporación de aditivos, o mediante fertirrigación, adaptando las formulaciones según las necesidades de cada cultivo.

Con respecto al potencial de hidrógeno (pH) para las mezclas entre el suelo mineral y polvo-de-coco, el análisis de regresión no fue significativo ($P = 0,083$), con un valor promedio de 5,41; sin embargo, cuando el suelo se mezcló con turba de *Sphagnum*, hubo un ligero cambio en el pH, cuyos datos resultaron en una tendencia cuadrática negativa, con valores que van desde 4,7 a 4,9.

Tabla 2. Análisis de varianza y comparación de medias de los parámetros químicos y físicos de sustratos formulados por distintas proporciones de turba de *Sphagnum* y polvo-de-coco mezclados a suelo mineral.

		CE (mS cm ⁻¹)	Ph	DH (kg m ⁻³)	DS (kg m ⁻³)	PT (%)	EA (%)	AA (%)	AFA (%)	AR (%)	ADD (%)	CRA 10 (%)	CRA 50 (%)	CRA 100 (%)
Suelo x TS	Valor P	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,011	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
	Media	0,059	4,80	776,2	596,3	78,2	20,7	31,6	26,9	4,8	25,9	57,5	30,7	25,9
	CV (%)	5,85	0,50	1,29	1,46	1,57	4,40	**	4,51	3,67	2,58	2,03	2,06	2,58
	0%	0,075 ^a	4,73c	304,1e	96,1e	93,5a	29,6a	34,6a	28,9b	5,7a	29,3b	64,6a	35,3a	29,6a
	25%	0,056b	4,86 ^a	563,5d	358,8d	89,0b	22,9b	35,6a	30,2a	5,4a	30,6a	65,2a	35,3a	30,3a
	50%	0,057b	4,86 ^a	817,3c	626,5c	77,8c	18,5c	32,5b	27,7c	4,9b	26,8c	59,3b	31,6b	26,8b
	75%	0,056b	4,80b	1023,8b	864,5b	69,4d	16,3d	29,8c	25,7d	4,1c	23,3d	53,1c	27,4c	23,3c
	100%	0,052b	4,77bc	1172,7a	1035,6a	61,4e	16,1d	25,7d	21,8e	3,8c	19,5e	45,2d	23,4d	19,5d
Suelo x PC	Valor P	< 0,001	0,022	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,016	< 0,001	< 0,001	0,017
	Media	0,263	5,41	781,6	557,7	79,3	22,7	27,7	22,1	5,6	27,8	55,9	33,8	27,8
	CV (%)	1,69	**	1,10	1,29	2,29	5,56	5,65	9,00	**	2,15	3,04	**	2,15
	0%	0,570a	5,32bc	356,5e	85,7e	91,8a	27,7a	35,0ab	28,4a	6,5b	29,2b	64,2b	35,7b	29,2b
	25%	0,338b	5,47b	606,4d	357,8d	87,4b	19,7b	37,0a	28,4a	8,6 ^a	30,7ab	67,7a	39,3a	30,7ab
	50%	0,260c	5,31bc	826,4c	586,2c	80,7c	16,7c	32,4b	25,5a	6,9ab	31,7a	64,1b	38,6ab	31,7a
	75%	0,114d	5,24c	997,5b	802,2b	73,0d	27,2a	19,4c	16,1b	3,4c	26,4c	45,8c	29,7c	26,4c
	100%	0,034e	5,72a	1121,2a	956,5a	63,6e	25,9a	14,5d	11,8c	2,7c	23,2d	37,7d	25,9d	23,2d

TS = turba de *Sphagnum*; PC = polvo-de-coco; CE = conductividad eléctrica; pH = potencial de hidrógeno; DH = densidad húmeda; DS = densidad seca; PT = porosidad total; EA = espacio de aireación; AA = agua asimilable; AFA = agua fácilmente asimilable; AR = agua de reserva; ADD = agua difícilmente disponible; CRA = capacidad de retención de agua; CV = coeficiente de variación; ** Análisis no paramétrica por el test de Kruskall-Wallis. Los promedios seguidos por la misma letra en la columna no difieren entre sí por el test de Fisher LSD (Least Significant Difference) al 5% de probabilidad de error

Fuente: Autores.

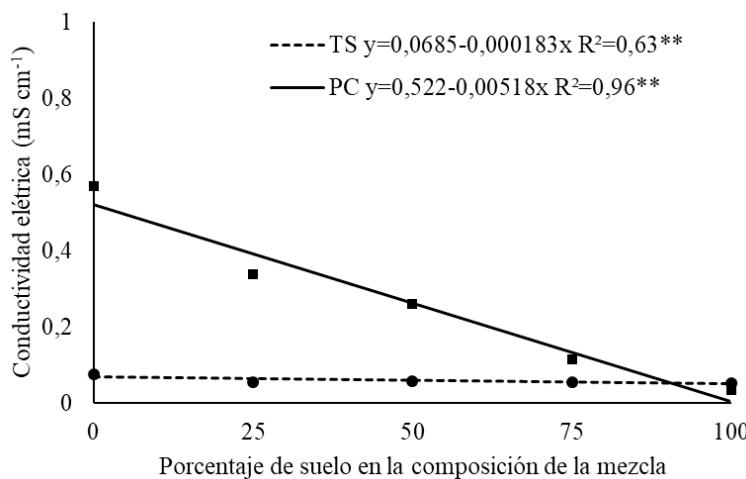


Figura 1. Conductividad eléctrica de sustratos formulados por diferentes proporciones de turba de *Sphagnum* (TS) y polvo-de-coco (PC) mezclados a suelo mineral. ** = $P < 0,01$; ns = no significativo.

Fuente: autores.

Es importante el uso de sustratos con valores de pH dentro del rango recomendado para formulaciones con predominio de materia orgánica (entre 5,0 y 5,8) o suelo mineral (entre 6,0 y 6,5), ya que esto influye en la disponibilidad de nutrientes y presenta un efecto directo sobre los procesos fisiológicos de las plantas (Kämpf, 2005). Hay varias formas de cambiar el pH de los sustratos y, durante el período de cultivo, los principales factores que causan estos cambios son la alcalinidad del agua de riego y/o la fertilización utilizada (Ceccagno *et al.*, 2019ab). Además, la mezcla de componentes originalmente ácidos o alcalinos a las formulaciones, antes de llenar los envases, también puede promover cambios en los valores de pH.

La mayoría de los materiales que se usan actualmente como sustrato para la producción de plantas tienen un pH alcalino, lo que hace que el manejo sea difícil y costoso debido a la necesidad de usar fertilizantes a base de ácido o la aplicación de acidificantes (Schafer *et al.*, 2015). El hecho de que el suelo mineral tenga naturalmente un pH ácido es lo que intensifica el uso de los elementos mencionados anteriormente en la mayoría de los viveros medianos y pequeños; sin

embargo, hay materiales que tienen un pH ácido y que pueden usarse para reemplazar el suelo mineral, como las acículas de *Pinus sp.*, que, según Ceccagno *et al.* (2019ab), son un desecho con el potencial de ser utilizado como acondicionador para sustratos alcalinos, debido a que sus características químicas, físicas y biológicas lo convierten en un insumo favorable para el desarrollo de nuevos medios de cultivo. Por lo tanto, de manera similar a lo que se mencionó para los resultados de conductividad eléctrica, la influencia de la adición de suelo mineral a los sustratos orgánicos probados tampoco fue desventajosa con respecto al pH resultante de la mezcla.

En relación con las características físicas, el uso del suelo promovió aumento significativo en las densidades húmeda y seca, al tiempo que disminuyó los valores de porosidad total y espacio de aireación (Figura 2). Para la densidad, hubo una tendencia lineal creciente y su aumento fue directamente proporcional a la proporción de suelo en las mezclas, alcanzando valores promedios de 1.190,74 y 1.034,06 kg m⁻³ para las densidades húmeda y seca, respectivamente, cuando el suelo se utilizó de forma aislada (100% del suelo) (Figura 2A).

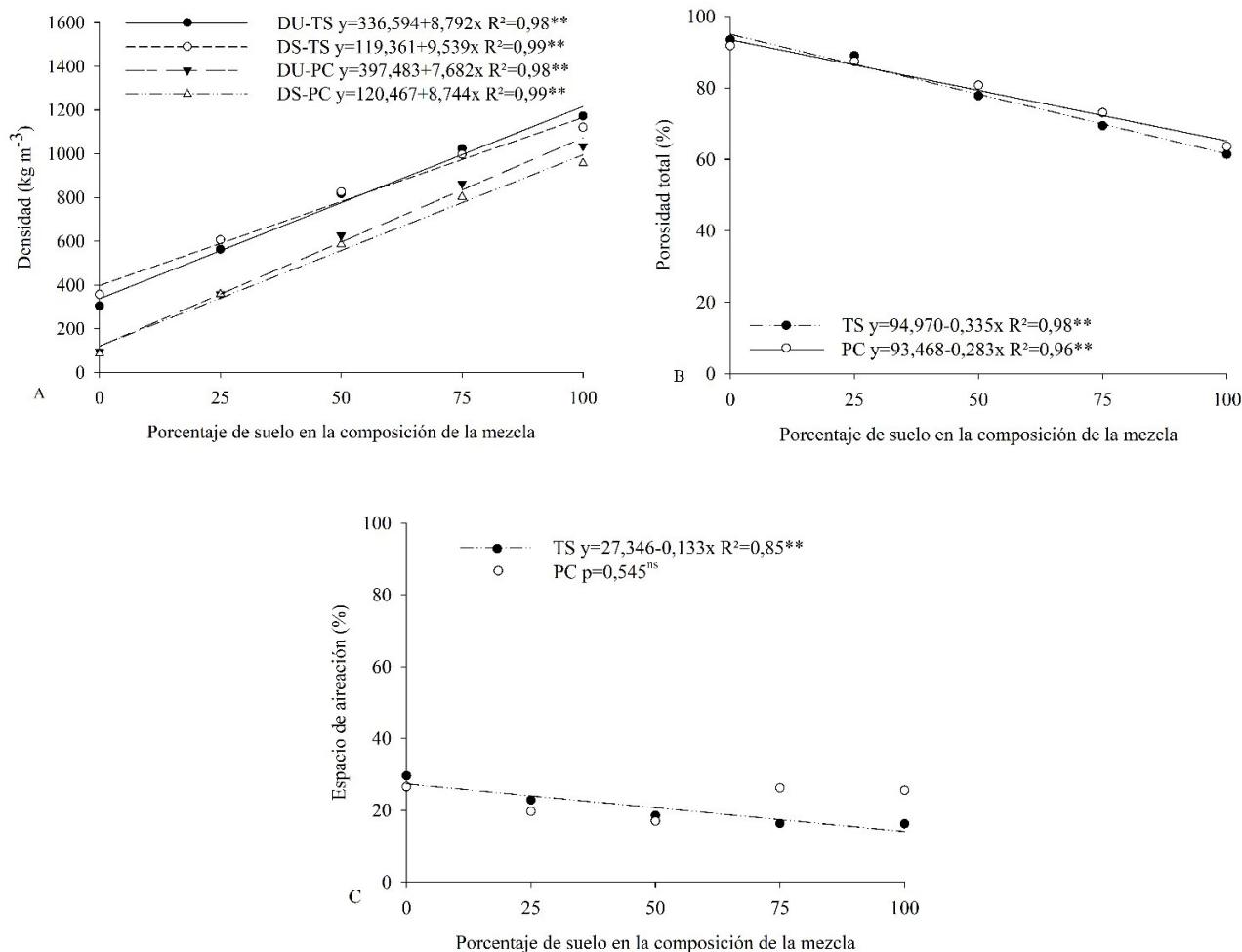


Figura 2. Densidad húmeda (DH) y seca (DS) (A), porosidad total (B) y espacio de aireación (C) de sustratos formulados por diferentes proporciones de turba de *Sphagnum* (TS) y polvo-de-coco (PC) mezclados a suelo mineral. ** = $P < 0,01$; ns = no significativo.

Fuente: autores.

La densidad expresa la relación entre la masa y el volumen de un sustrato. Kämpf (2005) señala que los valores de referencia para la densidad en seco deben tener en cuenta la altura y el volumen del contenedor de cultivo, y se recomienda el uso de formulaciones de hasta 400 kg m⁻³ para contenedores de hasta 15 cm altura. Por lo tanto, el uso de suelo en proporciones superiores al 25% en las mezclas no es adecuado para este tipo de contenedor. Además, cuanto mayor es la densidad, más difícil es crecer en el contenedor, ya sea debido a las

limitaciones de crecimiento de las plantas o la dificultad para transportar macetas o bandejas. Esto indica que el uso de suelo mineral en la composición de sustratos puede dificultar el manejo en el vivero y/o limitar el crecimiento del sistema de raíces, ya que, a medida que aumenta la proporción de este componente en la mezcla, hubo un aumento en la densidad de las formulaciones.

En un estudio de Ludwig *et al.* (2010), se evidenció que la presencia de suelo en la

formulación de los sustratos probados para el cultivo de *Gerbera jamesonii* Bolus ex Hook (gerbera) resultó en un aumento en la densidad de las mezclas, lo que dificultó el crecimiento de las raíces, especialmente en contenedores pequeños. Como resultado, hubo una limitación en el crecimiento de las plantas, principalmente debido a las características químicas y físicas inadecuadas que presentaban estos sustratos.

El aumento en la densidad de los sustratos promueve una disminución en la porosidad total y en el espacio de aireación, debido al aumento en la cantidad de partículas que ocupan el espacio poroso del medio en un volumen dado. Esto explica los resultados obtenidos para estos dos parámetros en el presente estudio, donde hubo una disminución proporcional al aumento en el porcentaje de suelo mineral mezclado con polvo-de-coco y turba *Sphagnum* para la porosidad total (Figura 2B), y de suelo con turba de *Sphagnum* para el espacio de aireación (Figura 2C).

Los sustratos son medios porosos, formados por sólidos y poros llenos de aire y agua. Los poros son responsables del intercambio de gases entre el sustrato y la atmósfera, así como también de determinar los movimientos del agua en el recipiente y su drenaje (Maggioni *et al.*, 2014). Por lo tanto, los sustratos deben ser suficientemente porosos para permitir un intercambio de gases eficiente, evitando la falta de aireación para respirar las raíces y para la actividad de los microorganismos en el medio ambiente (Kämpf, 2005). Así que, la adición de suelo en proporciones superiores al 25% condicionó las mezclas a valores que pueden causar poros insuficientes para el crecimiento adecuado de las plantas en contenedores.

Con respecto al espacio de aireación para las mezclas entre la turba de *Sphagnum* y el suelo, hubo una disminución, que varió de 27,35 % a 14,05 %, a medida que aumentó el porcentaje de suelo (Figura 2C). Se verifica, por lo tanto, que el uso del suelo además de influir negativamente en la porosidad total, también tiene un efecto desfavorable en la aireación de las formulaciones, lo que genera sustratos con baja capacidad de drenaje.

Los sustratos con valores apropiados de porosidad total, capacidad de retención de agua y aireación dan como resultado plántulas de mejor calidad (Mesquita *et al.*, 2012). En un estudio con la producción de plántulas de *Ocimum basilicum* L. (albahaca), se encontró un mejor rendimiento de la planta cuando se usaron sustratos con mayor retención de humedad y baja densidad, lo que proporcionó condiciones adecuadas para la aireación y la disponibilidad de agua (Maggioni *et al.*, 2014).

La determinación de las características de disponibilidad de agua en los sustratos proporciona información sobre el volumen de agua disponible para las plantas dentro de cada rango de estrés (Fermino, 2014). Según De Bocht y Verdonck (1972), el agua asimilable se refiere al volumen de agua liberada entre 10 hPa y 100 hPa de tensión, que es la suma del agua fácilmente asimilable (tensiones entre 10 hPa y 50 hPa) y el agua de reserva (tensiones entre 50 hPa y 100 hPa). El agua restante (agua difícilmente disponible) es el contenido volumétrico que permanece en el sustrato después de aplicar la tensión de 100 hPa. En el presente estudio, la adición de suelo mineral causó una disminución con el aumento de la proporción de suelo mineral en la formulación de sustratos para el agua asimilable (figura 3A), agua fácilmente asimilable (Figura 3B), agua de reserva (Figura 3C) y agua difícilmente disponible (Figura 3D).

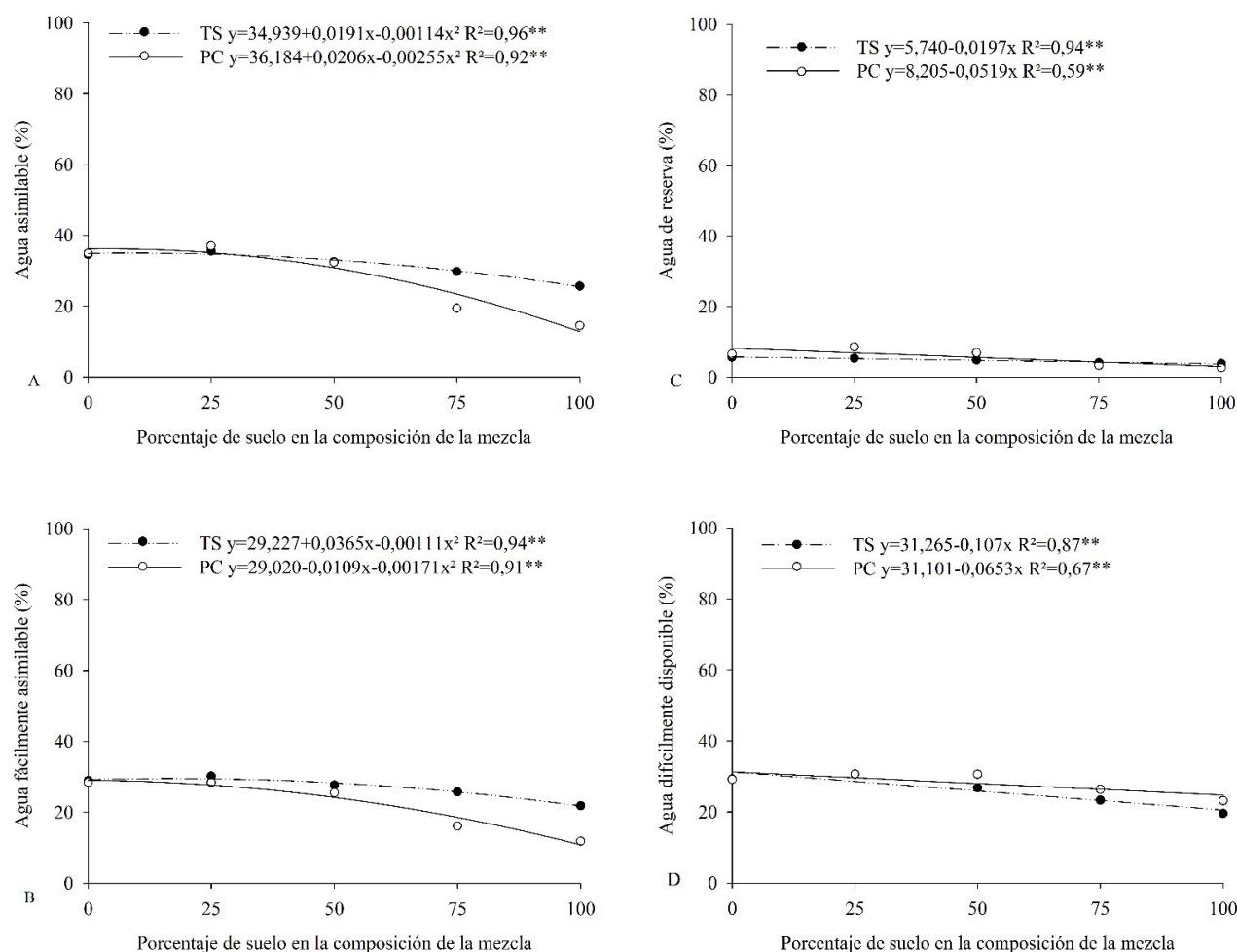


Figura 3. Agua asimilable (A), agua fácilmente asimilable (B), agua de reserva (C) y agua difícilmente disponible (D) de sustratos formulados por diferentes proporciones de turba de *Sphagnum* (TS) y polvo-de-coco (PC) mezclados a suelo mineral. ** = $P < 0,01$.

Fuente: autores.

El aumento en la proporción de suelo, independientemente del material estándar utilizado (turba de *Sphagnum* o polvo-de-coco), también causó una disminución en la capacidad de retención de agua (Figura 4), enseñando una deficiencia de estos para el cultivo de plantas en contenedores, debido a su baja capacidad de almacenamiento de agua. Esto tiene un impacto

directo en la gestión del riego durante el cultivo, ya que las características del material, en relación con su capacidad de retención de agua, determinan la necesidad de riego (Schafer *et al.*, 2015), que en este caso condiciona los sistemas de riego con alta frecuencia, esto hacen necesario aumentar el número de ciclos de riego y disminuir el volumen aplicado.

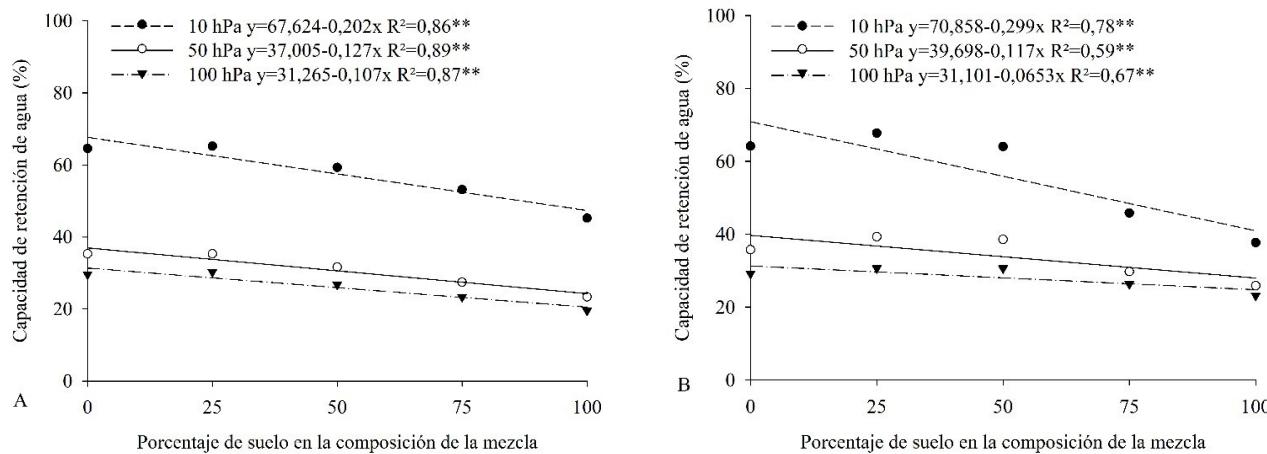


Figura 4. Capacidad de retención de agua de sustratos formulados por diferentes proporciones de turba de *Sphagnum* (TS) (A) y polvo-de-coco (PC) (B) mezclados a suelo mineral. ** = $P < 0,01$.

Fuente: autores.

La capacidad superior de retención de agua de la turba de *Sphagnum* y el polvo-de-coco, cuando se analiza sin la adición de suelo mineral, indica sustratos con condiciones favorables para el desarrollo de plantas en contenedores. Esto se debe a que la capacidad de retención de agua está directamente relacionada con la capacidad de las partículas del sustrato para retener y liberar agua, y proporcionar información sobre el volumen de agua disponible para las plantas a ciertas tensiones (Fernandes *et al.*, 2012).

La producción de plántulas de calidad está directamente relacionada con las características de los sustratos, como la aireación, el drenaje, la retención de agua y la disponibilidad de nutrientes (Maggioni *et al.*, 2014). La adición de suelo en diferentes proporciones con turba de *Sphagnum* y polvo-de-coco, ya que proporcionó un aumento significativo en la densidad, promovió cambios en otras propiedades físicas de las mezclas (reducción de la porosidad total, espacio de aireación y disponibilidad de agua), que se refleja negativamente en la aireación, drenaje y retención de agua. Respecto a la densidad, se debe considerar el costo de transportar las

plántulas al sitio de plantación. Para las plántulas forestales, por ejemplo, la distancia entre el vivero y las áreas de plantación puede representar decenas o cientos de kilómetros. En estos casos, un pequeño porcentaje de diferencia en la densidad puede representar un costo enorme en el transporte de estas plántulas, ya que la forma de transporte predominante, en la gran mayoría de los casos, es por carretera, cuya limitación de carga se debe a la capacidad de peso de cada eje del vehículo.

En muchos estudios, parece que el uso de materiales de composición orgánica, como el estiércol de ganado, mezclado con suelo mineral, proporciona resultados superiores en el crecimiento y desarrollo de las plántulas (Braga Júnior *et al.*, 2010, Araújo y Sobrinho, 2011, Macedo *et al.*, 2011, Silva *et al.*, 2014, Cruz *et al.*, 2016, Alves *et al.*, 2018). Según Araújo y Sobrinho (2011), el uso de materia orgánica mezclada con el suelo es una práctica común, porque además de proporcionar nutrientes a las plantas, también proporciona una mayor retención de agua y mejora la aireación del suelo para el desarrollo de las raíces de las

plantas. El hecho de que la materia orgánica mejore estas características lleva a la recomendación de utilizar el suelo en contenedores de manera inadecuada, porque, a menudo, la adición de un componente que favorece químicamente el desarrollo de las plantas hace que los resultados se malinterpreten.

La formulación de sustratos con componentes fáciles de adquirir, como el suelo mineral, puede reducir el costo final de las plántulas. Sin embargo, el uso de este material, además de generar condiciones físicas desfavorables, puede convertirse en un inoculador potencial de patógenos y propágulos vegetales indeseables en los cultivos, como se observó en el presente estudio. Con base en el análisis biológico del suelo mineral utilizado en este estudio, fue posible observar la presencia de hongos del género *Fusarium*, *Penicillium* y *Rhizopus*, además de *Meloidogyne* y nematodos de vida libre. En este sentido, para evitar problemas fitosanitarios, y con base en la Instrucción Normativa nº 48, del 24 de septiembre de 2013, se prohibió el uso de suelo mineral como componente del sustrato para la producción de plántulas de cítricos (MAPA, 2013).

Una alternativa a este problema es el uso de residuos como sustrato, reemplazando el uso del suelo. Entre los materiales que se pueden utilizar para la producción de plántulas en contenedores, se destacan la vermiculita, el compost orgánico, el estiércol de ganado, el aserrín, el bagazo de caña de azúcar, las acículas de *Pinus*, el vermicompost, el compuesto de desechos sólidos, entre otros (Kämpf, 2005, Fonseca *et al.*, 2019, Watthier *et al.*, 2019). El uso de residuos permite la obtención de materiales alternativos, de fácil y constante disponibilidad a bajo costo, además de ayudar a minimizar la contaminación resultante de la acumulación de estos residuos en el medio ambiente.

Sin embargo, incluso con tantas opciones de residuos, el uso del suelo en la formulación de sustratos en viveros pequeños y grandes, especialmente aquellos para la producción de plántulas de especies forestales nativas, sigue siendo significativo, con la formulación realizada sin una base técnica, mezclando materiales orgánicos, de buena calidad física, con grandes proporciones de suelo mineral.

Hay muchos trabajos publicados en revistas científicas que recomiendan el uso del suelo en la formulación de sustratos para la producción de plantas en pequeños contenedores. Se observa, en estos casos, la composición de mezclas con materiales utilizados al azar, sin criterios técnicos relacionados con el uso del sustrato, el recipiente y el régimen hídrico. Como resultado, las propiedades físicas importantes, como la densidad, la porosidad total y la capacidad del contenedor se ven afectadas. Además, la formulación de sustratos al mezclar componentes orgánicos de características físicas adecuadas, con grandes proporciones de suelo mineral, hace que las características del producto final, en la mayoría de los casos, sean inferiores a las de los componentes orgánicos originales, utilizados de forma aislada. Sin embargo, además de generar sustratos con características de cultivo deficientes, que pueden influir negativamente en el crecimiento y el desarrollo de las plantas, el uso sin restricciones del suelo mineral, incluso en pequeñas proporciones, puede causar daños ambientales debido a su extracción, además de conducir a la producción de plantas a una condición insostenible a largo plazo. En vista del hecho de que todas las características físicas se vieron negativamente afectadas con la adición de suelo mineral como componente del sustrato, no se recomienda agregarlo a la producción de plantas en contenedores.

4. CONCLUSIONES

El uso del suelo mineral como componente del sustrato para las plantas cambió las características químicas y físicas de la mezcla. Hubo una disminución en la conductividad eléctrica, pero el pH se mantuvo estable a valores dentro del rango considerado adecuado por la literatura.

Las densidades húmedas y secas se vieron afectadas por la presencia del suelo, mientras que los valores de porosidad total, espacio de aireación, disponibilidad y capacidad de retención de agua disminuyeron.

No se recomienda el uso de suelo mineral como componente del sustrato.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

Primer autor: metodología, investigación, análisis de datos y escritura borrador original. **Segundo autor:** metodología, investigación y escritura borrador original. **Tercer autor:** investigación y escritura borrador original. **Cuarto autor:** revisión y edición. **Quinto autor:** metodología y escritura - revisión y edición. **Sexto autor:** metodología y escritura - revisión y edición. **Séptimo autor:** metodología, adquisición de recursos, supervisión, conceptualización y escritura - revisión y edición.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a la Coordenação para o Aperfeiçoamento de Pessoal de Educação Superior (CAPES), el Conselho Nacional para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), la Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) y el técnico de laboratorio, Idenir José de Conto.

LITERATURA CITADA

- Alfenas, A.C., Ferreira, F.A., Mafia, R.G., Gonçalves, R.C. (2016). Isolamento de fungos patogênicos. In Alfenas, A.C., Mafia, R.G. (Eds.), *Métodos de fitopatologia* (p. 55-93). Viçosa: UFV.
- Alves, J.D.N., Moreira, W.K.O., Bezerra, L.A., Oliveira, S.S., Franco, T.M., Okumura, R.S., Silva, R.T.L., Oliveira, I.A., Leão, F.A.N. (2018). Substrates and irrigation frequencies in the development of seedlings of *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*. *Journal of Agricultural Science*, 10(11), 249-258. <https://doi.org/10.5539/jas.v10n11p249>
- Araújo A.P., Sobrinho, S.P. (2011). Germinação e produção de mudas de tamboril (*Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong) em diferentes substratos. *Revista Árvore*, 35(3), 581-588. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622011000400001>
- Braga Júnior J.M., Bruno, R.L.A., Alves, E.U. (2010). Emergência de plântulas de *Zizyphus joazeiro* Mart (Rhamnaceae) em função de substratos. *Revista Árvore*, 34(4), 609-616. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622010000400005>
- Caldeira, M.V.W., Rosa, G.N., Fenilli, T.A.B., Harbs, R.M.P. (2008). Composto orgânico na produção de mudas de aroeira-vermelha. *Scientia Agraria*, 9(1), 27-33. <https://doi.org/10.5380/rsa.v9i1.9898>
- Ceccagno, H., Souza, P.V.D., Schafer, G., Avrella, E.D., Fior, C.S. (2019b). Potential of *Pinus elliottii* Engelm. needles as substrate conditioner for the production of "Fepagro C37 Reck" Citrus rootstocks. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 41(3), e-039. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452019039>
- Ceccagno, H., Souza, P.V.D., Schafer, G., Avrella, E.D., Fior, C.S., Schwarz, S.F. (2019a). Potential of *Pinus* sp. needles for use as substrate conditioners in the production of 'Trifoliata' rootstock in greenhouses. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 25(1), 5-16. <http://dx.doi.org/10.5154/r.rchsh.2018.02.003>
- Cruz, F.R.S., Andrade, L.A., Feitosa, R.C. (2016). Produção de mudas de umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara) em diferentes substratos e tamanho de recipientes. *Ciência Florestal*, 26(1), 69-80. <https://doi.org/10.5902/1980509821092>
- De Boot, M., Verdonck, O. (1972). The physical properties of the substrates in horticulture. *Acta horticulturae*, 26, 37-44. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1972.26.5>

- Fermino, M.H. (2014). *Substratos: composição, caracterização e métodos de análise*. Guaíba: Agrolivros.
- Fernandes, L.F., Gomes, W.A., Mendonça, R.M.N. (2012). Substratos na produção de porta-enxertos cítricos em ambiente protegido. *Revista Verde*, 7(3), 01-06.
- Fonseca, W.L., Oliveira, A.M., Sousa, T.O., Zuffo, A.M., Santos, R.F., Carvalho, R.M., Almeida, F.A., Oliveira Neto, N.M., Guerra, L.O., Gomes, T.S. (2019). Decomposed buriti stem and nitrogen application rates on the growth of *Eugenia dysenterica* DC (Myrtaceae) seedlings. *Journal of Agricultural Science*, 11(16), 187-194. <https://doi.org/10.5539/jas.v11n16p187>
- Hoffmann, G. (1970). Verbindliche methoden zur untersuchung von TKS und gärtnerischen erden. *Mitteilungen der VSLUFA*, 6, 129-153.
- Kämpf, A.N. (2005). *Produção comercial de plantas ornamentais*. Guaiba:Agrolivros.
- Ludwig, F., Guerrero, A.C., Fernandes, D.M., Villas Boas, R.L. (2010). Análise de crescimento de gérbera de vaso conduzida em diferentes substratos. *Horticultura Brasileira*, 28(1), 70-74. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362010000100013>
- Macedo, M.C., Rosa, Y.B.C.J., Rosa Júnior, E.J., Scalon, S.P., Tatara, M.B. (2011). Produção de mudas de Ipê-Branco em diferentes substratos. *Cerne*, 17(1), 95-102. <https://doi.org/10.1590/S0104-77602011000100011>
- Maggioni, M.S., Rosa, C.B.C.J., Silva, E.F., Rosa, Y.B.C.J., Scalon, S.P.Q., Vasconcelos, A.A. (2014). Desenvolvimento de mudas de manjericão (*Ocimum basilicum* L.) em função do recipiente e do tipo e densidade de substratos. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 16(1), 10-17. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722014000100002>
- Mesquita, E.F., Chaves, L.H.G., Freitas, B.V., Silva, G.A., Sousa, M.V.R., Andrade, R. (2012). Produção de mudas de mamoeiro em função de substratos contendo esterco bovino e volumes de recipientes. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 7(1), 58-65. <https://doi.org/10.5039/agraria.v7i1a1448>
- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento-MAPA. (2007). Instrução Normativa nº 17, de 21 de maio de 2007.
- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento-MAPA. (2013). Instrução Normativa nº 48, de 24 de setembro de 2013.
- Saidelles, F.L.F., Caldeira, M.V.W., Schirmer, W.N., Sperandio, H.V. (2009). Carbonized rice hull as substratum to produce tamboril-da-mata and garapeira seedlings. *Semina*, 30(1), 1173-1186. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2009v30n4Sup1p1173>
- Schafer, G., Souza, P.V.D., Fior, C.S. (2015). Um panorama das propriedades físicas e químicas de substratos utilizados em horticultura no sul do Brasil. *Ornamental Horticulture*, 21(3), 299-306. <https://doi.org/10.14295/oh.v21i3.735>
- Silva, R.F., Eitelwein, M.T., Cherubin, M.R., Fabbris, C., Weirich, S., Pinheiro, R.R. (2014). Produção de mudas de *Eucalyptus grandis* em substratos orgânicos alternativos. *Ciência Florestal*, 24(3), 609-616. <https://doi.org/10.1590/1980-509820142403009>
- Vence, L.B. (2008). Disponibilidad de agua-aire en sustratos para plantas. *Ciencia del Suelo*, 26(2), 105-114.
- Watthier, M., Schwengber, J.E., Fonseca, F.D., Silva, M.A.S. (2019). Húmus de minhoca e casca de arroz carbonizada como substratos para produção de mudas de alface. *Brazilian Applied Science Review*, 3(5), 2065-2071. <https://doi.org/10.34115/basrv3n5-011>

Conflictos 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.

RESPUESTA INMUNE EN NEONATOS BOVINOS DE MADRES VACUNADAS Y NO VACUNADAS CON BACTERINA CONTRA NEUMOENTERITIS

**IMMUNE RESPONSE IN CALVES BORN TO COWS
VACCINATED OR NOT VACCINATED WITH BACTERIN
AGAINST NEUMOENTERITIS**

¹María Inés Castrillón Rodríguez, ²Rómulo Campos Gaona

¹MSc, Universidad Nacional de Colombia, Palmira, Colombia

²DSc, Universidad Nacional de Colombia, Palmira, Colombia

¹micastrillonr@unal.edu.co, ²rcamposg@unal.edu.co

Citación: Castrillón, M., y Campos, R. (2021). Respuesta inmune en neonatos bovinos de madres vacunadas y no vacunadas con bacterina contra neumoenteritis. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 99 – 113. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3620>

RESUMEN

Contextualización: la diarrea neonatal es una patología común en terneros, causa alta mortalidad y disminución de la productividad ganadera.

Vacío de investigación: una propuesta para su control es inmunizar las madres contra enteropatógenos, sobre lo cual no se ha realizado suficiente investigación en Colombia.

Propósito del estudio: el objetivo del presente trabajo fue determinar indicadores de inmunidad pasiva en neonatos bovinos, nacidos de vacas vacunadas con una bacterina comercial contra neumoenteritis en el último tercio de la gestación.

Metodología: veintiún vacas gestantes mestizas fueron distribuidas en tres grupos: T1, control; T2, aplicación de una dosis del biológico 30 días preparto y T3 aplicación de dos dosis a los 30 y 15 preparto; y un cuarto grupo,

T4, para evaluar inmunidad activa, fue conformado por neonatos vacunados a las 24 horas de vida. El período experimental para las vacas comprendió entre 30 días preparto hasta el parto; para los terneros entre 24 y 72 horas posteriores al nacimiento. En las crías, se analizaron indicadores del metabolismo proteico e inmunoglobulinas (Ig).

Resultados y conclusiones: en las vacas, se analizó la calidad del calostro, cinco indicadores del metabolismo proteico y el cortisol como modulador inmune. Estos no presentaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, excepto AST en el T3. En los neonatos la IgA e IgG no presentaron diferencias significativas ni para tratamientos ni para tiempo. Tanto la IgM como la albúmina presentaron significancia entre tratamientos, mientras que globulinas y proteínas totales lo hicieron solo para el efecto tiempo. No se evidenció

efecto de la bacterina, ni se encontró falla en la transferencia de inmunidad pasiva.

Palabras clave: calostro; inmunoglobulinas; neumoenteritis; terneros; vacunación

ABSTRACT

Contextualization: Neonatal diarrhea is a common pathology in calves, causing high mortality and decreased livestock productivity.

Knowledge gap: A proposed option for their control is the immunization of dams against enteropathogens, which has not had enough research in Colombia.

Purpose: The objective of this work was to determine indicators of passive immunity in bovine neonates, born of cows vaccinated with commercial bacterin against pneumoenteritis applied in the last third of gestation.

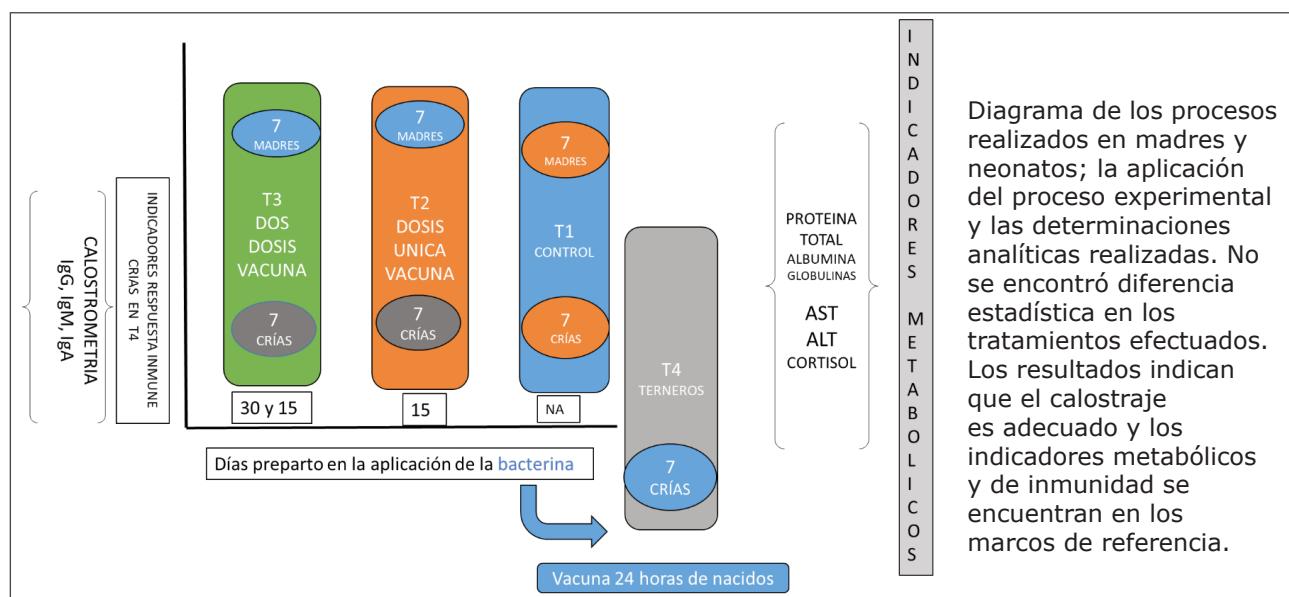
Methodology: Twenty-one crossbred pregnant cows were distributed in three groups: T1, control; T2, application of a dose of the biological 30 days prepartum, and T3 application

of two doses at 30 and 15 days prepartum; and a fourth group, T4, for active immunity determination, of neonates vaccinated with bacterin at 24 hours of life. The experimental period for cows ranging from 30 days antepartum until calving, calves between 24 and 72 hours after birth.

Results and conclusions: In the calves, indicators of protein metabolism and immunoglobulins (Ig) were analyzed. Colostrum quality, five indicators of protein metabolism and cortisol as an immune modulator were analyzed in cows, they did not present significant statistical differences between treatments, with the exception of T3 in AST. In neonates IgA and IgG had no significant differences between treatments or for time. IgM and albumin had significant differences for treatments or time, while globulins and total proteins only for time. No effect of bacterin applications was evidenced and no failure was found in the transfer of passive immunity.

Keywords: calves; colostrum; immunoglobulins; vaccination

RESUMEN GRÁFICO



1. INTRODUCCIÓN

Una de las principales causas de pérdidas económicas en bovinos es la alta mortalidad neonatal, ocasionada principalmente por diarreas de diverso origen y potenciadas por fallas en la transferencia de inmunidad pasiva (FTIP), lo que origina problemas de rentabilidad, salud pública y de bienestar animal porque ocasionan mayores niveles de morbilidad y mortalidad, largos períodos de cría y mayor uso de antimicrobianos en esta fase de vida (Al-Alo et al., 2018). Se indica que la diarrea neonatal es la patología más común que se presenta en los terneros de menos de 15 días de edad y causa una importante disminución de la productividad en la industria ganadera. Los terneros nacen sin anticuerpos para su protección, por lo cual dependen de la trasferencia materna de las inmunoglobulinas (Ig) presentes en el calostro, proceso conocido como transferencia de inmunidad pasiva (TIP) (Godden et al., 2019). Sin embargo, los factores maternos asociados con la calidad de la síntesis de Ig inciden en la calidad de estas, siendo necesario conocer a través de indicadores metabólicos algunas posibles causas que afecten al calostro (Sordillo et al., 2009; Mulder et al., 2018).

En Colombia, las altas tasas de morbilidad asociadas a diarrea neonatal oscilan entre un 26,1% y 48% en la fase de cría (Pardo & Oliver, 2012). En un estudio de caso se informa una morbilidad del 94,9% originada en al menos cinco diferentes agentes etiológicos (Cadavid et al., 2014), lo cual indica su importancia para el país. Por otra parte, se menciona que la diarrea neonatal es ocasionada por una infección combinada de diferentes enteropatógenos Sherwin y Down (2018), o por un solo agente, entre los cuales están la *Escherichia coli* enterotoxigénica cepa F5 (K99) y F41 y la *E. Coli*

Veteroxigénica (O157:H7) y otros tales como *Cryptosporidium parvum*, *Cryptosporidium muris*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter fecalis*, *Giardia spp.*, *Salmonella enterica*, *Serovar Dublin* y *serovar Typhimurium*, que infectan las células epiteliales del intestino ocasionando diarrea. Esto, a su vez, disminuye la absorción de nutrientes esenciales, lleva a pérdida de peso, deshidratación y muerte (Athanasou et al., 2019; Tóthová et al., 2017; Cadavid et al., 2014).

La inmunidad pasiva se logra de distintas maneras: principalmente, mediante el uso de vacunas que buscan generar memoria inmune para que el sistema inmunitario del animal vacunado, ante un nuevo desafío con el agente o agentes contenidos en la vacuna desarrolle una respuesta inmunológica rápida, específica y de un nivel y duración adecuado que lo proteja adecuadamente (Gamietea, 2019); cuando un neonato bovino consume calostro de calidad y en cantidad, de tal manera que se transfieran inmunoglobulinas que le protegen contra los patógenos (Abdullahoglu et al., 2019); y la otra posibilidad es que sufra la infección en sí. Igualmente, se conoce que la respuesta inmune mediada por células en animales alimentados con calostro materno que contenía leucocitos, fue significativamente mayor cuando las madres habían sido vacunadas con un antígeno específico, que cuando no lo habían sido (Godden et al., 2019).

Para asegurar la óptima calidad del calostro (>10 mg/mL de IgG) producido por las vacas (Lago et al., 2018), además de la condición nutricional y el estado sanitario de estas, se recomienda la vacunación durante la gestación; se considera que la inmunización aumenta la producción y el paso de anticuerpos maternos al calostro (Abdullahoglu

et al., 2019). Asimismo, se ha demostrado que la protección inmune que producen las vacas mediante la aplicación de bacterinas que contienen cepas atenuadas de *E. Coli* se transmite eficientemente a los terneros mediante el consumo de calostro en las primeras horas de vida (Godden et al., 2019). Por esto se ha propuesto que al secado las vacas sean vacunadas con un biológico polivalente que genere anticuerpos maternos que serán transmitidos mediante el calostro a la cría (Sherwin & Down, 2018).

El objetivo principal de este estudio fue conocer el comportamiento de los indicadores de inmunidad pasiva o activa en terneros que tomaron calostro en las primeras horas de vida, nacidos de madres inoculadas con una bacterina comercial múltiple contra neumoenteritis y en neonatos vacunados pero nacidos de madres que no recibieron la vacuna, en estas se analizaron los metabolitos séricos asociados con su respuesta.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización: la investigación se realizó en un sistema comercial de producción lechera de tipo semiintensivo, ubicado en trópico bajo ($3^{\circ}49'N$, $76^{\circ}23'W$), ubicado en una formación ecológica de Bosque Seco Tropical (BS-T), con altitud de 950 msnm, temperatura promedio de 26 °C, y precipitación media anual de 1000 mm (Holdridge, 1978).

Unidades experimentales y tratamientos: el experimento fue avalado institucionalmente por el comité de ética de investigación animal (CP-FCA Acta 03-2015). Se utilizaron 21 vacas mestizas (F1, Gyr x Holstein) entre tercer y cuarto parto, en el octavo mes de

gestación. Los animales se dividieron en tres grupos, cada uno con siete vacas y sus respectivas crías al nacimiento. Se conformó un cuarto grupo con siete crías recién nacidas. Los tratamientos fueron: control (T1); tratamiento 2 (T2), aplicación de una dosis de 2 ml de bacterina comercial contra neumoenteritis 30 días antes del parto; tratamiento 3 (T3), aplicación de bacterina comercial contra neumoenteritis, 30 días antes del parto, y 15 días preparto; tratamiento 4 (T4), aplicación de una dosis a terneros a las 24 horas de vida. La bacterina contenía *Salmonella dublin* 25%, *Salmonella typhimurium* 25%, *Escherichia coli* K99 25%, *Pasteurella multocida* tipo II 20%, inactivante, vehículo tipo gel 5% y se aplicó por vía subcutánea.

Manejo animal: las vacas se encontraban en un sistema de pastoreo rotacional con pasto estrella (*Cynodon plectostachyus*) y suplementación con ensilaje de maíz; posterior al parto se dejaban con la cría las primeras 24 horas donde los terneros tomaban calostro a voluntad, al segundo día se separaban de sus madres y el suministro de calostro se realizaba dos veces al día por medio de biberón a razón de dos litros en cada toma durante tres días, luego pasaban al sistema de crianza de balde estaca hasta el destete.

Recolección muestras de campo: 24 horas después del parto se recolectaron muestras de calostro (300 ml) y sangre en tubos al vacío sin anticoagulante, mediante venipunción cocígea. Las muestras se centrifugaron a 2500 rpm durante 15 minutos, se extrajo el suero y se almacenó a -20°C hasta el análisis de AST, ALT, proteínas totales (PT), globulinas totales, albúmina y cortisol.

En los terneros, se colectó sangre por venipunción yugular a las 24±6, 48 y 72 horas posteriores al nacimiento. Se extrajo suero por centrifugación, en la que se analizaron proteínas totales, globulinas totales y albúmina mediante método enzimático colorimétrico y analizador químico semiautomático de lectura óptica RAYTO® (Shenzhen, China), las inmunglobulinas G, M y A (Triple J Farms®) mediante la técnica de inmunodifusión radial simple y lectura óptica con calibrador. Las muestras de calostro fueron analizadas *in situ* a 22°C con un calostrómetro tipo lactodensímetro, calibrado para lectura en g/L.

Análisis estadístico: Los datos fueron almacenados en Excel y procesados en el paquete estadístico InfoStat, versión 2017 (Di Rienzo et al., 2017).

El diseño estadístico se basó en un modelo completamente al azar, en el cual una vez evaluada la normalidad y homocedasticidad de la variable se realizó un análisis de varianza de dos vías (tratamientos y tiempo -horas- de respuesta pos nacimiento), las variables dependientes fueron los metabolitos y las Ig y, las variables independientes fueron los tratamientos (vacunaciones). Se aceptó significancia estadística cuando $p < 0,05$. Para analizar las diferencias significativas se utilizó la prueba de Duncan y para evaluar las similitudes entre los resultados de las pruebas se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson. Se realizó Estadística descriptiva de metabolitos e Ig para los tratamientos y tiempo de muestreo.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El consumo de calostro tuvo un efecto significativo para el tiempo de muestreo después

del nacimiento y para la concentración de Ig y PT en todos los tratamientos (Figura 1a). Según los conceptos sobre fallas en la transferencia de inmunidad pasiva (FTIP), el calostro es un indicador indirecto de inmunidad pasiva (Godden et al., 2019), se considera que esta existe cuando la concentración de proteínas totales es ≤ 55 g/L (Lawrence et al., 2017) o valores de ≤ 52 g/L (Cuttance et al., 2017). En este trabajo para ninguno de los tratamientos se encontraron bajas concentraciones de proteínas en calostro, que pudieran asociarse a FTIP, lo que evidencia que los terneros del experimento lograron un buen calostroaje.

La respuesta inmune pasiva se relaciona con la calidad de calostro, los valores en este estudio indican que el T2 presentó la concentración calostral de IgG más alta (85,71 mg/mL) seguido por T1 (82,86 mg/mL) y T3 (61,43 mg/mL) (Figura 1d), sin encontrarse diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos.

La investigación realizada por Soriano (2014), indica que la aplicación de una bacterina dos meses antes del parto mejora la calidad del calostro, encontrando valores de 52 mg/mL de IgG calostral; sin embargo, Yepes y Prieto, (2011), informan 57,6 mg/mL de IgG sin vacunación, lo cual puede explicarse por variaciones de respuesta al medio ambiente o a factores nutricionales.

En la Figura 1, se presentan los resultados de los metabolitos proteicos (1a, 1b, y 1c) y las inmunglobulinas (1d, 1e y 1f), en los tres períodos posteriores al nacimiento analizados en los neonatos.

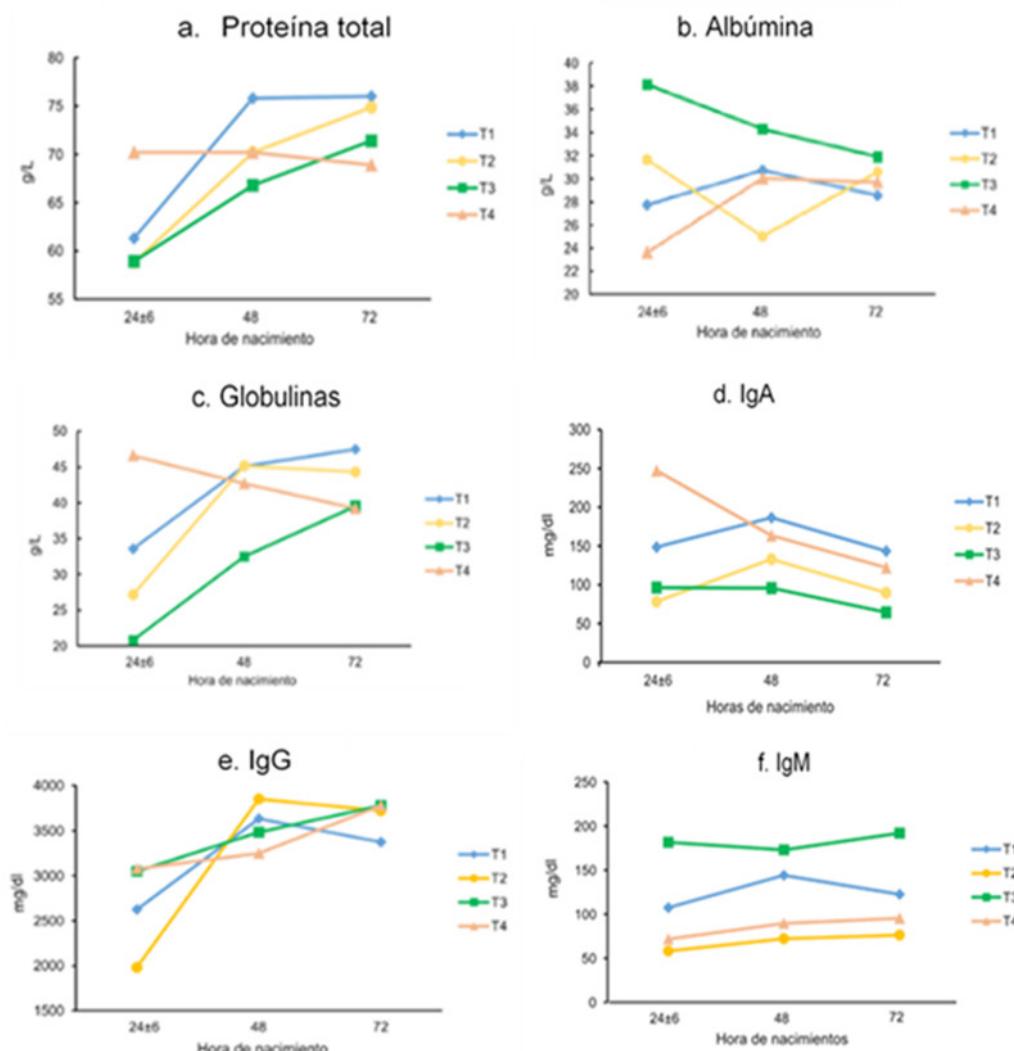


Figura 1. Diagrama de la variación de los metabolitos proteicos a. proteína total, b. albúmina, c. globulina y de las inmunoglobulinas d. IgA, e. IgG y f. IgM, en los neonatos bovinos de cuatro grupos experimentales, control (T1) y respuesta posvacunal (T2, T3 y T4), a las 24, 48 y 72 horas posparto.

Fuente: Autores

Las globulinas presentaron menor valor en T3 ($20,79 \text{ g/L}$) a las 24 ± 6 horas de nacimiento, probablemente como producto del bloqueo inmunológico y menor transferencia de Ig al calostro (Windedey & Gamsjäger, 2019). El valor más alto ($47,46 \text{ g/L}$) se presentó en T1 a las 72 horas, lo cual muestra que el consumo de calostro elevó las Ig, independiente de la vacunación. T4 mostró a las 24 ± 6 horas mayor concentración en comparación con los demás tratamientos, posiblemente derivado de un

mayor consumo de calostro en este grupo. En este estudio se encontraron diferencias significativas en el tiempo para muestras colectadas entre 24 ± 6 y 72 horas post nacimiento, a mayor tiempo en el muestreo, concentraciones más elevadas. De Paula y colaboradores (2019) reportan valores entre 24 y 39 g/L en terneros durante la primera semana de vida. Asimismo, debe tenerse en cuenta que entre más tiempo posparto pase, menor será la cantidad de globulinas que el ternero pueda

absorber, debido a la pérdida de absorción de inmunoglobulinas en la mucosa intestinal y, por tanto, su concentración tiende a estabilizarse como se muestra en la Figura 1c, para 48 y 72 horas (Godden et al., 2019).

La concentración de inmunoglobulinas IgG (Figura 1e), e IgA (Figura 1d) no presentaron diferencias significativas ni para tiempo, ni entre tratamientos, mientras que IgM (Figura 1f) presentó diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,002$), hallazgo importante ya que esta Ig brinda mayor protección en las primeras horas de vida (Ježek et al., 2012; Chase et al., 2008).

La concentración de IgG registró el menor valor en T2 (tratamiento con una dosis de vacuna) con 19,8 mg/mL a las 24±6h, y 38,51 mg/mL a las 48 horas. Los rangos de referencia establecidos por Hampe y Wehrend (2019) están entre 6,7 y 29,0 mg/mL para terneros en la primer semana de vida. Los valores hallados en los tratamientos son más elevados que otros reportados, posiblemente debido al método analítico empleado en la determinación, dado que la técnica de inmunodifusión radial simple (RID) es más sensible y precisa que la técnica ELISA (Dunn et al., 2018; Gelsinger et al., 2015). Igualmente, se encontró a las 24±6 horas de nacimiento valores de IgG superiores a 10,0 mg/mL en todos los tratamientos, lo cual indica ausencia de FTIP, y se corrobora que la IgG posee la mayor concentración entre las Ig en terneros (Godden et al., 2019).

Respecto a la concentración de Ig pos nacimiento, la concentración de IgA a las 24±6 muestra su mayor concentración para T4 con 2,47 mg/mL, tal vez asociada al tipo de antígeno aplicado (Chase et al., 2008), mientras que a las 72 horas, todos los tratamientos presentaron valores bajos, siendo el menor T3 con 0,64 mg/mL. Los valores reportados para IgA

están entre 0,5 a 4,5 mg/mL (Kaneko et al., 2008). Para la IgM se encontró el menor valor (0,58 mg/mL) en T2 a las 24±6 horas de nacimiento mientras que la mayor concentración fue 1,92 mg/mL a las 72 horas para el T3, el cual recibió dos dosis de vacuna. Se presentó diferencia estadística entre los tratamientos.

Respecto a la concentración de Ig pos nacimiento, la concentración de IgA a las 24±6 muestra su mayor concentración para T4 con 2,47 mg/mL, tal vez asociada al tipo de antígeno aplicado (Chase et al., 2008), mientras que a las 72 horas, todos los tratamientos presentaron valores bajos, siendo el menor T3 con 0,64 mg/mL. Los valores reportados para IgA están entre 0,5 a 4,5 mg/mL (Kaneko et al., 2008). Para la IgM se encontró el menor valor (0,58 mg/mL) en T2 a las 24±6 horas de nacimiento mientras que la mayor concentración fue 1,92 mg/mL a las 72 horas para el T3, el cual recibió dos dosis de vacuna. Se presentó diferencia estadística entre los tratamientos.

La diferencia en la concentración encontrada para IgG no se puede explicar únicamente como respuesta al proceso vacunal, ya que pudieron variar las condiciones medioambientales en las que permaneció el grupo experimental (Gamietea, 2019; Ježek et al., 2012). Igualmente, debe considerarse la posible estimulación antigénica derivada de patógenos externos a los cuales han podido estar expuestos los terneros; además, los valores en T2 y T4 también fueron más altos a las 72 horas de nacidos, esto no se pudo derivar únicamente del consumo del calostro, sino también, en parte, por el proceso vacunal (Dudek et al., 2017; Uetake et al., 2014).

En los terneros de los cuatro grupos experimentales se encontraron correlaciones significativas ($p<0,0001$) entre globulinas e IgG (0,76), con IgA (0,66) y con IgM (0,47)

y, entre globulinas y proteínas totales (0,95) este comportamiento de alta relación demuestra lo planteado como evaluación directa e indirecta de inmunidad pasiva, cuando se analizan Ig o PT sérica o con las proteínas totales del calostro (Cuttance et al., 2017; Ježek et al., 2012).

La concentración de proteínas séricas e inmunoglobulinas en los bovinos es baja al nacimiento debido a su sistema placentario y aumenta en el tiempo con el consumo de calostro (Tóthová et al., 2017). En el posparto, la concentración de proteínas séricas en el neonato está relacionada con el consumo de calostro y la calidad del mismo, lo cual explica las altas concentraciones a las 48 y 72 horas de nacimiento (Figura 1a), tal como se evidencia para el grupo control. La concentración de proteína total (PT) y globulinas, en terneros presentó una diferencia significativa en el efecto tiempo pos nacimiento; para el efecto tratamiento solo hubo efecto significativo para la albúmina; tampoco se presentó interacción tiempo*tratamiento para los metabolitos proteicos.

El menor valor de PT se registró en T2 a las 24 ± 6 horas con 58,93 g/L y el T1 presentó la mayor concentración a las 48 y 72 horas con 75,8 y 76,01 g/l respectivamente. Klinkon y Ježek (2012) registraron valores de 45,8 g/L en terneros después del nacimiento, 54,5 g/L después de la ingesta de calostro y 50-70 g/L al mes de edad. Las mayores concentraciones de PT, se presentan después de consumir calostro, esto asociado con las inmunoglobulinas que son su mayor componente (Godden et al., 2019).

La mayor concentración de albúmina (38,13 g/L) se registró en T3 y el valor más bajo (23,61 g/L) en T4 a las 24 ± 6 horas de nacimiento ($p<0,05$) como se presenta en la Figura 1b; a mayor concentración de globulinas

menor concentración de albúmina. Hampe y Wehrend, (2019) informan que la albúmina en terneros puede estar entre 19 y 33 g/L. En este estudio, los valores son superiores a los descritos y se encontró efecto significativo de la vacunación, posiblemente debido a las características de la bacterina, según lo mencionan Petzl et al., (2018), esta puede activar las moléculas co-estimuladoras (CD80, CD86 y CD40), que a su vez inducen a las células presentadoras de antígeno (APC) a producir interleucinas, que intervienen en la respuesta inflamatoria (Tóthová et al., 2017), que produce mayor permeabilidad de la membrana. Esto permite el paso de albúmina a través del mismo receptor de IgG, como también sucede cuando se inmuniza con antígenos bacteriales (Dudek et al., 2017).

Cuando el calostro tiene una mayor concentración de albúmina, esta puede pasar al ternero mediante el mismo receptor (FcRn) de IgG (Stark et al., 2015). Se ha demostrado que el FcRn se une a la albúmina, la cual es ocho veces más abundante en el calostro y, al unirse al receptor, lo hace en un emplazamiento distinto y no competitivo con el de IgG, lo cual explicaría la concentración de albúmina en los terneros del T3 (Guzmán y Olivera-Angel, 2020).

En las vacas, las concentraciones séricas de proteína total, albúmina y globulina, analizadas como indicadores indirectos del metabolismo proteico (Sordillo et al., 2009), no presentaron diferencia significativa entre tratamientos. Los valores de PT registrados son de 67,75 y 80,83 g/L para T3 y T2, respectivamente. Los valores de referencia están entre 67,4 y 74,6 g/L (Kaneko et al., 2008). En este estudio, T2 presentó un valor superior a la media de referencia, derivado de la mayor concentración de globulinas (Tabla 1). Roa-Vega y colaboradores (2017), reportan

concentraciones de 79,3 g/L, siendo estos valores similares a los encontrados por Guerra et al. (2018) y a los hallados en el presente experimento, lo cual evidencia el buen manejo nutricional en la explotación. Los valores informados indican una alta concentración sérica de proteína, asociada en parte al aumento de las globulinas por el proceso experimental de vacunaciones en T2 y T3.

En vacas, a mayor número de partos mayores valores séricos de proteína total, debido

principalmente a las inmunoglobulinas, ya que el sistema inmunológico de las vacas multíparas ha estado en contacto con más patógenos, y por lo tanto tienen una mayor cantidad de anticuerpos (Bobbo et al., 2017). Las diferencias entre tratamientos (Tabla 1) pueden estar relacionadas con la respuesta inmune a la bacterina; no obstante, T2 recibió una dosis y T3 dos, mostrando este, contradictoriamente, una menor concentración de globulinas, probablemente por bloqueo materno a la respuesta exógena inducida (Windeyer y Gamsjäger, 2019).

Tabla 1. Medias y análisis de varianza para las concentraciones séricas de metabolitos proteicos en vacas sometidas a diferentes ritmos de aplicación de una bacterina contra neumoenteritis.

Variable (g/L)	Tratamientos			f	p-valor
	T1	T2	T3		
Proteína total	77,62 ^a	80,83 ^a	67,75 ^a	3,50	0,0519
Albúmina	30,43 ^a	32,51 ^a	30,08 ^a	0,67	0,5241
Globulina	47,19 ^a	48,32 ^a	37,67 ^a	2,82	0,0860

Cuando p<0,05 existen diferencias estadísticas.

Fuente: autores

La albúmina presentó para T2 la mayor concentración con 32,51 g/L (Tabla 1). Kaneko et al., (2008) indican valores para este metabolito entre 30,3 y 35,5 g/L. Según Da Silva, et al. (2019), la albúmina puede variar en función del estado fisiológico, el clima y la alimentación. Al final del periodo de gestación, la albúmina es baja debido a que es catabolizada para aportar aminoácidos necesarios para la producción de globulinas (Tóthová et al., 2017). Debido a que no se encontraron diferencias entre tratamientos (Tabla 1), la aplicación de bacterinas contra la neumoenteritis en el último mes de gestación no afecta significativamente este metabolito.

Las globulinas séricas en las madres mostraron el valor más bajo en T3 con 37,67 g/L, mientras que en T2 se presentó el mayor con 48,32 g/L; los valores conocidos están entre 30 y 34,8 g/L (Kaneko et al., 2008). Los valores hallados en los tratamientos con vacuna son superiores (Tabla 1) al valor del grupo control, pudiendo indicar efecto de la bacterina; sin embargo, el T3 que recibió dos dosis de vacuna, presentó un valor más bajo que T2 posiblemente por inhibición asociada al bloqueo materno (Windeyer y Gamsjäger, 2019). En general, Roa-Vega et al., (2017) informan valores de 42,86±3,47 para globulinas en vacas recién paridas con suplementación

proteica. Estos valores son más cercanos a los del presente trabajo; mientras que, en condiciones similares a las de este experimento para tipo racial y únicamente durante el período de transición se encontraron valores cercanos a 30 g/L (Campos et al., 2012), lo que indica las amplias variaciones en los valores de globulinas, los desafíos medioambientales y el posible efecto de la vacuna.

Se describe que las globulinas se elevan debido a enfermedades o vacunaciones recientes (Tizard y Payne, 2019). Así, los valores de globulinas encontrados en T2 se pueden asociar con la estimulación inmunogénica generada por la bacterina, sin embargo, en T3 los bajos valores indicarían que el refuerzo en la inmunización requiere un protocolo de aplicación más amplio entre dosis, para generar una mayor cantidad de anticuerpos transferibles al calostro, para no generar el mencionado bloqueo materno (Gamietea, 2019; Windeyer y Gamsjäger, 2019).

De acuerdo con la práctica común de vacunación realizada por los productores y replicada experimentalmente en el presente trabajo, es posible que la frecuencia de aplicación de la bacterina y el intervalo de tiempo entre aplicaciones haya generado inhibición de la respuesta inmune medida (Windeyer y Gamsjäger, 2019). Diversos autores recomiendan mínimo cuatro semanas de intervalo entre la aplicación de dosis de bacterinas y sugieren empezar la primera dosis al séptimo mes de gestación o al inicio del periodo seco (Sears et al., 2017). No siempre se muestran mejores respuestas con refuerzos posteriores, cuando el intervalo entre dosis es de 15 días o menos, ya que se puede neutralizar la respuesta secundaria (Gamietea, 2019).

En este experimento, al no encontrar diferencias entre tratamientos, no podría deducirse

que no hay diferencia entre inmunizar o no inmunizar con bacterinas durante el preparo, dado que el tiempo entre las dosis fue de 15 días o la aplicación única se realizó 30 días antes del parto esperado. Esta es una práctica rutinaria en campo, que posiblemente no permite una respuesta biológica integral por parte de la vacuna (Gamietea, 2019).

Por otra parte, debe tenerse en cuenta el carácter de inactivado del biológico que se aplicó, razón por la cual el fabricante recomienda la doble dosis, al igual que para otros biológicos que incluyan patógenos muertos, vivos atenuados o modificados en los que, en la mayoría de los casos, se emplean dos dosis, con un amplio intervalo de tiempo entre estas (Dudek et al., 2017). Se han encontrado infecciones congénitas para IBR, DVB y *Leptospira* en crías con FTIP (Lawrence et al., 2017), sin que las vacunas logren inmunizar completamente contra estos patógenos.

Las madres de los terneros del T4, no fueron vacunadas en ningún momento, sus crías recibieron una dosis del biológico y estas no presentaron diferencias en la síntesis de calostro con relación a las madres de los terneros nacidos de madres inmunizadas.

Vacunar cuando existen anticuerpos maternos circulantes se considera un problema de protección inmune. Esta situación se conoce como anticuerpos en fase materna (*In face of maternal antibody*, IFOMA, por sus siglas en inglés) (Chamorro et al., 2016). Esto pudo impedir observar diferencias entre inmunidad pasiva y activa, porque la vacuna muerta no pudo inducir una respuesta humorral dado que existían anticuerpos maternos; asimismo, es necesario tener en cuenta el bloqueo al desarrollo de inmunidad en una cría con alta protección calstral, como sucede en los mamíferos nacidos de placentación sindesmocorial

(Windeyer y Gamsjäger, 2019), lo cual explicaría la ausencia de diferencias para el T4, que recibió una dosis vacunal en una edad en la cual no hay respuesta del sistema inmune (Sherwin y Down, 2018).

Se analizaron ALT y AST en las vacas para monitorear la función hepática y el cortisol como posible responsable de inmunosupresión en el periparto. Ninguno presentó diferencias significativas para tratamientos (Tabla 2), lo cual indica que las madres estuvieron bajo condiciones similares de salud hepática y nivel de estrés (Uetake et al., 2014).

La concentración de ALT hallada en los tratamientos está dentro de los valores de referencia (7 a 35 U/L) mencionados por Roa-vega et al., (2017). La ALT sérica se incrementa por alteración en la membrana del hepatocito, haciéndolo más permeable y permitiendo la

liberación de la enzima al torrente sanguíneo (Dharmayudha et al., 2018).

La concentración de AST presentó diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 2). Los valores hallados son normales de acuerdo a lo citado por Kaneko et al., (2008). La diferencia significativa encontrada en esta investigación puede explicarse mediante el alto valor de AST en T2 y T3, lo cual puede estar asociado con la concentración de cortisol debido al estrés causado por el manejo de aplicación de la vacuna, tal como se reporta en investigaciones realizadas por Shawky y colaboradores (2016) y El-Mandrawy y Farag (2017), quienes también aplicaron vacunas y hallaron niveles altos de AST, tal vez por procesos inflamatorios inespecíficos postvacunales, lo que asociaron con altas concentraciones de cortisol derivadas del estrés del parto y la vacunación.

Tabla 2. Medias y análisis de varianza de las concentraciones séricas de ALT y AST enzimas indicadoras de función hepática, cortisol y Calostrometría en vacas sometidas a una o dos aplicaciones de una bacterina contra neumoenteritis.

VARIABLE	Tratamientos			f	p-valor
	T1	T2	T3		
Alanina Aminotransferasa -ALT (U/L)	17,82 ^a	20,00 ^a	21,70 ^a	1,54	0,2415
Aspartato aminotransferasa AST(U/L)	103,74 ^a	137,95 ^b	115,25 ^a	9,76	0,0013
Cortisol (nmol/L)	191,86 ^a	180,38 ^a	253,73 ^a	0,68	0,5181
Calostrometría (mg/mL)	82,86 ^a	85,71 ^a	61,43 ^a	1,17	0,334

Cuando p < 0,05 se considera que existen diferencias estadísticas.

Fuente: Autores

Las concentraciones de cortisol en este estudio son similares a las mencionados por Shawky et al., (2016) en vacas recién paridas; sin embargo, en T3 fue considerablemente más alta, lo cual se atribuye posiblemente al manejo derivado de las dos dosis

de vacuna que se aplicaron, con estrecho intervalo de 15 días, lo que pudo generar más estrés y mayor concentración de cortisol, como se ha evidenciado en otros trabajos con manipulaciones en animales durante el preparto (Uetake et al., 2014).

La calostrometría para evaluar la síntesis de calostro en las madres vacunadas o no, se presenta en la Tabla 2, donde se muestran valores correspondientes a calostro de excelente calidad en todos los tratamientos. Los estándares referenciados son: menor a 20 g/L, para mala calidad; 20 a 50 g/L, calidad moderada y superior a 50 g/L para excelente calidad (Lago et al., 2018). El grupo control, al no mostrar diferencias con T2, indica que en todas las madres el calostro fue sintetizado en forma oportuna y brindó al neonato adecuada protección. Todas las vacas generaron respuesta a los desafíos medioambientales o a vacunaciones previas, aún el T3, con una concentración baja con relación a los grupos experimentales, pero superior a lo esperado en calostros de calidad, permitió inferir en todos los tratamientos una adecuada síntesis de calostro, independiente de la vacunación. Existen diversas circunstancias asociadas a la cantidad y frecuencia en el suministro de calostro que pueden originar variaciones en la respuesta; sin embargo, estas no fueron objetivo del presente trabajo.

4. CONCLUSIONES

Se encontraron diferencias estadísticas para IgM únicamente entre los indicadores de inmunidad activa o pasiva de neonatos nacidos de vacas inmunizadas o no, o en los terneros inmunizados a las 24 horas posteriores al nacimiento, siguiendo el esquema vacunal propuesto en este trabajo, probablemente por el bloqueo de inmunidad activa por parte de la cría y por el proceso de respuesta descrito como IFOMA.

La concentración de proteína total (PT) y globulinas en terneros presentó diferencia significativa para el efecto del tiempo de evaluación posterior al nacimiento, asociado al factor acumulativo del consumo de calostro posparto.

En las vacas, la PT, la albúmina y las globulinas no presentaron diferencias, por lo tanto,

la aplicación de bacterina contra neumoenteritis, según el protocolo propuesto en esta investigación, no generó ningún efecto en estos metabolitos.

La concentración de cortisol no afectó la respuesta en ninguno de los tratamientos.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

Primer autor: investigación, análisis de datos, escritura. Segundo autor: conceptualización, análisis de datos, escritura, revisión y edición.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la vicerrectoría de Investigación de la Universidad Nacional de Colombia, la financiación del presente trabajo y, a los propietarios y personal de la hacienda Chiquique (Yotoco, Valle del Cauca) la logística de campo para el desarrollo del experimento.

LITERATURA CITADA

- Abdullahoglu, E., Duru, S., Özlüer, A., y Filya, İ. (2019). Factors affecting colostrum quality and calf passive transfer levels in Holstein cattle. *Animal Science Papers & Reports*, 37(1):29-39. Recuperado de: <http://a192.fsi.pl/year-2019-vol-37-no-1>
- Al-Alo, K. Z. K., Nikbakht Brujeni, G., Lotfollahzadeh, S., Moosakhani, F., & Gharabaghi, A. (2018). Correlation between neonatal calf diarrhea and the level of maternally derived antibodies. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 19(1), 3-8. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5960765/>
- Athanasiou, L. V., Katsoulos, P. D., Ziogas, C., Kasab, A., y Polizopoulou, Z. (2019). Serum protein electrophoretic profile in diarrheic neonatal calves. *Comparative Clinical Pathology* (2019), 28, 685-688. <https://doi.org/10.1007/s00580-019-02935-w>
- Bobbo, T., Fiore, E., GIANESELLA, M., Morgante, M., Gallo, L., Ruegg, P. L., ... Cecchinato, A. (2017). Variation in blood serum proteins and association with somatic cell count in dairy cattle from multi-breed herds. *animal*, 11(12), 2309-2319. <https://doi.org/10.1017/S1751731117001227>

- Cadavid, D. A., Giraldo, C. A., Sierra, S., Montoya, M., Chaparro, J. J., Restrepo, J. E., y Olivera-Ángel, M. (2014). Diarrea neonatal bovina en un hato del altiplano norte de Antioquia (Colombia), un estudio descriptivo. *Veterinaria y Zootecnia*, 8(2): 120-129. <http://bibliotecadigital.udea.edu.co/handle/10495/10947>
- Campos, R., García, K., Hernández, E. A., y Giraldo, L. (2012). Protein and mineral metabolites for dairy cows during the transition period under tropical conditions. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 65(2), 6719-6728.
- Chamorro, M. F., Woolums, A., y Walz, P. H. (2016). Vaccination of calves against common respiratory viruses in the face of maternally derived antibodies (IFOMA). *Animal health research reviews*, 17(2), 79-84. <https://doi.org/10.1017/S1466252316000013>
- Chase, C. C., Hurley, D. J., y Reber, A. J. (2008). Neonatal immune development in the calf and its impact on vaccine response. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 24(1), 87-104. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.11.001>
- Cuttance, E. L., Mason, W. A., Denholm, K. S., Laven, R. A. (2017). Comparison of diagnostic tests for determining the prevalence of failure of passive transfer in New Zealand dairy calves. *New Zealand Veterinary Journal*, 65(1), 6-13. <https://doi.org/10.1080/00480169.2016.1230525>
- Dharmayudha, A. A. G. O., Kusumadarma, I. B. D., Ardana, I. B. K., Anthara, M. S., Gunawan, I. W. N. F., Sudimartini, L. M., y Agustina, K. K. (2018). Aktivitas Alanin Aminotransferase Dan Aspartat Aminotransferase Sapi Bali Terinfeksi Fasciola Gigantica. *Buletin Veteriner Udayana*, 10(1), 87-92. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2018.v10.i01.p14>
- Da Silva, M. S. C., dos Santos Rodrigues, D., Tuerlinckx, S., y Siqueira, C. M. G. (2019). Perfil bioquímico de Albúmina e Colesterol em vacas de invernar submetidas a suplementação. *Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão*, 10(1). Recuperado de: <http://200.132.146.161/index.php/siepe/article/view/38760/23576>
- De Paula, Marília Ribeiro, Slanzon, Giovana Simão, Sobreira, Natália, & Bittar, Carla Maris Machado. (2019). Passive transfer of immunity in dairy calves with additional consumption of immunoglobulin through colostrum supplement: effects in health and performance. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 20, e0242019. Epub May 02, 2019. <https://doi.org/10.1590/s1519-9940200242019>
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L. A., y Tablada, E. M. (2017). InfoStat, versión 2017. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Recuperado de <http://www.infostat.com.ar/index.php?mod=page&id=34>
- Dudek, K., y Bednarek, D. (2017). T-and B-cell response analysis following calf immunisation with experimental *Mycoplasma bovis* vaccine containing saponin and lysozyme dimer. *Journal of Veterinary Research*, 61(4), 433-437. <https://doi.org/10.1515/jvetres-2017-0060>
- Dunn, A., Duffy, C., Gordon, A., Morrison, S., Argüello, A., Welsh, M., y Earley, B. (2018). Comparison of single radial immunodiffusion and ELISA for the quantification of immunoglobulin G in bovine colostrum, milk and calf sera. *Journal of Applied Animal Research*, 46(1), 758-765. <https://doi.org/10.1080/09712119.2017.1394860>
- El-Mandrawy, S. A. M., y Farag, G. K. (2017). Molecular Characterization, Hematological and Biochemical Studies on Foot and Mouth Disease Virus Serotype O in Buffaloes and Cows in Dakahlia Governorate, Egypt. *Zagazig Veterinary Journal*, 45(2), 156-164. <https://doi.org/10.21608/zvzj.2017.7888>
- Gamietea, I. J. (2019). Ganadería bovina en el área de influencia de la EEA San Pedro. Recomendaciones sobre sanidad, nutrición y manejo. AER San Pedro, INTA. Recuperado de: <https://repositorio.inta.gob.ar/handle/20.500.12123/6352>
- Gelsinger, S. L., Smith, A. M., Jones, C. M., y Heinrichs, A. J. (2015). Comparison of radial immunodiffusion and ELISA for quantification of bovine immunoglobulin G in colostrum and plasma. *Journal of dairy science*, 98(6), 4084-4089. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8491>
- Godden, S. M., Lombard, J. E., y Woolums, A. R. (2019). Colostrum management for dairy calves. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 35(3), 535-556. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.07.005>
- Guerra, M. G., Veras, A. S. C., Santos, V. L. F., Ferreira, M. A., Novaes, L. P., Barreto, L. M. G., ... y Silva, L. R. (2018). Protein metabolic profile of dairy cows fed corn and urea pasture. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 70(4), 1266-1274. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9677>

- Guzmán, V., y Olivera-Angel, M. (2020). 2. Calostro-génesis, digestión y absorción del calostro. Fondo Editorial Biogénesis, 17-30. Recuperado de <https://revistas.udea.edu.co/index.php/biogenesis/article/view/342145/20802566>
- Hampe, M., y Wehrend, A. (2019). Bestimmung der Immunglobulin-G-Versorgung beim neugeborenen Kalb. Tierärztliche Praxis Ausgabe G: Großtiere / Nutztiere, 47(2), 97-109. <https://doi.org/10.1055/a-0858-4038>
- Holdridge, L.R. 1978. Ecología basada en zonas de vida. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA): Serie de libros y materiales educativos No. 34.
- Ježek, J., Malovrh, T., y Klinkon, M. (2012). Serum immunoglobulin (IgG, IgM, IgA) concentration in cows and their calves. Acta Agriculturae Slovenica, 100 (Suppl. 3), 295-298. Recuperado de: <http://aas.bf.uni-lj.si/zootehnika/supl/3-2012/PDF/3-2012-295-298.pdf>
- Kaneko, Jiro J., Harvey, J. W., y Bruss, M. (2008). Clinical biochemistry of domestic animals (6a ed.). San Diego: Elsevier/Academic Press.
- Klinkon, M., y Ježek, J. (2012). Values of Blood Variables in Calves. A Bird's-Eye View of Veterinary Medicine, 301-320. <https://doi.org/10.5772/32100>
- Lago, A., Socha, M., Geiger, A., Cook, D., Silvadel-Río, N., Blanc, C., ... y Leonardi, C. (2018). Efficacy of colostrum replacer versus maternal colostrum on immunological status, health, and growth of preweaned dairy calves. Journal of dairy science, 101(2), 1344-1354. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13032>
- Lawrence, K., Broerse, N., Hine, L., Yapura, J., y Tolley, W. J. (2017). Prevalence of failure of passive transfer of maternal antibodies in dairy calves in the Manawatu region of New Zealand. New Zealand Veterinary Journal, 65(1), 1-5. <https://doi.org/10.1080/00480169.2016.1224207>
- Mulder, R., Fosgate, G. T., Tshuma, T., y Lourens, D. C. (2018). The effect of cow-level factors on colostrum quality, passive immunity and health of neonatal calves in a pasture-based dairy operation. Animal Production Science, 58(7), 1225-1232. <https://doi.org/10.1071/AN16689>
- Pardo M, D., y Oliver E, O. (2012). Identificación de agentes infecciosos asociados con Diarrea Neonatal Bovina en la Sabana de Bogotá. MVZ Córdoba, 17(3), 3162-3168. Recuperado de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=69325096010>
- Petzl, W., Zerbe, H., Günther, J., Seyfert, H. M., Hussen, J., y Schuberth, H.-J. (2018). Pathogen-specific responses in the bovine udder. Models and immunoprophylactic concepts. Research in Veterinary Science, 116, 55-61. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.12.012>
- Roa-Vega, M. L., Ladino-Romero, E. A., y Hernández-Martínez, M. C. (2017). Indicadores de bioquímica sanguínea en bovinos suplementados con Cratylia argentea y Saccharomyces cerevisiae. Pastos y Forrajes, 40(2), 144-151. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/pyf/v40n2/pyf08217.pdf>
- Sears, K. T., Tennant, S. M., Reymann, M. K., Simon, R., Konstantopoulos, N., Blackwelder, W. C., ... y Pasetti, M. F. (2017). Bioactive immune components of anti-diarrheagenic enterotoxigenic Escherichia coli hyperimmune bovine colostrum products. Clin. Vaccine Immunol., 24(8), e00186-16. <https://doi.10.1128/CVI.00186-16>
- Shawky, S. M., Thabet, N. S., Orabi, S. H., y Nayel, M. A. (2016). A Comparative Study on the Hemato-Biochemical and Immunological Effects of the Hexavalent FMD Vaccine Alone or in Combination with Trivalent FMD Vaccine in Cattle. Journal of Biosciences and Medicines, 4(1), 16-26. <https://doi.org/10.4236/jbm.2016.41003>
- Sherwin, G., y Down, P. (2018). Calf immunology and the role of vaccinations in dairy calves. In Practice, 40(3), 102-114. <http://dx.doi.org/10.1136/inp.k952>
- Sordillo, L. M., Contreras, G. A., & Aitken, S. L. (2009). Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. Animal health research reviews, 10(1), 53. <https://doi.org/10.1017/S1466252309990016>
- Soriano, M. F. (2014). Evaluación de la efectividad de la vacuna Escherichia Coli k99 en bovinos de leche en dos fincas en la sabana de Bogotá (Tesis de Pregrado). Universidad de la Salle, Bogotá. Recuperado de https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1005&context=medicina_veterinaria
- Stark, A., Wellnitz, O., Dechow, C., Bruckmaier, R., y Baumrucker, C. (2015). Colostrogenesis during an induced lactation in dairy cattle. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 99(2), 356-366. <https://doi.org/10.1111/jpn.12205>

- Tizard, I., y Payne, S. L. (2019). Active Immunization. Recuperado el 20 de mayo de 2019, de <https://www.msdvetmanual.com/pharmacology/vaccines-and-immunotherapy/active-immunization>
- Tóthová, C., Mihajlovičová, X., y Nagy, O. (2017). The Use of Serum Proteins in the Laboratory Diagnosis of Health Disorders in Ruminants. En The Husbandry, Economic and Health Aspects (pp. 125-126). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.72154>
- Uetake, K., Akiyama, K., y Tanaka, T. (2014). Relationship between stress levels of the antepartum cow and her newborn calf. Animal Science Journal, 85(1), 81-84. <https://doi.org/10.1111/asj.12078>
- Yepes, M., y Prieto, C. (2011). Relación de la concentración de proteína sérica, la calidad de calostro y la ganancia de peso en terneros lactantes en hatos de la sabana de Bogotá (Tesis de Pregrado). Universidad de la Salle, Bogotá. Recuperado de <https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1111&context=zootecnia>
- Windeyer, M. C., y Gamsjäger, L. (2019). Vaccinating Calves in the Face of Maternal Antibodies: Challenges and Opportunities. Veterinary Clinics: Food Animal Practice, 35(3), 557-573. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.07.004>

Conflictos 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.

CARACTERIZACIÓN DE BLOQUES MULTINUTRICIONALES CON BOVINAZA ENRIQUECIDOS CON UN PREPARADO A BASE DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS

CHARACTERIZATION OF MULTI-NUTRITIONAL BOVINE BLOCKS ENRICHED WITH A PREPARATION BASED ON LACTIC ACID BACTERIA

¹Henry Yarbez Suarez Romero, ²Luis Miguel Borrás Sandoval,

³Carlos Eduardo Rodríguez Molano

¹Zootecnista, Msc Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Tunja, Boyacá, Colombia.

²Zootecnista, PhD, Mg. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Tunja, Boyacá, Colombia.

³Zootecnista, PhD®, Mg. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Tunja, Boyacá, Colombia.

¹henry.suarez@uptc.edu.co, ²luis.borras@uptc.edu.co,

³carlos.rodriguez@uptc.edu.co

Citación: Suarez-Romero, H., Borrás-Sandoval, L., y Rodríguez-Molano, C. (2021). Caracterización de bloques multinutricionales con bovinaza enriquecidos con un preparado a base de bacterias ácido lácticas. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 115 – 126. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3914>

RESUMEN

Contextualización: Colombia es el cuarto mayor productor de ganado en América Latina, después de Brasil, Argentina y México, con aproximadamente 22,5 millones de cabezas de ganado, convirtiendo a la ganadería una de las actividades más importante en la economía del país, aportando 53% del producto interno pecuario; se ha apreciado un crecimiento de aproximadamente una tercera parte con el fin de producir alimentos que provean una fuente óptima de proteína de origen animal y satisfagan las necesidades de los consumidores

Vacio de conocimiento: un problema serio que se presenta en la producción ganadera en Colombia son los altos costos de producción y la baja productividad a nivel de finca lo que ha

generando la necesidad de buscar alternativas nutricionales de alta calidad y que sean económicamente rentables para el productor.

Propósito del estudio: esta investigación tuvo como propósito evaluar la composición nutricional y microbiológica de bloques multinutricionales elaborados con bovinaza y enriquecidos con un preparado BAL (bacterias ácido lácticas) con un proceso de fermentación, como posible alternativa de suplementación de rumiantes.

Metodología: el preparado microbiano esta basado en un cultivo de bacterias ácido lácticas (BAL) heterofermentativa de mediana y rápida acidificación. En la elaboración de los bloques multinutricionales se empleó, sal mineralizada,

excretas bovinas, harina de alfalfa, afrecho de café, harina de maíz, cemento, urea y melaza en diferentes porcentajes de inclusión; adicionalmente, al T2 y T3 se les añadió un preparado microbiano y el T3 tuvo un proceso de fermentación por 48 horas a temperatura ambiente. Las variables evaluadas fueron: Humedad (H), Materia seca (MS), Proteína Cruda (PC), fibra cruda (FC), fibra neutra detergente (FDN), fibra ácida detergente (FDA) y análisis microbiológico, empleándose un diseño de bloques completamente al azar.

Resultados y conclusiones: se presentaron diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0,05$) entre el T3 y los demás tratamientos en la PC, FC, FDA y FDN obteniendo los mayores valores, se evidenció un comportamiento inversamente proporcional entre la MS y la H para los distintos tratamientos; la concentración de aerobios para el T3 fue de 80×10^2 UFC/g, además de evidenciarse la ausencia de *Salmonella* en el T2 y T3. La inclusión de un preparado microbiano y la fermentación durante 48h mejora los parámetros nutricionales de los bloques multinutricionales.

Palabras clave: Alimento Fermentado; Calidad Nutricional; Microorganismos; Rumiantes Suplementación animal

ABSTRACT

Contextualization: Colombia is the fourth largest producer of livestock in Latin America, after Brazil, Argentina and Mexico, with approximately 22.5 million livestock, making livestock one of the most important activities in the country's economy, contributing 53% of the domestic product livestock; a growth of about a third has been seen in order to produce foods that provide an optimal source of protein of animal origin and meet the consumer's needs.

Research gap: A serious problem that occurs in livestock production in Colombia is the high

production costs and low productivity at the farm level, which has generated the need to look for high-quality nutritional alternatives that are economically profitable for the producer.

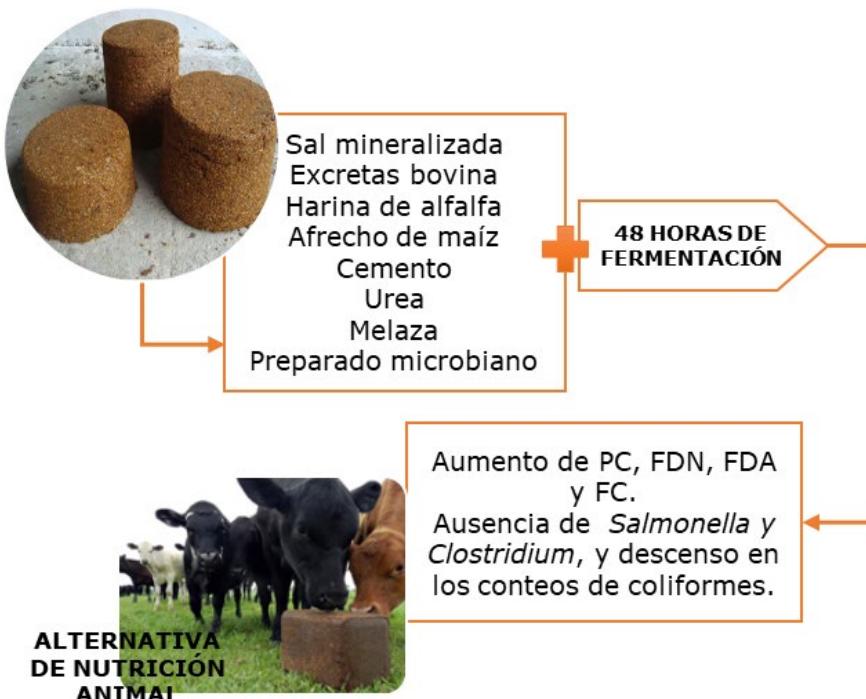
Purpose: The purpose of this research was to evaluate the nutritional and microbiological composition of multinutritional blocks made with bovine and enriched with a BAL (lactic acid bacteria) preparation with a fermentation process, as a possible alternative for ruminant supplementation.

Methodology: The microbial preparation is based on a medium and fast acidification heterofermentative lactic acid bacteria (BAL) culture. In the elaboration of the multinutritional blocks, mineralized salt, bovine excreta, alfalfa flour, coffee bran, corn flour, cement, urea and molasses with different inclusion percentages were used; in addition, to T2 and T3 added a microbial preparation and the T3 had a fermentation process for 48 hours at room temperature. The variables evaluated were: Humidity (H), Dry Matter (DM), Crude Protein (PC), crude fiber (FC), detergent neutral fiber (NDF), detergent acid fiber (FDA) and microbiological analysis, using a block design completely random.

Results and conclusions: There were significant statistical differences ($P \leq 0.05$) between T3 and the other treatments in the PC, FC, FDA and FDN obtaining the highest values, an inversely proportional behavior was evident between the MS and the H for the different treatments; the aerobic concentration for T3 was 80×10^2 CFU / g, in addition to the absence of *Salmonella* in T2 and T3. The inclusion of a microbial preparation and fermentation for 48h improves the nutritional parameters of the multi-nutritional blocks.

Keywords: Fermented Food; Nutritional Quality; Microorganisms; Ruminants; Animal supplementation

RESUMEN GRÁFICO



Fuente imagen: Implementación de suplementos multinutricionales para el ganado bovino (Rojas y Moreno, 2019).
<https://www.elcampesino.co/implementacion-de-suplementos-multinutricionales-para-el-ganado-bovino/>

1. INTRODUCCIÓN

El estado actual de la producción bovina busca nuevas alternativas de alimentación cuya implementación sea factible en la región, incorporando variedades de forraje y alternativas que sean adaptables a las condiciones, y resistentes al estrés hídrico y al proceso de desertificación (Scholey & Burton, 2019). Una opción importante, sugerida por centros de investigación, gremios y universidades, se relaciona con la utilización de fuentes locales de alimentos que permitan generar diferentes alternativas de alimentación, como la elaboración de ensilajes, henos y bloques multinutricionales, lo que permitirá minimizar el impacto negativo ocasionado por la falta de alimentos en épocas críticas (Chavarrro et al., 2017).

A diferencia de los suplementos líquidos o en harina, los bloques nutricionales incluyen: facilidad de transporte y manejo, consumo más homogéneo entre animales, reducción de la necesidad de sal como regulador de consumo y menor riesgo en el uso de urea como fuente de nitrógeno no proteico; sin embargo, lo más importante de un suplemento es el perfil nutricional y el impacto que tendrá en el crecimiento y la producción (Rodríguez-Molano & Pulido-Suárez, 2018).

La utilización de residuos agroindustriales, productos y subproductos agrícolas locales ricos en proteínas y nutrientes de alto valor energético, pueden constituir una alternativa para mejorar la nutrición y alimentación animal, como es el caso de la bovinaza que constituye un óptimo recurso para la suplementación de

rumiantes al poseer altos niveles de nitrógeno no proteico, que contribuye al mejoramiento del ambiente ruminal, aportando constantemente amonio para la síntesis de proteína microbiana de forma continua y lenta (Perea et al., 2013).

Las heces bovinas son caracterizadas por ser un excelente sustrato en la elaboración de alimentos para la alimentación animal (Villegas & Laines, 2017). Además, poseen altos contenidos de nutrientes y presentan una variada población de microorganismos procedentes del tracto gastrointestinal de los animales y de su contaminación en el medio ambiente (Ngulde, Yerima & Mustapha, 2018). Esto ha propiciado que hayan sido empleadas como inoculo en procesos fermentativos, a pesar de la presencia de microorganismos como la *E. coli* y *Salmonellas*, que son patógenos potenciales (Barzallo-Bravo et al., 2019; Huebner et al., 2019; Jamee et al., 2020).

De acuerdo con estas consideraciones, esta investigación tiene como objetivo la caracterización de bloques multinutricionales con bovinaza e inoculación de un preparado BAL (bacterias ácido lácticas).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización: el trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC), ubicada en la avenida Central del Norte, en el municipio de Tunja,

departamento de Boyacá. Este departamento está situado en el centro del país, limita al norte con los departamentos de Santander, Norte de Santander y la República de Venezuela; al oriente con los departamentos de Arauca y Casanare; al sur con los departamentos del Meta y Cundinamarca; y al occidente con el departamento de Antioquia, del que está separado por el río Magdalena. La ciudad de Tunja se encuentra localizada, sobre la cordillera Oriental de los Andes a una altura de 2,820 msnm, cuenta con una temperatura promedio de 12 °C y precipitación media anual de 553 mm.

Preparado Microbiano: con base en un cultivo de bacterias ácido lácticas (BAL) heterofermentativa de mediana y rápida acidificación, *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* (comercial liofilizado, Liofast Y452B, SACCO ®) (Borrás-Sandoval et al., 2017).

Procedimiento experimental (elaboración del bloque): en la preparación del producto se emplearon diversas materias primas (Tabla 1). A la mezcla del producto original se le añadió el preparado microbiano al T2 y T3; este último tuvo un proceso de fermentación por 48 horas a temperatura ambiente. Se tomaron muestras del producto terminado para realizar los análisis de composición nutricional y microbiológicos respectivos. Cada bloque representó una unidad experimental, con tres repeticiones cada una.

Tabla 1. Composición de bloques multinutricionales.

Ingredientes	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3*
	Porcentaje (%)		
Sal mineralizada	5	5	5
Excretas bovina	5	5	5
Harina alfalfa	30	27	27
Afrecho café	30	30	30
Harina de maíz	5	5	5
Cemento	5	5	5
Urea	3	3	3
Melaza	17	10	10
Preparado microbiano (PM)	-----	10	10
	100	100	100

* Fermentación por 48 horas. Fuente: Autores.

Las mezclas se homogenizaron y se procedió al llenado de los recipientes para realizar el prensado a las 24 horas, después de transcurrido este tiempo se desmoldaron, es de anotar que el mismo procedimiento se cumplió en el tratamiento 3 pero se realizó después de las 48 horas de fermentación de la mezcla.

Análisis químico: las muestras de cada tratamiento se secaron y se molieron en un molino de martillo marca UDY®, con criba de 1 mm, para análisis bromatológico mediante las siguientes técnicas analíticas: Humedad (H) y Materia seca (MS), y Proteína Cruda (PC), métodos establecidos por AOAC (2000); fibra cruda (FC) fibra neutra detergente (FND) y fibra ácida detergente (FAD) (Van Soest et al., 1991).

Análisis microbiológico.: se realizó un análisis microbiológico a la mezcla del preparado microbiano y las materias primas para la elaboración de los bloques a las 48 horas de fermentación en un laboratorio certificado

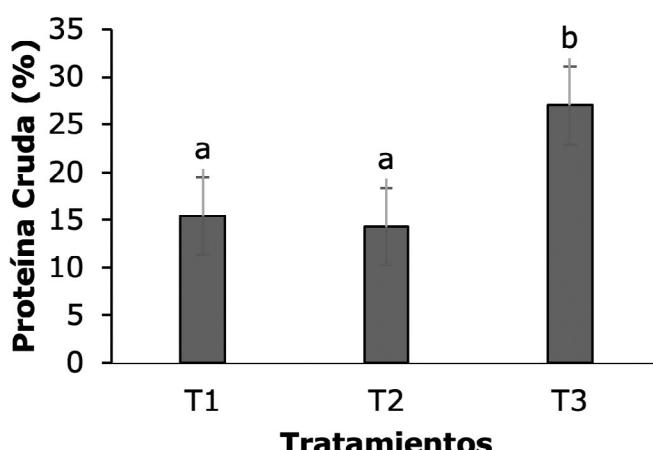
de Control Microbiológico ubicado en Boyacá, Colombia; para aerobios mesófilos (UFC/g), (AOAC 966.23.C: 2001); coliformes totales y fecales (NMP/g), (ICMSF NMP: 2000); esporas de Clostridium Sulfito reductor (UFC/g), (ISO 15213: 2003); mohos y levaduras (UFC/g), (ISO 7954: 1987); Salmonella (A-P / 25 g) (AS 5013.10: 2009).

Análisis estadístico: se empleó un diseño de bloques completamente al azar; el análisis de datos se realizó por medio del programa SPSS versión 24 (IBM Corp. 2016); y se analizó la información del perfil nutricional. Los datos obtenidos fueron sometidos a los supuestos de normalidad a través del estadístico de Shapiro-Wilk y homogeneidad por prueba de Levene. Después de haber comprobado los supuestos, se realizó análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de correlación entre los tratamientos y las variables nutricionales; y las variables que mostraron diferencias estadísticas fueron sometidas a pruebas de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0,05$).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Proteína cruda (% PC): se observa que el T1 y T2 muestran un comportamiento similar con 15,4 y 14,3% respectivamente. Se presentaron diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0,05$) entre el T3 y los demás tratamientos (Figura 1). Al realizar el proceso de fermentación en

el T3 se observa que el porcentaje de proteína cruda aumenta como lo reportan Pulido-Suárez et al., (2016) basado en residuos de cosecha de pera (*Pyrus communis* que durante su estudio de fermentación con adición de preparados microbianos alcanzo valores de proteína hasta de 25 %.



*Los promedios con letras distintas indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

Figura 1. Porcentaje de proteína cruda.

Fuente: Autores.

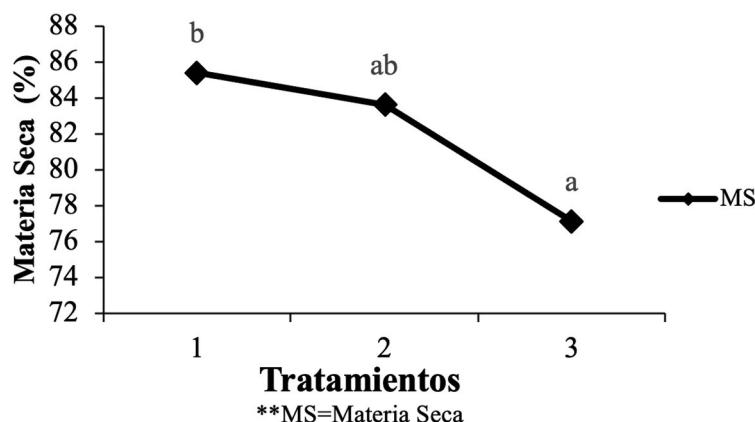
Las raciones suplementarias presentaron un apreciable valor nutritivo, con un contenido de proteína cruda que varía del 14,3 al 27%. Estos resultados son similares a los reportados por Duarte et al., (1996) con 16,8%, 17,7% y 18,5% de PC en raciones con una inclusión de 15%, 25% y 35% de pollinaza respectivamente; en cambio, en bloques a base de harina de cebada, alfalfa, broza de quinua, broza de haba se obtuvo el 22,92% (Tola-Paz et al., 2015).

Teniendo en cuenta que en el T1 se implementó un mayor porcentaje de harina de alfalfa, esta no alteró los valores de proteína cruda, evidenciándose que estos fueron similares a los obtenidos en el T2. Por otro lado, el alto nivel de proteína cruda obtenido en el T3 se puede atribuir a la adición de urea

y al proceso de fermentación, en donde se presenta la reducción de carbohidratos y la producción de proteínas microbianas (Aguirre et al., 2018). Esto mismo fue demostrado por Haro et al., (2011) quienes indicaron que el contenido de proteína de bloques multinutricionales a base de nopal fermentado presentó un aumento (16,86%) en comparación con el nopal en estado natural (1-2%).

Sin embargo, múltiples autores reportan que la inclusión de un preparado microbiano puede ser el causante del evidente aumento de proteína, ya que este estimula las acciones metabólicas microbianas mejorando el valor nutritivo de los alimentos (Yasar et al., 2020; Olukomaia et al., 2020) basado en residuos de cosecha de pera (*Pyrus communis*).

Materia seca (MS%). en la (Figura 2), se observan diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0,05$) entre el T3 y T1 observándose valores de 77,15% y 85,4% respectivamente.



*Los promedios con letras distintas indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

Figura 2. Porcentaje de Materia seca.

Fuente: Autores.

Se evidenciaron valores inferiores de MS en el T3, lo que concuerda con lo reportado por Melo-Camacho et al., (2017) en ensilaje de naranjas. Este comportamiento puede relacionarse con la utilización de los carbohidratos solubles (sacarosa, glucosa, fructosa) en procesos de fermentación como fuentes energéticas de los procesos metabólicos, y a su vez esta disminución puede provocar la concentración relativa de los demás componentes mostrando mayores porcentajes, tal fue el caso de la PB, FC, FDN y FDA en este estudio (Brea-Maure et al., 2015).

Por su parte, Ferraretto et al., (2018) afirman que la disminución en la concentración de MS en procesos de fermentación podría estar parcialmente relacionada con el calor utilizado para su cuantificación, ya que este volatiliza los alcoholes, el acetato, el propionato y una porción del lactato. No obstante, se evidenció que, en el T3, hubo un leve aumento de humedad, que está directamente relacionado con la adición de preparado microbiano y el proceso de fermentación; se ha

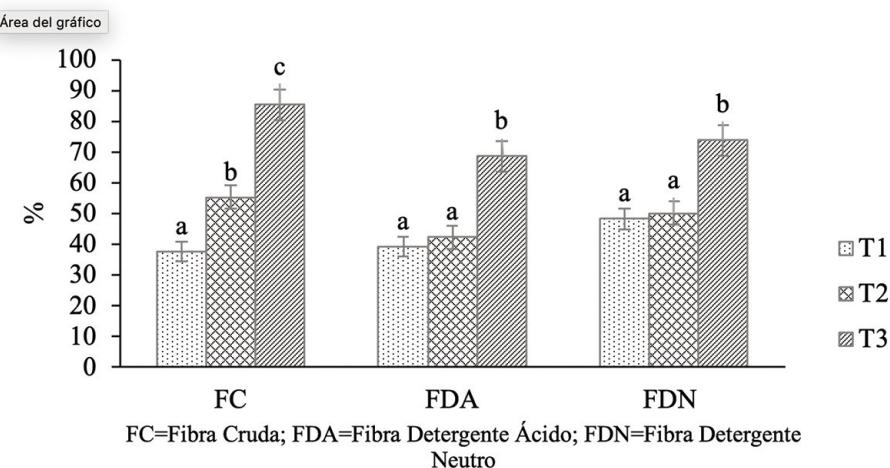
determinado que algunas enzimas producen perdidas en la MS y el valor energético al reducir la disponibilidad de carbohidratos solubles (Jump, 2001).

La baja cantidad de MS en el T3 está relacionado con una mayor concentración de humedad siendo uno de los factores principales que influyen en la preparación de alimentos con adición de preparados microbianos, debido a que el agua ejerce una función como vehículo de los nutrientes e interviene en el crecimiento de la microbiota fermentadora al involucrarse en procesos metabólicos (Borras-Sandoval et al., 2015; Borras et al., 2017). Por otra parte, se asocia a la formación de enlaces peptídicos, en los cuales se pierde una molécula de agua, lo que se relaciona con el aumento de los niveles de PC en alimentos fermentados.

Fibra cruda (FC %), Fibra detergente neutra (FDN%) y fibra detergente ácida (FDA %): se presentaron diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0,05$) entre el T3 y los demás tratamientos para FC, FDA y FDN,

observándose que el T3 posee los valores más altos y el T1 y T2 presentan valores estables

con un promedio de 36,12 % de FC, 49,95% de FDA y 77,85 % de FDN (Figura 3).



*Los promedios con letras distintas indican diferencias significativas ($P<0,05$).

Figura 3. Porcentaje de Fibra Cruda, Fibra Detergente Acido y Fibra Detergente Neutro.

Fuente: Autores.

Se evidenció que el T3 mostró valores más altos de FDA y FDN lo que difiere con lo obtenido por Herrera, et al., (2014) quienes reportan la disminución de FDN y FDA durante el periodo de fermentación del nopal forrajero con la presencia de levaduras y por Nkosi et al., (2015), quienes observaron la reducción de fibras y un aumento de proteínas en procesos de fermentación de papa inoculados con BAL. Por otra parte, se evidencio que el T1 obtuvo valores inferiores de FDA, lo que indica una mejora en la digestibilidad del alimento, debido a que están inversamente relacionadas (Adesogan et al., 2019)

Los porcentajes elevados de fibras, en el T3, pueden estar relacionados con un mayor consumo de carbohidratos durante el proceso de fermentación (Fonseca & Rodríguez, 2019), no obstante, Adesogan et al., (2019) indica que la inclusión de ingredientes con fibra vegetal

suele favorecer el contenido de FC y la digestibilidad, además de ser un factor importante en la prevención de trastornos metabólicos.

Sin embargo, entre el T3 y el T2 se presentó una disminución en el porcentaje de FC pasando de 70,5% a 40,7%, respectivamente, lo cual está asociado con la actividad de microorganismos, porque estos pueden utilizar la hemicelulosa y parte del nitrógeno que se encuentra asociado a la fibra como fuente de nutrientes para crecer en los sustratos, antes de degradar la lignina (Van Soest et al., 1991).

Análisis microbiológico: en la Tabla 2. se muestran los resultados microbiológicos del producto terminado seco y con incubación durante 48 horas.

Tabla 2. Análisis microbiológico de los bloques multinutricionales.

Análisis microbiológico	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3*
Aerobios Mesófilos (UFC/g)	21x102	30x103	80x102
Coliformes Fecales (NMP/g)	1100	<3	<3
Coliformes Totales (NMP/g)	>1100	23	<3
Esporas Clostridium sulfito reductor (UFC/g)	<10	<10	<10
Levaduras (UFC/g)	25x102	10x101	<10
Mohos (UFC/g)	60x101	18x102	10x101
Salmonella sp (A- P / 25g)	Ausencia /25g	Ausencia /25g	Ausencia/25g

* Fermentación por 48 horas.

Fuente: Autores.

En el T3 la concentración de aerobios fue de 80 × 102 UFC/g, lo que concuerda con lo reportado por Borras-Sandoval et al., (2014), debido a la presencia de bacilos aerobios esporulados. Aunque disminuyó el conteo de levaduras respecto al T2, no fueron tan afectadas, si se tiene en cuenta que necesitan menor actividad del agua que las bacterias; sin embargo, se evidencia que los niveles de levaduras y mohos en el T3 son inferiores a los reportados en el grupo de control (Tabla 2).

Los mohos y las levaduras utilizan el metabolismo de los carbohidratos, ácidos orgánicos, proteínas y lípidos para provocar el deterioro físico y químico de los alimentos, dando como resultado olores desagradables, cambios de sabor y color (Borbolla-Sala et al., 2004), además, son capaces de sintetizar metabolitos tóxicos resistentes al calor que pueden resistir sustancias químicas y radiación, lo que les brinda la capacidad de cambiar sustratos desfavorables y permite el crecimiento de bacterias patógenas.

Se observa la ausencia de patógenos como la Salmonella y Clostridium, y descenso en los conteos de coliformes totales en el T3 en relación con el T1 y T2. Esto es contrario a lo informado por Boucourt et al.,(2006), quienes

evidenciaron un aumento de los lactobacilos hasta niveles de 10-9, produciendo una disminución de Salmonella, aunque en valores inferiores a lo evidenciado en el presente estudio. Este comportamiento puede estar reflejado en dos condiciones ecológicas: la capacidad de algunas cepas de lactobacilos para producir, además del ácido láctico, otros compuestos inhibidores del crecimiento microbiano (Agudelo et al., 2015) y la temperatura del proceso fermentativo. Por otra parte, Díaz et al., (2014), aislaron y caracterizaron cepas de bacterias ácido lácticas a partir de preparados microbianos elaborados a base de residuos agroindustriales, como suero de leche, estiércol bovino y contenido ruminal, diseñados como inoculantes biológicos para procesos de ensilaje de residuales orgánicos post cosecha.

4. CONCLUSIONES

Los bloques multinutricionales constituyen una alternativa viable para el aprovechamiento de materias primas locales, puesto que aportan de forma estratégica minerales, proteínas, energía y nitrógeno, además de tener la propiedad de conservarse por períodos razonables de tiempo, si son almacenados correctamente. El uso de excretas bovinas, un preparado microbiano a base de bacterias ácido lácticas y un proceso de

fermentación de 48 horas en bloques multinutricionales, mejora los parámetros nutricionales aumentando los niveles de proteína cruda, la estabilidad de otros nutrientes y la ausencia de patógenos potenciales.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

Primer autor: metodología, investigación, análisis de datos, conceptualización y escritura del documento. **Segundo autor:** metodología, investigación, análisis de datos, conceptualización y escritura del documento. **Tercer autor:** metodología, investigación, análisis de datos, conceptualización y escritura del documento

AGRADECIMIENTOS

Los Autores agradecen la colaboración al Grupo de Investigación en Bioquímica y Nutrición Animal (GIBNA), a la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, a la Dirección de Investigaciones (DIN) y a la Escuela de posgrados de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Proyecto de investigación: "Evaluación de bloques multinutricionales con diferentes niveles de inclusión de bovinaza e inoculados con un preparado microbiano" asociado al proyecto SGI-UPTC 1893.

LITERATURA CITADA

- Adesogan, A. T., Arriola, K. G., Jiang, Y., Oyebade, A., Paula, E. M., Pech-Cervantes, A. A., & Vyas, D. (2019). Symposium review: Technologies for improving fiber utilization. *Journal of Dairy Science*, 102(6), 5726–5755. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15334>
- Agudelo, N., Torres, M., Alvarez, C., & Vélez, L. (2015). Bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas y su aplicación en la industria de alimentos. *Alimentos Hoy*, 23(36), 63–72.
- Aguirre, L. A., Rodríguez, Z., Boucourt, R., Saca, V., Salazar, R., & Jiménez, M. (2018). Efecto del suero de leche en la fermentación en estado sólido de la pulpa de café (*Coffea arabica* L.) para uso en la alimentación de rumiantes. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 52(3), 303–312. <http://www.cjascience.com/index.php/CJAS/article/view/811>
- Barzallo-Bravo, L. A., Carrera-Villacrés, D., Vargas-Verdesoto, R. E., Ponce-Loaiza, L. K., Correoso, M., & Gavilanes-Quishpi, Á. P. (2019). Bio-digestion and post-treatment of effluents by bio-fermentation, an opportunity for energy uses and generation of organic fertilizers from bovine manure. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 8(4), 431–438. <https://doi.org/10.1007/s40093-019-0275-5>
- Borbolla-Sala, Manuel E.; Vidal-Pérez, Ma. del Rosario; Piña-Gutiérrez, Olga E.; Ramírez-Messner, Isabel; Vidal-Vidal, Juan J. (2004). Contaminación de los alimentos por *Vibrio cholerae*, coliformes fecales, *Salmonella*, hongos, levaduras y *Staphylococcus aureus* en Tabasco durante 2003. *Salud en Tabasco*, 10(2), 221–232.
- Borras-Sandoval, L., Iglesias, A., & Moyano-Bautista, M. (2014). Efecto de la temperatura y el tiempo sobre los indicadores de la papa (*Solanum tuberosum*) fermentada en estado sólido. *Revista Ciencia y Agricultura*, 11(2), 31–38. <https://doi.org/10.19053/01228420.3835>
- Borras-Sandoval, L. M., Iglesias, A. E., & Saavedra-Montañez, G. F. (2015). Evaluación de la dinámica de conservación del producto final de un alimento obtenido por fermentación en estado sólido de la papa (Fes-papa). *Ciencia y Agricultura*, 12(1), 73–82. <https://doi.org/10.19053/01228420.4125>
- Borras, L. M., Rodríguez, C. E., & Rodríguez, Á. (2017). Evaluation of calcium carbonate (CaCO₃) inclusion in solid-state kinetic fermentation of *Solanum tuberosum* postharvest waste. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 11(1), 7–13. <https://doi.org/10.17584/rcch.2017v11i1.6145>
- Borrás-Sandoval L.M., Valiño-Cabrera E.C., Rodríguez-Molano C.E. (2017). Preparado microbiano con actividad ácido láctico como acelerante biológico en los procesos de fermentación para alimento animal. *Revista Ciencia y Agricultura*, 14(1), 7–13. <https://doi.org/10.19053/01228420.v14.n1.2017.6083>
- Boucourt, R., Carrasco, E., López, A., Rodríguez, Z., & Gutiérrez, O. (2006). Microbiota aerobia en caña fermentada con excreta vacuna como alternativa alimentaria. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 40(3), 279–282. <https://www.redalyc.org/pdf/193017723003>
- Brea-Maure, O., Elías-Iglesias, A., Ortiz-Milán, A., Motta-Ferreira, W., & Hechavarria-Riviaux, S. (2015). Efecto de la urea y del tiempo en la fermentación en estado sólido de la harina de frutos

- del árbol del pan (*Artocarpus altilis*). *Revista Ciencia y Agricultura*, 12(2), 91-101. <https://doi.org/10.19053/01228420.4395>
- Chavarro, D., Vélez, I., Tovar, G., Montenegro, I., Hernández, A., & Olaya, A. (2017). Los Objetivos de Desarrollo Sostenible en Colombia y el aporte de la ciencia, la tecnología y la innovación. Documento de trabajo, 1(0). https://minciencias.gov.co/sites/default/files/ctei_y_ods_-_documento_de_trabajo.pdf
- Díaz, B., Elías, A. & Valiño, E., (2014). Consorcios microbianos con actividad ácido-láctica promisoria aislados desde inoculantes bacterianos nativos para ensilajes. *Revista Ciencia y Agricultura*, 11 (1), 17-25. <https://doi.org/10.19053/01228420.3484>
- Duarte, V. F., Magaña, C. A., & Rodríguez, G. F. (1996). Respuesta de toretes en engorda a la adición de tres niveles de pollinaza a dietas integrales. *Livestock Research for Rural Development*, 8(2), 87-92.
- Ferraretto, L. F., Fernandes, T., Silva Filho, W. I., Sultana, H., & Moriel, P. (2018). Dry matter loss, fermentation profile, and aerobic stability of wet brewers grains ensiled with various amounts of dry ground corn. *The Professional Animal Scientist*, 34(6), 642-648. <https://doi.org/10.15232/pas.2018-01761>
- Fonseca-López, D., & Rodríguez-Molano, C. E. (2019). Efecto de un inoculante microbiano sobre la calidad microbiológica y nutricional de ensilaje de *Morus alba* L. y *Sambucus nigra* L. *Revista Logos Ciencia & Tecnología*, 11(2), 93-101. <http://dx.doi.org/10.22335/ruct.v11i2.825>
- Haro, J. M., Hernández, J. L. D., Haro, I. M., Hernández, I. G., & Posadas, M. V. (2011). Efectos de la suplementación con bloques multinutricionales a base de nopal fermentado sobre la ganancia de peso de ovinos en crecimiento. *Acta Universitaria*, 21(1), 11-16. <http://dx.doi.org/10.15174/au.2011.46>
- Herrera-Torres, E., Murillo, M., Berumen, L., Páez, J., & Villarreal, G. (2014). Efecto de *Sacharomyces cerevisiae* y *Kluyveromices marxianus* durante el tiempo de fermentación en la calidad nutritiva del nopal forrajero. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 1(1), 33-40.
- Huebner, K. L., Martin, J. N., Weissend, C. J., Holzer, K. L., Parker, J. K., Lakin, S. M. & Metcalf, J. L. (2019). Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on liver abscesses, fecal microbiome, and resistome in feedlot cattle raised without antibiotics. *Scientific Reports*, 9(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39181-7>
- IBM Corp. (2016). IBM SPSS Statistics para Windows, versión 24.0. Armonk, Nueva York: IBM Corp. <https://www.ibm.com/support/pages/how-to-use-ibm-spss-statistics-or-earlier-versions-spss>
- Jamee, M., Kabir, A., Islam, S., Hossain, M., & Khan, M. (2020). Preparation of wastelage using poultry droppings with maize stover and its nutrient content as ruminant feed. *Bangladesh Journal of Animal Science*, 48(2), 75-84. <https://doi.org/10.3329/bjas.v48i2.46759>
- Jump, D. (2001). The Biochemistry of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids*210. *Journal of Biological Chemistry*, 61(15), 3-6. <https://doi.org/10.1074/jbc.R100062200>
- Melo-Camacho, E. P., Bermúdez-Loaiza, J. A., & Estrada-Álvarez, J. (2017). Ensilaje de naranjas enteras (*Citrus sinensis*) como suplemento para alimentación de rumiantes. *Veterinaria y Zootecnia*, 11(1), 24-36. <https://doi.org/10.17151/vetzo.2017.11.1.3>
- Ngulde, Y. M., Yerima, I. & Mustapha, A. (2018). Evaluation of cow dung and goat pellets for production of biogas in university of maiduguri, north-eastern nigeria. *African Journal of Environment and Natural Science Research*, 1(1), 33-43.
- Nkosi, B., Meeskeb, R., Langaa, T., Motianga, M., Mutavhatsindia, T., Thomasa, R., Groenewaldc, I. & Baloyid, J. (2015). The influence of ensiling potato hash waste withenzyme/bacterial inoculant mixtures on the fermentation characteristics, aerobic stability and nutrient digestion of their resultant silages by rams. *Small Ruminant Research*, 127 28-35. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.04.013>
- Olukomaiya, O. O., Adiamo, O. Q., Fernando, W. C., Meredy, R., Li, X., & Sultanbawa, Y. (2020). Effect of solid-state fermentation on proximate composition, anti-nutritional factor, microbiological and functional properties of lupin flour. *Food Chemistry*, 315, 126238. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126238>
- Perea, D. E. M., Guardia, M. M., Medina, H. H., & Hinojosa, L. I. (2013). Caracterización bromatológica de especies y subproductos vegetales en el trópico húmedo de Colombia. *Acta Agronómica*, 62(4), 326-332. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/44302>

- Pulido-Suárez, N. J., Borras-Sandoval, L. M., & Rodríguez-Molano, C. E. (2016). Elaboración de un alimento energético-proteico para animales, basado en residuos de cosecha de pera (*Pyrus communis*). *Corpoica Ciencia Tecnología Agropecuaria*, 17(1), 2500–5308. https://doi.org/10.21930/rcta.vol17_num1_art:455
- Rodríguez-Molano, C. E., & Pulido-Suárez, N. J. (2018). Determinación del valor nutricional de bloques nutricionales con diferentes porcentajes de *Sambucus peruviana* y *Zea mays*. *Ciencia y Agricultura*, 15(1), 93-100. <https://doi.org/10.19053/01228420.v15.n1.2018.7760>
- Rojas E. y Moreno J. (2019). *Implementación de suplementos multinutricionales para el ganado bovino* [Artículo en página web]. Recuperado el 9 de julio de 2020 de <https://www.elcampesino.co/implementacion-de-suplementos-multinutricionales-para-el-ganado-bovino/>
- Scholey, D., & Burton, E. (2019). Producing animal feed as a coproduct of biorefining. Advanced Bio-processing for Alternative Fuels, Biobased Chemicals, and Bioproducts: Technologies and Approaches for Scale-Up and Commercialization, *Woodhead Publishing Series in Energy*, 249–264. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817941-3.00013-9>
- Tola-Paz, A. G., Loza-Murguia, M., Gutiérrez-González, D., Saavedra-Terán, V., Bustos-Fernández, F., Quispe-Valdez, R., & Gantier-Pacheco, M. (2015). Determinación del incremento de peso posdeshidratado con bloques multinutricionales y ensilaje de cebada en Llamas (Lama glama, Linnaeus 1758) en el Centro Experimental Agropecuario Condoriri. *Journal of the Selva Andina Animal Science*, 2(1), 13-21. <https://doi.org/10.36610/jjsaas.2015.020100013>
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583–3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- Villegas-Cornelio, V. M., & Laines Canepa, J. R. (2017). Vermicompostaje: I avances y estrategias en el tratamiento de residuos sólidos orgánicos. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(2), 393-406. <http://dx.doi.org/10.29312/remexca.v8i2.59>
- Yasar, S., Tosun, R., & Sonmez, Z. (2020). Fungal fermentation inducing improved nutritional qualities associated with altered secondary protein structure of soybean meal determined by FTIR spectroscopy. *Measurement*, 161, 107895. <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2020.107895>

Conflictos 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.

ANÁLISIS COMPARATIVO DE EMISIONES DE CO₂ DE UN MOTOR EMPLEANDO DIÉSEL Y BIODIÉSEL

COMPARATIVE ANALYSIS OF CO₂ EMISSIONS OF AN ENGINE USING DIESEL AND BIODIESEL

**¹Carlos Alonso Ramírez-Velasco, ²Diego Javier Pérez Ortega,
³Ricardo Ignacio Pereira Martínez, ⁴Fabio Andrés Bolaños-Alomía**

¹Magister en Ingeniería Ambiental Universidad Mariana Pasto. Especialista en Finanzas Universidad del Valle Cali.
Ingeniero Industrial Universidad Nacional de Colombia Manizales. Profesor Investigador
Universidad Cooperativa de Colombia - UCC Pasto.

²Postdoctorado en Ciencias Ambientales UNESP-Sorocaba Brasil. Doctorado en Ingeniería Ambiental UNESP-Sorocaba Brasil. Maestría en Ingeniería Civil UNESP-Ilha Solteira Brasil. Ingeniero Agroforestal UDENAR.
Docente investigador de la Universidad Cooperativa de Colombia UCC Pasto.

³Magister en Ingeniería Ambiental Universidad Mariana Pasto. Especialista en administración financiera Centro de estudios Superiores María Goretti CESMAG Pasto. Ingeniero Industrial Universidad Cooperativa de Colombia - UCC sede Pasto. Profesor Investigador UCC sede Pasto.

⁴Doctorando en Docencia universitaria Universidad de Nariño. Magister en Docencia Universitaria Universidad de Nariño. Ingeniero Mecánico Universidad Tecnológica de Pereira. Decano facultad de Ingeniería UCC sede Pasto.

¹carlos.ramirez@campusucc.edu.co, ²diego.perezortega@campusucc.edu.co,
³ricardo.pereira@ucc.edu.co, ⁴fabio.bolanos@ucc.edu.co

Citación: Ramírez-Velasco, C., Pérez, D., Pereira, R., y Bolaños-Alomía, F. (2021). Análisis comparativo de emisiones de CO₂ de un motor empleando diésel y biodiésel. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 127 – 145.
DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3603>

RESUMEN

Contextualización: desde el protocolo de Kioto y la Cumbre de París, en el mundo, la reducción de gases de efecto invernadero causados por la actividad antrópica ha cobrado vital importancia, dadas las indicaciones críticas de emisión con efectos nocivos en el clima.

Vacío de investigación: considerando lo anterior, las investigaciones preliminares no logran llegar a un acuerdo sobre qué combustible genera menores emisiones de CO₂: el diésel o el biodiésel.

Propósito del estudio: a fin de fundamentar información que permita proponer alternativas energéticas sustentables a partir de sustitutos de combustibles fósiles, fue necesario cuantificar y evaluar las emisiones de CO₂ provenientes de motores diésel. Para esto, se realizó este experimento, cuyo propósito es emplear diésel comercial B10 y biodiésel B100, y determinar sus emisiones de CO₂; para ello se utilizó un motor de compresión de una planta eléctrica, con factores fijos como la cantidad de combustible por emplear, establecida en 100 gramos.

Metodología: el experimento se apoyó estadísticamente con un diseño factorial basado en dos factores: tipo de diésel con dos niveles y potencia generada con tres niveles, y se determinó el efecto conjunto que estos factores producen en la emisión de CO₂. Para esto, el motor fue sometido a la generación de tres potencias: 0,5 kW-1,0 kW-1,5 kW; lo cual propició, para cada nivel de potencia, diferentes caudales o consumos de combustible y aire, y diferentes emisiones de CO₂.

Resultados y conclusiones: los resultados indican que, empleando cualquier combustible, la relación aire/combustible es menor y la fracción molar de CO₂ es mayor cuando se genera más potencia. El experimento mostró que la fracción molar de B10 es mayor que la del B100: 0,15 y 0,13, respectivamente, con lo cual no puede generalizarse que la mayor emisión de CO₂ la propicie el diésel comercial, pues la mayor o menor emisión depende de la composición química del combustible.

Palabras clave: biodiésel, factor de emisión CO₂, inventario de emisiones, gases de efecto invernadero

SUMMARY

Contextualization: Since the Kyoto protocol and the Paris Summit, the reduction of greenhouse gases, caused by anthropic activity, has become critically important in the world, given the critical emission indicators with harmful effects on the climate.

Knowledge gap: Within this panorama, preliminary research does not agree on which fuel generates the lowest CO₂ emissions: diesel or biodiesel.

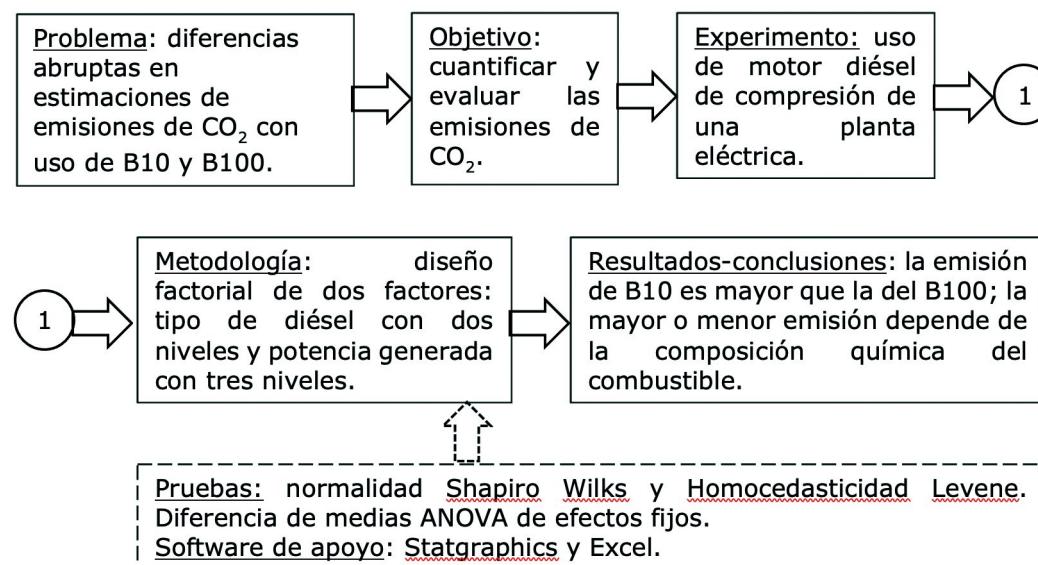
Purpose: Seeking to provide information to propose sustainable energy alternatives from substitutes for fossil fuels, it was necessary to quantify and evaluate CO₂ emissions from diesel engines, for which purpose, the experiment was carried out with the purpose of using commercial diesel B10 and biodiesel B100x, and determine their CO₂ emissions; for this a compression engine from a power plant was used, with fixed factors such as the amount of fuel to be used, established at 100 grams.

Methodology: The experiment was statistically supported by a factorial design based on two factors: type of diesel with two levels and power generated with three levels, and the joint effect that these factors produce on CO₂ emission was determined. For this, the motor was subjected to the execution of three jobs related to three generated powers: 0.5 kW-1.0k W-1.5 kW; which caused, for each power level, different flows or consumption of fuel and air, and different CO₂ emissions.

Results and conclusions: The results indicate that, using any fuel, the air/fuel ratio is lower and the molar fraction of CO₂ is higher when more power is generated. The experiment showed that the molar fraction of B10 is greater than that of B100: 0,15 and 0,13, respectively, so it cannot be generalized that the higher CO₂ emission is caused by commercial diesel. The greater or lesser emission depends on the chemical composition of the fuel.

Keywords: biodiesel; CO₂ emission factor; emission inventory; greenhouse gases

RESUMEN GRAFICO



Fuente: autores

1. INTRODUCCIÓN

Las partículas suspendidas en el aire son peligrosas para la salud. Las de diámetro inferior a 10 µm penetran en el sistema respiratorio y están relacionadas con el uso de combustibles fósiles; las de diámetro inferior a 2,5 µm penetran en el torrente sanguíneo (Lau, 2017).

Las reacciones químicas en la atmósfera generan N₂O, CO₂, SO₂, NH₃ y otros gases de efecto invernadero (GEI) (Brusca, 2016). Las emisiones de la combustión de diésel pueden causar cáncer y otras enfermedades, usando biodiésel B100 se elimina hasta el 90% de compuestos tóxicos presentes en el aire (Tyson, 2016).

Diversas investigaciones relacionadas con el cambio climático mencionan datos similares respecto a la concentración del dióxido de carbono en el aire. En el año 1950 la concentración de CO₂ se estimó en 275 ppm; en el 2000, en 365 ppm; y en el 2012, en 393 ppm (Castillo, 2005).

De acuerdo con el Panel Intergubernamental para el Cambio Climático (IPCC), el punto crítico se encuentra en 450 ppm (Uptown, 2014). En los últimos 650.000 años, la carga de CO₂ nunca sobrepasó las 300 ppm, había oscilado entre 180 ppm, en períodos glaciares, y 290 ppm, en fases de calentamiento (Ramos, 2008).

Estos datos constituyen un llamado a minimizar los Gases Efecto Invernadero, razones que impulsan la necesidad de medir la emisión de CO₂ provenientes de actividades actuales respecto de alternativas energéticas medioambientales amigables y sustentables.

Adicionalmente, Colombia tendrá en el 2020 aproximadamente 3,5 millones de vehículos (Dinero, 2014). Hasta agosto del año 2017 tuvo un promedio de ventas mensuales de diésel de 127 mil Barriles Día Calendario (KBDC) (Ecopetrol, 2017).

Colombia proyecta emitir en el año 2020 cerca de 29 millones de toneladas de CO₂ provenientes del sector transporte, 33 millones de toneladas para 2024, 37 millones de toneladas para 2030 y 46 millones de toneladas de CO₂ para 2040 (Departamento Nacional de Planeación - DNP, Banco Mundial, 2014)

Dentro de este panorama, se considera necesario cuantificar y evaluar las emisiones de CO₂; para esto, se realizó el presente experimento en la ciudad de Pasto, Nariño, cuyos objetivos se centraron en medir el CO₂ emitido por la combustión del diésel comercial B10, empleado en el motor de una planta eléctrica; hacer lo mismo empleando biodiésel B100; analizar y comparar las emisiones de la combustión de los dos combustibles B10 y B100, para determinar cuál es menos contaminante.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales: se seleccionó una planta eléctrica ajustada a la siguiente caracterización: referencia planta diésel GPMD marca Power, generación 2,5kW, con motor de compresión, fuerza 7HP, capacidad del tanque dos galones, velocidad fija para el experimento en 7.000 revoluciones/minuto, un solo eje, un cilindro, diámetro del cilindro 50 mm, carrera cilindro 100 mm y alimentación de combustible con inyección directa (Mantilla 2010).

Como equipo de medición de flujo másico del aire de admisión, se seleccionó un anemómetro de precisión con puerto de conexión PEC 007 con unidades de medida en m/s.

Se conectó una manguera flexible de igual diámetro del medidor del anemómetro al sistema de admisión de aire del motor (Figura 1), de esta manera se midió la cantidad de metros/segundo de aire que ingresa, los cuales fueron convertidos a kg de aire.



Figura 1. Motor con manguera de admisión de aire adaptada.

Fuente: Autores.

Se fijó un embudo a un soporte metálico, y al cuello del embudo se ensambló una manguera que conecta directamente con el sistema de admisión de combustible del motor (Figura 2). En el cuello del embudo se colocó una marca con cinta (Figura 3) para determinar el

momento justo en el que se debía accionar un cronómetro digital, el cual contabilizó el tiempo de duración de cada combustible empleado. El cronómetro se accionaba al paso del combustible por la marca, en los momentos inicial y final del consumo, con el motor en funcionamiento.



Figura 2. Adaptación manguera de admisión de combustible.

Fuente: Autores.



Figura 3. Embudo para control de combustible.

Fuente: Autores.

Se instaló una balanza electrónica, digital, portátil, de batería, con unidad de medición en gramos, tres dígitos y dos decimales, marca Kenwell, referencia EK5055, en ella se pesaron 100 gramos de combustible en cada corrida del experimento.

Se empleó biodiésel B100 de una empresa fabricante autorizada, ubicada en Meta, Colombia. Se empleó diésel comercial B10 de una empresa mezcladora de Cundinamarca. Las empresas y sus productos cumplen con las normas de calidad Norma Técnica Colombiana - NTC ISO Internacionales 5444/2018 sobre especificaciones de biodiésel para uso en motores diésel (Icontec, 2018).

Las empresas mezcladora y fabricante, con cromatografía de gases, indicaron que cada

mol de B10 contiene 53,54% C, 46,12% H y 0,34%; y cada mol de B100 contiene 32,84% C, 63,52% H y 3,64% O. Por razones de confidencialidad, no es posible revelar el nombre de estas entidades.

La demanda de 0,5 kW fue cubierta con cinco bombillos marca Sylvania de 100 W cada uno, conectados en paralelo (Figura 4).

De igual manera, para absorber la demanda de 1 kW, se puso en funcionamiento una resistencia de la estufa eléctrica marca Sonivox de referencia VS-ES991, y para absorber la demanda de 1,5Kw se pusieron en funcionamiento juntos una resistencia de la estufa y los cinco bombillos, como indica la figura 4, correspondiente al experimento propuesto.

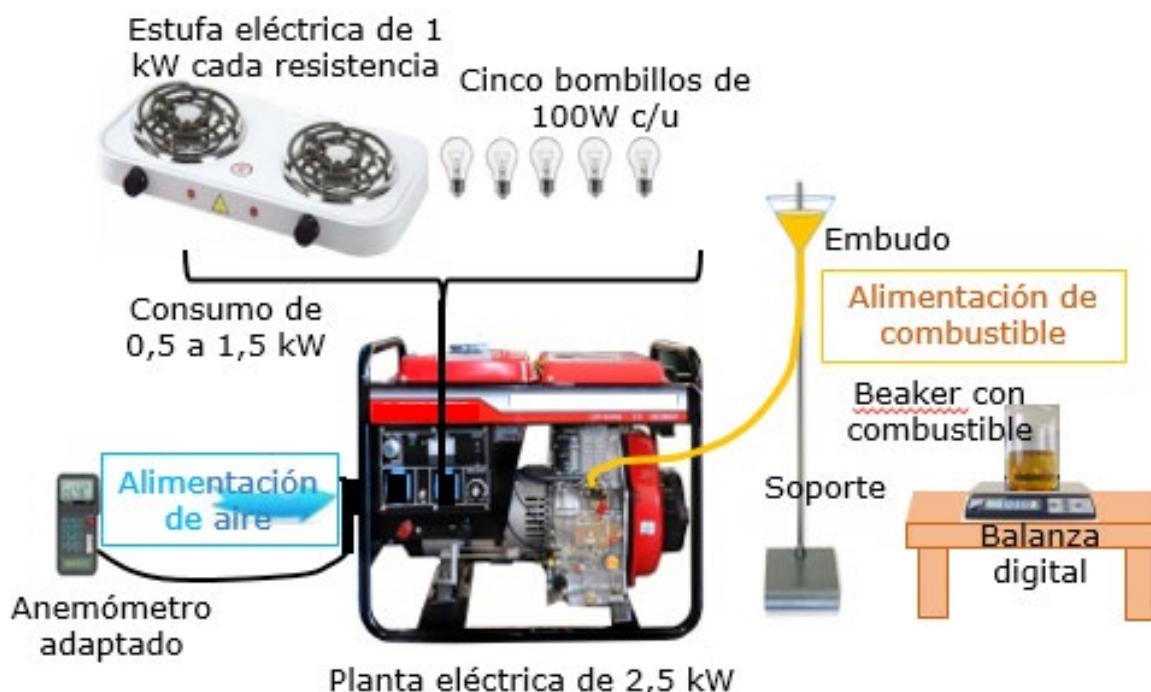


Figura 4. Experimento propuesto.

Fuente: Modificado desde UYUSTOOLS (2020), LINIO (2020), IMEDICIÓN (2020), MUNDO BÁSCULAS (2020), BIASE (2020), QUERCUSLAB (2020) y VINTEX (2020).

Se utilizaron datos de la humedad relativa RH%, presión atmosférica y temperatura de la ciudad de Pasto, proporcionados en tiempo real en su página web, por el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales IDEAM Colombia.

Métodos: se sometió una planta eléctrica de 2,5 kW al uso independiente de dos

combustibles y a diferentes generaciones de potencia (Simmons, 2015). En cada tratamiento se efectuaron cuatro corridas. En estado de purga, se efectuó cada corrida con cada combustible, comenzando con 0,5kW y aumentando paulatinamente hasta 1,5kW, como se muestra en la Figura 5, que recrea el experimento propuesto.



Figura 5. Corrida con generación de 0,5 kW.

Fuente: Autores.

Se obtuvieron 24 observaciones de fracción molar, cada observación se multiplicó respectivamente, por la suma de los volúmenes del combustible y del aire de admisión, el resultado corresponde al CO₂ emitido en volumen.

Para lograrlo, se contabilizó el tiempo en el que se consumió el combustible. Este tiempo se multiplicó por el caudal de aire (m³/s), para determinar el volumen y la masa de aire m_A real admitida en cada observación;

además, se hicieron las conversiones de unidades necesarias. En cada observación, dada la escala de medición del anemómetro, el caudal se obtuvo de la velocidad promedio del aire que ingresó al motor (m/s) multiplicado por el área de la manguera de admisión de aire. La mA se requirió para desarrollar las fórmulas 4 y 6.

Posteriormente, se desarrolló la secuencia explicada en el cuadro 1.

Cuadro 1. Procedimiento analítico realizado.

Procedimiento analítico	Fórmula empleada	Interpretación	Datos obtenidos para desarrollar la fórmula	
			Dentro del experimento	Fuera del experimento
1. Cálculo de la presión parcial del vapor de agua: P _{H₂O} , requerido para fórmula 2.	Fórmula 1 $-\log_{10}(P_{H_2O}) = 9,09685 \left(\frac{273,16}{T_{amb}} - 1 \right) + 3,56654 \log_{10} \left(\frac{273,16}{T_{amb}} \right) + 0,87682 \left(\frac{257,75}{T_{amb}} - 1 \right) + 0,21386$	Presión parcial del vapor de agua	Ninguno	Temperatura ambiente en oK.
2. Cálculo de Fracción molar del agua en el aire: X _{H₂O} , requerido para fórmula 3.	Fórmula 2 $X_{H_2O} = \frac{RH\% * P_{H_2O}}{1 - P_{atm}}$ Donde: RH%: Humedad relativa. P _{atm} : Presión atmosférica.	Fracción molar del agua en el aire	Ninguno	RH%: Humedad relativa. P _{atm} : Presión atmosférica.
3. Cálculo del coeficiente estequiométrico del vapor de agua en aire admisión: n, requerido para fórmulas 5 y 7.	Fórmula 3 $n = \frac{4,773X_{H_2O}}{1 - X_{H_2O}}$ Donde: 4,773: es el 100% del contenido de aire compuesto por Nitrógeno (79%) y Oxígeno (21%).	coeficiente estequiométrico del vapor de agua en el aire de admisión	Ninguno	Fracción molar del agua en el aire: X _{H₂O}
4. Determinación de la relación real (aire/combustible)	Fórmula 4 $(m_A/m_F)_{real}$ Donde: m _A : masa del aire. m _F : masa del combustible.	Relación entre el aire y el combustible que ingresan al motor.	m _A : masa del aire= volumen x densidad del aire. m _F : masa del combustible=100g.	Ninguno.
5. Determinación de la relación teórica (aire/combustible)	Fórmula 5 $(m_A/m_F)_S = \frac{(a + \frac{b}{4} - \frac{c}{2})(M_{O_2} + 3,773M_{N_2} + nM_{H_2O})}{a.M_c + b.M_H + c.M_o}$ Donde: M _{O₂} : Peso molecular Oxígeno. M _{N₂} : Peso molecular Nitrógeno. M _{H₂O} : Peso molecular vapor agua. M _c : Peso molecular Carbono. M _H : Peso molecular Hidrógeno. M _O : Peso molecular Oxígeno. a: contenido de Carbono. b: contenido de Hidrógeno. c: contenido de Oxígeno. n: coeficiente estequiométrico del vapor de agua en el aire.	Valor estequiométrico ideal, hay combustión completa, solo emite CO ₂ y H ₂ O en bajas cantidades.	Ninguno.	m _A : peso molecular aire. m _F : Peso molecular combustible. Cada mol de B10 contiene: a=53,54% Carbono, b=46,12% Hidrógeno, c=0,34% Oxígeno. Cada mol de B100 contiene: a=32,84% Carbono, b=63,52% Hidrógeno c=3,64% Oxígeno.
6. Determinación de la relación relativa (aire/combustible)	Fórmula 6 $\lambda = \frac{(m_A/m_F)_{real}}{(m_A/m_F)_S}$	$\lambda \geq 1$: combustión completa, situación ideal. $\lambda < 1$: combustión incompleta, mayor emisión de gases efecto invernadero.	Relación real (aire/combustible)	Relación teórica (aire/combustible) (m _A /m _F) _S
7. Determinación de la fracción molar de CO ₂ o factor de emisión. También porcentaje, litros y kilos de CO ₂ promedio, emitidos en cada observación.	Fórmula 7 $\%Vol_{CO_2} = 100 * X_{CO_2} / a$ $= 100 \frac{b}{4} + \lambda(4,773 + n) \left(a + \frac{b}{4} - \frac{c}{2} \right) + \frac{c}{2}$ Donde: a: contenido de Carbono. b: contenido de Hidrógeno. c: contenido de Oxígeno. n: coeficiente estequiométrico del vapor de agua en el aire. λ : relación aire/combustible.	Porcentaje de CO ₂ emitido, sobre el total de la mezcla admitida en el motor (litros de combustible + aire).	n: contenido de humedad de aire de admisión. λ : relación aire/combustible.	a: contenido de Carbono. b: contenido de Hidrógeno. c: contenido de Oxígeno.

Fuente: adaptado de Fonseca (2012). Medición dinámica de emisiones. Fórmulas páginas 96 a 120.

En la Tabla 1 se muestra un ejemplo de los datos primitivos que arrojó el experimento, obtenidos durante la observación de la primera

corrida con B10 y 0,5 kW, necesarios para el desarrollo del procedimiento indicado en el cuadro 1.

Tabla 1. Datos aleatorios de velocidad del aire de admisión para una observación.

PRIMERA CORRIDA		Datos velocidad del aire (m/s)					
Fecha: 13 septiembre 2016. 2:00PM - 3:18PM		0,66	0,68	0,67	0,64	0,65	0,65
Combustible: Diésel comercial B10		0,64	0,64	0,64	0,68	0,63	0,65
Generación: 0,5 kW		0,65	0,66	0,67	0,64	0,67	0,66
Temperatura: 18,08 °C		0,67	0,65	0,66	0,64	0,63	0,66
Peso diésel: 100 g = 117,2058 ml		0,65	0,64	0,65	0,66	0,67	0,65
Humedad relativa: 0,57		0,66	0,65	0,66	0,64	0,65	0,64
Presión atmosférica: 820,86 hPa		0,64	0,64	0,63	0,65	0,65	0,64
Duración (minutos): 15'31"96"		0,65	0,64	0,64	0,65	0,63	0,66
							Promedio (m/s): 0,65

Fuente: Autores, observación de la primera corrida del experimento con B10 y 0,5 kW

Análisis estadístico

Como soporte estadístico a los resultados, se presentan las principales tablas que arroja el software Statgraphics, dentro del análisis ANOVA de efectos fijos para la fracción molar (Montgomery, 2004). Para verificar la normalidad de los datos de fracción molar se efectuó la prueba de Shapiro-Wilks donde se consideraron la hipótesis nula y alternativa como:

$H_0: X \sim N(\mu, \sigma^2)$, la distribución es normal.

$H_1: X \sim N(\mu, \sigma^2)$, la distribución no es normal.

Se obtuvo un $p > 0,05$, por lo tanto, se aceptó la hipótesis nula H_0 , comprobando que las muestras de fracción molar son normales, tanto con el uso de diésel como de biodiésel. Adicionalmente, de acuerdo con el test de Levene, se expusieron las siguientes hipótesis:

$H_0: \sigma_{B100}^2 = \sigma_{B10}^2$, varianzas iguales.

$H_1: \sigma_{B100}^2 \neq \sigma_{B10}^2$, varianzas diferentes.

Como se obtuvo un $p > 0,05$, se aceptó la hipótesis nula H_0 , por lo tanto, se observó que las varianzas son iguales y existe el supuesto de homocedasticidad.

Comprobar estas pruebas permitió desarrollar el procedimiento para la diferenciación de medias.

En la Tabla 2, se muestran: la media de fracción molar de CO_2 para cada uno de los niveles de los factores; y los errores estándar de cada media, que son una medida de la variabilidad en el muestreo. Las dos columnas de la extrema derecha muestran intervalos de confianza del 95,0% para cada una de las medias. Esta tabla indica que la fracción molar es mayor con uso de B10 y generando mayor potencia (1,5 kW); además el error estadístico es menor analizando el B100 y la menor potencia 0,5 kW.

Tabla 2. Medias por mínimos Cuadrados para fracción molar CO₂ confianza del 95,0%.

Nivel	Casos	Media	Error Estándar	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	24	0,14699			
Combustible					
B10	12	0,155500	0,00128286	0,152805	0,158195
B100	12	0,138483	0,00128286	0,135788	0,141179
Potencia (kW)					
0,5	8	0,113237	0,00157118	0,109937	0,116538
1	8	0,140700	0,00157118	0,137399	0,144001
1,5	8	0,187038	0,00157118	0,183737	0,190338
Combustible por Potencia (kW)					
B10,0,5	4	0,119375	0,00222199	0,114707	0,124043
B10,1	4	0,147675	0,00222199	0,143007	0,152343
B10,1,5	4	0,199450	0,00222199	0,194782	0,204118
B100,0,5	4	0,107100	0,00222199	0,102432	0,111768
B100,1	4	0,133725	0,00222199	0,129057	0,138393
B100,1,5	4	0,174625	0,00222199	0,169957	0,179293

Fuente: Autores

Adicionalmente, la prueba de múltiples rangos para fracción molar de CO₂ por combustible indica diferencias significativas entre combustibles y entre potencias, como se muestra en las

tablas 3 y 4. Con una confiabilidad del 95%, es significativamente mayor la fracción molar del biodiésel B10, respecto del diésel B100, puesto que no conforman grupos homogéneos.

Tabla 3. Método: 95,0% LSD para fracción molar CO₂ por combustible.

Combustible	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
B100	12	0,138483	0,00128286	X
B10	12	0,155500	0,00128286	X

Fuente: Autores, resultados software Statgraphics

Tabla 4. Pruebas de múltiples rangos para fracción molar CO₂ por combustible.

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
B10 - B100	*	0,0170167	0,00381159

* Indica diferencia significativa con 95% confiabilidad.

Fuente: Autores, resultados software Statgraphics

El análisis estadístico efectuado en el software Statgraphics, aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras.

Se han identificado tres grupos no homogéneos según la alineación de las X en columnas; existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles que no comparten una misma columna de X.

El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher (Fisher, 1935). Con este método hay un riesgo del 5,0% al afirmar que cada par de medias es significativamente diferente. Así, con una confiabilidad del 95% se asegura que la fracción molar es mayor al generar mayor potencia (tablas 5 y 6).

Tabla 5. Método: 95,0% LSD para Fracción molar CO₂ por Potencia (kW).

Potencia (kW)	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
0,5	8	0,113237	0,00157118	X
1	8	0,140700	0,00157118	X
1,5	8	0,187038	0,00157118	X

Fuente: Autores, resultados software Statgraphics

Tabla 6. Pruebas de Múltiple Rangos para Fracción molar CO₂ por Potencia (kW).

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0,5 - 1	*	-0,0274625	0,00466823
0,5 - 1,5	*	-0,0738000	0,00466823
1 - 1,5	*	-0,0463375	0,00466823

* Indica una diferencia significativa, con 95% de confiabilidad.

Fuente: Autores, resultados software Statgraphics

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

La Tabla 7, presenta datos atmosféricos y resultados para cada combinación: relación relativa aire/combustible λ , fracción molar, trabajo realizado, FE de CO₂, y kg de CO₂ emitidos en ml, g y ppm. La dispersión por código de nivel permite confirmar la hipótesis: "el factor de emisión de CO₂ es menor usando B100 comparado con B10".

También se observa que el factor de emisión de B10 obtenido en el experimento es diferente

al factor de emisión propuesto por el grupo intergubernamental de expertos sobre cambio climático - IPCC, expresado en kg/TJ y equivalente al contenido de carbono multiplicado por 44/12 (Davies, et al , 2006), valor que se torna en una constante dentro de cada tratamiento: 1,96 para B10 y 1,31 para B100.

De acuerdo con los resultados de la relación aire/combustible λ , puede afirmarse que los dos combustibles tienen combustión completa con la generación de 1 kW o menos (tabla 7), lo que indica que, a mayor trabajo realizado,

la combustión es cada vez más incompleta, y esto aporta al incremento porcentual de emisiones de CO₂ y otros gases.

También puede inferirse que, a medida que aumenta la demanda de potencia, incrementa el factor de emisión o fracción molar de CO₂.

Tabla 7. Datos y resultados para relación relativa y fracción molar o FE calculado.

DIESEL COMERCIAL B10	PRIMERA CORRIDA			SEGUNDA CORRIDA			Promedios
Potencia (kW)	0,5	1	1,5	0,5	1	1,5	
Temperatura (oC)	18,08	17,1	17,1	15,14	17,3	18,08	17,13
Duración (min)	15,53	12,89	9,6	15,67	12,7	9,79	12,69
Humedad relativa (%)	0,57	0,57	0,57	0,57	0,57	0,57	0,57
Presión (hPa)	820,86	820,86	820,86	820,86	820,86	820,86	820,86
Relación λ=	1,38	1,14	0,82	1,42	1,11	0,85	1,12
Fracción molar CO ₂ =	0,12	0,15	0,2	0,12	0,15	0,19	0,15
Trabajo realizado (J)=	465.980	773.240	864.300	470.150	761.930	881.520	702.853
Factor emisión IPCC=	1,96	1,96	1,96	1,96	1,96	1,96	1,96
CO ₂ emitido (g) IPCC=	0	0	0	0	0	0	0
Emisión CO ₂ (ml)=	193,56	194,78	199,02	191,49	195,16	199,19	195,53
Emisión CO ₂ (g)=	0,36	0,36	0,37	0,35	0,36	0,37	0,36
Emisión (mg CO ₂ /gr diésel)=	3,57	3,59	3,67	3,53	3,59	3,67	3,60
Emisión (ppm)=	121.321	146.518	201.505	118.597	149.616	194.521	155.346
DIESEL COMERCIAL B10	TERCERA CORRIDA			CUARTA CORRIDA			Promedios
Potencia (kW)	0,5	1	1,5	0,5	1	1,5	
Temperatura (oC)	16,6	16,91	15,53	21,43	20,25	20,05	18,46
Duración (min)	15,52	12,5	9,44	15,76	12,94	9,58	12,62
Humedad relativa (%)	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88
Presión (hPa)	817,81	817,81	817,81	817,81	817,81	817,81	817,81
Relación λ=	1,42	1,11	0,82	1,39	1,15	0,82	1,11
Fracción molar CO ₂ =	0,12	0,15	0,2	0,12	0,14	0,2	0,15
Trabajo realizado (J)=	465.480	750.170	849.465	472.865	776.430	862.005	696.069
Factor emisión IPCC=	1,96	1,96	1,96	1,96	1,96	1,96	1,960
CO ₂ emitido (g) IPCC=	0	0	0	0	0	0	0
Emisión CO ₂ (ml)=	192,15	194,94	198,06	195,3	196,31	200,62	196,23
Emisión CO ₂ (g)=	0,35	0,36	0,36	0,36	0,36	0,37	0,36
Emisión (mg CO ₂ /gr diésel)=	3,54	3,59	3,65	3,6	3,62	3,7	3,61
Emisión (ppm)=	117.799	150.225	201.376	119.816	144.368	200.433	155.669

BIODIÉSEL B100		PRIMERA CORRIDA			SEGUNDA CORRIDA			Promedios
Potencia (kW)	0,5	1	1,5	0,5	1	1,5		
Temperatura (oC)	26,15	24,38	22,61	21,82	19,26	18,28	22,083	
Duración (min)	15,1	12,19	8,77	15,2	11,83	9,01	12,02	
Humedad relativa (%)	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	
Presión (hPa)	818,49	818,49	818,49	818,49	818,49	818,49	818,49	
Relación λ=	1,25	1	0,71	1,29	0,99	0,74	0,99	
Fracción molar CO ₂ =	0,11	0,14	0,19	0,11	0,14	0,18	0,15	
Trabajo realizado (J)=	452.880	731.560	788.925	455.880	709.850	810.975	658.345	
Factor emisión IPCC=	1,31	1,31	1,31	1,31	1,31	1,31	1,31	
CO ₂ emitido (g) IPCC=	0	0	0	0	0	0	0	
Emisión CO ₂ (ml)=	170,24	169,97	170,35	167,83	167,35	167,99	168,95	
Emisión CO ₂ (gr)=	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	
Emisión (mg CO ₂ /gr biodiésel) =	3,14	3,13	3,14	3,09	3,08	3,09	3,12	
Emisión (ppm)	109.882	135.843	185.282	107.050	136.877	178.712	142.274	
BIODIÉSEL B100		TERCERA CORRIDA			CUARTA CORRIDA			Promedios
Potencia (kW)	0,5	1	1,5	0,5	1	1,5		
Temperatura (oC)	17,5	18,48	19,07	22,61	20,64	15,73	19,01	
Duración (min)	15,09	12,36	9,51	15,46	12,43	9,64	12,42	
Humedad relativa (%)	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	
Presión (hPa)	818,49	818,49	818,49	818,49	818,49	818,49	818,49	
Relación λ=	1,29	1,03	0,78	1,32	1,04	0,81	1,05	
Fracción molar CO ₂ =	0,11	0,13	0,17	0,1	0,13	0,16	0,13	
Trabajo realizado (J)=	452.640	741.460	855.810	463.670	745.740	867.300	687.770	
Factor emisión IPCC=	1,31	1,31	1,31	1,31	1,31	1,31	1,31	
CO ₂ emitido (g) IPCC=	0	0	0	0	0	0	0	
Emisión CO ₂ (ml)=	165,55	166,84	168,11	168,28	167,81	166,3	167,15	
Emisión CO ₂ (gr)=	0,3	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	
Emisión (mg CO ₂ /gr biodiésel) =	3,05	3,07	3,1	3,1	3,09	3,06	3,08	
Emisión (ppm)	106.767	131.410	169.642	104.613	130.811	164.906	134.691	

Fuente: Autores. Datos obtenidos del experimento y de cálculos de la presente investigación

Con respecto a la fracción Molar, en cada tratamiento se observa que, al generar mayor potencia, la fracción molar del CO₂ el cual tiende a es mayor (ver Figura 6).

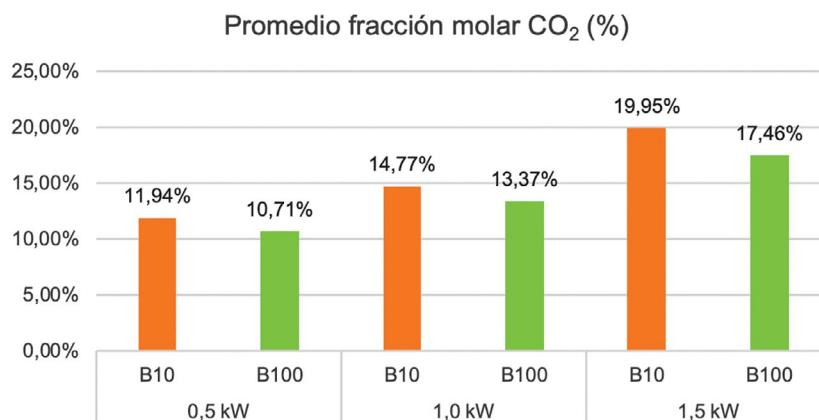


Figura 6. Fracción molar con tres potencias generadas y dos combustibles empleados.

Fuente: Autores. *Nota: B100 representa el biodiésel 100% y B10 el diésel comercial.*

También se observa que, en el caso de diésel comercial B10, la cuarta corrida generó más emisiones, no necesariamente por fatiga del motor, dado que en el caso de B100 la primera corrida generó mayor cantidad de CO₂. Cabe aclarar que, al generar mayor potencia, hay mayor emisión de CO₂ revisando la (Figura 7), lo cual se explica porque, al generar más potencia, el motor consume mayor cantidad de diésel y, por consiguiente, emite mayor cantidad de CO₂.

Con el uso de B100 se emitió mayor cantidad de CO₂ en la primera corrida de la mayor potencia generada. Con potencias de 0,5 kW y 1,0 kW, en la tercera corrida, se emitió menor cantidad de CO₂ (Figura 8). Esto indica que la leve diferencia de emisión entre corridas, en milésimas de gramo de CO₂, puede deberse a variaciones imperceptibles en la preparación de cada corrida.

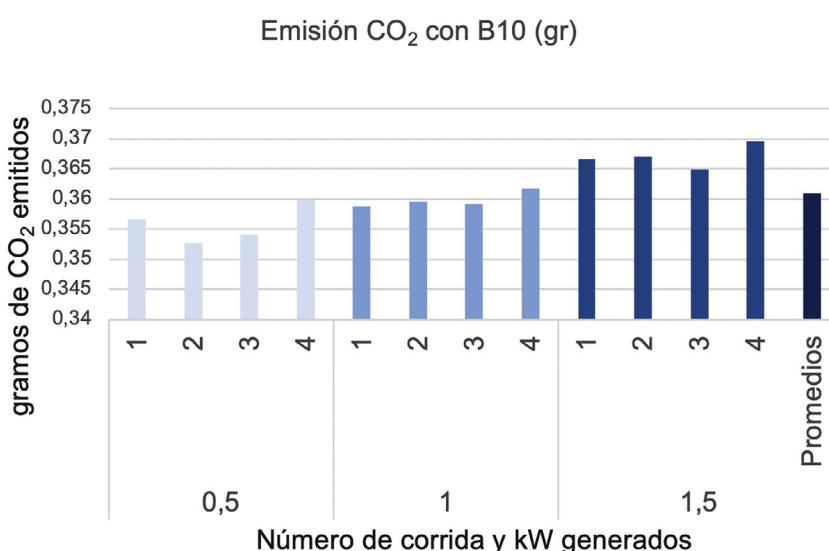


Figura 7. Comparación emisión de CO₂ entre corridas con B10.

Fuente: Autores, resultados del experimento obtenidos en Statgraphics.

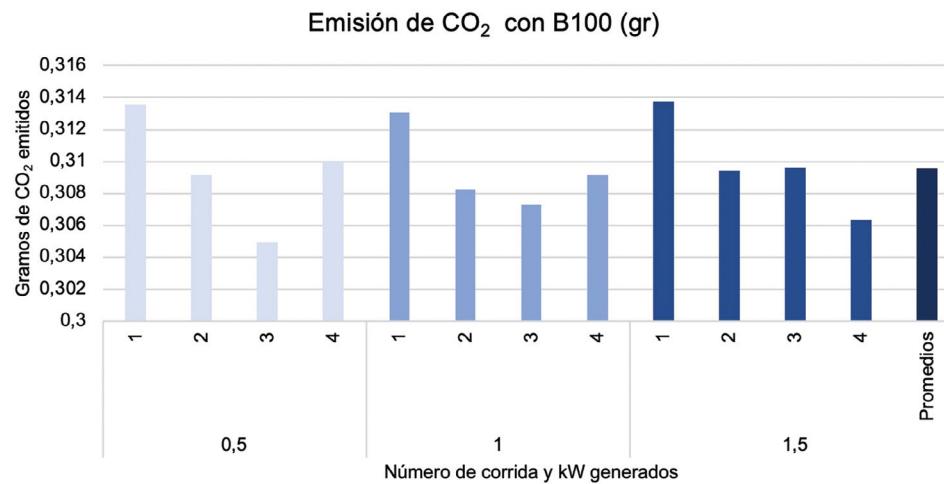


Figura 8. Comparación de emisión de CO₂ entre corridas con B100.

Fuente: Autores. Resultados del experimento obtenidos en Statgraphics.

La Fracción molar explica el trabajo realizado en el 96% y 81%, Con B10 y B100, respectivamente (ver Figura 9).

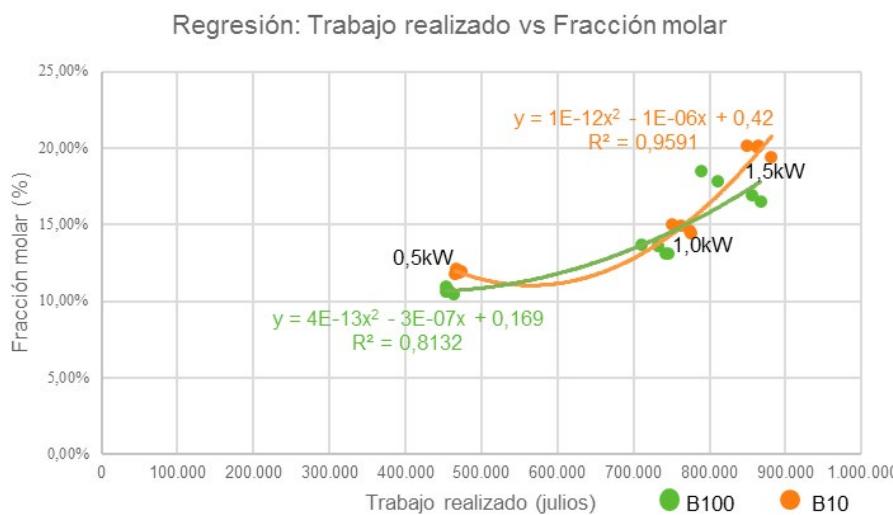


Figura 9. Influencia del Trabajo realizado sobre la Fracción molar.

Fuente: Autores. Resultados del experimento obtenidos en Excel.

En igual volumen, si se utilizan los combustibles B10 y B100 independientemente en el mismo motor, se consumen en el mismo tiempo, siempre y cuando funcionen en las mismas condiciones ambientales y sean sometidos al mismo trabajo.

La temperatura ambiente, la humedad relativa y la presión atmosférica, inciden en forma incipiente en la emisión de CO₂ generada por combustión de diésel o biodiésel, pues la fracción molar varió entre las diferentes repeticiones, en cantidades pequeñas contadas en centésimas.

Discusión

Por una parte, las diferencias en las estimaciones de CO₂ de Gutiérrez (2016), 2,6 kg/l; IPCC 20.200 g/GJ (IPCC, 2011); Orovio, 28 g/l km (Orovio, 2010); y de la presente investigación, 4,15 g/l con B10. Al aplicar el FE de IPCC metodología nivel dos (Harnisch, 2006), las emisiones presentan valores bajos, comparadas con resultados del experimento.

El FE de EPA-USA es de 1,15, multiplicado por lb de diésel empleado en cada HP-h (EPA, 2010). Así, al generar los siete caballos de fuerza del motor, durante 12,6 min promedio, con 100 g de diésel, se emiten 1,298 g de CO₂: el triple del promedio de emisión obtenido, 0,361 g de CO₂. Esta es la metodología con resultados más parecidos a los de este experimento.

Por otra parte, respecto al beneficio ambiental de B100 sobre B10, UpTown Oil de París, cree que sustituir diésel por B100 obtenido de aceite usado de cocina ACU, ahorra 80% emisiones de CO₂ (Uptown, 2014), al contrario, Ulusoy, como cita Enweremaduen, explica que incrementa en 2,6% (Enweremadu y Rutto, 2010).

El Departamento de Energía de los EE. UU. (DOE), afirma que el B100 producido con soya emite 2.661 g CO₂/gal y el diésel 12.360 g CO₂/gal (DOE, 2014).

Dorado, et al (2003) explican que el B100 emite 8,6% menos de CO₂. En Washington se observó que, en un motor a 3.000 rpm hubo una disminución de CO₂ del 10% usando B100 (Zafer et al., 2007), además la mayor concentración de CO₂ se presentó en la mezcla B50 en cualquier rpm (Chang & Chan, 2007). El presente experimento obtuvo un ahorro de entre 2% y 8% de emisiones CO₂ usando B100 a cambio de B10.

En producción, transporte y comercialización, B10 y B100, emiten similares cantidades de CO₂;

sin embargo, las plantaciones para obtener aceite como materia prima de B100 consumen cantidades considerables de CO₂ (Acosta, 2018).

Además de la reducción de hasta el 8% las emisiones de CO₂ en gases de escape, se reducen las emisiones de este gas en todo el proceso de obtención del B100.

Finalmente, acerca de la responsabilidad social, es necesario que las empresas de transporte con diésel sustituyan paulatinamente B10 por B100, debido al ahorro porcentual de emisión, en las condiciones actuales, aunque el consumo de B100 sea menor al generar el mismo trabajo, el costo de un galón de biodiésel es de pesos colombianos 11.515,16 mientras que el costo del B10 es de 8.388 pesos colombianos por galón (FEDEBIOCUMBUSTIBLES, 2020).

4. CONCLUSIONES

La fracción molar o factor de emisión, y la emisión de CO₂ son significativamente menores cuando el combustible, sea B10 o B100, tiene presencia de oxígeno, y mayor proporción de hidrógeno que de carbono. Por lo tanto, se reduciría la emisión de CO₂ si las empresas productoras y mezcladoras de combustibles apuntan sus metas al alcance de estas proporciones.

En la presente investigación el uso de diésel B10 presenta una mayor emisión de CO₂ respecto del uso del biodiésel B100, debido a la composición molecular de los combustibles.

Las emisiones globales de CO₂, provenientes de la combustión de biodiésel en motores de compresión y automotores diésel, se reducirían si se sustituyera todo el combustible B0 a B10 por combustible B100, a esta reducción se sumará la minimización lograda en el proceso de obtención de biodiésel en sustitución del proceso de obtención de combustible fósil.

Teniendo en cuenta que esta sustitución aportará a las metas del protocolo de Kioto y la Cumbre de París, y ante a la creciente demanda de biodiésel, la implementación y desarrollo de empresas procesadoras de biocombustibles constituye una alternativa **óptima**. Además, si el B100 se obtiene de biomasa reciclada, se tendrán beneficios ambientales, económicos y sociales de alto impacto.

El IPCC debe incluir en su metodología el proceso analítico para la determinación del factor de emisión, dado que actualmente solo entrega valores preestablecidos para multiplicarlos por el consumo de combustible, lo cual no genera confiabilidad en la medición de emisiones de CO₂.

Independientemente de la escala de medición de emisiones de CO₂, es importante lograr mezclas con menor cantidad de carbonos, aunque incremente el contenido de hidrógeno y oxígeno. Por lo tanto, se debe incentivar el uso de biocombustibles que tienden a mezcla tipo B100.

Por su parte, el motor empleado se debe utilizar para generar potencias iguales o menores de 1 kW, para generar combustión completa y minimizar las emisiones de CO₂ y otros gases.

Aunque las empresas de transporte tengan la voluntad de emplear combustible B100 para minimizar la emisión de CO₂, actualmente dicho el costo no permite adoptar esta política ambiental por efectos negativos en la economía de las empresas, a no ser que, por implementar esta medida ambiental, se incursione en el sistema de bonos de carbono, lo cual, posiblemente produciría utilidad. No obstante, este análisis debe ser objeto de futuras investigaciones.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

Cada autor contribuyó de acuerdo con su asignación, así:

Primer autor: metodología, investigación, trabajo de campo, análisis de datos, conceptualización, escritura del borrador y original.

Segundo autor: investigación, conceptualización, análisis de datos, revisión y edición. **Tercer autor:** metodología, investigación, trabajo de campo. **Cuarto autor:** adquisición de recursos, análisis de datos y revisión.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el aporte del proyecto "Aspectos de la medición dinámica instantánea de emisiones de motores", cuya autora, propuso caminos para el diseño de la presente investigación, en la parte metodológica y conceptual (Fonseca, 2012). También se agradece el aporte académico y financiero de la Universidad Cooperativa de Colombia.

LITERATURA CITADA

- Acosta, F. (2008) *Manual de construcción y uso de reactor para producción de biodiésel a pequeña escala*, Primera ed., Lima: Soluciones prácticas ITDG, 2, p. 7.
- Brusca, S., Famoso, F., Lazafame, R., Mauro, S., Messina, M., Strano, S. (2016). PM₁₀ Dispersion Modeling by Means of CFD 3D and Eulerian-Lagrangian Models: Analysis and Comparison with Experiments. *Energy procedia*, nº 101, pp. 101, 329-336, 9.
- Castillo, F. (2005) Biotecnología ambiental, Madrid, España: Editorial TÉBAR, p. 147.
- Chang, Y., y Chang, B. (2007). Combustion characteristics of waste-oil produced biodiésel/diésel fuel blends, Primera ed., Madrid: ELSERVIER, p. 1779.
- Davies, CH., Harnisch, J., Lucon, O., Scott,R., Saile, S., Wagner, F., Wlas, M. (2006). Directrices del IPCC para los inventarios nacionales de gases de efecto invernadero, combustión móvil, Panel Intergubernamental Para el cambio climático, Ginebra Suiza, CAp 3, p.12. Available:

- DEPARTAMENTO DE ENERGÍA DE USA - DOE. (2014). ¿Does biodiesel reduce greenhouse gases?, New York.
- DEPARTAMENTO NACIONAL DE PLANEACIÓN COLOMBIA - DPN. (2012). Desarrollo bajo en carbono para Colombia. El Banco Mundial. Washington Estados Unidos. Recuperado de: <https://colaboracion.dnp.gov.co/CDT/Ambiente/Desarrollo%20Bajo%20En%20Carbono%20Para%20Colombia.pdf>
- Dinero (2014). Revista virtual Dinero, 30 Enero. [En línea]. Available: <http://www.dinero.com/empresas/articulo/colombia-tendra-35-millones-vehiculos-2020/168797>. [Último acceso: 30 Enero 2014].
- Dorado, M., Ballesteros, E., Arnal, J., Gómez, J., Y López, F. (2003). Exhaust emissions from a Diésel engine fueled with transesterified waste olive oil, nº 1, p. 1.
- Ecopetrol (2018). Febiocombustibles. Ecopetrol acp,» 2017. [En línea]. Available: <https://acp.com.co/web2017/es/asustos/economicos/125-informe-economico-octubre-mercado-de-combustibles-en-colombia-asi-avanzan-las-importaciones-y-el-consumo-de-gasolina-diesel-y-jet-fuel-en-2017/file>. [Último acceso: 4 12 2018].
- Environmental Protection Agency - EPA. (2010). Emisiones fuentes móviles diésel. Norma 3.3-6. Environmental Protection Agency, Washington.
- Enweremadu, A., y Rutto, B. (2010). Combustion, emission and engine performance characteristics of used cooking oil biodiesel-A review,» *Combustión biodiesel*, vol. 14, nº 1, p. 2866. 9 05 2020. [En línea]. Available: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2010.07.036>
- FEDEBIOCOMBUSTIBLES (2020). Precios de bio-combustibles, disponible en fecha 12 de mayo de 2020, 12 05 2020. [En línea]. Available <https://www.fedebiocombustibles.com/estadistica-precios-titulo-Biodiesel.htm>. [Último acceso: 2020].
- Fisher, R.A. (1935). *The Design of Experiments*. Edinburgh and London: Oliver and Boyd.
- Fonseca, N. (2012). Aspectos de la medición dinámica instantánea de emisiones de motores, Madrid: Sección de Publicaciones de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales Universidad Politécnica de Madrid. ISBN 978-84-695-6653-4, pp. 117-120.
- GIUSEPPE DE BIASE FUNDADOR - BIASE (2020). Foto en catálogo virtual, de bombillo incandescente. Barquisimeto Venezuela. Recuperado de <https://www.grupodebiase.com/iluminacion/7007-iluminacion-bombillo-incandescente-100w-120v-anti-plaga-e27-ge-97762.html>
- Gutiérrez, C. (2016). La actuación frente al cambio climático, Primera edición. ISBN 978-84-613-0673-2 ed., Murcia: Edit.um, p. 88. Meta, Villavicencio.
- IMEDICIÓN (2020). Foto en catálogo virtual, de termo-anemómetro marca Proba referencia. Recuperado de: <https://imedicion.com.ar/producto/termo-anemometro-prova-avm07>
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación - ICONTEC. (2018). Norma Técnica Colombiana, NTC 5444/2018. Norma Disponible en ICONTEC tienda virtual: <https://tienda.icontec.org/gp-biodiesel-para-uso-en-motores-diesel-especificaciones-ntc5444-2018.html> [Último acceso: 2020]
- IPCC, 2011: Summary for Policymakers. In: IPCC Special Report on Renewable Energy Sources and Climate Change Mitigation [O. Edenhofer, R. Pichs-Madruga, Y. Sokona, K. Seyboth, P. Matschoss, S. Kadner, T. Zwickel, P. Eickemeier, G. Hansen, S. Schlömer, C. von Stechow (eds)], Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. https://www.ipcc-nrgip.iges.or.jp/public/2006gl/spanish/pdf/2_Volume2/V2_3_Ch3_Mobile_Combustion.pdf [Último acceso: 4 diciembre 2020].
- Lau, L. (2017). Research on the effect of particles in the atmosphere (pm2.5 and pm10) on the concentrations of gps signals.,» *Sensors*, vol. 17, p. 508, 2017.
- LINIO (2020). Foto en catálogo virtual, de estufa eléctrica dos puestos marca Universal Royal. Bogotá Colombia. Recuperado 4 diciembre 2020. de: <https://www.linio.com.co/p/estufa-electrica-dos-puestos-universal-royal-lhk913>
- Mantilla, J., Roncancio, J., Acevedo, H. (2010). Análisis comparativo del desempeño y emisiones de un motor diésel de gran capacidad operando bajo dos escenarios: trabajo en ruta activa y trabajo en banco. *Ingeniería e Investigación. Universidad Nacional de Colombia*, vol. 30, nº 1, p. 119.
- Montgomery, D. (2004). Diseño y análisis de experimentos, Segunda. ISBN 968-18-6156-6 ed., México D.F: Limusa Wiley, pp. 175-183.

- MUNDO BÁSCULAS (2020). Foto en catálogo virtual, de balanza digital control del peso marca Baxtran serie ABD. Barcelona España. Recuperado 4 diciembre 202. de: <https://www.mundobasculas.com/balanzas-control-de-peso/483-balanza-digital-control-de-peso-serie-abd-capacidades-600g20kg.html>
- Orovio, A. M. (2010). Tecnología del automóvil, Primera edición ed., Madrid: Ediciones Paraninfo, p. 229.
- QUERCUSLAB (2020). Foto en catálogo virtual, de soporte universal de laboratorio. Madrid España. Recuperado 4 diciembre 2020 de: <https://querquslab.es/sopores/725-soporte-universal-laboratorio.html>
- Ramos, P. (2008). Energías y cambio climático, Primera edición ed., Salamanca: Ediciones Universidad de Salamanca., p. 174.
- Simmons, P. (2015), Electrical wiring comercial, 15 ed., Stamford: CENGAGE Learning editors, p. 573.
- Tyson, K. S. (2016). Biodiésel Handling and Use Guidelines, Tercera edición ed., U. S. o. A. U. D. o. Energy, Ed., Washington, p. 5.
- Uptown L. (2014) <http://www.uptownoil.co>,» Fresh Vegetable Oil Deliveries Used Cooking Oil Collected 100% Recycled Biodiésel Improving Air Quality disponible en fecha 18 de octubre de 2014. [En línea]. Available: http://www.uptownoil.co.uk/co2_bodiésel.html&prev=search. [Último acceso: 2014].
- UYUSTOOLS (2020). Foto en catálogo de ventas virtual, de generador diésel eléctrico 2.0/2.2KW marca Launtop. Santiago de Chile. Recuperado 4 diciembre 2020 de: <http://www.uyustoolsiquique.cl/Generador-Diesel-Electrico-2.0/2.2-Kw-LDG220OCLE.html>
- VINTEX (2020). Foto en catálogo virtual, de catalizador de biodiesel mostrado en un beaker. Hanoi Vietnam. Recuperado 4 diciembre 2020 de: <http://sangiaodichcongnhe.vn/Catalyst-for-Green-Biodiesel-Production-from-Unrefined-Fedstock.html>
- Zafer, U., Mevlut, S., y Kocakb, R. (2007). The effect of biodiésel fuel obtained from waste frying oil on direct injection diésel engine performance and exhaust emissions, Primera ed., Washington: ELSEVIER, p. 1940.

Conflictos 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.

IDENTIFICACIÓN Y CLASIFICACIÓN DE SUSTANCIAS QUÍMICAS CANCERÍGENAS EN UNA PLANTA PROCESADORA DE ALIMENTOS CÁRNICOS

IDENTIFICATION AND CLASSIFICATION OF CARCINOGENIC CHEMICAL SUBSTANCES IN A MEAT PROCESSING PLANT

¹Angela Daniella Arias Daza,²Efren Venancio Ramos Cabrera,

³Zuly Juliana Delgado Espinosa

¹Ingeniera Industrial, Corporación universitaria comfacauba-Uniconfacauba. Popayán – Colombia.

²Ph. D. Microbiología, Corporación Universitaria Comfacauba-Unicomfacauc. Popayán, Colombia.

³PhD en Ciencias Química, Corporación Universitaria Comfacauba-Unicomfacauc. Popayán, Colombia.

¹anagelaarias@unicomfacauba.edu.co, ²eramos@unicomfacauba.edu.co, ³zdelgado@unicomfacauba.edu.co

Citación: Arias, A., Ramos, E., y Delgado, Z. (2021). Identificación y clasificación de sustancias químicas cancerígenas en una planta procesadora de alimentos cárnicos. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 147 – 160.

DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3881>

RESUMEN

Contextualización: en la industria y sectores tecnológicos se utiliza una gran cantidad de productos químicos, generando riesgos para la salud de quienes están expuestos. Esto puede inducir alteraciones dependiendo de la concentración, manipulación, exposición, susceptibilidad del trabajador. Estos agentes químicos pueden producir una diversidad de efectos irritantes alérgicos, tóxicos e incluso cancerígenos.

Vacío de investigación: el desconocimiento de la peligrosidad sumado a las condiciones de operación de sustancias químicas cancerígenas que se presentan en el ejercicio de las actividades diarias en la industria puede afectar la salud Humana.

Propósito: el objetivo del estudio es identificar y clasificar el riesgo relacionado con esas

sustancias químicas en una planta procesadora de alimentos cárnicos en el departamento del Cauca (Colombia).

Metodología: en una primera fase de diagnóstico se realizó una búsqueda de información en bases de datos especializadas. La segunda fase se desarrolla a partir de la información recolectada mediante el inventario de sustancias químicas en la planta, que se encuentran distribuidas en diferentes sitios de almacenamiento en los que existe una probabilidad de exposición. Para identificar la estimación del riesgo químico se aplicó un análisis cualitativo mediante la utilización del criterio de caracterización de riesgos “caja de herramientas de control químico internacional”. Posteriormente se hizo una revisión de normatividad que rige en Colombia relacionada a la manipulación,

aplicativos y requisitos correspondientes de estas sustancias, estableciendo medidas de control y prevención necesarias a la naturaleza química de estos agentes.

Resultados y conclusiones: mediante el inventario, se identificaron 407 sustancias presentes en la planta, de las cuales un 6 % no representan clasificación peligrosa, el 91% se clasifican dentro de sustancias químicas peligrosas y un 3% corresponde a sustancias químicas con potencial efecto cancerígeno por sus propiedades toxicológicas y efectos específicos sobre la salud humana. Mediante la evaluación de riesgo se tuvo en cuenta la combinación de factores de peligro para la salud y exposición potencial que determinan el nivel de control deseado, dividida en cuatro niveles de abordaje (1, 2, 3, 4) siendo el abordaje 4 de consideración especial por ser el punto más crítico y de mayor peligrosidad. Finalmente, se determinó que las sustancias de mayor atención en la planta son: el cemento portland, DQO solución B, Gasolina, Sikadur 32 Primer Comp B, Sikadur Panel Comp B, por estar dentro de abordaje 4.

Palabras clave: riesgo, peligro de exposición, evaluación del riesgo químico, sustancias químicas peligrosas, sustancias cancerígenas

ABSTRACT

Contextualization: A large number of chemical products are used in industry and technological sectors, generating health risks for those who are exposed, and may induce alterations depending on the concentration, manipulation, exposure, and susceptibility of the worker. These chemical agents can produce a variety of irritating, allergic, toxic and even carcinogenic effects.

Knowledge gap: Lack of knowledge of the danger, together with the operating conditions of chemical carcinogenic chemicals that occur in the exercise of daily activities in the industry

may affect human health.

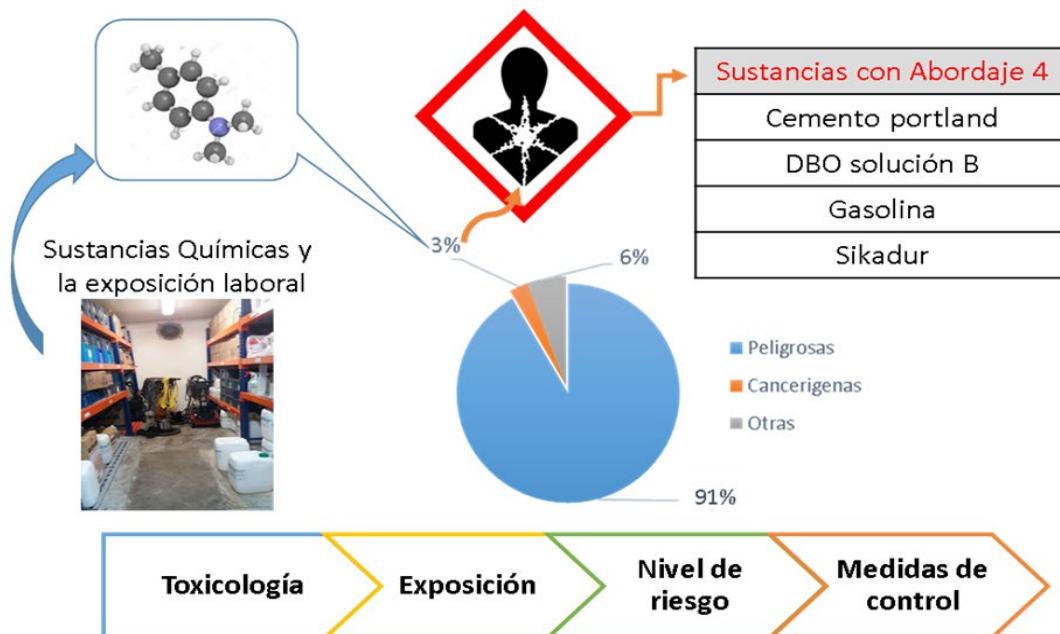
Purpose: The objective of the study is to identify and classify the risk related to these chemical substances in a meat food processing plant in the department of Cauca (Colombia).

Methodology: In the first stage of diagnosis, an information search was carried out in specialized databases; in the second stage it was developed from the information collected through the inventory of chemical substances in the plant, which are distributed at different storage sites where there is probability of exposure. To identify the chemical risk identification, a qualitative analysis is applied using the risk characterization criterion "international chemical control toolbox". Subsequently, a review of the regulations in force in Colombia related to the handling, applications and corresponding requirements of these substances was made, establishing necessary control and prevention measures for the chemical nature of these agents.

Results and conclusions: Through the inventory, 407 substances present in the plant were identified, 91% of which are classified as dangerous chemicals and 3% corresponds to chemicals with a potential carcinogenic effect. The risk assessment took into account the combination of risk factors for health and potential exposure that determines the level of control desired, divided into four levels of approach (1, 2, 3, 4), with approach 4 being considered Special for being the most critical and most dangerous point. Finally, it was determined that the substances of greatest attention in the plant are: portland cement, COD solution B, Gasoline, Sikadur 32 Primer Comp B, Sikadur Panel Comp B, for being within the approach 4.

Keywords: Risk, exposure hazard, chemical risk assessment, dangerous chemical substances, carcinogenic substances

RESUMEN GRÁFICO



Fuente: Autores

1. INTRODUCCIÓN

En el mundo, las sustancias químicas se utilizan en casi todos los sectores productivos, siendo aplicadas regularmente en procesos industriales. Un gran porcentaje de estas sustancias es considerada como peligrosas, debido a que algunas de sus características o propiedades afectan al ambiente y la salud humana. Se han identificado más de 25 millones de sustancias químicas peligrosas, de las cuales se comercializan y están registradas 100.195 en la Unión Europea (Sistema globalmente armonizado de Clasificación y etiquetado de productos químicos, 2013). Las empresas han usado hasta 30.000 de estos productos, de los que el 66% no se les ha realizado pruebas toxicológicas y el 21% de las sustancias de mayor demanda en la producción carecen de información toxicológica (Calera y Alonso, 2005). De las sustancias químicas registradas que presentan efectos toxicológicos conocidos, 350 son cancerígenas (Naciones Unidas, 2015).

La investigación del cáncer ocupacional ha sido poco abordada, a pesar de que su descubrimiento fue hace más de dos siglos cuando Percivall Pott por los años de 1775, mediante una serie de observaciones, demostró la existencia de cáncer de escroto en unos operarios que tenían como oficio la limpieza de chimeneas en Londres, enfermedad ocasionada por la exposición a agentes ambientales procedentes de su labor (Arroyave E, 2010). El riesgo de exposición a agentes químicos se puede presentar en diferentes áreas de una empresa, es decir, no solo está asociado a la manipulación directa de las sustancias, sino en cualquier otro sector del ambiente de trabajo (Cabrera y Álvarez, 2018). La principal vía de exposición se da a través de la inhalación, debido a la volatilidad de las sustancias, puesto que sus partículas se pueden dispersar en el aire con mayor facilidad, depositándose en las vías respiratorias. Consecutivamente, también puede

haber riesgo dérmico o por ingestión asociado a su naturaleza, lo que demanda tomar medidas preventivas en cuanto a su manipulación (Kim. M y Sang. H 2018; UNIÓN SINDICAL DE MADRID REGIÓN DE CC.OO, 2006). Según la Organización Internacional del Trabajo (OIT) a nivel mundial se calcula que, de 2 millones de muertes laborales que ocurren cada año en el mundo, 440.000 se producen como resultado de la exposición a sustancias químicas (PNUMA, 2007). En el 2003, la Unión Europea reportó que se producen anualmente 32.000 muertes por cáncer, 16.000 enfermedades cutáneas, 6.700 enfermedades respiratorias, 500 enfermedades oculares y 570 enfermedades del sistema nervioso central (Sánchez y Peláez, 2014)

El Consejo Colombiano de Seguridad CIS-PROQUIM, informó que en el primer semestre del 2011 se recibieron 4492 reportes de emergencia, con un aumento del 13% con respecto al mismo periodo del año 2010, en el que se reportaron 3974 casos (CISPROQUIM, 2012). El Ministerio de la Protección Social de Colombia a través del Instituto Nacional de Cancerología, ha desarrollado desde el año 2013 el proyecto "Sistema de Vigilancia Epidemiológica del Cáncer Ocupacional" (SIVECAO) debido al problema de salud pública a nivel mundial de cáncer ocupacional (Ministerio del Trabajo, 2014; Gil, Gamboa y Orejuela, M, 2015). Según datos reportados por el fondo colombiano de enfermedades la Cuenta de Alto Costo (CAC), en Colombia hubo 275.348 personas diagnosticadas con cáncer durante el periodo analizado (2 de enero de 2017 al 1 de enero del 2018). Durante este periodo se reportaron 37.630 casos nuevos y 19.814 personas con diagnóstico de cáncer

fallecieron. El cáncer de mama, de próstata, y los tumores en la piel fueron los más frecuentes entre la población atendida en el sistema de salud de Colombia en el mismo periodo (Ministerio de salud, 2018).

El presente estudio se realizó en una planta procesadora de alimentos cárnicos del departamento del Cauca (Colombia). Aunque las principales actividades desarrolladas en la organización no están relacionadas directamente con procesos químicos en los que se involucre el uso de sustancias peligrosas, requieren el uso de una amplia variedad de estas, que se encuentran en los diferentes almacenes dentro de la empresa, lo cual hace que parte de sus empleados se encuentren expuestos tanto directa como indirectamente. Por lo tanto, el objetivo del estudio fue identificar y clasificar las sustancias químicas y, de este modo, poder analizar los niveles de riesgo de algunos agentes cancerígenos que se emplean en actividades diarias en la empresa.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se desarrolló en una planta de derivados cárnicos, mediante diferentes fases que incluyen: (1) descripción de las características generales de la población; (2) diagnóstico mediante la descripción cualitativa de las sustancias químicas peligrosas con especial atención en las sustancias cancerígenas; y (3) análisis de la información recolectada

Para la primera fase, se realizó una búsqueda bibliográfica en bases de datos especializadas como Pubmed, Scopus, proquest, Scielo, Google scholar y páginas web institucionales como la International Agency for Research on Cancer (IARC) y la Organización Mundial de la

Salud (OMS) (Figura 1), así como reportes de entes gubernamentales. También se hizo una descripción de las características generales de la población, se tomó como referencia la base de datos suministrada por la empresa tanto

del inventario como del personal expuesto a riesgo químico en cada una de las áreas laborales, en este punto se consideró importante el tiempo y cantidad de sustancia a la que se encuentra en exposición.

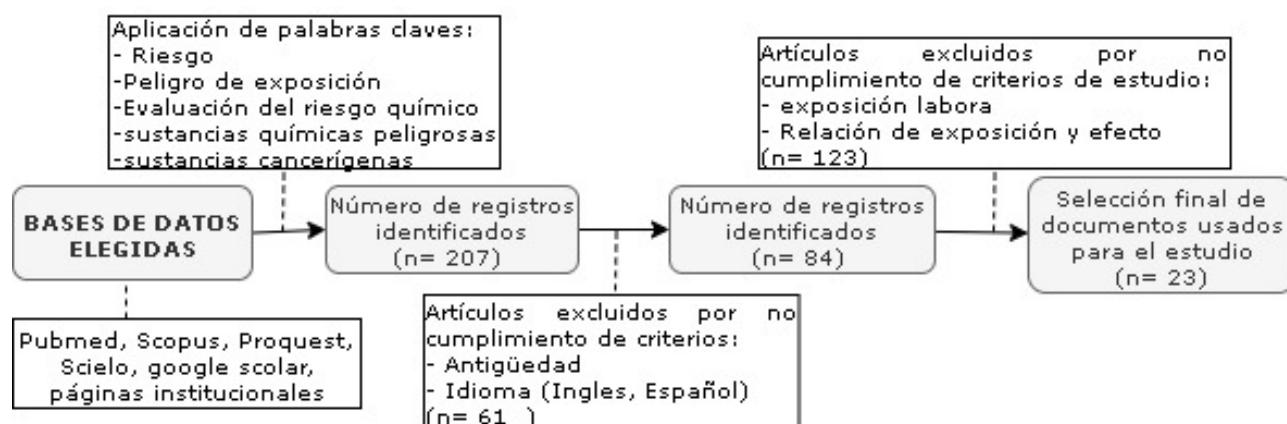


Figura 1. Resumen de búsqueda y selección de literatura utilizada en el estudio.

Fuente: Autores

La fase de diagnóstico se realizó mediante una serie de visitas a los diferentes almacenes en la planta, donde se logró la actualización del inventario, la identificación y clasificación del tipo de producto químico, las condiciones de infraestructura de las zonas del almacén, el estado de los envases de las sustancias químicas, las correspondientes fichas de seguridad, además se inspeccionaron los procedimientos de trabajo que practican mediante listas de chequeo.

Para el análisis de la información obtenida se tuvo en cuenta las características de estudio como: bandas de peligro, rangos y exposiciones potenciales, fichas guías para las estrategias de control, mediante la aplicación de los fundamentos de la evaluación cualitativa por el

método COSHH ESSENTIALS (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT), 2017; Guananga. A, 2019; Herrick, 1998)

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Descripción de las características generales de la población: en la planta procesadora de alimentos cárnicos se encuentra una población trabajadora de 228 personas en la totalidad de sus áreas. La empresa cuenta con 20 almacenes donde se acopian los diferentes productos. La revisión del inventario de cada uno de los almacenes y el chequeo de la información encontrada en la ficha de datos de seguridad permitió determinar que en siete de los almacenes hay de sustancias químicas clasificadas como peligrosas (Tabla 1).

Tabla 1. Sitios de almacenamiento de riesgo potencial.

Nº	Almacenes	PE*	Clasificación
1	Almacén General de Lubricantes	2	Primaria
2	Almacén de Lubricantes Simout		
3	Almacén de Obras Civiles Pinturas MasterPlac		
4	Almacén de Obras Civiles Morteros MasterPlac		
5	Herramientero Mantenimiento		
6	Centro de Análisis	3	Secundaria
7	Cuarto Ondina PTAR	2	

* Personas expuestas

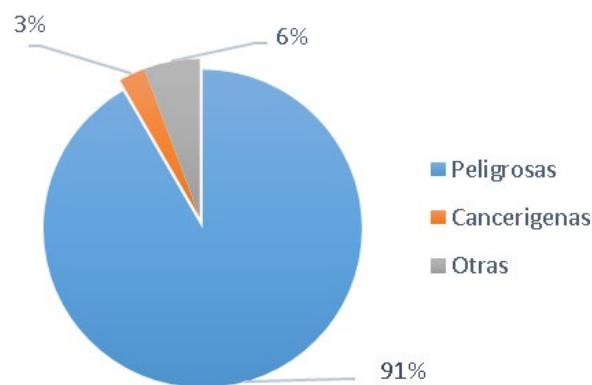
Fuente: Autores.

Como se muestra en la Tabla 1, se determinó que los almacenes generales de lubricantes, lubricantes Simout y obras civiles pinturas Masterpac son los lugares con mayor capacidad de abastecimiento de sustancias químicas y corresponden a una clasificación primaria. Dentro de la clasificación secundaria, con menor contenido de productos químicos, se hallan los almacenes de herramientero-mantenimiento, centro de análisis y cuarto ondina Planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR). Encuéntrense siete personas con exposición directa y constante al manipular o supervisar las áreas de almacenes.

Diagnóstico mediante la descripción cualitativa de las sustancias químicas cancerígenas: se identificaron 407 sustancias químicas (Figura 2), de las cuales solo un 6% no representan clasificación peligrosa y el 91% son potencialmente peligrosas, según su composición físico-química, propiedades toxicológicas y efectos específicos sobre la salud humana.

Se evidenció que un 3% (11 sustancias) de los productos que se manejan en actividades diarias se consideran cancerígenos y altamente tóxicos. Los riesgos para la salud de quienes están expuestos a este tipo de sustancias en

su trabajo es un tema que cada día cobra más importancia porque, en la actividad diaria, al inhalar, manipular o estar cerca de sustancias químicas durante su vida laboral, se pueden inducir en el trabajador alteraciones en la vía aérea dependiendo de la concentración, manipulación, exposición, susceptibilidad del trabajador. Estos agentes químicos pueden producir una diversidad de efectos irritantes alérgicos, tóxicos e incluso cancerígenos (Fierro Valle, 2019; Pratt, 2002).

**Figura 2.** Caracterización de sustancias químicas.

Fuente: Autores.

En la tabla 2, se hace un listado de las 11 sustancias cancerígenas y los hallazgos más

representativos, como lo es su estado de la materia, la cantidad que se maneja por mes y clasificación de potencial cancerígeno, según la clasificación de la categoría del Sistema Globalmente Armonizado (SGA) (Decreto N° 1496 de 2018). La sustancia con mayor uso y exposición es el cemento Portland, con una cantidad de rotación aproximada de 400 kg por mes, que además está categorizada como 1A, es decir, un producto altamente peligroso debido a su composición porque puede contener trazas de sílice cristalina respirable y cromo hexavalente, que están clasificados como carcinógenos para los seres humanos por las Notas Técnicas de Prevención (NTP) y el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC)

(Domingo-Pueyo et al., 2014, International Agency for research on Cancer, 2012).

El Cemento portland puede generar polvo respirable durante su manejo; sin embargo, una sobreexposición podría causar neumoconiosis, una enfermedad respiratoria causada por inhalación de este mineral, o silicosis, una enfermedad respiratoria generada por inhalación de polvo de sílice, situaciones que conllevan a la inflamación y fibrosis del tejido pulmonar (Álvarez, A. et. al 2017; Rahmani et. al 2018). La exposición a polvo respirable se debe monitorear y controlar para evitar daños pulmonares en trabajadores expuestos (Domingo-Pueyo et al, 2014; Argos, 2012).

Tabla 2. Sustancias químicas cancerígenas (¹ **1A:** Cancerígeno para humanos **2:** Probablemente cancerígeno para humanos).

Nombre comercial	Estado	Categoría ¹	Cantidad/mes
Agar YGC Agar	Sólido	2	8 kg
Cemento Portland	Sólido	1A	400 kg
Diclorometano	Líquido	2	1L
DQO Solución B	Líquido	1A	0.5 L
Gasolina	Líquido	2	7.6 L
Loctite 243	Líquido	2	0.05 L
Loctite 515	Líquido	2	0.05L
Sikadur 32 Primer Comp A	Sólido	2	2 kg
Sikadur 32 Primer Comp B	Sólido	2	2 kg
Sikadur Panel Comp A	Sólido	2	2 kg
Sikadur Panel Comp B	Sólido	2	2 kg

Fuente: Autores

Se realizó una amplia revisión de literatura sobre la gestión de riesgo químico y, se recolectó información del inventario y de inspecciones en las diferentes áreas de almacenamiento de la planta. Después de este proceso, se aplicaron los formatos para identificación del riesgo, a través de la lista de chequeo de seguridad, en la utilización de productos químicos basada

en la evaluación cualitativa por el método COSHH ESSENTIALS (Control of Substances Hazardous to Health). Esta es una metodología de evaluación de riesgos para identificar la medida de control adecuada, que ayuda a las empresas a cumplir las normativa sobre control de sustancias (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT), 2017;

Guananga, 2019; Herrick, 1998). En esta etapa se tuvieron en cuenta variables de evaluación del riesgo; condiciones de utilización y medios técnicos de control, envasado y etiquetado de los productos químicos; plan de emergencia; y la vigilancia de la salud, formación e información a los trabajadores.

Tratamiento y análisis de la información: se realizó un análisis cualitativo de las sustancias químicas cancerígenas utilizadas en la empresa mediante la metodología simplificada del riesgo químico de la “caja de herramientas de control químico internacional” orientada por la *Organización Internacional del Trabajo*, que es una guía específica para establecer un esquema de protección en el lugar de trabajo (International Labour Organization (ILO), 2017).

De esta manera se considera la exposición a sustancias químicas peligrosas por vía

inhalatoria y vía dérmica. En el desarrollo del estudio se hizo especial énfasis en el manejo del cemento Portland por las cantidades que se manejan, el personal expuesto y la falta de control en los elementos de protección personal. Por este motivo, las herramientas para la gestión del riesgo químico (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT), 2017), consideran factores relacionados con la exposición por ambas vías, y establecen un nivel de riesgo que se asocia a una estrategia de control para su uso (Figura 3). Estos factores forman el corazón del método de “control banding” desarrollado por HSE (Health and Safety Executive) y COSHH Essentials. Para el análisis de los datos se realizó un estudio cualitativo en cuatro etapas necesarias para evaluar la volatilidad de las sustancias que representan mayor riesgo en la salud de los trabajadores. En este estudio cualitativo se tienen en cuenta los factores mencionados en la Figura 3.



Figura 3. Factores considerados en el procedimiento de evaluación de riesgo químico.

Fuente: Autores.

- **Etapa 1:** peligro para la salud.

En esta etapa se realizó una clasificación de las sustancias químicas de interés según su afectación a la salud, los métodos cualitativos de evaluación de riesgos, parten de los criterios toxicológicos y por tanto de los efectos para la salud, para establecer los distintos

niveles o bandas de peligro, el método COSHH Essentials establece cinco bandas: A, B, C, D y E. Cada una de las cinco bandas (A-E) representa un intervalo de concentración de distribución logarítmica, que se alcanzaría cuando se emplean los métodos de control adecuados y por tanto será el rango objetivo.

Por ejemplo: la banda de peligro B representa un rango objetivo de 0,1 a 1 mg/m³ para polvo, que sería el rango de exposición si se empleara un sistema de extracción localizada, banda de control o abordaje 2. Así, las frases de riesgo (Frases R) se distribuyen dentro de esas cinco bandas o intervalos de concentración. Asignación de Frases R a las bandas o grupos de peligro). (Instituto nacional de

seguridad e Higiene en el trabajo, 2017. p 31). De acuerdo a lo estipulado por las frases de riesgo para las sustancias químicas mediante el uso de las tablas de correspondencias se presenta la tabla de clasificación de riesgo para las 11 sustancias químicas estudiadas, se tuvo en cuenta la clasificación de dichas sustancias mediante sus etiquetas y fichas de datos de seguridad.

Tabla 3. Clasificación en grupos de riesgo según frases R

Nº	Sustancia	Grupo de riesgo*
1	Agar YGC Agar	D
2	Cemento Portland	C, E & S
3	Diclorometano	A & D
4	DQO Solución B	C, D, E & S
5	Gasolina	B, E & S
6	Loctite 243	D&S
7	Loctite 515	D & S
8	Sikadur 32 Primer Comp A	D & S
9	Sikadur 32 Primer Comp B	D, E & S
10	Sikadur Panel Comp A	D & S
11	Sikadur Panel Comp B	C, D, E & S

*(A: 1-10 mg/m³ polvo; 50-500 ppm vapor B: 0,1-1 mg/m³ polvo; 5-50 ppm vapor C: 0,01-0,1 mg/m³ polvo; 0,5-5 ppm vapor D: 0,01 mg/m³ polvo; 0,5 ppm vapor E: Buscar asesoramiento experto S: Prevención o reducción de la exposición dérmica y ocular (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo , 2017. p 33).

Fuente: Autores.

• Etapa 2: exposición potencial.

En esta etapa se realizó la distribución de sustancias según la cantidad usada y la volatilidad o pulverulencia. En la cantidad utilizada, se determina la practicidad y facilidad mediante niveles muy alto, alto, medio, bajo,

evidenciadas en la Tabla 4. En la segunda banda se encontraron los rangos de exposición y exposiciones potenciales, mediante el uso de propiedades físico-químicas (volatilidad y pulverulencia), como se muestra en la Tabla 5.

Tabla 4. Clasificación escala de uso.

Sustancia	Estado	Cantidad	Escala de uso*
Agar YGC Agar	Sólido	kg	Medio
Cemento Portland	Sólido	kg	Medio
Diclorometano	Líquido	mL	Bajo
DQO Solución B	Líquido	mL	Bajo
Gasolina	Líquido	L	Medio
Loctite 243	Líquido	mL	Bajo
Loctite 515	Líquido	mL	Bajo
Sikadur 32 Primer Comp A	Sólido	kg	Medio
Sikadur 32 Primer Comp B	Sólido	kg	Medio
Sikadur Panel Comp A	Sólido	kg	Medio
Sikadur Panel Comp B	Sólido	kg	Majo

* Muy Alto:4 Alto:3 Medio:2 Bajo:1 (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo , 2017).

Fuente: Autores

Tabla 5. Clasificación de volatilidad.

Sustancia	Estado	*CCP	*Volatilidad
Agar YGC Agar	Sólido	Baja	
Cemento Portland	Sólido	Aalta	
Diclorometano	Líquido		Alta
DQO Solución B	Líquido		Baja
Gasolina	Líquido		Media
Loctite 243	Líquido		Baja
Loctite 515	Líquido		Baja
Sikadur 32 Primer Comp A	Sólido	Baja	
Sikadur 32 Primer Comp B	Sólido	Baja	
Sikadur Panel Comp A	Sólido	Baja	
Sikadur Panel Comp B	Sólido	Baja	

* CPP:Capacidad para convertirse en polvo; Volatiliada (Muy alta: 1-10 mg/m³ polvo;50-500 ppm vapor, Alta: 0,1-1 mg/m³ polvo; 5-50 ppm vapor Media: 0,01-0,1 mg/m³ polvo; 0,5-5 ppm vapor Baja: 0,01 mg/m³ polvo; 0,5 ppm vapor) (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo , 2017. p 33).

Fuente: Autores.

- **Etapa 3:** Evaluación de riesgos genérica. Para la etapa de evaluación de riesgo se tuvo en cuenta la combinación de factores de

peligro para la salud y exposición potencial que determinan el nivel de control deseado. Se determinaron cuatro niveles (Abordaje 1,

Abordaje 2, Abordaje 3, Abordaje 4) en función de los parámetros de toxicidad, exposición, nivel de riesgo como se muestra en las tablas 3, 4 y 5, siendo el 4 una consideración especial, ya que es el punto más crítico y de

mayor peligrosidad. En la Tabla 6 se muestra que las sustancias de mayor atención son el cemento portland, DQO solución B, Gasolina, Sikadur 32 Primer Comp B, y Sikadur Panel Comp B.

Tabla 6. Nivel de control específico.

Sustancia	Nivel de control
Agar YGC Agar	Abordaje 3
Cemento Portland	Abordaje 3, Abordaje 4.
Diclorometano	Abordaje 1, Abordaje 3.
DQO Solución B	Abordaje 1, Abordaje 2, Abordaje 4.
Gasolina	Abordaje 2, Abordaje 4.
Loctite 243	Abordaje 2.
Loctite 515	Abordaje 2.
Sikadur 32 Primer Comp A	Abordaje 3.
Sikadur 32 Primer Comp B	Abordaje 3, Abordaje 4.
Sikadur Panel Comp A	Abordaje 3.
Sikadur Panel Comp B	Abordaje 2, Abordaje 3, Abordaje 4.

* El factor de riesgo está dado por el nivel de deficiencia y presenta la siguiente descripción:
Abordaje 4: muy Alto, Abordaje 3: Alto, Abordaje 2: medio, Abordaje 1: bajo,
(Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2017).

Fuente: Autores

● **Etapa 4.** Medida de control.

En esta etapa se tomaron las sustancias que representaba un alto grado de peligrosidad (Abordaje 4). En este tipo de enfoque de control se busca conseguir el control adecuado, en cuanto a su utilización. Mediante fichas guía

para las estrategias de control, asesoramiento directo con ejemplos prácticos, procedimientos de operación, actividades y pautas de actuación. Descrito en hojas de control, así como se muestra en la Tabla 7.

Tabla 7. Hojas de control de tarea

Sustancia	Hoja de control de la tarea (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT), 2017)
Cemento Portland	Hoja 3, Hoja 4.
DQO Solución B	Hoja 1, Hoja 2, Hoja 4.
Gasolina	Hoja 2, Hoja 4.
Sikadur 32 Primer Comp B	Hoja 3, Hoja 4.
Sikadur Panel Comp B	Hoja 4.

Fuente: Autores

Según el número de abordaje, las sustancias que poseen un alto rango de riesgo químico y volatilidad son: Cemento Portland, DQO Solución y Gasolina. Estas sustancias tienen un nivel de deficiencia numero 4 (muy alto), que corresponde a un control especial. Se debe optar por seguir medidas específicas y obtener orientación de personal experto, considerando que son sustancias que pueden dispersarse con facilidad en el aire y causar efectos muy graves para la salud, debido a los periodos de contacto, y desencadenar en toxicidad múltiple, debido a que su abordaje de peligro tiene clasificación muy alta. Sikadur 32 Primer Comp B y Sikadur Panel Comp B son sustancias que presentan un rango medio del nivel de riesgo cancerígeno. Las demás sustancias poseen de igual manera un riesgo cancerígeno, pero no tienen alta capacidad para dispersarse en el ambiente, por lo que las personas más afectadas son las que tienen contacto directo con el producto.

4. CONCLUSIONES

Mediante el diagnóstico de inventario, se identificaron 407 sustancias en la planta procesadora de alimentos cárnicos, de las que el 91% se clasifican como sustancias químicas peligrosas; un 6% no presentan riesgo a la salud; y el 3% restante corresponde a sustancias químicas con potencial efecto cancerígeno. Esas sustancias son el cemento portland, DQO solución B, Gasolina, Sikadur 32 Primer Comp B, Sikadur Panel Comp B, determinadas por la evaluación de riesgo como nivel de abordaje 4, siendo considerado de carácter especial por ser el punto más crítico y de mayor peligrosidad.

El estudio desarrollado sirve de punto de partida en el análisis de la situación actual de los riesgos que pueden sufrir los empleados de la empresa y cuál es el sector más crítico, De donde se pueden desprender futuras investigaciones y controles de vigilancia, que

proporcionen información válida y confiable para el diseño de intervenciones para el control del cáncer relacionados a enfermedades laborales asociada a factores como el tiempo de exposición y la concentración.

Comentarios: se adiciona material suplementario donde se relacionan algunas tablas complementarias tomadas de INSHT (2017), Así como ejemplo de hojas de control para el cemento portland, según especificaciones Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT), 2017.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

Primer autor (Ángela Arias): metodología, investigación, análisis de datos, conceptualización, escritura – borrador original. **Segundo Autor: (Efren Ramos):** escritura – revisión y edición **Tercer autor (Zuly Delgado):** investigación, conceptualización, análisis de datos, escritura – revisión y edición.

LITERATURA CITADA

- Álvarez, A., Zambrano, V., Mazzini, M., y Zambrano, W. (2017). Mucosa nasal y determinación de alteraciones, citopatológicas por exposición al cemento. *Dominio de las Ciencias*, 3(4), 602-612.
- Argos. (2012). "Portland Cement HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD." :9. Argos. <https://www.argos.co/Media/USA/Page/sds/Argos-Portland-Cement-Safety-Data-Sheets-Spanish.pdf>
- Arroyave E, A. (2010). serie de observaciones, demostró la existencia de cáncer de escroto en unos operarios que tenían como oficio la limpieza de chimeneas en Londres. (Tesis de master). Universidad Politécnica de Valencia. Valencia
- Cabrera, J., y Alvarez X. (2018). Identificación de Riesgos Laborales En Los Talleres de Metales, Maderas, Cerámicas y Aula de Pintura En La Facultad de Artes de La Universidad de Cuenca. *Revista de La Facultad de Ciencias Químicas*. Cuenca. p. 1-6.
- Calera, R., y Alfonso, A. (2005). Riesgo Químico Laboral: Elementos Para Un Diagnóstico En España. *Revista Española de Salud Pública*. 79(2): 283-95.

- CISPROQUIM, Consejo Colombiano de Seguridad. (2012). GUÍAS AMBIENTALES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE. p 167.
- Domingo-Pueyo, A., Valero, S., y Wanden-Berghe, C. (2014). EFFECTS OF OCCUPATIONAL EXPOSURE TO CHROMIUM AND ITS COMPOUNDS: A SYSTEMATIC REVIEW. Archivos de Prevención de Riesgos Laborales 17(3): 142–53. Doi: <https://doi.org/10.12961/aprl.2014.17.3.03>
- Fierro Valle, L. P. (2019). *Enfermedades respiratorias y factores de riesgo por exposición a sustancias químicas en los empleados de la empresa Industrias Químicas ASPROQUIN LTDA durante el segundo semestre del 2018* (Tesis de especialización). Universidad de Manizales.
- Gil, M., Gamboa, O., y Orjuela, M. E. (2015). Antecedentes ocupacionales documentados en la Historia clínica de pacientes con diagnóstico de cáncer pulmonar. *Revista Colombiana de Cancerología*, 19(3), 156-165.
- Guananga, A (2019). *Evaluación Higiénica Cualitativa Del Riesgo Químico Por Exposición a Sustancias Químicas Peligrosas En Un Laboratorio de Análisis Químico Ambiental* (Tesis de maestría). Universidad de Cuenca. Cuenca.
- Herrick, R. (1998). "HIGIENE INDUSTRIAL." en *Encyclopedic de salud y seguridad*, Madrid, pp 30–32
- Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT). (2017). HERRAMIENTAS PARA LA GESTIÓN DEL RIESGO QUÍMICO. Barcelona: Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. <https://www.insst.es/documents/94886/96076/Herramientas+para+la+gestion+del+riesgo+quimico.pdf/ca44ff68-bde2-4b96-af67-1477f9f0bf76?t=1527065689115>
- International Agency for research on Cancer. (2012). A Review of Human Carcinogens. *Biological Agents*, 100 B, p. 485.
- International Labour Organization (ILO). (2017). "International Chemical Control Toolkit.", Identification of the skin and eye contact hazards (Group S). https://www.ilo.org/legacy/english/protection/safework/ctrl_banding/toolkit/icct/guide.pdf
- Kim, M., y Hoon S. (2018). Evaluation of a Chemical Risk Assessment Method of South Korea for Chemicals Classified as Carcinogenic, Mutagenic or Reprotoxic (CMR). *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 31 (4), pp 491–501. <https://doi.org/10.13075/ijo-meh.1896.01125>.
- Ministerio de Salud. (2018). Fondo Colombiano de enfermedades de alto costo. *Situación del cáncer en la población adulta atendida en el SGSSS de Colombia*. 1-290.
- Ministerio del Trabajo. (2014). Instituto Nacional de Cancerología (ESE). Sistema de Vigilancia Epidemiológica Del Cáncer Ocupacional' (SIVECAO)."': 116.
- Naciones Unidas. (2015). SISTEMA GLOBALMENTE ARMONIZADO DE CLASIFICACIÓN Y ETIQUETADO DE PRODUCTOS QUÍMICOS (SGA), 578.
- Pratt, I. (2002). Global Harmonisation of Classification and Labelling of Hazardous Chemicals. *Toxicology Letters*, 128(1–3), 5–15. Recuperado de <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S037842740100529X> (22 de marzo de 2019).
- PNUMA, Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente, (2007). *Enfoque Estratégico Para La Gestión de Productos Químicos a Nivel Internacional*. Ginebra.
- Rahmani, A., Almatroudi, A., Babiker, A., Khan. A., y Alsahli, M. (2018). Effect of Exposure to Cement Dust among the Workers: An Evaluation of Health Related Complications. *Open access Macedonian journal of medical sciences*, 6(6), pp 1159-1162.
- Sánchez, F., y Peláez, J. (2014). Eficacia de Las Medidas Preventivas y Evaluación Del Riesgo Químico En Una Empresa Avícola. *Revista Colombiana de Salud Ocupacional*, 4(2), 5–11.
- Sistema globalmente Armonizado de Clasificación y etiquetado de productos químicos (SGA) (2013), Anexo 1 tablas Resumen de la Clasificación y etiquetado, Quinta Ed, Revisada, Naciones Unidas, Nueva York y Ginebra, P,269-286. <https://unece.org/fileadmin/DAM/trans/danger/publi/ghs/rev05/Spanish/ST-SG-AC10-30-Rev5sp.pdf>
- UNIÓN SINDICAL DE MADRID REGIÓN DE CC.OO. (2006). *Exposición Laboral a Productos Químicos En La Comunidad de Madrid*. Madrid.

Conflictos 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.

RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL (PGPR): UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA 1990-2019

PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA (PGPR): A SYSTEMATIC REVIEW 1990-2019

**¹Anny Melissa Posada Castaño, ²Diana Patricia Mejía Durango,
³Diana Polanco-Echeverry, ⁴Jaiberth Antonio Cardona Arias**

¹ Microbióloga Industrial y Ambiental, MSc (estudiante) en Microbiología Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

² Microbióloga Industrial y Ambiental, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

³ PhD Agroecología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

⁴ MSc Epidemiología, MSc Economía Aplicada, PhD (candidato) Salud Pública, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

¹anny.posada@udea.edu.co, ²diana.mejiad@udea.edu.co,

³diana.polanco@udea.edu.co, ⁴jaiberth.cardona@udea.edu.co

Citación: Posada, A., Mejía, D., Polanco-Echeverry, D., y Cardona, J. (2021). Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR): Una revisión sistemática 1990-2019. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 161 – 178.

DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.4040>

RESUMEN

Contextualización: actualmente se utilizan grandes cantidades de agroquímicos para aumentar la productividad agrícola, lo cual ha acarreado múltiples problemáticas ambientales que podrían subsanarse con el uso de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR), fomentando el desarrollo de una agricultura sostenible.

Vacío de conocimiento: la información se encuentra dispersa y, a la fecha, no existe un análisis sistemático que permita una descripción precisa de las investigaciones sobre PGPR, lo cual representa una limitación para su aplicación y el desarrollo de investigaciones experimentales posteriores.

Objetivos: describir las principales aplicaciones de las PGPR en investigaciones originales a nivel mundial.

Metodología: la revisión sistemática se realizó en tres bases de datos multidisciplinarias siguiendo las recomendaciones Cochrane y PRISMA. Se garantizó exhaustividad, reproducibilidad y evaluación de la calidad. Los análisis se basaron en frecuencias e intervalos de confianza del 95% para las proporciones.

Resultados y conclusiones: se identificaron 2.525 estudios y solo 160 cumplieron el protocolo de selección. La mayoría de los estudios proceden de la India; los principales géneros microbianos descritos fueron *Bacillus*, *Pseudomonas*

y *Enterobacter*; y los mecanismos PGPR más investigados fueron: producción de ácido indolacético (AIA), solubilización de fosfato, antagonismo y producción de sideróforos. Las especies vegetales más frecuentes en los estudios fueron maíz, tomate, trigo y arroz, en las cuales los principales efectos de las PGPR se relacionaron con el peso y la longitud de la raíz y de la planta en general. Se concluye que esta revisión identificó los géneros de PGPR, mecanismos de acción PGPR y las especies vegetales de mayor frecuencia en los estudios, variables útiles para resumir la evidencia en este campo del conocimiento e identificar las principales líneas de acción en futuras investigaciones tendientes a mejorar la salud, producción de cultivos y sostenibilidad ambiental.

Palabras clave: agricultura sostenible; cultivos; microorganismos benéficos; disponibilidad de nutrientes; biocontrol; PGPR; sistematización de estudios

ABSTRACT

Contextualization: nowadays, large quantities of agrochemicals are used to increase agricultural productivity; this has caused many environmental problems that can be solved using Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR), encouraging sustainable agriculture.

Knowledge gap: information is often scattered and, to date, there is no systematic analysis that allows an accurate description of studies about PGPR, which represents a limitation in further experimental research developments.

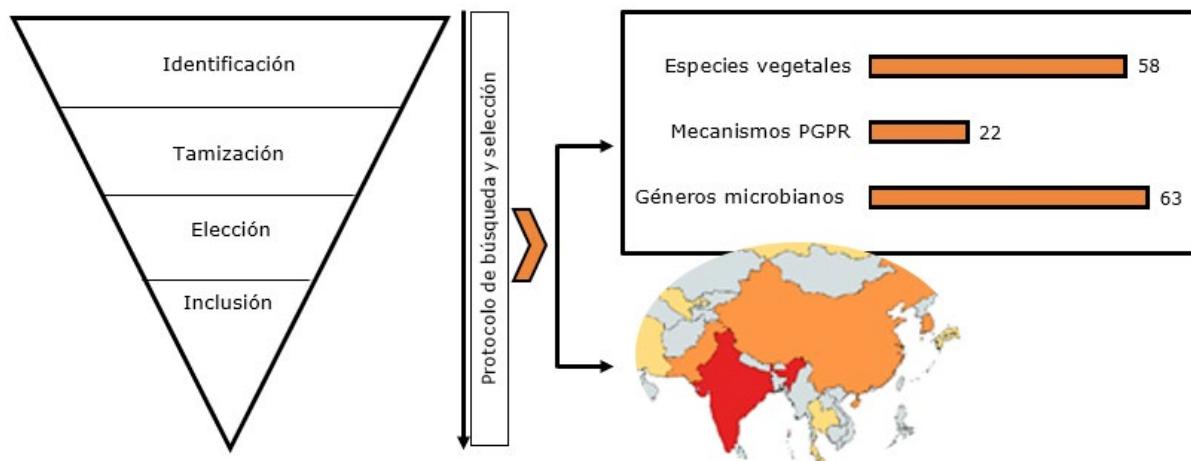
Purpose: describe the main applications of PGPR in original research worldwide.

Methodology: the systematic review was carried out in three multidisciplinary databases following the Cochrane and PRISMA recommendations. Completeness, reproducibility and quality assessment were guaranteed. The analyzes were based on frequencies and 95% confidence intervals for the proportions

Results and conclusions: 2,525 studies were identified and only 160 met the selection protocol. The majority of studies are from India; the main microbial genera described were *Bacillus*, *Pseudomonas* and *Enterobacter*; and the most investigated PGPR mechanisms were indolacetic acid production (AIA), phosphate solubilization, antagonism and siderophores production. The most frequent plant species in the studies were corn, tomato, wheat and rice, in which the main effects of the PGPR were related weight and length of the root and the plant in general. It is concluded that this review identified the genres of PGPR, mechanisms of action PGPR and plant species of greater frequency in the studies, useful variables to summarize the evidence in this field and identify the main lines of action in future research aimed at improving health, crop production and environmental sustainability.

Keywords: sustainable agriculture; crops; beneficial microorganisms; biocontrol; nutrient availability; PGPR; studies systematization

RESUMEN GRÁFICO



Fuente: autores

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la agricultura intensiva se encuentra asociada con múltiples problemáticas ambientales que incluyen enfermedades, sequía, deficiencia de nutrientes, erosión, pérdidas de la biodiversidad, y fragmentación del paisaje, entre otros. Además, el uso masivo de compuestos químicos conlleva un incremento de los costos de producción para los agricultores de todo el mundo y conduce a una importante contaminación ambiental; así como a la disminución a largo plazo de la productividad de los cultivos (Jewell *et al.*, 2010).

En este contexto, las prácticas agrícolas se deben dirigir a una agricultura sostenible con el fin de mantener el rendimiento de los cultivos y preservar los agroecosistemas. Una de las alternativas para lograr la sostenibilidad en la producción agrícola es el uso de microorganismos del suelo, como las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR, Plant Growth Promoting Rhizobacteria), que colonizan activamente las rizósfera, ejerciendo un efecto benéfico sobre el desarrollo de las plantas. Las PGPR pueden

influir en el crecimiento de las plantas mediante mecanismos directos como la fijación de nitrógeno, la solubilización de minerales y la producción o cambio en la concentración de hormonas vegetales; y por mecanismos indirectos como producción de metabolitos anti-fúngicos, sideróforos, actividad lítica, inducción de resistencia sistémica, competencia y desplazamiento (Schroth y Becker, 1990; Kloepper, 1993).

Por lo anterior, en las últimas décadas se ha incrementado el interés por el estudio de este grupo de bacterias, no solo por su potencial para la estimulación del crecimiento de cultivos o como agentes de biocontrol, sino además por su uso prometedor en la descontaminación de suelos, reforestación y recuperación de ecosistemas. Es por esto que se ha hecho necesario realizar estudios experimentales que permitan evaluar el papel de las PGPRs en la agricultura. Mukhtar *et al.* (2017) demostraron el efecto de bacterias solubilizadoras en el crecimiento del trigo; Xiang *et al.* (2017) se centraron en la evaluación del potencial de las PGPR como

agentes de biocontrol en soja. También se ha demostrado la influencia de las PGPRs para estimular el crecimiento de las plantas en diferentes condiciones de estrés, como lo presentan Mahmood *et al.* (2016) bajo condiciones de salinidad. De manera similar, Rizvi y Khan (2018) evaluaron el potencial PGPR bajo condiciones de estrés por metales. También se han llevado a cabo diversas revisiones narrativas, por ejemplo, Etesami y Maheshwari (2018) describen los mecanismos de acción a través de los cuales las PGPR podrían aliviar el estrés abiótico en las plantas, mientras que la revisión de Mhatre *et al.* (2018) se concentró en las estrategias de control biológico de nematodos basados en PGPR.

Estos antecedentes evidencian la disponibilidad de investigaciones sobre las PGPR; sin embargo, la información se encuentra dispersa y, a la fecha, no existe un análisis sistemático y exhaustivo que describa y sintetice de forma global las investigaciones sobre PGPR, así como los mecanismos de acción y su efecto sobre diferentes cultivos, lo cual representa una limitación en este campo del conocimiento y una barrera para el desarrollo de investigaciones experimentales posteriores. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue realizar un análisis sistemático de las publicaciones sobre PGPR en el ámbito mundial, permitiendo sintetizar la evidencia de los mecanismos de acción, variables de respuesta de las plantas, microorganismos y plantas utilizadas en la evaluación del potencial PGPR.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio: revisión sistemática de la literatura científica, bajo el enfoque amplio

de Cochrane, que corresponde a un resumen completo de la evidencia. Este enfoque es una aproximación práctica para resumir la literatura científica mundial disponible en un campo específico del conocimiento, actualizar la evidencia alrededor de una temática en particular, agrupar las investigaciones disponibles, analizar las tendencias, y generar hipótesis o identificar áreas relevantes para orientar estudios posteriores (Centro Cochrane Iberoamericano, 2012).

Protocolo de investigación de acuerdo con PRISMA (Urrutia y Bonfill, 2010)

Identificación de artículos y estrategia de búsqueda: realizó una búsqueda sistemática de literatura en las bases de datos ScienceDirect, PubMed y Scielo. En ScienceDirect se empleó la opción “Título/Resumen/Palabras claves” de la búsqueda avanzada, ingresando el término “PGPR” y “Plant growth promoting rhizobacteria”. En PubMed y Scielo se usó la opción “Título/Resumen” de la búsqueda, ingresando los mismos términos. Se exportaron las referencias encontradas, junto con su respectivo resumen, a un administrador de referencias Zotero, en el que se eliminaron las referencias duplicadas. De manera retrospectiva, no se aplicaron restricciones y, de manera prospectiva, la última actualización del protocolo se realizó en julio del 2019, de esta forma se estableció la ventana de tiempo de esta revisión entre 1990, que corresponde a la década en que se halló la publicación más antigua, y el 2018, con una actualización manual para identificar nuevas publicaciones en 2019.

Tamizado: se incluyeron investigaciones con los términos de búsqueda en título, resumen o palabras clave, investigaciones originales (con

lo cual se excluyeron editoriales y revisiones de tema) y estudios en los cuales el desenlace central se enfocaba en rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal.

Elección: esta fase se excluyeron los artículos en los que no fue explícita la evaluación del mecanismo promotor de crecimiento vegetal por parte de microrganismos; que no realizaran ensayos *in vitro*; y que incluyeran pruebas de estimulación *in vivo* bajo condiciones no inducidas, es decir, se excluyeron aquellos estudios donde realizaron pruebas *in vivo* bajo condiciones ambientales controladas (cámara de crecimiento), esto con el fin de describir el efecto directo de las PGPRs sobre el crecimiento de las plantas, sin el control de factores ambientales sujetos a las pruebas experimentales. De igual manera, se excluyeron los artículos que no clasificaran de manera taxonómica los microorganismos evaluados mediante técnicas moleculares, y estudios que evaluaran microorganismos genéticamente modificados, de forma que se sistematizara las publicaciones sobre PGPR en condiciones naturales y experimentalmente reproducibles.

Inclusión: se incluyeron artículos originales de investigación reportados en la literatura científica comprendidos en los años 1990-2018 extrayendo las variables de título, autores, año, país, mecanismo de las PGPR, tipo de planta y sus parámetros de crecimiento, así como el microorganismo evaluado. Se trajeron los datos de cada publicación y se

tabularon en un archivo plano estandarizado en Excel.

Reproducibilidad de la revisión sistemática: la evaluación de la reproducibilidad del estudio se llevó a cabo mediante la implementación de todo el proceso de búsqueda y selección de artículos, así como la recopilación de información, por dos revisores independientes, y el desacuerdo se resolvió por consenso o verificación por un tercero.

Análisis de la información: con las variables del estudio, se realizó una síntesis cualitativa de la información mediante frecuencias absolutas (n) y relativas (%), así como por intervalos de confianza del 95% para las proporciones mediante el estadístico $P \pm \{Z\alpha/2 * [\sqrt{(PQ/n)}]\}$, donde P es la proporción, Zα/2 el nivel de confianza (del 95%), Q es el complemento de P y n el número de datos analizados (o la frecuencia absoluta). Para describir la distribución de los estudios según el país de origen, se realizó un mapa empleando la plataforma *MapChart Create Custom Map*, y tomando tres rangos, el primero incluyó los países con 1-10 artículos, el segundo era para países con 11-20 estudios y el tercero abarca los países con más de 20 manuscritos.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Descripción de los artículos incluidos

Se identificaron 2,525 artículos de investigación de los cuales se tamizaron con lectura de títulos y resumen 1,570, de estos solo 160 cumplieron con el protocolo de esta revisión (Figura 1).

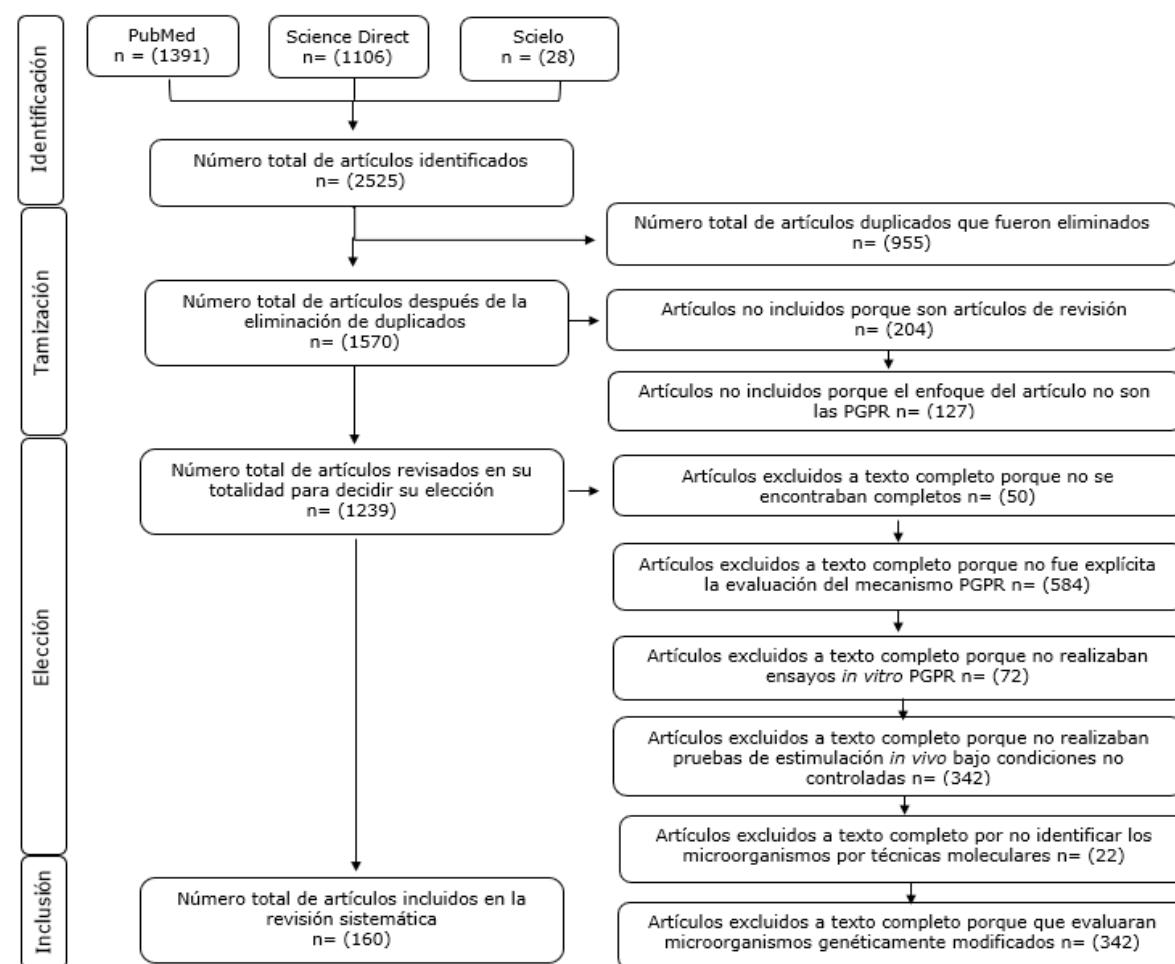


Figura 1. Flujograma de búsqueda y selección de los estudios incluidos en esta revisión acorde con las cuatro fases de la guía PRISMA.

Fuente: Autores.

De los 160 estudios (ver Anexo), el 74.4% ($n=119$) corresponde a investigaciones realizadas en Asia; 18.1% ($n=29$) en América; 5.6% ($n=9$) en Europa; y 1.9% ($n=3$) en África, siendo India ($n=58$), China ($n=18$) y Corea del sur ($n=15$) los países con el mayor número de investigaciones (Figura 2).

Lo anterior evidenció que la mayoría de estudios proceden de Asia, principalmente de la India, esto podría relacionarse de manera indirecta con el hecho de que este país, sumando a Estados Unidos, son potencias agrícolas mundiales. Aunque el país asiático presenta mayor investigación en agroecología, al tiempo que se encuentra entre los principales productores de varios cultivos, contando con la mayor

área cultivada de trigo, arroz y algodón; además, es el segundo mayor productor de arroz, trigo, algodón, caña de azúcar, frutas, verduras y té (World Bank, 2012; Deshpande, 2017). También se debe destacar que el arroz es el principal cultivo alimentario no solo en India sino también en el mundo, resaltando además que el 90% del arroz mundial se produce en Asia y según estadísticas de Agriculture Market Information System (AMIS) en el 2018, India produjo 115.63 millones de toneladas de arroz. Por lo anterior, es plausible afirmar que en este país se hace una búsqueda de nuevas técnicas agrícolas amigables con el ambiente que generen a su vez un incremento en el rendimiento de los cultivos. Esto se evidenció en el estudio de Wezel y Soldat (2009), donde demostraron

que India se encuentra dentro de los países con más publicaciones sobre agroecología, incrementando el interés en el desarrollo de diferentes tecnologías que involucra el aislamiento y evaluación de microorganismos benéficos para las plantas como las PGPR (Lavakush *et al.*, 2014; Karthiba *et al.*, 2010).

Investigación sobre PGPR en América

Si bien India es el país con mayor número de

tocolo de búsqueda y selección, cabe resaltar que existen otros países latinoamericanos que también han contribuido en el estudio de las PGPR, aunque en menor medida. Se encontró que, en Colombia, las investigaciones obtenidas se encontraban enfocadas en la bioprospección de PGPR, la evaluación de sus mecanismos de acción, así como su efecto sobre el crecimiento vegetal. En tal sentido, Posada *et al.* (2016) exploraron una estrategia de bioprospección

que podrían ser útiles para desarrollar un producto biotecnológico para promover el crecimiento de las plantas de banano;

Pérez-Pazos y Sánchez-López (2017) evaluaron el efecto de bacterias asociadas al cultivo de batata, con capacidad de promover el crecimiento vegetal en plántulas de batata.

A estos se suman estudios de investigadores de Brasil y México que han realizado aportes relevantes en este campo del conocimiento. A este respecto, Braga *et al.* (2018) caracterizaron aislados bacterianos obtenidos de las raíces del arroz y determinaron su capacidad para promover el crecimiento de las plantas, mientras que De Gregorio *et al.* (2017) evaluaron el efecto de inoculantes PGPR en semillas de soja sobre los parámetros de crecimiento. En México por su parte, Morgado González *et al.* (2015) evaluaron el efecto de cepas PGPR en la variedad comercial de caña; Martínez *et al.* (2013) identificaron bacterias aisladas de la rizosfera del tomate en función de sus propiedades promotoras del crecimiento vegetal, y evaluaron su efecto en el desarrollo de plántulas de tomate y pimiento.

Géneros microbianos en los PGPR de los estudios incluidos

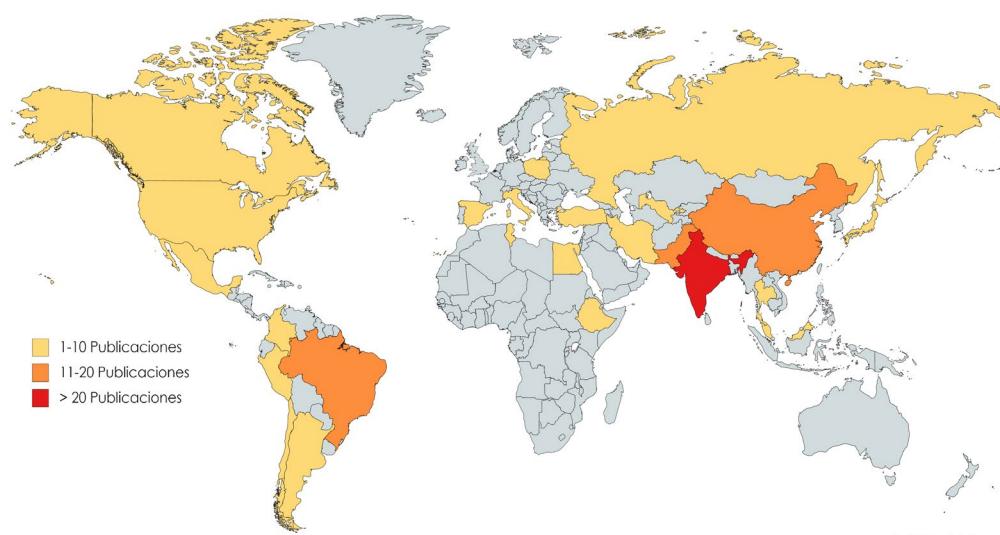


Figura 2. Países de origen de las publicaciones sobre las aplicaciones de las PGPR encontradas en la revisión sistemática

Fuente: Autores

Como resultado de la revisión, se identificaron 63 géneros microbianos diferentes, los más estudiados fueron *Bacillus* en el 43.1% (IC95% = 35.1-51.1) de los estudios, *Pseudomonas* en el 41.5% (IC95% = 33.3-49.2) y *Enterobacter* en el 10.6% (IC95% = 5.5-15.7), en la tabla 1 aparecen los demás géneros identificados en la revisión. Además, los siguientes géneros fueron analizados con una frecuencia de 0.6% (n=1 estudio): *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Citrobacter*, *Comamonas*, *Ensifer*, *Enterococcus*, *Exiguobacterium*, *Fictibacillus*, *Gluconacetobacter*, *Gordonia*, *Hartmannibacter*, *Lysinibacillus*, *Lysobacter*, *Mesorhizobium*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Phosphorobacillus*, *Planococcus*, *Promicromonospora*, *Providencia*, *Rhodobacter*, *Rhodococcus*, *Rhodopseudomonas*, *Shewanella*, *Sphingobacterium*, *Sporosarcina*, *Streptomyces*, *Tetrathiofobacter*, *Trabulsiella*, *Variovorax*, *Virgibacillus* y *Viridibacillus*. A continuación, se explicitan algunas características importantes de los tres géneros más estudiados en PGPR.

En particular, *Pseudomonas* es un género con capacidad biocontroladora, responsable de la supresión natural de algunos patógenos transmitidos por el suelo, estimulador del crecimiento de las plantas y solubilizador de minerales; además, presenta una alta tasa de crecimiento en condiciones *in vitro*, lo cual facilita su producción en masa (Howell y Stipanovic, 1979; Kraus y Loper, 1992; Oteino *et al.*, 2015). Cabe resaltar que Howell y Stipanovic (1980) y Ramamoorthy *et al.* (2010) pudieron evidenciar que las *Pseudomonas fluorescens* producen un amplio espectro de metabolitos bioactivos; es decir, antibióticos, sideróforos, volátiles y sustancias promotoras del crecimiento vegetal, permitiéndole una mejor adaptación al estrés ambiental. Lo anterior podría explicar el gran interés como objeto de estudio en diversas investigaciones.

Así mismo, el género *Bacillus* ha sido ampliamente estudiado por su capacidad para formar endosporas, lo que le confiere resistencia ante condiciones ambientales adversas. Además, posee un gran potencial para estimular el crecimiento vegetal por medio de la sín-

giberalinas, entre otras), la solubilización de fosfato, y la producción de diferentes metabolitos con actividad antagónica, tales como los lipopéptidos tipo fenginicina y surfactina, que estimulan la resistencia sistémica inducida, e inician la respuesta inmune en las plantas (Glickmann y Dessaix, 1995; Pliego *et al.*, 2011; Xie *et al.*, 2017). Dadas las particularidades metabólicas del género *Bacillus* y su habilidad para formar endosporas, estas bacterias se presentan como una alternativa altamente promisoria para la formulación de productos biotecnológicos de uso agrícola (Bowen y Rovira, 1999).

Otro género destacable durante la revisión fue *Enterobacter*, el cual tiene la capacidad de conferir resistencia al estrés salino, ya que posee genes que regulan la homeostasis iónica, facilitando la adaptación de las plantas en condiciones de alta salinidad (Padan, 2008; Sandhya *et al.*, 2010). Las *Enterobacter* spp. tienen la habilidad de producir fitohormonas (citoquininas, AIA, entre otras), inhibir el crecimiento de fitopatógenos y de solubilizar fosfato, lo cual se ha documentado en diferentes estudios (Mehnaz *et al.*, 2001; Hynes *et al.*, 2008; Oteino *et al.*, 2015). A pesar de las características PGPR dadas por las *Enterobacter*, se encontró que, en comparación con *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp., fue el género menos reportado en las publicaciones, lo cual se puede deber a que es un género relacionado con infecciones oportunistas de gran importancia clínica, lo cual limita su uso como PGPR (Chart, 2012; Dijun *et al.*, 2016).

Tabla 1. Distribución porcentual de los géneros microbianos de PGPR estudiados en las publicaciones encontradas en la revisión sistemática.

Género	n	%	IC 95%
<i>Bacillus</i>	69	43.1	35.1-51.1
<i>Pseudomonas</i>	66	41.3	33.3-49.2
<i>Enterobacter</i>	17	10.6	5.5-15.7
<i>Paenibacillus</i>	16	10.0	5.0-15.0
<i>Azotobacter</i>	12	7.5	3.1-12.0
<i>Burkholderia</i>	12	7.5	3.1-12.0
<i>Serratia</i>	12	7.5	3.1-12.0
<i>Azospirillum</i>	8	5.0	1.3-8.7
<i>Ochromobactrum</i>	6	3.8	0.5-7.0
<i>Klebsiella</i>	5	3.1	1.0-7.1
<i>Pantoea</i>	5	3.1	1.0-7.1
<i>Stenotrophomonas</i>	5	3.1	1.0-7.1
<i>Achromobacter</i>	4	2.5	0.7-6.3
<i>Acinetobacter</i>	4	2.5	0.7-6.3
<i>Brevibacillus</i>	3	1.9	0.4-5.4
<i>Novosphingobium</i>	3	1.9	0.4-5.4
<i>Rhizobium</i>	3	1.9	0.4-5.4
<i>Aeromonas</i>	2	1.3	0.2-4.4
<i>Alcaligenes</i>	2	1.3	0.2-4.4
<i>Aneurinibacillus</i>	2	1.3	0.2-4.4
<i>Cellulosinmicrobium</i>	2	1.3	0.2-4.4
<i>Chryseobacterium</i>	2	1.3	0.2-4.4
<i>Delftia</i>	2	1.3	0.2-4.4
<i>Erwinia</i>	2	1.3	0.2-4.4
<i>Flavobacterium</i>	2	1.3	0.2-4.4
<i>Herbaspirilum</i>	2	1.3	0.2-4.4
<i>Sphingomonas</i>	2	1.3	0.2-4.4
<i>Staphylococcus</i>	2	1.3	0.2-4.4

Fuente: Autores.

Mecanismos de PGPR en los estudios incluidos

En total, se identificaron 22 mecanismos PGPR diferentes, siendo AIA (ácido indolacético), solubilización de fosfato, antagonismo y producción de sideróforos los de mayor frecuencia (Tabla 2). Esta evidencia se puede deber a que son mecanismos PGPR que hacen relación tanto a la estimulación del crecimiento como a la actividad biocontroladora, haciendo alusión a la producción de fitohormonas, solubilización de nutrientes e inhibición de fitopatógenos, lo que deriva en efectos benéficos para el desarrollo de las plantas (Glick y Bashan, 1997; Van Loon *et al.*, 1998; Whipps, 2001; Zahir *et al.*, 2003). El AIA, es una de las auxinas más estudiadas dado que produce un incremento en el crecimiento vegetal, además está involucrada en la diferenciación y en la elongación del tallo (Arshad y Frankenberger, 2016). Por otra parte, la solubilización de minerales como el hierro y fosfatos son comúnmente asociados con las PGPR, debido a que facilitan la disponibilidad de estos nutrientes en el suelo y aumentan la productividad de las plantas.

Con respecto a la captación de hierro, esta actividad se encuentra relacionada con el uso de sideróforos bacterianos por las plantas, mientras que la disponibilidad de fosfato está relacionada con la producción de enzimas del grupo de las fosfatasas, lo cual permite un incremento significativo en la toma de este macronutriente, importante para los procesos metabólicos de las plantas (Van Loon *et al.*, 1998; Bakker *et al.*, 2003; Guang-Can *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2015). Aunque se ha demostrado que diferentes géneros bacterianos

presentan este rasgo, la mayor parte de los reportes corresponden a *Pseudomonas* y *Bacillus* (Bowen y Rovira, 1999; Zahir *et al.*, 2003).

La capacidad antagónica resulta ser un mecanismo crucial para la defensa de las plantas, ya que permite la inhibición de microorganismos causantes de diversas enfermedades (Glick y Bashan, 1997; Whipps, 2001); además, la evaluación experimental de los mecanismos mencionados con anterioridad, no involucran una alta complejidad a nivel de laboratorio, ni representa un alto costo económico, ya que se emplean metodologías de fácil ejecución (Uzoh *et al.*, 2018).

Especies vegetales en las que se ha estudiado de efecto de las PGPR

Dichos mecanismos se evaluaron en 58 especies vegetales diferentes, con mayor frecuencia en maíz, tomate, trigo y arroz (Tabla 3). Además, las siguientes especies se estudiaron en una frecuencia de 0.6% (n=1) estudios: cañuela, agropiro, alfalfa, lavanda, amapola, arveja, batata, banano, bufera, mungo, calabaza, castor (ricino), cebada, ciruelo, coco, eucalipto, encina, jengibre, kikuyu, kiwi, almorta lolium, mango, manzano, margaritas, nabo, sorgo, papa, palma de aceite, tulsi, trebol rojo y timothy. Es posible que se realice con mayor frecuencia esta evaluación en los estudios de las especies maíz, tomate, trigo y arroz, debido a su rápido crecimiento, que permite evaluar el efecto de las PGPR's en las diferentes etapas del crecimiento vegetal. Además, cabe resaltar que son cultivos de gran importancia a nivel mundial, debido a la alta demanda alimentaria (Deshpande, 2017; Agricultural Market Information System (AMIS) 2018).

Tabla 2. Distribución de frecuencias de los mecanismos PGPR identificados en los estudios descritos en la revisión sistemática.

Mecanismos PGPR	n	%	IC95%
Ácido indolacético (AIA)	107	66 9	59 3-74 5
Solubilización de fosfato	97	60 6	52 7-68 5
Antagonismo	63	39 4	31 5-47 3
Producción de sideróforos	58	36 3	28 5-44 0
Ácido 1-Aminociclopropano-1 carboxílico (ACC)	46	28 8	21 4-36 1
Ácido cianhídrico (HCN)	35	21 9	15 2-28 6
Fijación de nitrógeno	27	16 9	10 8-23 0
Amoniaco	12	7 5	3 1-12 0
Control biológico	8	5 0	1 3-8 7
Solubilización de zinc	6	3 8	0 5-7 0
Amonio	5	3 1	1 0-7 1
Solubilización de potasio	5	3 1	1 0-7 1
Ácido giberélico	3	1 9	0 4-5 4
Inducción de resistencia sistémica (IRS)	3	1 9	0 4-5 4
Nitrogenasa	3	1 9	0 4-5 4
Ácido salicílico	2	1 3	0 2-4 4
Ácidos orgánicos	2	1 3	0 2-4 4
Giberalinas	2	1 3	0 2-4 4
ATB (antibióticos)	1	0 6	0 0-3 4
Solubilización de silicio	1	0 6	0 0-3 4
Compuestos orgánicos volátiles (COV)	1	0 6	0 0-3 4

Fuente: Autores.

Tabla 3. Frecuencia de las especies vegetales en las que se ha estudiado de efecto de las PGPR.

Planta estudiada	n	%	IC95%
Maíz	24	15 0	9 2-20 8
Tomate	24	15 0	9 2-20 8
Trigo	13	8 1	3 6-12 7
Arroz	12	7 5	3 1-11 9
Soja	9	5 6	1 7-9 5
Frijol	8	5 0	1 3-8 7
Garbanzo	5	3 1	1 0-7 1
Canola	5	3 1	1 0-7 1
Chile	5	3 1	1 0-7 1
Pepino	5	3 1	1 0-7 1
Pimienta	5	3 1	1 0-7 1
Maní	4	2 5	0 7-6 3
Caña de azucar	3	1 9	0 4-5 4
Lechuga	3	1 9	0 4-5 4
Mostaza	3	1 9	0 4-5 4
Algodón	2	1 3	0 2-4 4
Berenjena	2	1 3	0 2-4 4
Chicharo salvaje	2	1 3	0 2-4 4
Col	2	1 3	0 2-4 4
Cúrcuma	2	1 3	0 2-4 4
Fenogreco	2	1 3	0 2-4 4
Guisante	2	1 3	0 2-4 4
Remolacha	2	1 3	0 2-4 4
Salvia	2	1 3	0 2-4 4
Sésamo	2	1 3	0 2-4 4
Té	2	1 3	0 2-4 4

Fuente: Autores.

Variables de crecimiento de las plantas usadas en los estudios que demuestran el efecto de las PGPR

Finalmente, en la tabla 4 se presentan las medidas para el evaluar el efecto de las PGPR sobre diferentes componentes de las plantas utilizadas en los estudios, a dichas medidas de eficacia se suman las siguientes, estudiadas

con una frecuencia de un (1) estudio: diámetro del brote, diámetro del estoma, diámetro de la raíz, índice de cosecha, longitud del fruto, número de flores, peso de tuzas de mazorcas, peso fresco de 100 vainas, peso fresco total de raíz y brote, peso seco total de raíz y brote, porcentaje de aumento de la raíz, porcentaje de aumento del brote, porcentaje de aumento

sobre el control, rendimiento foliar, rendimiento por hectárea y tiempo de emergencia.

Además, como se mencionó en el protocolo de búsqueda, se incluyeron artículos en donde se especifica que las condiciones ambientales

de las pruebas *in vivo* no fueron controladas; encontrando que de un total 160 estudios, 71.25% fueron realizados en invernadero, 17.5% en campo, 10.62% incluyeron pruebas en campo e invernadero y un 0.62% no especifican el sitio de experimento.

Tabla 4. Variables de crecimiento de las plantas usadas en los estudios que demuestran el efecto de las PGPR

Variable de respuesta de las plantas	n	%	IC95%
Peso seco de la raíz	70	43 8	35 8-51 7
Longitud de raíz	63	39 4	31 5-47 3
Longitud del brote	63	39 4	31 5-47 3
Peso seco del brote	58	36 3	28 5-44 0
Altura de la planta	48	30 0	22 6-37 4
Peso seco de la planta	43	26 9	19 7-34 1
Peso fresco de la raíz	38	23 8	16 8-30 7
Peso fresco de la planta	33	20 6	14 0-27 2
Peso fresco del brote	28	17 5	11 3-23 7
Rendimiento semilla/vaina/paja	27	16 9	10 8-23 0
Área foliar	15	9 4	4 5-14 2
Número de hojas	14	8 8	4 1-13 4
Diámetro del vástago	12	7 5	3 1-11 9
Porcentaje de germinación	11	6 9	2 6-11 1
Número de raíces principales/laterales	10	6 3	2 2-10 3
Peso del fruto	9	5 6	1 7-9 5
Número de semillas	8	5 0	1 3-8 7
Índice de vigor	7	4 4	0 9-7 9
Número de nódulos	7	4 4	0 9-7 9
Longitud del vástago	6	3 8	0 5-7 0
Número de frutos	6	3 8	0 5-7 0
Número de vainas	6	3 8	0 5-7 0
Peso fresco de hojas	6	3 8	0 5-7 0
Peso fresco del vástago	6	3 8	0 5-7 0
Peso seco del vástago	6	3 8	0 5-7 0
Número de ramas por planta	5	3 1	1 0-7 1
Número de sierpes	5	3 1	1 0-7 1
Peso de 1000 semillas	5	3 1	1 0-7 1
Producción de fruto/semina	5	3 1	1 0-7 1

Variable de respuesta de las plantas	n	%	IC95%
Peso de las semillas	4	2 5	0 7-6 3
Peso de vainas	4	2 5	0 7-6 3
Porcentaje de incremento/raíz/brote/hoja/vaina	4	2 5	0 7-6 3
Rendimiento del fruto	4	2 5	0 7-6 3
Área de la raíz	3	1 9	0 4-5 4
Longitud del brote + raíz	3	1 9	0 4-5 4
Peso de 100 semillas	3	1 9	0 4-5 4
Peso seco de nódulos	3	1 9	0 4-5 4
Rendimiento total de la planta	3	1 9	0 4-5 4
Ancho de la hoja	2	1 3	0 2-4 4
Biomasa del rizoma	2	1 3	0 2-4 4
Diámetro de la mazorca	2	1 3	0 2-4 4
Diámetro del cuello	2	1 3	0 2-4 4
Longitud de la panícula	2	1 3	0 2-4 4
Longitud total de la planta	2	1 3	0 2-4 4
Lontitud de las hojas	2	1 3	0 2-4 4
Número de brotes por planta	2	1 3	0 2-4 4
Número de macollas	2	1 3	0 2-4 4
Número de panículas	2	1 3	0 2-4 4
Peso seco de hojas	2	1 3	0 2-4 4
Porcentaje de aumento del rendimiento	2	1 3	0 2-4 4
Porcentaje de llenado de vainas	2	1 3	0 2-4 4
Relación brote/raíz	2	1 3	0 2-4 4
Rendimiento de la raíz/rizoma	2	1 3	0 2-4 4

Fuente: Autores

En el último año se ha aumentado el número de publicaciones en este tema, destacándose el estudio de Amaresan *et al.* (2019) donde evaluaron la capacidad de bacterias asociadas a las plantas de tomate para reducir la incidencia de diferentes enfermedades y determinaron sus efectos sobre el rendimiento en condiciones naturales de campo. En su estudio, Dede *et al.* (2020) evaluaron la actividad antagonista de actinomicetos aislados de la rizosfera del olivo y su efecto promotor de crecimiento con la finalidad de ser utilizados como biofertilizantes en

futuros estudios. La investigación de Andy *et al.* (2020) giró en torno al aislamiento y caracterización de diferentes PGPR de la zona de la raíz de diferentes leguminosas que en el futuro podría resultar como un biofertilizante revolucionario y bioinoculantes.

Recomendaciones para estudios posteriores

Vale la pena señalar que aún se deben realizar investigaciones más exhaustivas que ayuden a la comprensión de los mecanismos de fitoestimulación mediada por las PGPR, que tengan como objetivo detectar cepas de rizobacterias

más competentes que puedan funcionar en diversas condiciones agroecológicas; esto podría garantizar la estabilidad de las PGPR en la productividad agrícola. Específicamente en los hallazgos obtenidos en esta revisión sistematizada se podrían evaluar en futuros estudios que realicen pruebas de estimulación en campo, determinando la efectividad de las PGPR no solo a nivel de laboratorio sino a gran escala. Además de la evaluación de consorcios de microorganismos efectivos que posteriormente puedan ser utilizados en el desarrollo de formulaciones microbianas, permitiendo de esta manera diseñar y obtener productos agrícolas eficientes, conduciendo como fin último a una agricultura sostenible.

4. CONCLUSIONES

En el ámbito mundial, India es el país con más publicaciones sobre PGPR, debido a que es considerado como una potencia agrícola mundial; además de su gran interés por desarrollar biotecnologías en el marco de una agricultura sostenible. Se sintetizó la principal evidencia de los mecanismos PGPR en el ámbito mundial, siendo AIA, solubilización de fosfato, antagonismo y producción de sideróforos los de mayor frecuencia, y abarcan mecanismos directos e indirectos de la forma en que las rizobacterias pueden promover el crecimiento de las plantas. Los microorganismos más estudiados fueron *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Enterobacter*, ya que estos poseen rasgos PGPR efectivos como capacidad biocontroladora, solubilización de minerales, síntesis de fitohormonas y capacidad de conferir resistencia al estrés salino, como es el caso del género *Enterobacter*. Finalmente, las especies vegetales más frecuentemente estudiadas fueron maíz, tomate, trigo y arroz, cultivos de gran importancia alimentaria. En conjunto, estos hallazgos son relevantes para identificar las principales líneas de acción en futuras investigaciones cuyo propósito sea a mejorar la salud, producción de cultivos y sostenibilidad ambiental.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

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

AGRADECIMIENTOS

A los grupos de investigación, Salud y Sostenibilidad y Microbiología Veterinaria de la Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia.

LITERATURA CITADA

- AMIS Agricultural Market Information System. (2018). Amis-Outlook.org. <https://app.amis-outlook.org/#/market-database/supply-and-demand-overview>
- Amaresan, N., Jayakumar, V., Kumar, K., y Thajuddin, N. (2019). Biocontrol and plant growth-promoting ability of plant-associated bacteria from tomato (*Lycopersicum esculentum*) under field condition. *Microbial Pathogenesis*, 136, 103713 <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103713>
- Andy, A., Masih, S. y Gour, V. (2020). Isolation, screening and characterization of plant growth promoting rhizobacteria from rhizospheric soils of selected pulses. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 27. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101685>
- Arshad, M., y Frankenberger, W.T. (1998). Plant-Growth-Regulating Substances in the Rhizosphere: Microbial Production and Functions. *Advances in Agronomy*, 62, 45-151. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60567-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60567-2)
- Braga, L.F., Oliveira, F.A., Couto, E.A., Santos, K.F., Ferreira, E.P., y Martin-Didonet, C.C. (2018). Polyphasic characterization of bacteria obtained from upland rice cultivated in Cerrado soil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49, 20-28. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.04.004>
- Bakker, P.A.H.M., Ran, L.X., Pieterse, C.M.J., y Van Loon, L.C. (2003). Understanding the involvement of rhizobacteria-mediated induction of systemic resistance in biocontrol of plant diseases.

- Canadian Journal of Plant Pathology*, 25, 5-9. <https://doi.org/10.1080/07060660309507043>
- Bowen, G.D., y Rovira, A. D. (1999). The Rhizosphere and Its Management to Improve Plant Growth. *Advances in Agronomy*, 66, 1-102. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60425-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60425-3)
- Chart, H. (2012). Klebsiella, Enterobacter, Proteus and other enterobacteria: Pneumonia, urinary, tract infection; opportunist infection. *Medical Microbiology*, 8, 290-297. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-4089-4.00042-1>
- Centro Cochrane Iberoamericano. (2012). *Manual cochrane de revisiones sistemáticas de intervenciones*. <http://www.cochrane.es/?q=es/node/269>
- Dede, A., Güven K., y Shahi N.N. (2020). Isolation, plant growth-promoting traits, antagonistic effects on clinical y plant pathogenic organisms and identification of actinomycetes from olive rhizosphere. *Microbial Pathogenesis*, 143, 104-134. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104134>
- De Gregorio, P. R., Michavila, G., Ricciardi Muller, L., de Souza Borges, C., Pomares, M. F., Saccol de Sá, E. L., Pereira, C., y Vincent, P. A. (2017). Beneficial rhizobacteria immobilized in nanofibers for potential application as soybean seed bioinoculants. *PLOS ONE*, 12(5), e0176930. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176930>
- Deshpande, T. (2017). State of Agriculture. PRS Legislative Research. <https://prsindia.org/policy/analytical-reports/state-agriculture-india>
- Dijun, Z., Weina, H., Qianqian, T., Jun, Z., y Xiurong., S. (2016). Multi-omics analysis in the pathogenicity of *Enterobacter cloacea* ENHKU01 isolated from sewage outfalls along the Ningbo coastline. *Proteome Science* 14, 1-15. <https://doi.org/10.1186/s12953-016-0104-y>
- Etesami, H., y Maheshwari, D.K. (2018). Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: action mechanisms and future prospects. *Ecotoxicology and Environmental safety*, 156, 225-246. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.013>
- Glick, B.R., y Bashan, Y. (1997). Genetic manipulation of plant growth-promoting bacteria to enhance biocontrol of phytopathogens. *Biotechnology Advances*, 15, 353-378. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(97\)00004-9](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(97)00004-9)
- Glickmann, E., y Y., Dessaux. (1995). A Critical Examination of the Specificity of the Salkowski Reagent for Indolic Compounds Produced by Phytopathogenic Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 793-96. <https://doi.org/10.1128/AEM.61.2.793-796.1995>
- Guang-Can, T., Shu-Jun, T., Miao-Ying, C., y Guang-Hui, X. (2008). Phosphate-Solubilizing and -Mineralizing Abilities of Bacteria Isolated from Soils. *Pedosphere*, 18(4), 515-523. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(08\)60042-9](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(08)60042-9)
- Howell, C., y Stipanovic, R. (1979). Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium. *Phytopathology*, 69, 480-482. <https://doi.org/10.1094/Phyto-69-480>
- Howell, C., y Stipanovic, R. (1980). Suppression of *Pythium ultimum* induced damping off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic pyoluteorin. *Phytopathology*, 70, 712-715. <https://doi.org/10.1094/Phyto-70-712>
- Hynes, R.K., Leung, G.C., Hirkala, D.L., y Nelson, L.M. (2008). Isolation, selection, and characterization of beneficial rhizobacteria from pea, lentil, and chickpea grown in western Canada. *Canadian Journal Microbiology*, 54(4), 248-258. <https://doi.org/10.1139/W08-008>
- Jewell, M.C., Campbell, B.C., y Godwin, I.D. (2010). Transgenic Plants for Abiotic Stress Resistance. *Transgenic Crop Plants*. https://doi.org/10.1007/978-3-642-04812-8_2
- Karthiba, L., Saveetha, K., Suresh, S., Raguchander, T., Saravanakumar, D., y Samiyappan, R. (2010). PGPR and entomopathogenic fungus bioformulation for the synchronous management of leaf folder pest and sheath blight disease of rice. *Pest Management Science*, 66(5), 555-564. <https://doi.org/10.1002/ps.1907>
- Kloepper, J.W. (1993). Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents. *Soil Microbial Ecology: Applications in agricultural and environmental Management*. Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents (Metting, F.B., Jr. Ed., pp. 255-274). *Marcel Dekker, Inc.*
- Kraus, J., y Loper, J. (1992). Lack of evidence for a role of antifungal metabolite production by *Pseudomonas fluorescens* Pf-5 in biological control of *Pythium* damping-off of cucumber. *Molecular Plant Pathology*, 82(3), 264-271. <https://doi.org/10.1094/Phyto-82-264>

- Lavakush, Yadav, J., Verma, J. P., Jaiswal, D. K., y Kumar, A. (2014). Evaluation of PGPR and different concentration of phosphorus level on plant growth, yield and nutrient content of rice (*Oryza sativa*). *Ecological Engineering*, 62, 123-128. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.10.013>
- Liu, Z., Li, Y. C., Zhang, S., Fu, Y., Fan, X., Patel, J. S., y Zhang, M. (2015). Characterization of phosphate-solubilizing bacteria isolated from calcareous soils. *Applied Soil Ecology* 96, 217-224. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.08.003>
- Martínez, L.L., Martínez Peniche, R.A., Hernández Iturriaga, M., Arvizu Medrano, S.M., y Pacheco Aguilar, J.R. (2013). Caracterización de rizobacterias aisladas de tomate y su efecto en el crecimiento de tomate y pimiento. *Revista fitotecnia mexicana*, 36(1), 63-69. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802013000100007&lng=es&tlang=es
- Mahmood, S., Daur, I., Al-Solaimani, S.G., Ahmad, S., Madkour, M.H., Yasir, M., Hirt, H., Ali, S., y Ali, Z. (2016). Plant growth promoting rhizobacteria and silicon synergistically enhance salinity tolerance of mung bean. *Frontiers in Plant Science*, 7, 876. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00876>
- Mehnaz, S., Mirza, M.S., Haurat, J., Bally, R., Normand, P., Bano, A., y Malik, K.A. (2001). Isolation and 16S rRNA sequence analysis of the beneficial bacteria from the rhizosphere of rice. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(2), 110-117. <https://doi.org/10.1139/w00-132>
- Mhatre, P. H., Karthik, C., Kadirvelu, K., Divya, K. L., Venkatasalam, E. P., Srinivasan, S., Ramkumar, G., Saranya, C., y Shanmuganathan, R. (2018). Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): A potential alternative tool for Nematodes biocontrol. *International Society of Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 17, 119-128. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.11.009>
- Morgado González, A., Espinosa Victoria, D., y Gómez Merino, F.C. (2015). Efficiency of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in sugarcane. *Terra Latinoamericana*, 33(4), 321-330. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792015000400321&lng=es&tlang=es
- Mukhtar, S., Shahid, I., Mehnaz, S., y Malik, K. (2017). Assessment of two carrier materials for phosphate solubilizing biofertilizers and their effect on growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Microbiological Research*, 205, 107-117. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.08.011>
- Oteino, N., Lally, R.D., Kiwanuka, S., Lloyd, A., Ryan, D., Germaine, K.J., y Dowling, D.N. (2015). Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. *Frontiers in Microbiology*, 6, 745-754. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00745>
- Padan, E. (2008). The enlightening encounter between structure and function in the NhaA Na⁺-H⁺ antiporter. *Trends in Biochemical Sciences*, 33(9), 435-443. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2008.06.007>
- Pérez-Pazos, J.V y Sánchez-López, D.B. (2017). Caracterización y efecto de *Azotobacter*, *Azospirillum* y *Pseudomonas* asociadas a Ipomoea Batatas del Caribe Colombiano. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(2), 35-46. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v19n2.69471>
- Pliego, C., Lugtenberg, B., y Kamilova, F. (2011). Plant Growth-Promoting Bacteria: Bacteria: Fundamentals and Exploitation en D.K. Maheswari (Ed). *Bacteria in Agrobiology: Crop Ecosystems* (pp. 295-344). Springer.
- Posada, L., Ramírez, M., Ochoa-Gómez, N., Cuellar-Gavira, T.Z., Argel-Roldan, L.E., Ramírez, C., y Villegas-Escobar, V. (2016). Bioprospecting of aerobic endospore-forming bacteria with biotechnological potential for growth promotion of banana plants. *Scientia Horticulturae*, 212, 81-90. <https://doi.org/10.1016/j.scientia.2016.09.040>
- Ramamoorthy, V., Viswanathan, R., Raguchander, T., Prakasam, V., y Samiyappan, R. (2001). Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Protection*, 20(1), 1-11. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00056-9](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00056-9)
- Rizvi, A., y Khan, M.S., (2018). Heavy metal induced oxidative damage and root morphology alterations of maize (*Zea mays* L.) plants and stress mitigation by metal tolerant nitrogen fixing *Azotobacter chroococcum*. *Ecotoxicology and Environmental safety*, 157, 9-20. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.063>
- Sandhya, V., Ali, S.Z., Grover, M., Reddy, G., y Venkateswarlu, B. (2010). Effect of plant growth promoting *Pseudomonas* spp. on compatible solutes, antioxidant status and plant growth of maize under drought stress. *Plant Growth Regulation*, 62(1), 21-30. <https://doi.org/10.1007/s10725-010-9479-4>

- Schroth, M.N. y Becker, J.O. (1990). Biological control of soil-borne plant pathogens [Presentación en papel, pp. 389-414]. 5th International Congress of Plant Pathology, Kyoto, Japan.
- Urrutia, G., y Bonfill, X. (2010). Declaración PRISMA: Una propuesta para mejorar la publicación de revisiones sistemáticas y metaanálisis. *Medicina Clinica*, 135(11), 507-511.
- Uzoh, I. M., y Babalola, O.O. (2018). Rhizosphere biodiversity as a premise for application in bio-economy. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 265, 524-534. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.07.003>
- Van Loon, L.C, Baker, P.A.H.M., y Pieterse, C.M.J. (1998). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 36(1), 453-483. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.36.1.453>
- Wezel, A., y Soldat, V. (2009). A quantitative and qualitative historical analysis of the scientific discipline of agroecology. *International Journal of Agricultural Sustainability*, 7, 3-18. <https://doi.org/10.3763/ijas.2009.0400>
- Whipps, J.M. (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 52, 487-511. https://doi.org/10.1093/jexbot/52.suppl_1.487
- World Bank. (2012). *India: Issues and Priorities for Agriculture*. <https://www.worldbank.org/en/news/feature/2012/05/17/india-agriculture-issues-priorities>
- Xiang, N., Lawrence, K.S., Kloepper, J.W., Donald, P.A., y McInroy, J.A. (2017). Biological control of Heterodera glycines by spore-forming plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on soybean. *PLoS ONE*, 12(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181201>
- Xie, Y., Wu, L., Zhu, B., Wu, H., Gu, Q., Rajer, F.U., y Gao, X. (2017). Digital gene expression profiling of the pathogen-resistance mechanism of *Oryza sativa* 9311 in response to *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 induction. *Biological Control*, 110, 89-97. <https://doi.org/10.1016/j.bioc.2017.04.009>
- Zahir, Z., Arshad, M., y Frankenberger, W.T. (2003). Plant growth-promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy*, 81, 97-168. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(03\)81003-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(03)81003-9)

Conflictos 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.

PRODUCTOS FARMACÉUTICOS Y DE CUIDADO PERSONAL PRESENTES EN AGUAS SUPERFICIALES, DE CONSUMO HUMANO Y RESIDUALES EN EL DEPARTAMENTO DE CÓRDOBA, COLOMBIA

PHARMACEUTICAL AND PERSONAL CARE PRODUCTS PRESENT
IN SURFACE, DRINKING AND WASTEWATER IN THE DEPARTMENT
OF CORDOBA, COLOMBIA

**¹Joel Alean Flórez, ²Daniela Márquez Méndez, ³Saudith Burgos Núñez,
⁴German Enamorado Montes, ⁵José Marrugo Negrete**

^{1,2,3,4 y 5}Universidad de Córdoba

¹jaleanflorez@correo.unicordoba.edu.co, ²danielamarquez@correo.unicordoba.edu.co,

³smburgos@correo.unicordoba.edu.co, ⁴genamoradomontes@correo.unicordoba.edu.co,

⁵jmarrugo@correo.unicordoba.edu.co

Citación: Alean-Flórez, J., Márquez-Méndez, D., Burgos-Núñez, S., Enamorado-Montes, G., y Marrugo-Negrete, J. (2021). Productos farmacéuticos y de cuidado personal presentes en aguas superficiales, de consumo humano y residuales en el Departamento de Córdoba, Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 179 – 197.

DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.4231>

RESUMEN

Contextualización: gracias al avance de técnicas analíticas sensibles desarrolladas en las últimas décadas, se ha podido identificar y cuantificar la presencia de diversos contaminantes en el medio acuático, dentro de este grupo se encuentran los contaminantes emergentes (CE) conformados por productos de cuidado e higiene personal, antibióticos, hormonas, plastificantes, fármacos y otros que son vertidos a las fuentes de agua alterando el equilibrio de estos ecosistemas.

Vacío de investigación: diversas investigaciones muestran que los contaminantes emergentes pueden comprometer la vida acuática y la salud humana. A la fecha en la ciudad de

montería y en el departamento de Córdoba no se encuentran reportados ningún estudio que permita evidenciar la presencia de contaminantes emergentes en agua superficial, de consumo humano y residual.

Propósito del estudio: el presente estudio, tuvo como objetivo evaluar la presencia de cinco contaminantes emergentes comunes: naproxeno, ibuprofeno, gemfibrozilo, cafeína y triclosán en muestras de agua de consumo humano, residual y superficial colectadas al norte del país, representando así uno de los primeros estudios en reportar la presencia de estos compuestos en fuentes hídricas en esta región.

Metodología: se empleó extracción en fase sólida (SPE) para el análisis de las muestras de agua, la detección y cuantificación se realizó por cromatografía líquida de alta eficacia con detector de arreglo de diodo y fluorescencia molecular (HPLC-DAD-FLD).

Resultados y conclusiones: el ibuprofeno fue el compuesto que se encontró con mayor frecuencia en las muestras de agua, caso contrario al triclosán, que fue el menos detectado (2.25 µg/L); se halló cafeína en un máximo de 43.38 µg/L mientras que las concentraciones de naproxeno e ibuprofeno estuvieron entre 0.047 y 10.21 µg/L, resaltando la presencia de ibuprofeno y gemfibrozilo en agua de consumo humano. Estos resultados manifiestan la presión antropogénica ejercida sobre los compartimientos acuáticos, convirtiéndose en un problema ambiental que compromete la dinámica y servicios ecosistémicos. Se encontró que las plantas de abastecimiento de agua no tienen en cuenta la presencia de estos compuestos en sus sistemas de potabilización, lo cual podría constituirse un problema de salud pública en un futuro.

Palabras clave: agua superficial, agua residual, contaminantes emergentes, compuestos farmacéuticos, HPLC

ABSTRACT

Contextualization: Advancement in the Sensitivity of Analytical Techniques developed in recent decades contribute to identify and quantify the presence of various pollutants in the aquatic environment, within this group of pollutants we have the emerging pollutants (EP) which are mainly organic compounds present as personal care and hygiene products, antibiotics, hormones, plasticizers, drugs and other products that are dumped into water sources altering the balance of these ecosystems.

Knowledge gap: Several studies show that

emerging pollutants may negatively affect aquatic life and human health. To date, in the city of Montería and in the department of Córdoba, any investigations has been reported that allows evidence of the presence of emerging pollutants in surface water, for human and residual consumption.

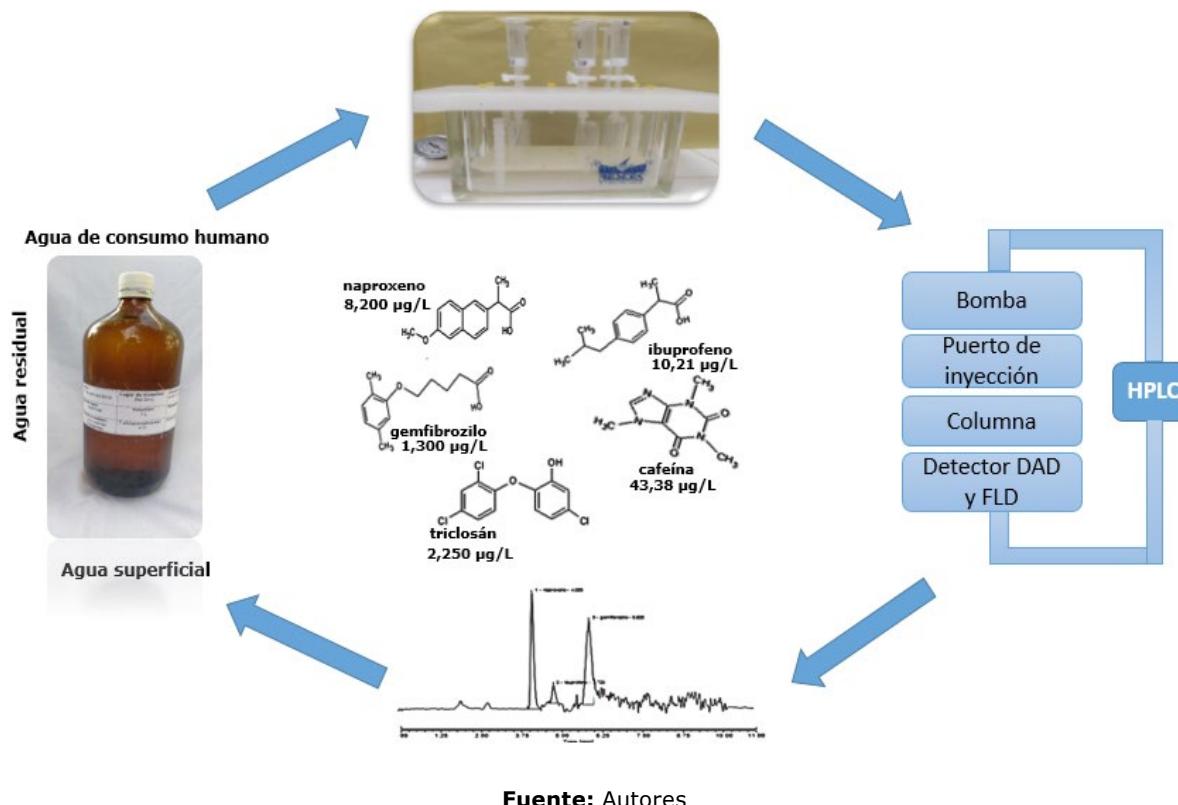
Purpose: This study aimed to evaluate the presence of five common emerging pollutants: naproxen, ibuprofen, gemfibrozil, caffeine and triclosan in samples of water for human, residual and surface consumption collected in the north of Colombia, representing thus one of the first studies to report the presence of these compounds in water sources in this region.

Methodology: Solid phase extraction (SPE) was used for the analysis of the water samples; the detection and quantification were carried out by high efficiency liquid chromatography with a diode array detector and molecular fluorescence (HPLC-DAD-FLD).

Results and conclusions: Ibuprofen was the most frequently found compound in the water samples, opposite to triclosan, which was the least detected (2.25 µg / L), caffeine was found with a maximum of 43.38 µg/L, while concentrations of naproxen and ibuprofen were between 0.047 and 10.21 µg/L, which is an important health concern due to presence of these compounds in drinking waters. These results show the anthropogenic pressure exerted on the aquatic compartments, which could become an environmental problem that may affect the dynamics and ecosystem services. It was found that the water supply plants do not take into account the presence of these compounds in their purification systems, which could become a public health issue in the future.

Keywords: Drinking water, surface water, pollutants, pharmaceutical compounds

RESUMEN GRÁFICO



Fuente: Autores

1. INTRODUCCIÓN

Los contaminantes emergentes (CE) se han convertido en un tema de interés global, pues se trata de una gran variedad de compuestos de origen antropogénico que pueden causar efectos negativos sobre el ambiente (Fent, Weston, & Caminada, 2006; Murray, Thomas, & Bodour, 2010). Los CE que generan mayor preocupación son los productos farmacéuticos y de cuidado personal (PFCP), ya que se comercializan en todo el mundo para prevenir, controlar y curar enfermedades en humanos y animales, razón por la que pueden entrar constantemente al ambiente (Uslu et al., 2013). En las últimas décadas, diversos estudios han reportado la presencia generalizada de PFCP y sus metabolitos en ecosistemas acuáticos (Jiang, Zhou, &

Sharma, 2013; Uslu et al., 2013). La principal vía de entrada de los PFCP a los sistemas acuáticos es por medio de las aguas residuales domésticas (Jiang et al., 2013). Después de su uso, los productos farmacéuticos se excretan sin cambios o como metabolitos que ingresan a las aguas residuales. Debido a que las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) poseen una eficiencia de remoción limitada para varios fármacos, estos se descargan en los efluentes de las PTAR contribuyendo a la contaminación de las aguas superficiales y raramente, de las aguas subterráneas y de agua potable (Santos et al., 2010). Además, las aguas residuales provenientes de hospitales, clínicas o fabricantes de fármacos también contribuyen

a las cargas totales de productos farmacéuticos en aguas residuales municipales (Santos et al., 2013; Sausserau et al., 2013), de esta forma una gran proporción de estos compuestos y sus metabolitos son liberados a los cuerpos de aguas superficiales, originando un problema de contaminación sobre los ecosistemas acuáticos (lagos, ríos y mares) y sobre especies que entran en contacto con ellos (Comber et al., 2018).

Dentro de los CE más comunes se encuentra la cafeína, este es un estimulante del sistema nervioso central, considerado como la primera droga de uso frecuente en todo el mundo y ha sido bien aceptado como uno de los compuestos de actividad farmacéutica más ubicuos en el entorno natural (Klewyngt et al., 2019). Otro CE importante es el triclosán, descrito como un antimicrobiano de amplio espectro utilizado en una variedad de artículos para el hogar (US EPA, 2018). Recientemente, se prohibió la venta de productos antibacterianos que contengan triclosán, pues se concluyó que la exposición a largo plazo a esta sustancia podría generar riesgos para la salud, como resistencia bacteriana o efectos hormonales (Food and Drug Administration, 2016). Por otra parte, dos reconocidos CE como el naproxeno y el ibuprofeno, se utilizan de forma habitual y

extensa por sus propiedades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias para tratar el dolor y la inflamación en la terapia humana y veterinaria. Estos compuestos pertenecen al grupo de antiinflamatorios no esteroideos (AINE) y son una de las principales clases terapéuticas de moléculas que contaminan los ecosistemas acuáticos en todo el mundo (Parolini et al., 2020). Finalmente, otro CE remarcable es el gemfibrozilo, el cual es un fármaco de la clase de fibratos, utilizado como regulador de lípidos, que se halla entre los productos farmacéuticos que se encuentran con mayor frecuencia en el agua superficial (Gruppo di Lavoro OsMed, 2016).

Actualmente Colombia, al igual que muchos otros países latinoamericanos y europeos, no cuenta con una normativa sobre las concentraciones permisibles de CE en muestras de agua. En Colombia, son pocos los estudios realizados que permiten evidenciar la presencia de estos compuestos en las principales fuentes hídricas. En la tabla 1, se aprecian algunos reportes en muestras de agua superficial, potable, residual y de mar, llevados a cabo en las principales ciudades del país. Dentro de los compuestos estudiados, los más comunes son los pertenecientes a la clase de farmacéuticos.

Tabla 1. Estudios reportados en Colombia
sobre la presencia de CE en agua.

Fuente	Año y sitio de estudio	Tipo de agua	Compuestos detectados
Arrubla et al.	2016, Pereira	Residual	ibuprofeno, naproxeno, diclofenaco, aspirina, ketoprofeno, cafeína, galaxolide, tonalida y dihidrojasmonato
Aristizabal-Ciro, Botero-Coy, López & Peñuela.	2017, Medellín	Superficial y potable	Ibuprofeno, diclofenaco, ácido clorfíbrico, carbamazepina, benzofenona, metilparabeno, etilparabeno, butilparabeno, benzophenona.
Madera-Parra et al.	2018, Santiago de Cali	Superficial, residual, potable	10,11-dihydro-10,11-dihidroxicarbamazepina, ibuprofeno, gemfibrozilo, naproxeno, paracetamol carbamazepina, ácido fenofíbrico ketoprofeno, N-acetil-4-aminoantipirina, N-formil-4-aminoantipirina, metoprolol, iopromida, iohexol, ácido diatrizoico, iopamidol, ácido iotalámico, sulfametoxazol, trimetoprim, dicloxacilina, claritromicina, metronidazol, dehidrato-eritromicina, tilosina, estronas, 4-iso-nonilfenol, bisfenol A, estriol, 4-tert-octilfenol, 17β-estradiol
Bedoya-Ríos et al.	2018, Bogotá	Superficial, residual, potable	4-tert-octilfenol, cafeína, fluoxetina, triclosan, bisfenol A, primidona, carbamazepina, trimetrin, estrona, progesterona, dimetilftalato, dietilftalato, bis(2-metoxietil)ftalato, bis(4-metil-2-pentil)ftalato, dipentilftalato, di-n-hexil-ftalato, bis(2-n-butoxietil)ftalato, Bis(2-ethylhexil)ftalato
Botero-Coy et al.	2018; Bogotá, Medellín, Florencia-Caquetá, Tumaco-Nariño	Residual	Paracetamol, azitromicina, carbamazepina, ciprofloxacina, claritromicina, clindamicina, diclofenaco, doxiciclina, eritromicina, irbesartan, losartán, metronidazol, naproxeno, norfloxacina, sulfametoxazol, tetraciclina, trimetoprima, valsartán, venlafaxina
Pemberthy, Padilla, Echeverri & Peñuela	2020, Golfo de Urabá	Mar	Triclosan, ibuprofeno y diclofenaco

Fuente: Autores

Con base en lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar la presencia de naproxeno, ibuprofeno, gemfibrozilo, cafeína y triclosán en muestras de agua superficial tomadas en el río Sinú, Córdoba, Colombia, en muestras de agua de consumo humano en la ciudad de Montería y en agua residual colectada en los diferentes canales de descargas de agua residual doméstica de la ciudad de Montería.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Área de estudio

Se tomaron las muestras de agua superficial en el río Sinú. Este río representa la principal fuente de abastecimiento de agua del departamento de Córdoba, desde su nacimiento, en el municipio de Ituango Antioquia, exactamente en el nudo del Paramillo, hasta su desembocadura, en el municipio de San Bernardo del Viento en Boca de Tinajones, en el mar Caribe. En total, el río Sinú atraviesa por 8 municipios: Tierralta, Valencia, Montería, Cereté, San Pelayo, Santa Cruz de Lorica, Cotorra y San Bernardo del Viento. Los sitios de muestreo se distribuyeron en la parte alta, media y baja de la cuenca del río. Las muestras de agua de consumo humano se tomaron en la ciudad de Montería, la cual posee la mayor población del departamento, los sitios de toma de muestras se ubicaron en las viviendas conectadas al sistema de distribución de agua de consumo

humano de la ciudad. Las muestras de agua residual se tomaron en los diferentes canales de descargas de agua residual doméstica de Montería, sobre los cuales se realizan vertimientos de las aguas residuales domésticas y residuos sólidos, debido a que en esta ciudad aún existe una deficiente cobertura del sistema de alcantarillado.

2.2. Colecta de muestras

La toma de muestras se llevó a cabo siguiendo los lineamientos establecidos en el Standard Methods (American Public Health Association, the American Water Works Association, 2017). Se realizó un muestreo puntual por cada sitio llevado a cabo durante los meses de marzo y abril 2019. En la tabla 2 se muestran los sitios de toma de muestra, sus coordenadas y una descripción del sitio.

Se colectaron las muestras de agua en botellas de vidrio ámbar y se refrigeraron a 4 °C, hasta transportarlas al laboratorio de Toxicología y Gestión Ambiental de la Universidad de Córdoba y almacenarlas para su posterior análisis.

En la figura 1 se muestran la ubicación geográfica de los sitios de muestreo para agua superficial y, en la figura 2, la ubicación de los sitios para agua de consumo humano y residual ubicados en la ciudad de Montería.

Tabla 2. Descripción de los sitios de toma de muestra.

Tipo de agua	Sitio	coordenadas	Descripción
Agua superficial	S1	N8°6'20.1" W76°00'53.8"	Ubicado en la zona rural de Tierralta, corregimiento Palmira
	S2	N8°10'41.0" W76°03'21.0"	Zona urbana del municipio, después del hospital de Tierralta
	S3	N08°46'23.3" W75°52'10.4"	Zona urbana detrás de un centro médico
		N08°48'05.3" W75°51'31.7"	Norte de la ciudad a 300 metros del punto de captación de agua del acueducto
	S5	N08°52'5.7" W75°49'56.7"	Zona rural antes de descarga aguas residuales al río Sinú
	S6	N8°53'25.6" W75°50'1.3"	Después de la descarga de aguas residuales al río Sinú
	S7	N 09°07'54" W75°50'12"	Zona rural del municipio de Lorica, corregimiento de Cotocá arriba
Agua de consumo humano	P1	N8°45'33.2" W75°52'58.7"	Ubicado en el centro de la ciudad
	P2	N8°45'36" W75°53'48"	Margen izquierda de la ciudad
	P3	N8°48'7.83" W75°51' 19.09"	Casa familiar, zona norte de la ciudad
	P4	N8°44'22,5" W75°53'47.4"	Casa familiar ubicada al sur de la ciudad
	P5	N8°44'9" W75°52'27.4"	Casa familiar al sur-este de la ciudad
Agua residual	R1	N8°47'56.6" W75°51'5.6"	Canal de agua residual, norte de la ciudad
	R2	N08°46'33.1" W075°50'54.4"	Canal de aguas residual y drenaje a 30 metros una institución educativa
	R3	N08°43'08.6" W075°50'18.4"	Salida de la ciudad, puente el Purgatorio
	R4	N08°45'32.5" W075°51'50"	Norte de la ciudad, construcción reciente de zona residencial
	R5	N08°46'08.1" W075°54'04.1"	Canal cerca de la entrada a las lagunas facultativas
	R6	N08°45'46.3" W075°52'28.5"	Canal ubicado a la altura de la avenida principal

Fuente: Autores

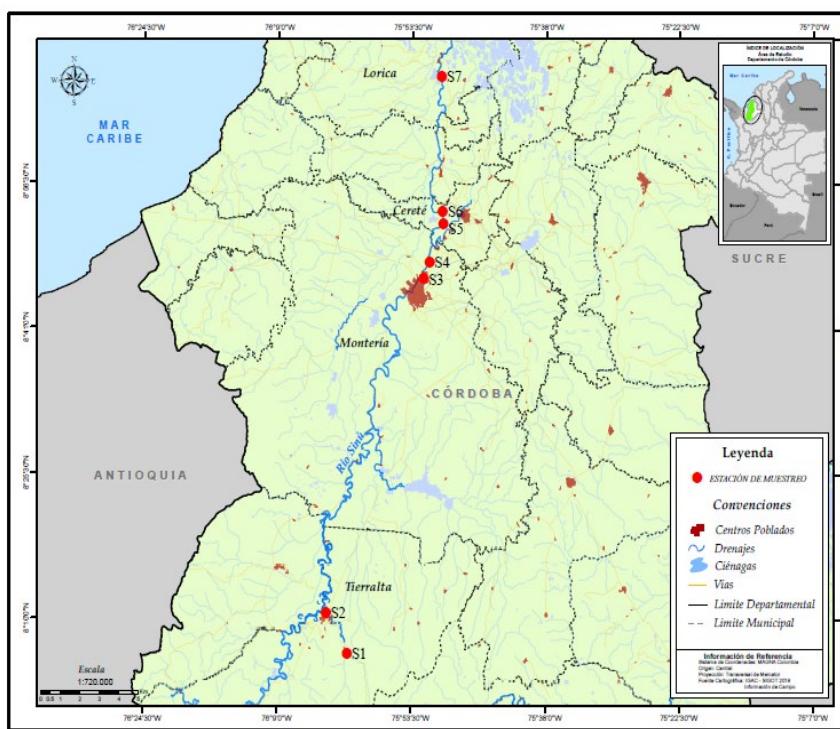


Figura 1. Ubicación geográfica de los puntos de muestro para agua superficial.

Fuente: Autores

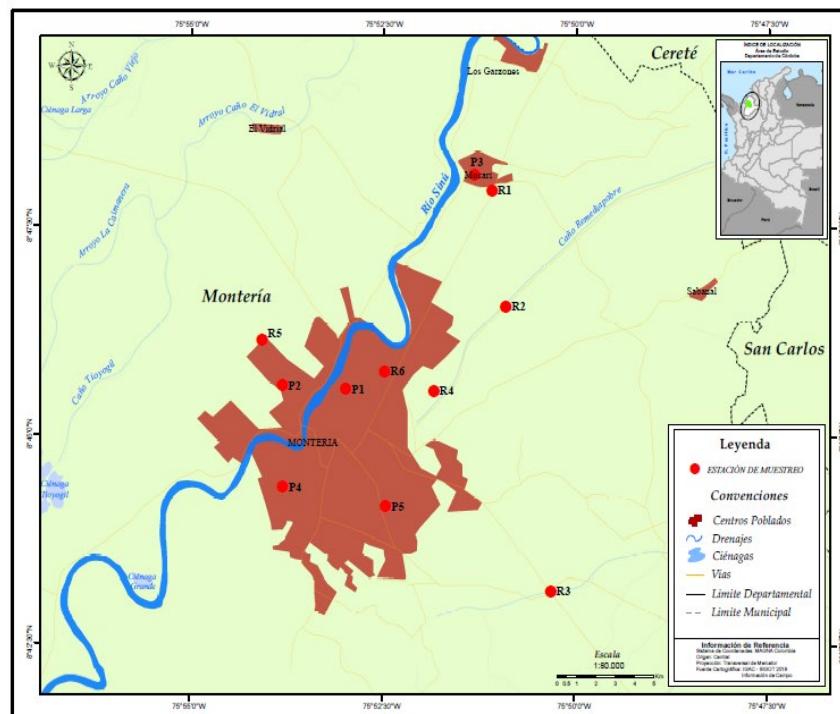


Figura 2. Ubicación geográfica de los puntos de muestreo para agua de consumo humano y residual.

Fuente: Autores

2.3. Reactivos

Se empleó la mezcla Pharmaceuticals Mix #2 de Resteck (USA), que contenía estándares analíticos de naproxeno, ibuprofeno, gemfibrozilo y triclosán a una concentración de 20 µg/mL; para la cafeína se obtuvo una solución a 40 µg/mL de Thermo Scientific (Darmstadt – Germany) con una pureza del 99%; los solventes empleados fueron acetonitrilo, metanol y acetato de etilo suministrados por Merck, de grado cromatográfico. Se emplearon cartuchos de octadecilsilano (C18) de Agilet de 500 mg de relleno y volumen de 6 mL, agua tipo I obtenida con un desionizador (Barnstead Easypure II) de Thermo Scientific (conductividad 0,056 µS/cm, de USA), la extracción en fase sólida (SPE) se realizó en un recolector con puerto de vacío de Restek (USA).

2.4. Extracción de muestras de agua

Se siguió la metodología desarrollada por Santos et al. (2005); para lo cual se tomaron 500 mL de muestra; se filtraron con una membrana de celulosa de 0.45 µm; y se acidificaron a pH de 3 con ácido acético. Posteriormente, se realizó la extracción en fase sólida con cartuchos C18, previamente acondicionados con acetato de etilo, acetonitrilo y agua a pH 2. La muestra se pasó a través del cartucho a un flujo constante entre 1 a 2 mL/min. Se eluyeron los C18 con acetonitrilo y; después este extracto se concentró hasta 1 mL en corriente de nitrógeno para finalmente ser analizado en el cromatógrafo líquido.

2.5. Análisis cromatográfico

Para la detección y cuantificación de los compuestos en estudio, se usó un cromatógrafo líquido UHPLC Dionex Ultimate 3000 de Thermo Scientific (USA), equipado con una bomba cuaternaria LPP3400SD, un automuestreador WPS-3000 Splitloop, compartimiento de la columna termostatizado

TCC-3000, detector de arreglo de diodos (DAD) y detector de fluorescencia (FLD). Se usó una columna cromatográfica C18 de 150 mm de longitud, 46 mm ID y 5 µm de tamaño de partícula marca Restek (USA). Se empleó el software Chromeleon 7.0 (Thermo Scientific 2013) para el manejo de datos. El análisis cromatográfico se llevó a cabo en fase reversa en elución isocrática a una proporción de 75% de acetonitrilo y 25 % de agua, a un flujo inicial de 0,5 mL/min por 3,2 minutos, seguido de un flujo de 1 mL/min por 1,7 minutos y, finalmente, a un flujo de 0,5 mL/min hasta finalizar la corrida, la temperatura de la columna fue de 30 °C, el volumen de inyección de 20 µL. Para la determinación de la cafeína y el triclosán, se utilizó el detector DAD a longitudes de onda de 273 y 200 nm, respectivamente. Por otra parte, se detectaron el naproxeno, ibuprofeno y gemfibrozilo por fluorescencia, a longitud de excitación 230 y emisión 420 nm para el naproxeno, 224 nm para el ibuprofeno y 295 nm para el gemfibrozilo.

2.6. Control de calidad analítico

La técnica analítica empleada para el análisis de los compuestos en estudio en agua fue previamente validada en el laboratorio de Toxicología y Gestión Ambiental de la Universidad de Córdoba. La combinación de la metodología de extracción en fase sólida con cartuchos C18 y cromatografía líquida HPLC permitieron que este método se empleara fácilmente para el monitoreo de esta clase de compuestos en muestras de agua, lo que se ve reflejado en los valores obtenidos de los parámetros analíticos en el control de calidad. Se trazaron rectas de calibración para naproxeno, ibuprofeno, gemfibrozilo, cafeína y triclosan, obteniendo coeficientes de determinación (r^2) mayor a 0,994 en el rango lineal de 5-500 µg/L.

La exactitud de la metodología de analítica se evaluó fortificando muestras de agua a niveles de 10 y 500 µg/L y se les aplicó la metodología de extracción descrita anteriormente (sección 2.4). Se obtuvieron %R promedios de 111,07, 98,71, 92,61, 72,24 y 86,41 % para naproxeno, ibuprofeno, gemfibrozilo, cafeína y triclosán, respectivamente. Los límites de detección del método para naproxeno, ibuprofeno, gemfibrozilo, cafeína y triclosán fueron de 0,002, 0,008, 0,004, 0,010 y 0,008 µg/L respectivamente, mientras que los límites de cuantificación para los analitos en igual orden fueron de 0,01, 0,02, 0,01, 0,02, y 0,02 µg/L respectivamente, determinados como tres y diez veces la relación señal-ruido del blanco. Los porcentajes de recuperación de este método son parecidos a los reportados por Santos et al (2005), los cuales están en el rango de 71 a 103%. Respecto a los límites de cuantificación aquí obtenidos, estos son menores a los que estos autores reportan (6.2-319,8 µg/L). La precisión del método se calculó aplicando la metodología de extracción por diferentes analistas a muestras de agua fortificadas, esta se expresó como porcentaje de desviación estándar relativa dando como resultado una precisión menor del 15%.

2.7. Análisis estadístico

Para el análisis de los resultados obtenidos, se empleó el software Statgraphics Centurion XVII-X64 versión 18.1.13, aplicando estadística descriptiva, incluidos el cálculo de las frecuencias de detección con las concentraciones halladas y las gráficas de frecuencias. Para el caso de las rectas de calibrado realizadas en el control de calidad para cada compuesto en

estudio, se calculó el coeficiente de determinación (r^2) tomando como criterio de aceptación $r^2 > 0,990$.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contaminantes emergentes en el agua

A la fecha, en la ciudad de Montería y en el departamento de Córdoba, no se reportaban estudios sobre compuestos farmacéuticos y de cuidado personal en agua, por lo que se desconoce la presión antropogénica ejercida sobre el ecosistema acuático, teniendo en cuenta que la población y la expansión urbana ha crecido en los últimos años. Por lo anterior, hasta donde sabemos este se convierte en el primer trabajo en dar a conocer esta problemática ambiental en la región.

Las frecuencias de detección global para los analitos analizados en los tres tipos de agua se muestran en la figura 3, donde el ibuprofeno fue el que presentó mayor frecuencia de detección, seguido del naproxeno, gemfibrozilo, cafeína y triclosán. La figura 3 refleja la ubicuidad que presenta el ibuprofeno al ser detectado en las tres clases de muestras de agua estudiadas (aguas superficiales, de consumo y residuales); este compuesto farmacéuticamente activo se reporta con frecuencia en el ambiente y causa desequilibrio en los ecosistemas (Bartoskova et al., 2013). Teniendo en cuenta las características hidrofílicas que exhibe el ibuprofeno como ácido orgánico débil, y el vertimiento continuo al ambiente este puede persistir y permanecer disueltos en la columna de agua o acumularse en el sedimento, plantas u organismos acuáticos o especies no objetivo (González-Mira et al., 2016).

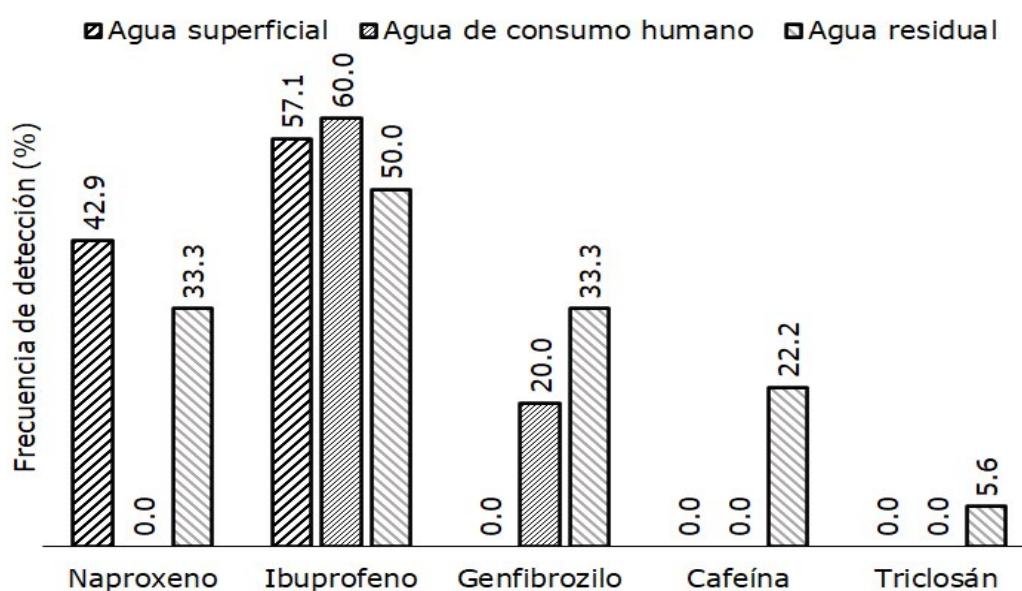


Figura 3. Frecuencia de detección global de los compuestos en estudio en las muestras de agua.

Fuente: Autores

Agua de consumo humano

Para las muestras de agua de consumo humano colectadas en la zona urbana de la ciudad de Montería, no se detectó naproxeno, cafeína ni triclosán en ninguno de los cinco sitios evaluados. Sin embargo, se detectó la presencia de gemfibrozilo e ibuprofeno. Gemfibrozilo fue detectado en un solo sitio (P3) con una concentración de 0,112 µg/L y para el ibuprofeno en 3 sitios de muestreo (P2, P3 y P4) con concentraciones entre 0,061 y 0,080 µg/L. La presencia de estos dos compuestos en muestras de agua de consumo humano puede indicar que el procedimiento de potabilización no es lo suficiente eficaz para su eliminación o que no se está teniendo en cuenta la presencia de esta clase de contaminantes dentro de los sistemas de tratamientos empleados. En general, estos compuestos no se incluyen en los parámetros de medición de la calidad del agua, dado que no cuentan con una normatividad que

establezca un límite máximo permisible. La tendencia en la frecuencia de detección del ibuprofeno en agua de consumo del presente estudio se asemeja a la reportada por Madera-Parra et al. (2018), donde el ibuprofeno, en este mismo tipo de muestra, fue el compuesto que se encontró con mayor frecuencia en las muestras de agua analizadas. El ibuprofeno es un medicamento ampliamente utilizado a nivel mundial y fue clasificado como medicamento esencial por la OMS en 2019 (WHO, 2019). En Colombia, el ibuprofeno fue el segundo analgésico más vendido dentro de los analgésicos antiinflamatorios no esteroides (AINES); esta cifra aumenta debido a su condición de venta libre y a la automedicación (Roa & Cárdenas, 2013). Es posible que esto sea un factor importante de su presencia en aguas de consumo.

Las concentraciones de naproxeno e ibuprofeno detectadas en agua de consumo se

encuentran en niveles bajos, en comparación con la dosis de los comprimidos terapéuticas comerciales. No existen criterios de valoración de toxicidad o ingestas diarias tolerables de posición regulatoria, para la exposición inadvertida a estos compuestos a través del agua de consumo u otras vías de exposición (WHO 2017, Abele et al., 2020). Por esta razón, es necesario llevar a cabo estudios desde el punto de vista toxicológico sobre los posibles efectos que estos pueden ocasionar en la salud, ya sea de forma individual, como mezcla de varios fármacos o por sus metabolitos de transformación. Sin embargo, en el caso del ibuprofeno, la ingesta de dosis altas de este fármaco puede alterar la composición microbiana intestinal durante el consumo a largo plazo (Weiss y Hennet, 2017), también puede alterar el sistema endocrino e inducir hipogonadismo (Kristensen et al., 2018). Por otra parte, Ellepola et al., (2020) encontraron que los productos de degradación del ibuprofeno pueden ser más tóxicos para la línea celular del riñón humano y la línea celular del hígado que el compuesto original, por lo que la presencia de este fármaco en aguas de consumo puede generar un riesgo para la salud humana.

Agua superficial

En la tabla 3, se muestran las concentraciones detectadas de naproxeno, ibuprofeno, gemfibrozilo, cafeína y triclosán, en las muestras de agua superficial, el naproxeno se detectó en 3 (S3, S4 y S7) de los 7 sitios muestreados con

un valor máximo de 0,417 µg/L en S7 ubicado sobre la parte baja del cauce del río Sinú, en el municipio de Lorica. Aunque este municipio cuenta con un sistema de tratamiento de aguas residuales en la zona urbana, la zona rural carece del mismo, por lo que los corregimientos realizan vertimiento de todas las aguas residuales directamente al río (Escobar, 2003), es posible que esto represente una fuente de ingreso de naproxeno a la cuenca del río Sinú.

Es importante resaltar que el río Sinú, a lo largo de su cauce, recibe la carga de contaminantes de 9 municipios, algunos de los cuales no cuentan con sistemas de tratamiento de aguas residuales, asimilando de forma directa contaminación de tipo orgánico e inorgánico (Frómeta et. al, 2019). La presencia de naproxeno en el agua superficial puede comprometer la vida acuática. Por ejemplo, se sabe que el naproxeno puede afectar la expresión del ARNm e influir de manera negativa en el tracto gastrointestinal y los riñones del pez cebra (Ding et al., 2017), Además, puede causar edema pericárdico y daño hepático histopatológico, (Li et al., 2016) e inducir genotoxicidad (Ahmad et al., 2018 y Górný et al., 2019). En humanos, el naproxeno puede causar efectos secundarios graves como hemorragias y ulceras tanto en el estómago como en el intestino, y efectos estructurales sobre la membrana de los eritrocitos humanos (Manrique et al., 2010).

Tabla 3. Concentración de naproxeno, ibuprofeno, gemfibrozilo, cafeína y triclosán ($\mu\text{g/L}$) en diferentes tipos de muestras de agua del departamento de Córdoba, Colombia.

Tipo de muestra	Punto de muestreo	Naproxeno	Ibuprofeno	Gemfibrozilo	Cafeína	Triclosán
Agua superficial	S1	ND	0,054	ND	ND	ND
	S2	ND	ND	ND	ND	ND
	S3	0,056	0,122	ND	ND	ND
	S4	0,225	0,049	ND	ND	ND
	S5	ND	ND	ND	ND	ND
	S6	ND	0,047	ND	ND	ND
	S7	0,417	ND	ND	ND	ND
<i>Promedio*</i>		0,233	0,068	-	-	-
Agua de consumo humano	P1	ND	ND	ND	ND	ND
	P2	ND	0,080	ND	ND	ND
	P3	ND	0,061	0,112	ND	ND
	P4	ND	0,066	ND	ND	ND
	P5	ND	ND	ND	ND	ND
<i>Promedio*</i>		-	0,069	0,112	-	-
Agua residual	R1	8,200	ND	1,300	43,380	2,250
	R2	1,400	10,210	0,660	2,430	ND
	R3	ND	3,190	ND	1,030	ND
	R4	ND	ND	0,650	ND	ND
	R5	2,130	ND	0,780	ND	ND
	R6	ND	ND	0,430	1,630	ND
<i>Promedio*</i>		3,910	6,700	0,764	12,118	2,250

ND= no detectado. **Fuente:** Autores

Para el caso del ibuprofeno, las concentraciones detectadas en el presente estudio en agua superficial (ND-0.122 µg/L) fueron inferiores a las halladas por Da Silva et al., (2011), (0.277 µg/L) en aguas de la Cuenca del río Ebro, España. Las concentraciones de naproxeno e ibuprofeno se encontraron en el rango de las reportadas por Madera-Parra et al., (2018) en aguas de río en la ciudad de Cali, Colombia, con valores entre 0,03 y 1,2 µg/L. Se ha detectado ibuprofeno en agua superficial, subterránea y de consumo humano en 47 países en todo el mundo, con concentraciones ambientales medias y máximas mundiales de 0.108 µg/L y 303 µg/L, respectivamente (Aus der Beek et al., 2016).

En especies acuáticas, como peces, el ibuprofeno puede provocar alteraciones en la reproducción y el desarrollo (Vianneth y Roa, 2013), estrés oxidativo y cambios hematológicos (0.1, 1.0 y 10 µg/L) (Mathias et al., 2018). En la especie *Rhamdia quelen*, expuesta durante 14 días a ibuprofeno a concentraciones ambientales (0, 0.1, 1 y 10 µg/L), este causó nefrotoxicidad y demostró un efecto inmunosupresor (Mathias., et al 2018). En las muestras de agua superficial estudiadas en este trabajo, no se detectó gemfibrozilo, cafeína ni triclosán en ninguno de los siete sitios de muestreo. Además, el ibuprofeno muestra un impacto adverso en las células renales humanas, las células hepáticas y las especies del microbiota intestinal incluso con una exposición a muy corto plazo (WE Bennett Jr. et al., 2009).

Las concentraciones detectadas se pueden trazar como información base sobre compuestos farmacéuticos en aguas del río Sinú, el tercero más grande, después del Magdalena y el Atrato, y que desemboca en el Mar Caribe (Acosta-Ordoñez & Acosta-Ordoñez, 2013).

Agua residual

En las muestras de agua residual se encontraron las mayores concentraciones de cada uno de los cinco compuestos analizados, lo que muestra la carga de contaminantes que se transporta a través de las mismas. De los compuestos objeto del estudio, el triclosán fue el que se encontró en menor proporción, con una frecuencia de detección global del 5,6%; únicamente se detectó en el sitio muestreo de agua residual R1, con una concentración de 2,25 µg/L. La baja frecuencia de detección de triclosán se podría atribuir a que puede ser degradado por microorganismos y formar clorofenoles y dioxinas (Peña-Álvarez & Castillo-Alanís, 2015). Sin embargo, es importante destacar que el triclosán presente en el agua residual puede transportarse a los sistemas lóticos, como los ríos, por medio de escorrentía donde, dada su toxicidad, podría afectar a las bacterias y el fitoplancton, y ser tóxico para algunos organismos acuáticos; además, tiene una tendencia a acumularse en los organismos por ser lipofílico (Rüdel et al., 2013). El triclosán también interfiere con la absorción de yoduro y el eje hipotalámico-pituitario-tiroideo debido a su estructura similar con las hormonas tiroideas (Chen et al., 2014).

La cafeína en el agua residual se detectó en el 66% de las muestras de agua residual, con un máximo de 43,38 µg/L (tabla 2), siendo esta la mayor concentración encontrada de todos los compuestos estudiados y en todos los tipos de muestra analizados. La cafeína ha sido catalogada como un indicador antropogénico de contaminación, teniendo en cuenta la cantidad de productos en los que se encuentra (Ferreira, 2005). La evidencia ha demostrado que la exposición prolongada a niveles traza de cafeína podría provocar la muerte de algunos organismos acuáticos (Pires et al., 2016). En un estudio realizado por Pennington et al., (2017), se reportó que la exposición a cafeína (0,5-18,0 µg/L) durante 28 días causó 8,3, 12,5 y 22,2%

de Mortalidad de *Hediste diversicolor*, *Diopatra neapolitana* y *Arenicola marina*, tres especies de poliquetos con características de ciclo de vida y buena propiedad bioindicadora de las condiciones ambientales.

En el agua residual, el gemfibrozilo fue el compuesto que presentó una mayor frecuencia de detección (83,3%), la máxima concentración detectada fue de 1,30 µg/L, en el sitio R1. Este regulador lípido es uno de los fármacos más recetados en todo el mundo y de los que se encuentran con mayor frecuencia en agua superficial y residual (Barreto et al., 2018). De la misma forma que el triclosán, el gemfibrozilo puede transportarse a los ríos, donde su presencia podría inducir algunas alteraciones en especies como los peces. En la dorada (*Sparus aurata*), se ha informado que causa efectos genotóxicos a una concentración que se detecta con frecuencia en el ambiente (1,5 µg/L) (Barreto et al., 2017), afecta la transcripción de genes clave involucrados en la homeostasis de lípidos y se caracterizó como un agente inductor de estrés (Teles et al., 2016). Aunque relacionar los niveles de gemfibrozilo detectados en agua superficial y residual con los padecimientos de enfermedades cardiovasculares en una población es algo que requiere de muchos estudios, la detección de gemfibrozilo se podría incluir como un indicador de esta enfermedad, siendo necesario implementar un programa de ecofarmacovigilancia basada en la detección de gemfibrozilo.

Actualmente, la ciudad de Montería, cuenta con sistemas de tratamiento de aguas residuales (4 en total) con estructura de cribado, retención de grasas y cámara común de llegada, que involucran siete sistemas de lagunas facultativas. Estos resultados pueden ser útiles para el diseño de futuras plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) que permitan la eliminación de CE en el agua.

4. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio muestran la presencia generalizada de los compuestos farmacéuticos en el sistema acuático. Se resalta la detección de ibuprofeno y gemfibrozilo en agua de consumo humano revelando la baja eficacia del proceso de potabilización empleado. En los tres tipos de agua analizados, el ibuprofeno fue el compuesto que se detectó con mayor frecuencia, lo que se podría relacionar con alto consumo de este analgésico por parte de la población. La presencia de naproxeno e ibuprofeno en muestras de agua de río fueron bajas, pero muestran un pequeño aporte a la problemática de contaminación asociada al río Sinú, a pesar de factores como la dilución de los cuerpos de agua y la capacidad de atenuación natural que ayudan a la eliminación de estos compuestos. Las concentraciones encontradas de naproxeno, ibuprofeno, gemfibrozilo, cafeína y triclosán pueden trazarse como base o referencia en la medición de compuestos emergentes en esta región del país. Es necesaria la realización de más estudios que permitan comprender y evidenciar el impacto ambiental de los CE, ampliando la gama de compuestos por estudiar y que incluyan sus metabolitos y efectos ecotoxicológicos asociados. Este estudio es el primero en documentar concentraciones de estos CE en este tipo de aguas, por lo que la información derivada del mismo es el punto de partida para otras investigaciones.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

Joel Alean Flórez: Metodología de análisis, colecta de muestras, borrador original. **Daniela Márquez Méndez:** Metodología de análisis, borrador original y colecta de muestras. **Saudith Burgos Núñez:** análisis de datos, revisión y edición. **German Enamorado Montes:** análisis de datos, revisión y edición. **José Marrugo Negrete:** manejo de recursos, supervisión y revisión.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Básicas de la Universidad de Córdoba, Colombia por la financiación de la investigación desarrollada en a través del proyecto de convocatoria interna código: FCB 02-2017.

LITERATURA CITADA

- Acosta-Ordoñez, K. D. (2013). La economía de las aguas del río Sinú. *CEER*. https://www.banrep.gov.co/sites/default/files/publicaciones/archivos/dtser_194.pdf
- Ahmad, M.H., M. Fatima, M. Hossain, A. Ch. Mondal. (2018). Evaluation of naproxen-induced oxidative stress, hepatotoxicity and in-vivo genotoxicity in male Wistar rats. *J. Pharm. Anal.*, 8(6), 400-406. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2018.04.002>
- American Public Health Association, the American Water Works Association. (2017). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23th Ed. American Public Health Association, American Water Works Association. Water Environment Federation, Washington, DC.
- Aristizabal-Ciro, C., Botero-Coy, A. M., López, F. J., y Peñuela, G. A. (2017). Monitoring pharmaceuticals and personal care products in reservoir water used for drinking water supply. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(8), 7335-7347. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-8253-1>
- Arrubla, J. P., Cubillos, J. A., Ramírez, C. A., Arredondo, J. A., Arias, C. A., y Paredes, D. (2016). Pharmaceutical and personal care products in domestic wastewater and their removal in anaerobic treatment systems: Septic tank-up flow anaerobic filter. *Ingeniería E Investigación*, 36(1), 70-78. <https://doi.org/10.15446/ing.investig.v36n1.53076>
- Aus der Beek, T., F.A. Weber, A. Bergmann, S. Hickmann, I. Ebert, A. Hein, A. Küster. (2016). Pharmaceuticals in the environment—global occurrences and perspectives. *Environ. Toxicol. Chem.*, 35 (4) pp. 823-835. <https://doi.org/10.1002/etc.3339>
- Barreto, A., Luis, L. G., Paiga, P., Santos, L. H. M. L. M., Delerue-Matos, C., Soares, A. M. V. M., ... y Oliveira, M. (2018). A multibiomarker approach highlights effects induced by the human pharmaceutical gemfibrozil to gilthead seabream Sparus aurata. *Aquatic Toxicology*, 200, 266-274. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.05.012>
- Barreto, L.G. Luis, A.M.V.M. Soares, P. Paiga, L.H.M.L.M. Santos, C. Delerue-Matos, K. Hylland, y S. Loureiro, M. Oliveira. (2017) Genotoxicity of gemfibrozil in the gilthead seabream (Sparus aurata) *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.*, 821, pp. 36-42. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2017.05.011>
- Bartoskova, M., Dobrikova, R., Stancova, V., Zivna, D., Blahova, J., Marsalek, P., Zelnickova, L., Bartos, M., Di Tocco, F.C., y Faggio, C., (2013). Evaluation of ibuprofen toxicity for zebrafish (Danio rerio) targeting on selected biomarkers of oxidative stress. *Neuroendocrinol. Lett.*, 34, 102-108.
- Bedoya-Ríos, D. F., Lara-Borrero, J. A., Duque-Pardo, V., Madera-Parra, C. A., Jimenez, E. M., & Toro, A. F. (2018). Study of the occurrence and ecosystem danger of selected endocrine disruptors in the urban water cycle of the city of Bogotá, Colombia. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 53(4), 317-325.
- Bennett Jr., W.E., Y.P. Turmelle, R.W., Shepherd (2009). Ibuprofen-induced liver injury in an adolescent athlete. *Clin. Pediatr.*, 48, 84-86. <https://doi.org/10.1177/0009922808320797>
- Botero-Coy, A. M., Martínez-Pachón, D., Boix, C., Rincón, R. J., Castillo, N., Arias-Marín, L. P., y Hernández, F. (2018). An investigation into the occurrence and removal of pharmaceuticals in Colombian wastewater. *Science of the Total Environment*, 642, 842-853. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.088>
- Chen, Z.-F., G.G. Ying, Y.S. Liu, Q.Q. Zhang, J.L. Zhao, S.S. Liu, J. Chen, F.J. Peng, H.J. Lai, C.G. (2014). Pan Triclosan as a surrogate for household biocides: an investigation into biocides in aquatic environments of a highly urbanized region. *Water Res.*, 58 pp. 269-279. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.03.072>

- Comber, S., Gardner, M., Sörme, P., Leverett, D., y Ellor, B. (2018). Active pharmaceutical ingredients entering the aquatic environment from wastewater treatment works: A cause for concern? *Science of the Total Environment*, 613, 538-547. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.101>
- Da Silva, B. F., Jelic, A., López-Serna, R., Mozeto, A. A., Petrovic, M., y Barceló, D. (2011). Occurrence and distribution of pharmaceuticals in surface water, suspended solids and sediments of the Ebro river basin, Spain. *Chemosphere*, 85(8), 1331-1339. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.07.051>
- Ding, ., K. Lin, B. Yang, M. Yang, J. Li, W. Li, J. (2017). Gan Biodegradation of naproxen by freshwater algae Cymbella sp. and Scenedesmus quadricauda and the comparative toxicity. *Bioresour. Technol.*, 238, pp. 164-173. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.018>
- Ebele, A. J., Oluseyi, T., Drage, D. S., Harrad, S., & Abdallah, M. A. E. (2020). Occurrence, seasonal variation and human exposure to pharmaceuticals and personal care products in surface water, groundwater and drinking water in Lagos State, Nigeria. *Emerging Contaminants*, 6, 124-132. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2020.02.004>
- Ellepola, N., Ogas, T., Turner, D. N., Gurung, R., Maldonado-Torres, S., Tello-Aburto, R., ... y Rubasinghege, G. (2020). A toxicological study on photo-degradation products of environmental ibuprofen: Ecological and human health implications. *Ecotoxicology and environmental safety*, 188, 109892. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109892>
- Escobar, J. (2003). La contaminación de los ríos y sus efectos en las áreas costeras y el mar. *Serie Recursos Naturales e Infraestructura*, 50, 63.
- Fent, K., Weston., y A., caminada, D., (2006). Ecotoxicology of Human Pharmaceuticals. *Aquat. Toxicol.*, 76, 122-159. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.09.009>
- Ferreira, A. P. (2005). Caffeine as an environmental indicator for assessing urban aquatic ecosystems. *Cadernos De Saúde Pública*, 21(6), 1884-1892. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2005000600038>
- Food and Drug Administration, HHS. (2016). Safety and effectiveness of consumer antiseptics; topical antimicrobial drug products for over-the-counter human use. final rule. *Federal Register*, 81(172), 61106-61130.
- Frómeta, A. E. N., & Inzunza, Z. C. L. (2019). Tópicos sobre contaminantes y contaminación del agua. https://www.researchgate.net/profile/German-Enamorado-Montes/publication/340793222_Remocion_de_fragancias_presentes_en_agua_de_rio_mediante_sistemas_de_humedales_construidos/links/5e9dee1f299bf13079ad831e/Remocion-de-fragancias-presentes-en-agua-de-rio-mediante-sistemas-de-humedales-construidos.pdf
- González-Mira, A., I. Varó, M. Solé, y A. Torreblanca (2016). Drugs of environmental concern modify *Solea senegalensis* physiology and biochemistry in a temperature-dependent manner. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 23, 20937-20951. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7293-x>
- Górny, D., Guzik, U., Hupert-Kocurek, K., y Wojcieszynska, D. (2019). Naproxen ecotoxicity and biodegradation by *Bacillus thuringiensis* B1 (2015b) strain. *Ecotoxicology and environmental safety*, 167, 505-512. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.10.067>
- Gruppo di Lavoro OsMed, L'uso dei farmaci in Italia. (2016). Rapporto Nazionale, Anno 2015, pp. 566. Agenzia Italiana del Farmaco AIFA. Recuperado de http://www.agenziafarmaco.gov.it/sites/default/files/Rapporto_OsMed_2015_AIFA.pdf
- Jiang, J., Zhou, Z., y Sharma, V. K. (2013). Occurrence, transportation, monitoring and treatment of emerging micro-pollutants in waste water—a review from global views. *Microchemical Journal*, 110, 292-300. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2013.04.014>
- Kleywegt, S., M. Payne, F. Ng, T. Fletcher. (2019). Environmental loadings of active pharmaceutical ingredients from manufacturing facilities in Canada. *Sci. Total Environ.*, 646, pp. 257-264. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.240>
- Kristensen, D. M., Desdoits-Lethimonier, C., Mackey, A. L., Dalgaard, M. D., De Masi, F., Munkbøl, C. H., y Jégou, B. (2018). Ibuprofen alters human testicular physiology to produce a state of compensated hypogonadism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(4), E715-E724. <https://doi.org/10.1073/pnas.1715035115>
- Li, Q., P. Wang, L Chen, H.Gao, L Wu(2016). Acute toxicity and histopathological effect of naproxen in zebrafish (*Danio rerio*) early life stages. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 23, 18832-18841. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7092-4>

- Madera-Parra, C. A., Jiménez-Bambague, E. M., Toro-Vélez, A. F., Lara-Borrero, J. A., Bedoya-Ríos, D. F., & Duque-Pardo, V. (2018). Estudio exploratorio de la presencia de microcontaminantes en el ciclo urbano del agua en Colombia: caso de estudio Santiago de Cali. *Revista Internacional De Contaminación Ambiental*, 34(3), 475-487. <https://doi.org/10.20937/rica.2018.34.03.10>
- Manrique-Moreno, M., Suwalsky, M., Villena, F., & Garidel, P. (2010). Effects of the nonsteroidal anti-inflammatory drug naproxen on human erythrocytes and on cell membrane molecular models. *Biophysical chemistry*, 147(1-2), 53-58. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2009.12.010>
- Mathias, F. T., Fockink, D. H., Disner, G. R., Prodromo, V., Ribas, J. L. C., Ramos, L. P., ... & de Assis, H. C. S. (2018). Effects of low concentrations of ibuprofen on freshwater fish *Rhamdia quelen*. *Environmental toxicology and pharmacology*, 59, 105-113. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.03.008>
- Murray, K. E., Thomas, S. M., & Bodour, A. A. (2010). Prioritizing research for trace pollutants and emerging contaminants in the freshwater environment. *Environmental Pollution*, 158(12), 3462-3471. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.08.009>
- Parolini, M. (2020). Toxicity of the Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) acetylsalicylic acid, paracetamol, diclofenac, ibuprofen and naproxen towards freshwater invertebrates: A review. *Science of The Total Environment*, 740, 140043. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140043>
- Pemberthy, D., Padilla, Y., Echeverri, A., & Peñuela, G. A. (2020). Monitoring pharmaceuticals and personal care products in water and fish from the gulf of Urabá, Colombia. *Heliyon*, 6(6), e04215. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04215>
- Peña-Álvarez, A., & Castillo-Alanís, A. (2015). Identificación y cuantificación de contaminantes emergentes en aguas residuales por microextracción en fase sólida-cromatografía de gases-espectrometría de masas (MEFS-CG-EM). *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 18(1), 29-42. <https://doi.org/10.1016/j.recqb.2015.05.003>
- Pires, A., Almeida, Â., Calisto, V., Schneider, R. J., Esteves, V. I., Wrona, F. J., ... & Freitas, R. (2016). Long-term exposure of polychaetes to caffeine: Biochemical alterations induced in *Dipatrica neapolitana* and *Arenicola marina*. *Environmental Pollution*, 214, 456-463.
- Roa, M. V. S., & Cárdenas, G. G. (2013). Condición de venta de analgésicos antiinflamatorios no esteroides, legalmente autorizados para su comercialización en Colombia. estrategias de uso racional. *Revista Colombiana De Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 42(2), 145-168.
- Rüdel, ., W. Böhmer, M. Müller, A. Fliedner, M. Ricking, D. Teubner, y C. Schröter-Kermani. (2013). Retrospective study of triclosan and methyl-triclosan residues in fish and suspended particulate matter: results from the German Environmental Specimen bank. *Chemosphere*, 91, pp. 1517-1524. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.12.030>
- Santos, J. L., Aparicio, I., Alonso, E., & Callejón, M. (2005). Simultaneous determination of pharmaceutically active compounds in wastewater samples by solid phase extraction and high-performance liquid chromatography with diode array and fluorescence detectors. *Analytica Chimica Acta*, 550(1-2), 116-122. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.06.064>
- Santos, L. H., Gros, M., Rodriguez-Mozaz, S., Delerue-Matos, C., Pena, A., Barceló, D., & Montenegro, M. C. B. (2013). Contribution of hospital effluents to the load of pharmaceuticals in urban wastewaters: Identification of ecologically relevant pharmaceuticals. *Science of the Total Environment*, 461, 302-316. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.077>
- Santos, L. H., A.N. Araújo, A. Fachini, A. Pena, C. Delerue-Matos, M.C.B.S.M. Montenegro. (2010). Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *J. Hazard. Mater.*, 175 (1-3), pp. 45-95. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.100>

- Saussereau, E., Lacroix, C., Guerbet, M., Cellier, D., Spiroux, J., & Goullié, J. (2013). Determination of levels of current drugs in hospital and urban wastewater. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 91(2), 171-176. <https://doi.org/10.1007/s00128-013-1030-7>
- Teles, M., C. Fierro-Castro, P. Na-Phatthalung, A. Tvarijonaviciute, A.M.V.M. Soares, L. Tort, M. Oliveira. (2016). Evaluation of gemfibrozil effects on a marine fish (*Sparus aurata*) combining gene expression with conventional endocrine and biochemical endpoints. *J Hazard Mater*, 318, 600-607. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.07.044>
- US EPA. (2018). Triclosan. Recuperado de <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/triclosan>, el 8 de julio de 2018.
- Uslu, M. O., Jasim, S., Arvai, A., Bewtra, J., & Biswas, N. (2013). A survey of occurrence and risk assessment of pharmaceutical substances in the great lakes basin. *Ozone: Science & Engineering*, 35(4), 249-262. <https://doi.org/10.1080/01919512.2013.793595>
- Vianneth, M., & S. Roa. (2013). Condición de venta de analgésicos antiinflamatorios no esteroides, legalmente autorizados para su comercialización en Colombia. Estrategias de uso racional. *Rev. Colomb. Cienc. Químico-Farm.*, 42, pp. 145-168. ISSN: 0034-7418.
- Weiss, G. A., & Hennet, T. (2017). Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 74(16), 2959-2977. <https://doi.org/10.1007/s0018-017-2509-x>
- World Health Organization. (2019). *WHO Technical Report Series The Selection and Use of Essential Medicines: Report of the WHO Expert Committee on Selection and Use of Essential Medicines, 2019 (Including the 21st WHO Model List of Essential Medicines and the 7th WHO Model List of Essential Medicines for Children)*. Ginebra
- World Health Organization. (2017). *WHO Guidelines for drinking water quality, fourth edition incorporating the first addendum*. Recuperado de: https://www.who.int/water_sanitation_health/publications/drinking-water-quality-guidelines-4-including-1st-addendum/en/

Conflictos 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.

PROPUESTA CONCEPTUAL PARA LA MITIGACIÓN DE RIESGO POR INUNDACIÓN EN LA UNIDAD DE PLANEAMIENTO ZONAL (UPZ) TIBABUYES, LOCALIDAD DE SUBA

CONCEPTUAL PROPOSAL FOR THE MITIGATION OF FLOODS RISKS IN THE ZONAL PLANNING UNIT TIBABUYES, SUBA LOCALITY

**¹Tatiana Valbuena Villamil, ²Angie Lorena Ayala Rodríguez,
³Didier Camilo Sierra Florez, ⁴Luz Adriana Gómez Rodríguez**

¹Ingeniería Ambiental. Universidad Sergio Arboleda. Bogotá, Colombia

²PhD© en Ciencias Ambientales, Docente Facultad de Ciencias Exactas e ingeniería,
Universidad Sergio Arboleda. Bogotá, Colombia

³Ingeniería Ambiental. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Bogotá, Colombia

¹Angie.ayala@usa.edu.co, ²Tatiana.valbuena@usa.edu.co,

³Didier.sierra@usa.edu.co, ⁴Lagomezrodri@unadvirtual.edu.co

Citación: Valbuena, T., Ayala, A., Sierra, D., y Gómez, L. (2021). Propuesta conceptual para la mitigación de riesgo por inundación en la unidad de planeamiento zonal (UPZ) Tibabuyes, localidad de Suba. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 199 – 214. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3823>

RESUMEN

Contextualización: la localidad de Suba, específicamente la Unidad de Planeamiento Zonal (UPZ) Tibabuyes, corresponde a un sector de la ciudad de Bogotá que, debido a su proceso de expansión desequilibrado, ha llevado a que las personas se asienten de manera ilegal sobre las Áreas Protegidas como el Humedal Juan Amarillo, el Humedal de la Conejera y la Zona de Manejo Especial del río Bogotá pertenecientes a la Estructura Ecológica Principal y se encuentren expuestos a fenómenos naturales como la inundación.

Vacío de conocimiento: Las incertidumbres en la variabilidad climática en zonas de vulnerabilidad hacen que la población sea propensa a sufrir accidentes de acuerdo a los posibles

eventos naturales por una inadecuada planeación zonal y sobre todo una falta de planeación, es por esto que la investigación busca brindar diferentes herramientas metodológicas conceptuales para mejorar las condiciones que puedan llegar a afectar la calidad de vida de los habitantes y que puede llegar a generar consecuencias de ocupación de suelos importantes para el país y a aumentar significativamente el riesgo.

Propósito: diseñar una propuesta conceptual para reducir el riesgo de inundación en UPZ Tibabuyes.

Metodología: se usó un enfoque en la Acción Participativa (IAP) dentro de la cual se

establecieron tres fases de investigación en donde se realizaron los análisis de percepción en la zona de acuerdo a las necesidades establecidas por la ronda hídrica, en la cual se pudo categorizar la amenaza según los escenarios de inundación; para esto, se determinaron los parámetros de evaluación (alta, cuando la lámina de agua es $>1,0$ m y su velocidad $>2,0$ m/s) y la categoría (media, cuando la lámina de agua es $>0,5 < 1,0$ m y su velocidad está entre 1,5 a 2,0 m/s).

Resultados y conclusiones: se determinó el plan de acción que consta de 19 estrategias, de las cuales 10 corresponden a estrategias implementadas es caso de presentarse un escenario de riesgo alto de inundación, y las 9 estrategias complementarias deben ser empleadas en caso de presentarse un escenario de riesgo medio de inundación. en ambas se relaciona la población afectada, los requerimientos y actividades técnicas por desarrollar junto con un presupuesto estimado y sus posibles fuentes de financiación.

Palabras clave: Amenaza; inundación; mitigación; riesgo; probabilidad

ABSTRACT

Contextualization: The locality of Suba, specifically the Tibabuyes Zonal Planning Unit (UPZ), corresponds to a sector of the city of Bogotá which, due to its unbalanced expansion process, has led people to settle illegally on Protected Areas such as the Juan Amarillo Wetland, the Conejera Wetland, and the Bogotá River Special Management Zone, which belong to the Main Ecological Structure and are exposed to natural phenomena such as flooding.

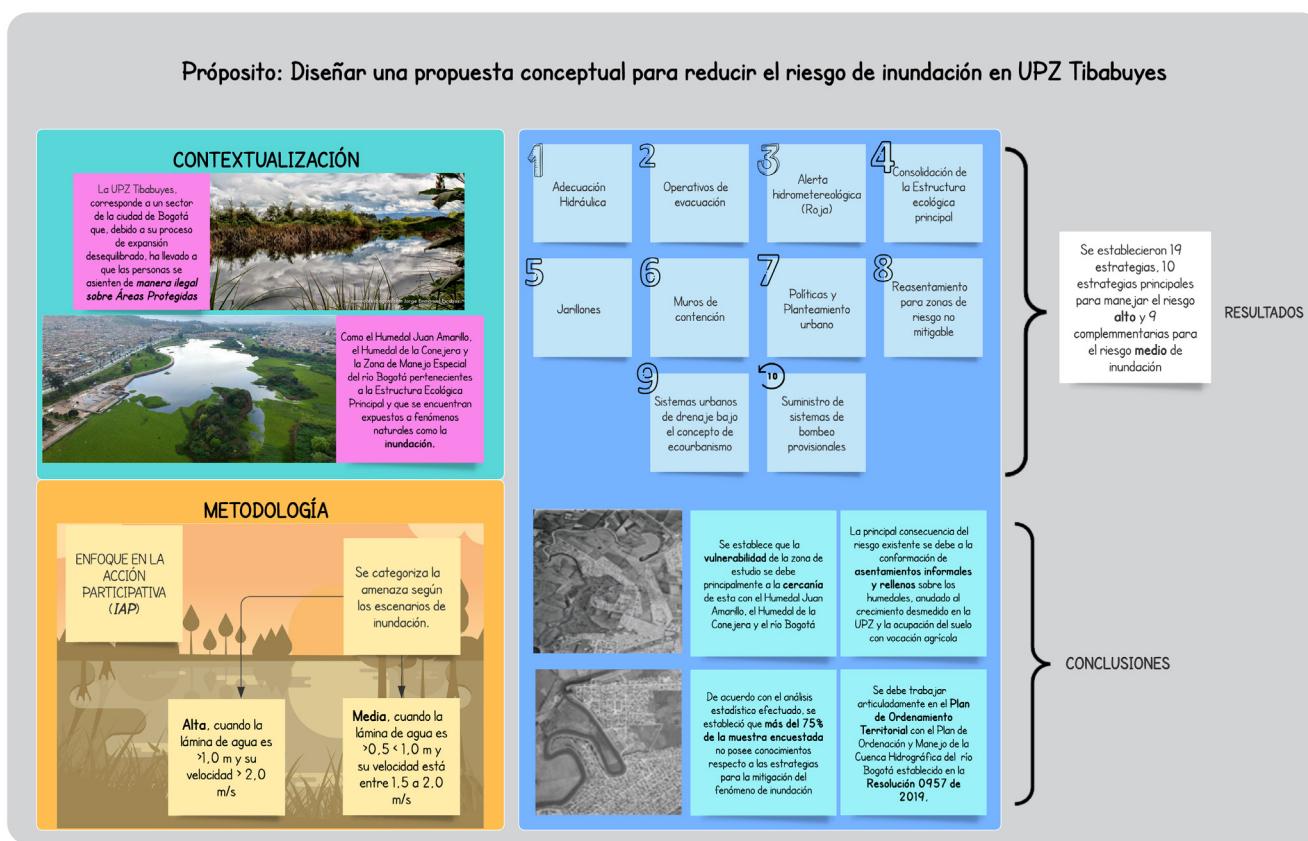
Knowledge Gap: the phenomenon of informal occupation has become a pattern that does not favor the sustainability of the city of Bogotá and affects the quality of life, poverty and a wide social problem that affects the inhabitants and that can generate important land occupation consequences for the country and significantly increase risk.

Purpose: to design a conceptual proposal to reduce the risk of flooding in UPZ Tibabuyes.

Methodology: a methodology focused on Participatory Action (PAR) was used, within which three research phases were established. where perception analyzes were carried out in the area according to the needs established by the water round, in which the threat could be categorized according to the flood scenarios, for this the evaluation parameters were determined (high, when the sheet of water is >1.0 m and its speed is greater than 2.0 m / s), and the category (average, when the sheet of water is $>0.5 < 1.0$ m and its speed is between 1.5 to 2.0 m / s).

Results and conclusions: The action plan consisting of 19 strategies was determined, out of which 10 correspond to implemented strategies in the event of a high flood risk scenario, and the 9 complementary strategies should be used in the event of a medium risk scenario. flood. In both, the affected population, the requirements and technical activities to be developed are related, together with an estimated budget and its possible sources of financing.

Keywords: Hazard; Flood; mitigation; risk, probability



1. INTRODUCCIÓN

El crecimiento urbano de las ciudades de Colombia ha sido consecuencia de distintos procesos de expansión, como aquellos relacionados con el crecimiento poblacional; las migraciones interdepartamentales en la búsqueda de nuevas oportunidades económicas y sociales; entre otros. Durante la década de los años cincuenta, el crecimiento demográfico en Bogotá había incrementado en un 250% con respecto a los datos poblacionales del año 1819 (Gobernación de Cundinamarca, 2017), donde, al ser la capital del país, tenía un escenario propicio para el desarrollo económico e industrial, generando un incremento en la ocupación del suelo y afectando las zonas rurales, cuerpos de agua y ecosistemas como consecuencia de la alta demanda de urbanización y de infraestructura vial; además de la aparición de asentamientos informales en la periferia, que forjaron patrones de expansión no planificados que llevaron

a un desarrollo ecológicamente insostenible y que generó un cambio en las dinámicas urbanas (Guzmán, 2015).

Debido a la necesidad de la organización territorial del Distrito Capital, surgieron lineamientos en su división administrativa, tales como el Acuerdo 11 de 1954 por alcaldías menores de municipios anexos, posteriormente se dividió en diecisiete alcaldías con el Acuerdo 8 de 1977. Para el año 1993, el Decreto de Ley 421 en su artículo 62, establece las localidades como entes territoriales dentro de la división político-administrativa del Distrito Capital. Por último, el Artículo 49 del Decreto 190 de 2004 establece en el Plan de Ordenamiento Territorial, dividir la ciudad en la "Unidades de Planeamiento Zonal" (UPZ) para asignar las normas urbanísticas de las veinte localidades de la ciudad.

La localidad de Suba limita al norte con el municipio de Chía, al occidente con el de Cota, (teniendo al río Bogotá de por medio en ambos límites), al oriente con la localidad de Usaquén, y al sur con las localidades de Engativá y Barrios Unidos, (SDP, 2017). Esta localidad se conforma de 11 UPZ. En el caso de la UPZ Tibabuyes, se localiza en el extremo suroccidental, con una extensión de 726,4 ha, equivalentes al 11,6% del área total de las UPZ de la localidad. (SDP, 2017); presenta asentamientos de manera ilegal sobre las áreas protegidas, donde se ubican el Humedal Juan Amarillo, el Humedal de la Conejera y la Zona de Manejo Especial del Río Bogotá, pertenecientes a la Estructura Ecológica Principal (SDP, 2017). Debido a la presencia de estos sistemas hídricos, la zona se encuentra expuesta a fenómenos naturales como la inundación.

La Alcaldía Mayor de Bogotá indica que, en el año 2005, el crecimiento de Bogotá se concentró en los extremos Occidental, Sur y Norte de la ciudad, específicamente hacia las localidades de San Cristóbal, Bosa, Kennedy, Suba y Engativá, debido al surgimiento de pequeños asentamientos legalizados y conexos a desarrollos urbanísticos como el Rincón de Santa Inés y Tibabuyes, en Suba.

Conjuntamente, la zona suroccidental de la localidad de Suba ha dejado de ser una zona agrícola para convertirse en un sector suburbanizado, que posee características de suelos rurales como la vegetación, la capacidad de filtración y almacenamiento del agua que, por consecuencia del cambio en el uso del suelo actual, genera un aumento en los niveles de escorrentía (Serrano y Hernández, 2012).

Ronda de inundación y estrategias del plan de acción.

La UPZ Tibabuyes la constituyen los barrios Tibabuyes II, Sabana de Tibabuyes y Rincón de Santa Inés, entre otros, y presentan mayor

riesgo de inundación, debido a que se encuentran por debajo del nivel promedio de los cuerpos de agua, del Humedal de la Conejera y, en el caso de Lisboa, Santa Cecilia, Santa Rita de Suba y San Pedro, se encuentran por debajo del Humedal Juan Amarillo y próximos a la ronda del Río Bogotá (Serrano & Romero, 2017). La urbanización desmedida sobre estos cuerpos de agua ha generado alteraciones del cauce del río Bogotá y del Humedal Juan Amarillo, aumentando la probabilidad de ocurrencia de encharcamientos entre el 10 y el 65%. (IDIGER, 2018).

Según la Resolución 1631 de 2018, estos barrios poseen zonas en riesgo medio y alto de inundación debido a que se encuentran en el área mínima potencialmente inundable de la cuenca media del río Bogotá, que equivale a 8920 Hectáreas (IDIGER, 2018). Adicionalmente, el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM) pronostica que, para el periodo 2011-2040, la UPZ Tibabuyes presentará un exceso de precipitaciones mayor a un 40% (IDIGER, s. f.) lo cual proyecta otro factor de riesgo para los barrios susceptibles ante la ocurrencia de inundaciones.

Una de las acciones que pretenden mitigar las situaciones agravantes del riesgo de inundación es la limpieza del cauce del río Bogotá, por lo que se han realizado trabajos de limpieza por parte de la Alcaldía Local de Suba y la comunidad. Estas jornadas, han demostrado fallas en los jarillones, presencia de escombros, residuos sólidos y obstrucciones. De la misma manera, la Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca (CAR) para el año 2013 invirtió en obras públicas, en la limpieza de los jarillones, además de establecer muros de contención y estaciones de monitoreo (Alcaldía Local de Suba, 2012).

Desde el año 2017, la Unidad Nacional para la Gestión del Riesgo de Desastres (UNGRD) con

el apoyo del IDEAM, en el marco del Plan Nacional de Gestión del Riesgo, han elaborado lineamientos para la evaluación probabilística del riesgo por inundación en todo el país. (UNGRD, 2018); sin embargo, a pesar de las acciones realizadas por las instituciones para la mitigación del riesgo por inundación, aún falta fortalecer las estrategias preventivas y correctivas en todo el territorio colombiano, y determinar los escenarios más susceptibles de riesgo, haciendo un análisis articulado en las diferentes escalas zonales, como las Unidades de Planeamiento Zonal, donde se pueden evidenciar más fácilmente varios factores de riesgo y las afectaciones a un mayor nivel. Para el caso de estudio de la UPZ Tibabuyes, aparte de los escenarios mencionados anteriormente, también se considera que varios barrios pertenecientes a esta UPZ presentan problemas en el sistema de alcantarillado, los cuales se ven desfavorecidos por la descarga libre y el aumento en los niveles del río Bogotá.

Con este panorama, se establece como objetivo general del trabajo de investigación: diseñar una propuesta conceptual para la reducción del impacto de las inundaciones en la UPZ Tibabuyes.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El tipo de investigación es descriptiva con un enfoque de acción participativa el cual establece medidas de planificación para dar solución a una problemática a partir de la intervención social de los actores involucrados.

La metodología empleada se dividió en tres fases (Figura 2). La primera fase corresponde al diagnóstico del área de estudio; en la segunda fase se realizó la evaluación de las estrategias de mitigación a través de la percepción; y en la última fase, se desarrolló el plan de acción como solución al riesgo.

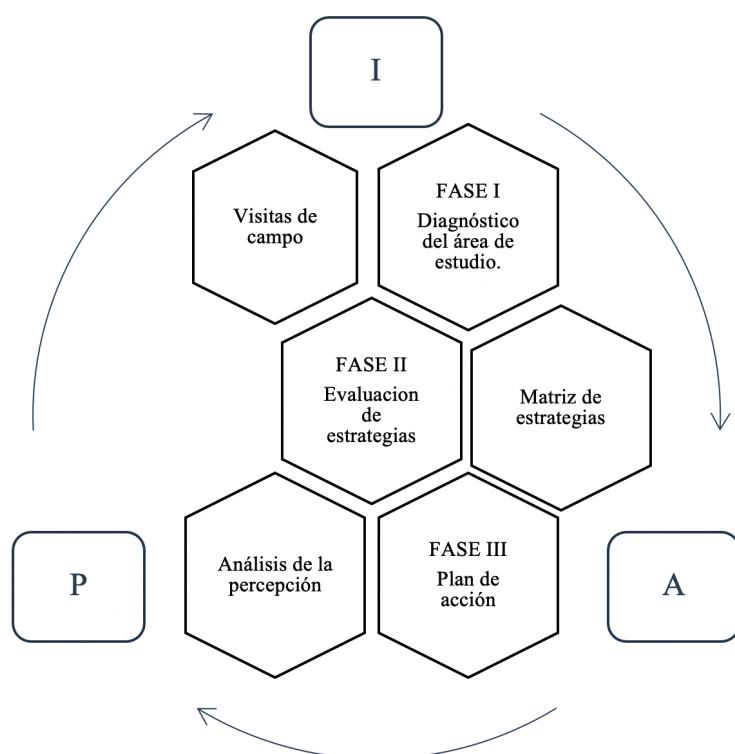


Figura 2. Fases para el desarrollo de la investigación.

Fuente: Autores.

En la primera fase, se realizó el diagnóstico del área de estudio con el fin de hacer un reconocimiento de la zona; en esta fase se incorpora un marco legal, por otra parte, se realizó un estudio de ocupación histórica del suelo a través del uso de aerofotografías obtenidas del Instituto Geográfico Agustín Codazzi (IGAC), se evaluaron las dinámicas poblacionales, las condiciones económicas de la zona y se identificaron las problemáticas usando como instrumento principal fuentes de información secundaria. En la segunda fase, se planteó una matriz (fig. 2) de evaluación la cual cuenta con las medidas establecidas por el Instituto Distrital de Gestión de Riesgo y Cambio Climático (IDIGER) para el periodo de lluvias Año 2019 para la mitigación del riesgo por inundación y un indicador basado en el concepto de Amenaza Alta y Amenaza media de inundación la cual toma variables de profundidad y velocidad de flujo de cauce. Cada medida fue clasificada según el tipo de Amenaza por mitigar; esta clasificación se realizó con base en información secundaria.

Así mismo, en esta fase se realizó el análisis de percepción de la vulnerabilidad a la población como forma de valoración para la matriz planteada. Para estimar la percepción de las personas, se llevó a cabo un sistema de recolección de información a partir de una encuesta con 27 preguntas con respuesta cerrada relacionadas con las medidas presentadas en la matriz de evaluación; la encuesta fue aplicada a una muestra significativa, que se definió a través de un muestreo estadístico estratificado, dividiendo la población de la Unidad de Planeamiento Zonal Tibabuyes por estratos (Sin estrato, estrato 2 y estrato 3) y a partir de esto se determinó la muestra total. Para la selección de la muestra se utilizó la siguiente fórmula estadística:

$$n = \frac{k^2 * p * k * N}{(e^2 * (N - 1) + K^2 * P * Q)}$$

Ecuación 1. Fórmula para establecer el tamaño de la muestra (n).

En donde:

N: Tamaño de la población.

k: Constante que depende del nivel de confianza (90%).

e: Error muestral deseado.

p: Es la proporción de individuos que poseen en la población la característica de estudio.

q: Es la proporción de individuos que no poseen esa característica, es decir, 1 – P.

n: Es el tamaño de la muestra.

Con base en la muestra significativa de 277 personas, los resultados se relacionaron directamente con las estrategias planteadas para la mitigación del riesgo; después, se realizó un análisis estadístico descriptivo utilizando como base el Software Estadístico R, en el cual se determinó la aceptación del valor central de la distribución de acuerdo con el grado de aceptación y así tomar las medidas de centralización por medio de medidas de posición.

En la tercera fase metodológica, se elaboró un plan de acción conformado por 19 estrategias de acción, que se enfocan directamente con cada medida planteada en la matriz (fig.2) de evaluación. Dentro del plan de acción se establecen los objetivos, los impactos generados, las actividades para realizar la estrategia, las recomendaciones técnicas y el valor presupuestado con las fuentes de financiación con el fin de proponer una solución al riesgo existente en la UPZ Tibabuyes.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diagnóstico del área de estudio



Figura 3. Aerofotografías de la UPZ Tibabuyes para el año 1995 y 2004.

Fuente: Instituto Geográfico Agustín Codazzi (IGAC,2019)

La zona de estudio se ha ido conformando bajo un marco legal que ha permitido el desarrollo socioeconómico y ambiental de la UPZ (Tabla 1).

Tabla 1. Matriz de cumplimiento de la normativa asociada con la UPZ Tibabuyes.

Norma	Si cumple	No cumple
Decreto 190 de 2004	X	X
Ley 1523 de 2012	X	
Ley 99 de 1993	X	
Decreto Distrital 657 de 1994		
Decreto 566 de 2014		X
Ley 810 de 2003		X
Acuerdo 17 de 2009		X
Acuerdo Local 4 de 2016	X	X
Decreto 62 de 2006	X	
Resolución 957 de 2019	X	

Fuente: Autores

Es de resaltar que la localidad de Suba ha desarrollado múltiples iniciativas ciudadanas alrededor de los humedales de La Conejera, Córdoba, Juan Amarillo y Torca. De igual forma, se han presentado intervenciones y actividades en el río Bogotá, la Quebrada Salitrosa, los Cerros de Suba y las UPZ con mayor grado de urbanización (Rodríguez & Guarín, 2015).

También se han presentado iniciativas en la Comisión Ambiental Local de Suba en donde se han adelantado procesos de protección de zonas periféricas y rondas de los humedales y del río Bogotá, se ha hecho la recuperación del espacio público, campañas de sensibilización y acciones encaminadas a la recuperación de los cerros de Suba (Rodríguez & Guarín, 2015).

En cuanto a las dinámicas poblacionales para la Localidad de Suba en los años 2014-2017, se estimó que la UPZ Tibabuyes sería la segunda

más poblada con un porcentaje equivalente al 20.7% (SDP, 2017).

Tabla 2. Proyecciones de población en la Localidad de Suba 2016-2020.

Años	Total
2016	1.250.734
2017	1.282.978
2018	1.315.509
2019	1.348.372
2020	1.381.597

Fuente: Adaptación Secretaría Distrital de Planeación (2014)

Con respecto a las proyecciones estimadas para la Localidad de Suba entre los años 2016- 2020, la población aumentará (Tabla 2), lo que también podría explicar el aumento de asentamientos y, por ende, el impacto sobre la ronda hídrica del río Bogotá, de conformidad con la ubicación de algunas viviendas en las UPZ El Rincón y Tibabuyes, con estratificación 1 y 2 respectivamente (SDP, 2017). Otra situación que se podría dar es el crecimiento de actividades económicas informales, que no cumplirían normas ambientales relacionadas con vertimientos o residuos sólidos cerca a los cuerpos hídricos de interés.

Según la Alcaldía Mayor de Bogotá, la UPZ cuenta con un buen Índice de Calidad de Vida (ICV), este se basa en la aproximación al cálculo del índice, a partir del principio de que todas las dimensiones o núcleos tienen el mismo peso y, dentro de cada dimensión, todos los indicadores también tienen el mismo peso. Esta aproximación se ha usado ampliamente en la construcción de índices multidimensionales como la medición multidimensional de la pobreza (Alkire y Foster, 2011; Alkire y Santos 2010; Angulo, Díaz y Pardo, 2011). En este sentido, para obtener el puntaje de cada dimensión, se

promedian todas las variables (ya normalizadas a la escalada de 0 a 100) que contienen esa dimensión; después, para calcular el ICV Urbana se promedia el puntaje de las cuatro dimensiones o núcleos, esta están determinadas en Necesidades básicas, dotación Urbana y medio ambiente, bienestar y oportunidades y cohesión social., al tener 93.1 puntos de 100 posibles; sin embargo, cuenta con el 8.1% de la población que vive en situación de pobreza. Así mismo, con base en el POT de Bogotá, el uso del suelo urbano de Suba se divide en siete campos de actividad, de los cuales se destaca el uso residencial (el más predominante); permitiéndose, en bajas cantidades, el comercio y los servicios (Instituto de Estudios Urbanos, 2011). En la UPZ Tibabuyes solo se presentan tres de estas (sin estrato, 2 y 3) (Secretaría Distrital de Planeación, 2017).

Con relación a la ocupación de sus habitantes, la mayoría se dedica a trabajar en construcción, mecánica, conducción, cultivos de flores, servicio doméstico, restaurantes, operación de fábricas y el sector informal; esto se ve más presente en zonas como Casa Blanca, Rincón, Tibabuyes y Suba Centro (Instituto de Estudios Urbanos, 2011).

Evaluación de las estrategias para los escenarios de riesgo

Las estrategias para la mitigación del riesgo por inundación fueron adaptadas a partir de las acciones establecidas en el Plan de Contingencia elaborado por el Instituto Distrital de Riesgos y Cambio Climático (IDIGER).

Según los escenarios planteados, se construyó

un indicador basado en el concepto de Riesgo alto y Riesgo medio, que toma las variables de profundidad y velocidad del flujo del cauce. Para la Amenaza Alta de inundación, la profundidad de lámina de agua debe oscilar entre 1,5 m/s y 1,0 m/s (Figura 2), según la metodología de inundación hidráulica de "Bogotá MEJOR para Todos", 2016-2020, propuesta por el IDIGER.

CATEGORIZACIÓN DE AMENAZA	PARÁMETRO DE EVALUACIÓN
AMENAZA ALTA	Lámina de agua > 1,0 m Velocidad de Flujo > 2 m/s
AMENAZA MEDIA	0,5 m > Lámina de agua < 1,0 m 1,5 m/s > Velocidad de Flujo < 2 m/s

Figura 3. Categorización de la amenaza de acuerdo con los escenarios de inundación.

Fuente: Autores.

Se elaboró la matriz de estrategias, que presenta 19 medidas establecidas en caso de presentarse riesgo alto y medio de inundación. Para el riesgo alto de inundación, se establecieron medidas de tipo estructural como jarillones, muros de contención, adecuación hidráulica e implementación de Sistemas Urbanos de Drenaje (SUDS), además de otro tipo de medidas no estructurales como operativos de evacuación, alertas hidrometeorológicas, reasentamiento, políticas sobre la planeación urbana, consolidación de la Estructura Ecológica Principal (EEP) y sistemas de bombeo provisionales.

Para el riesgo medio de inundación, se encuentran estrategias de tipo no estructural como Sistemas de Alerta Temprana por eventos hidrológicos extremos; capacitaciones y sensibilizaciones sobre el riesgo; mantenimiento

de los cuerpos de agua y del mobiliario urbano; modelación hidrológica; monitoreo de lluvias; monitoreo del caudal del río; y señalización preventiva.

La matriz fue diseñada con el fin de evaluar, a través de la percepción de los habitantes de la zona, la seguridad, el conocimiento y la eficacia de este tipo de medidas en caso de presentarse algún tipo de escenario anteriormente mencionado.

Percepción del riesgo

El análisis de la percepción fue realizado a partir de los resultados estadísticos que se presentan en cuatro apartados:

APARTADO I: evaluación general de la percepción de los habitantes de la zona de estudio.

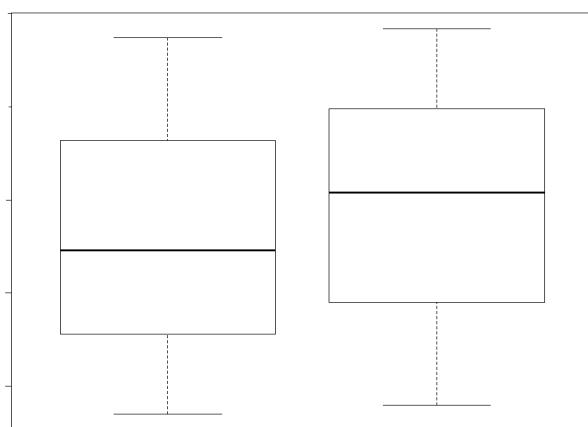


Figura 4. Gráfico Bloxplot sobre la percepción de las estrategias de mitigación del riesgo.

Fuente: Autores

Según la Figura 4, se presenta un gráfico Boxplot en el cual se comparan dos categorías de respuesta lógicas (sí y no); la distribución de ambas respuestas fue evaluada a partir de una encuesta para identificar la percepción de la población en relación con el conocimiento, el sentimiento de seguridad y la efectividad de las estrategias para la mitigación del riesgo de inundación y su importancia.

Los resultados de la estadística descriptiva general demuestran que los rangos intercuartílicos, con los valores de ambas respuestas, representan el 50% comprendido en 104 encuestados, que siendo esta, la diferencia entre los valores del tercer y primer cuartil; sin embargo, los valores de la mediana son mayores para las respuestas "No" que las respuestas "Sí", con los resultados de 154 y 123, respectivamente. Lo que confirma el resultado establecido en el Boxplot.

Para este análisis, el indicador más importante (aunque cada vez más cuestionado) es el llamado p-valor, mediante el que, habitualmente, se considera *estadísticamente significativo* el efecto del tratamiento cuando este es inferior

a 0,05. En este caso, el p-valor es de 2,2e-16, por lo que se consideraría que existe diferencia significativa entre los grupos; por ende, se estima que la población no se siente segura con las medidas implementadas actuales, y requieren la implementación de un plan de gestión de riesgo. De acuerdo con Vallejo y Vélez (2009), el conocimiento del riesgo se adquiere en mayor parte mediante los medios informativos y no de la experiencia directa, es por esto que la percepción del riesgo y los rasgos de vulnerabilidad varían teniendo en cuenta el medio informativo y la difusión de los mismos.

APARTADO II: análisis de la percepción basado en el conocimiento de las estrategias para la mitigación del riesgo.

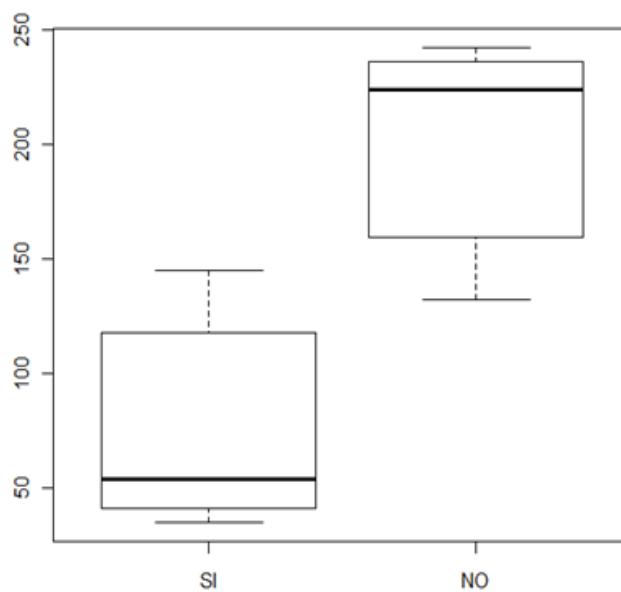


Figura 5. Conocimiento de los habitantes sobre las restricciones y determinación de riesgo de inundación.

Fuente: Autores.

A través del Boxplot presentado en la Figura 5, se visualiza la gran dispersión presentada entre las respuestas, lo que sugiere que existe desconocimiento de este tipo de estrategias, puesto que más del 75% de los habitantes confirman tener desconocimiento, según los resultados del tercer cuartil de la respuesta "No".

De igual forma, se confirma que los rangos intercuartílicos están comprendidos en 68,6, que es la diferencia entre los valores del tercer y primer cuartil; sin embargo, los valores de la mediana son mayores para las respuestas "No" que las respuestas "Sí", con los resultados de 223,5 y 53,5, respectivamente, lo que confirma los resultados del Boxplot.

Respecto a la percepción de los habitantes de la UPZ Tibabuyes encuestados, existe desconocimiento en cuanto al Plan de Emergencia. Así mismo, las personas desconocen las señales de prevención del riesgo; sin embargo, de acuerdo con la visita de campo realizada, se encontró que en el barrio Villa Cindy existe la presencia de un cartel informativo sobre asentarse en lugares en zona de riesgo, menos de la mitad de la muestra afirma conocer el mapa de riesgo de la zona. De igual manera, existe desconocimiento sobre las alertas tempranas, que, de acuerdo con la muestra encuestada, no han sido implementadas.

Contrariamente, las personas conocen las restricciones de encontrarse en una zona de riesgo, sin embargo, debido a factores económicos y al arraigo sobre sus viviendas, hace que no pretendan trasladarse a otro lugar. Así mismo, algunas personas encuestadas afirman haber asistido a capacitaciones sobre el riesgo; sin embargo, en la mayoría de los barrios no existió ninguna información acerca de esto. Finalmente, la población ha presenciado campañas de limpieza del río y humedales, a nivel general, afirmando su participación en estos eventos seis años atrás, lo que sugiere que la limpieza de este tipo de cuerpos de agua no es relevante, y se pueden presentar otro tipo de complicaciones relacionadas con la cantidad de sedimentos que obstruyen el drenaje.

Plan de acción como forma de mitigación del riesgo

Se proponen una serie de estrategias de acción

en escenarios de riesgo alto y medio de inundación de acuerdo con cada estrategia evaluada, con el fin de garantizar su eficacia a la hora de presentarse un riesgo de inundación.

El plan de acción consta de 19 estrategias, de las cuales 10 corresponden a estrategias implementadas en caso de presentarse un escenario de riesgo alto de inundación, y las 9 estrategias complementarias deben ser empleadas en caso de presentarse un escenario de riesgo medio de inundación (Tabla 3- Tabla 4), la descripción específica de cada estrategia puede visualizarse en el anexo "PROPUUESTA CONCEPTUAL PARA LA MITIGACIÓN DE RIESGO POR INUNDACIÓN EN LA UNIDAD DE PLANEAMIENTO ZONAL (UPZ) TIBABUYES, LOCALIDAD DE SUBA".

Así, las 10 estrategias implementadas en escenarios de riesgo alto se resumen de la siguiente forma: adecuación hidráulica en el tramo del Km 68 con la ampliación de 30 a 60 metros del cauce, operativos de evacuación de acuerdo con los planes de emergencia, alerta hidrometeorológica roja por riesgo crítico de desbordamiento en el río, consolidación de la estructura ecológica principal, levantamiento y mantenimiento de Jarillones sobre el borde izquierdo del afluente, implementación de muros de contención, desarrollo de normativas que regulen el uso del suelo, reasentamiento para zonas de riesgo no mitigable, implementación de sistemas urbanos de drenaje bajo el concepto de ecorurbanismo y suministro de sistemas de bombeo provisionales.

Mientras que las estrategias complementarias son: instalar sistemas de alertas por eventos hidrológicos externos, declarar el sistema de alerta naranja cuando se identifique la tendencia ascendente de los niveles de los ríos y la persistencia de las lluvias, programas de capacitación sobre el riesgo y talleres sobre el manejo de la emergencia, retiro de residuos y estructuras que afecten el drenaje, realizar

mantenimiento con el fin de eliminar obstrucciones que puedan generar fallas en el drenaje, modelación hidrológica, monitoreo de lluvias, monitoreo del afluente y del caudal del río, redes comunitarias que alerten el riesgo con el fin de resguardarse.

Tabla 3. Matriz de estrategias riesgo alto.

MATRIZ DE ESTRATEGIAS PARA LA MITIGACIÓN DE RIESGO POR INUNDACIÓN (Intervención correctiva-prospectiva)			
Tipo de estrategia	Estrategia	Indicador	
Adecuación hidráulica	La adecuación hidráulica consiste en la intervención de un tramo de 68 Km desde Puente la Virgen hasta las compuertas de Alicachín, en el cual se genera el mejoramiento del afluente y la ampliación de 30 a 60 mts del cauce.	Profundidad (H) > 1 m Velocidad de Flujo (Vf) > 2 m/s	
Operativos de evacuación	Se establecen operativos según los planes de emergencia en los cuales se tiene en cuenta lugares de resguardo y atención a las necesidades básicas de las personas .	Profundidad (H) > 1 m Velocidad de Flujo (Vf) > 2 m/s	
Alerta hidrometeorológica (ROJA)	Sistema de alerta roja por riesgo crítico de desbordamiento por el aumento del nivel del río o cuando ha empezado la inundación.	Profundidad (H) > 1 m Velocidad de Flujo (Vf) > 2 m/s	
Consolidación de la Estructura Ecológica Principal	Generación de un corredor biológico de ronda con el fin de generar la rehabilitación de humedales que permitan la regulación hídrica y otros servicios ambientales.	Profundidad (H) > 1 m Velocidad de Flujo (Vf) > 2 m/s	
Jarillones	Levantamiento y mantenimiento de jarillones ubicados sobre el borde izquierdo del afluente.	Profundidad (H) > 1 m Velocidad de Flujo (Vf) > 2 m/s	
Muros de contención	Implementación de muros de contención elaborados con sedimentos de los cuerpos de agua con duración de 100 años.	Profundidad (H) > 1 m Velocidad de Flujo (Vf) > 2 m/s	
Políticas y Planeamiento Urbano	Desarrollo de normativas que regulen el uso del suelo y el tipo de edificación y en consecuencia la realización de planeamientos urbanos que tengan en cuenta las zonas con riesgo de inundación.	Profundidad (H) > 1 m Velocidad de Flujo (Vf) > 2 m/s	
Reasentamiento para zonas de riesgo no mitigable	Se realiza un monitoreo de predios ocupados de forma ilegal, aquellos que se encuentran en riesgo deben ser reubicados. El IDIGER compra este tipo de predios y se genera la enajenación voluntaria.	Profundidad (H) > 1 m Velocidad de Flujo (Vf) > 2 m/s	
Sistemas urbanos de drenaje bajo el concepto de ecorurbanismo	Implementación de parques lineales sobre el borde del río, adoquines permeables y sistemas que permitan la captación de agua.	Profundidad (H) > 1 m Velocidad de Flujo (Vf) > 2 m/s	
Suministro de sistemas de bombeo provisionales	El IDIGER suministra motobombas y electrobombas los cuales permiten el manejo de inundaciones.	Profundidad (H) > 1 m Velocidad de Flujo (Vf) > 2 m/s	

Fuente: Autores

Mientras que las estrategias complementarias son: instalar sistemas de alertas por eventos hidrológicos externos, declarar el sistema de alerta naranja cuando se identifique la tendencia ascendente de los niveles de los ríos y la persistencia de las lluvias, programas de capacitación sobre el riesgo y talleres sobre el manejo de la emergencia, retiro de residuos y estructuras que afecten el drenaje, realizar mantenimiento con el fin de eliminar obstrucciones

que puedan generar fallas en el drenaje, modelación hidrológica, monitoreo de lluvias, monitoreo del afluente y del caudal del río, redes comunitarias que alerten el riesgo con el fin de resguardarse.

Dentro de las estrategias se especifican los objetivos, la población beneficiada, los requerimientos técnicos, el presupuesto, las actividades a realizar y las fuentes de financiación.

Tabla 4. Matriz de estrategias Riesgo medio.

MATRIZ DE ESTRATEGIAS PARA LA MITIGACIÓN DE RIESGO POR INUNDACIÓN (Intervención correctiva-prospectiva)			
Tipo de estrategia	Estrategia	Indicador	
Sistemas de alertas tempranas por eventos hidrológicos extremos	Instalar sistemas de alertas por eventos hidrológicos extremos en zonas que han presentado eventos históricos recurrentes con el fin de evitar desbordamiento de los cauces.	0,5 m > Profundidad (H) < 1,0 m Velocidad de Flujo (Vf) < 2 m/s	
Alerta hidrometeorológica (NARANJA)	Sistema de alerta naranja la cual se declara cuando la tendencia ascendente de los niveles de los ríos y la persistencia de las lluvias indican la posibilidad de que se presenten desbordamientos en las próximas horas.	Profundidad (H) > 1 m Velocidad de Flujo (Vf) > 2 m/s	
Capacitación y sensibilización a la comunidad sobre el riesgo	Programas de capacitación sobre el riesgo y talleres sobre el manejo de la emergencia.	0,5 m > Profundidad (H) < 1,0 m Velocidad de Flujo (Vf) < 2 m/s	
Limpieza de los cuerpos de agua presentes en la zona	Retiro de residuos y estructuras que afecten el drenaje del cuerpo de agua.	0,5 m > Profundidad (H) < 1,0 m Velocidad de Flujo (Vf) < 2 m/s	
Mantenimiento de canaletas, cajas de aguas lluvia y mobiliario urbano	Mantenimiento con el fin de eliminar obstrucciones que puedan generar fallas en el drenaje de los cuerpos de agua.	0,5 m > Profundidad (H) < 1,0 m Velocidad de Flujo (Vf) < 2 m/s	
Modelación Hidrológica	Para la actualización de las áreas de inundación se generan hidrogramas con diferentes períodos de retorno calibrados utilizando diferentes parámetros de pérdida y transformación provenientes de estudios realizados previamente en el cuerpo de agua.	0,5 m > Profundidad (H) < 1,0 m Velocidad de Flujo (Vf) < 2 m/s	
Monitoreo de lluvias	Se realiza seguimiento de las lluvias teniendo en cuenta umbrales establecidos a los 7 días con el fin de establecer puntos críticos en las localidades.	0,5 m > Profundidad (H) < 1,0 m Velocidad de Flujo (Vf) < 2 m/s	
Monitoreo del afluente y del caudal del río	Las estaciones ubicadas a lo largo del afluente monitorean en tiempo real el movimiento de la corriente y el caudal del río.	0,5 m > Profundidad (H) < 1,0 m Velocidad de Flujo (Vf) < 2 m/s	
Señalización de emergencia preventiva	Redes comunitarias que alerten el riesgo con el fin de resguardarse.	0,5 m > Profundidad (H) < 1,0 m Velocidad de Flujo (Vf) < 2 m/s	

Fuente: Autores

4. CONCLUSIONES

Se realizó el diagnóstico en la Unidad de Planeamiento Zonal Tibabuyes frente al fenómeno de inundación, a partir de este fue posible establecer que la vulnerabilidad de la zona de estudio se debe principalmente a la cercanía de esta con el Humedal Juan Amarillo, el Humedal de la Conejera y el río Bogotá; así mismo, la principal consecuencia del riesgo existente se debe a la conformación de asentamientos informales y rellenos sobre los humedales, anudado al crecimiento desmedido en la UPZ y la ocupación del suelo con vocación agrícola, generando problemas de escorrentía e infiltración causante de los encarcamientos presentes en la UPZ Tibabuyes.

Para lograr resultados exitosos y definitivos, se debe tener como base, la Resolución 0631 de 2015, la cual "establece los parámetros y los valores límites máximo permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a los sistemas de alcantarillado público", y permitiría mejorar los índices de calidad en las aguas residuales tanto domésticas como industriales en la zona, pero no se hacer un seguimiento en su cumplimiento de manera exhaustiva.

El aumento poblacional de la zona, relacionado con la informalidad tanto en las viviendas como las actividades económicas, hace que se presenten efectos negativos en el ecosistema de la ronda del río Bogotá, debido a la mala disposición de residuos sólidos, y la contaminación del agua, lo que, además, afecta la salud humana.

Se evaluaron las estrategias de mitigación del riesgo adaptadas con la información establecida por el IDIGER a través de la percepción de la población. De acuerdo con el análisis estadístico efectuado, se estableció que más del 75% de la muestra encuestada no posee

conocimientos respecto a las estrategias para la mitigación del fenómeno de inundación; de igual manera, las medidas de tipo no estructural se encuentran rezagadas en la zona puesto que no se ha realizado su implementación.

Dentro de las medidas de mitigación evaluadas en la zona de estudio, a nivel general, se presentan falencias relacionadas con la falta de mantenimiento de las estructuras artificiales del río, la falta de inversión por parte del gobierno para el desarrollo de alertas a nivel local, generación de políticas públicas, mantenimiento de los cuerpos de agua e implementación de estructuras urbanas como forma de mitigar el riesgo y mejorar las condiciones de vida de los habitantes de la zona de estudio.

Se presentó un Plan de Acción de acuerdo con los escenarios de riesgo en la UPZ en donde las estrategias evaluadas están encaminadas a sensibilizar a la población respecto al riesgo inminente de inundación, mejorar el tipo de estructuras para el control de inundaciones e implementar estrategias inexistentes en las zonas, que servirán para preparar a la población ante una emergencia y reducir las condiciones de riesgo actuales.

Para implementar de un Plan de Acción en la zona de estudio es necesaria la percepción de la población y la intervención de las instituciones y actores de carácter público privado, que contribuyan en la prevención y gestión del riesgo, y en el fortalecimiento del cumplimiento de la normativa vigente o, de ser el caso, su actualización; como sucede con la Norma Técnica Colombiana GTC 104, que establece Gestión del Riesgo Ambiental y data de año 2009

Se debe trabajar articuladamente en el Plan de Ordenamiento Territorial con el Plan de Ordenación y Manejo de la Cuenca Hidrográfica del río Bogotá, establecido en la Resolución 0957

de 2019, revisando las estrategias complementarias o faltantes en la gestión del riesgo de inundación y los asociados a esta.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORÍA

Primer autor: metodología de participación, conceptualización, escritura – borrador original. **Segundo autor:** investigación, conceptualización. **Tercer autor:** administración del proyecto, logística, análisis de datos y modelación de la encuesta, revisión y edición, escritura – borrador original **Cuarto autor:** revisión y edición.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, deseamos agradecer al PhD(c). Didier Camilo Sierra por la dedicación y apoyo que ha brindado a este trabajo, por el respeto a las sugerencias e ideas y por la dirección del artículo y del trabajo de tesis elaborado por Ayala, A, & Valbuena, T. (2019), por parte de la Universidad Sergio Arboleda. Propuesta conceptual para la mitigación de riesgo de inundación en la Unidad de Planeamiento Zonal (UPZ) Tibabuyes, localidad de Suba, el cual fue la base para el desarrollo del artículo.

LITERATURA CITADA

Alcaldía Local de Suba. (2012). PLAN AMBIENTAL LOCAL SUBA 2013-2016. Bogotá: Secretaría Distrital de Ambiente. Recuperado de <http://www.ambientebogota.gov.co/documents/10157/2883165/PAL+Suba+2013-2016.pdf>

Alkire, S., & Foster, J. (2011). Understandings and Misunderstandings of Multidimensional Poverty Measurement. *OPHI Working Papers*, 43. Oxfordshire: University of Oxford. Recuperado de <https://www.ophi.org.uk/wp-content/uploads/ophi-wp43.pdf>

Alkire, S., & Santos, M. E. (2010). Acute Multidimensional Poverty: A New Index for Developing Countries. *OPHI Working Papers*, 38. Oxfordshire: University of Oxford. Recuperado de https://www.ophi.org.uk/wp-content/uploads/OPHI-wp38_with_note.pdf

Angulo, R. C., & Diaz, Y. (2011). Índice de Pobreza Multidimensional para Colombia. Bogotá: Departamento Nacional de Planeación. Recuperado de <https://colaboracion.dnp.gov.co/cdt/estudios%20economicos/382.pdf>

Corporación Autónoma Regional (CAR). (2019). Resolución 957 de 2019 "Por la cual se aprueba el ajuste y actualización del POMCA río Bogotá". Corporación Autónoma Regional. Recuperado de <https://www.car.gov.co/vercontenido/3691>

Gobernación de Cundinamarca. (2017). Estudio de Crecimiento y Evolución de la Huella Urbana para los Municipios que conforman el área Bogotá Región. Bogotá: Secretaría Distrital de Planeación. Recuperado de http://www.sdp.gov.co/sites/default/files/diagnostico_de_la_huella_urbana_de_bogota_y_20_municipios_de_1997_a_2016.pdf

Guzmán, T. (2015). Procesos de expansión urbana en la ciudad colombiana. Efectos de la transformación del municipio de Chía (2002-2012) (estudio de caso). Universidad Colegio Mayor de Nuestra Señora del Rosario. Bogotá. Recuperado de <http://repository.urosario.edu.co/bitstream/handle/10336/11687/1.019.034.788%20-%202015.pdf?sequence=1>

Hernández, D., Serrano, R. (2012). Propuesta de mitigación para los sectores críticos de inundación en la localidad de Suba, Bogotá D.C. *Teoría Y Praxis Investigativa*, 8(1), 8 – 20. Recuperado de <http://revia.areandina.edu.co/ojs/index.php/Pp/article/view/397/429>

Instituto de Estudios Urbanos. (2011). Diagnóstico Local, Localidad de Suba. Recuperado de http://www.institutodeestudiosurbanos.info/dmdocuments/cendocieu/coleccion_digital/Conformacion_Vereda_Chorrillos/Diagnostico_Subahospital_Subah-2011.pdf

Instituto Distrital de Gestión de Riesgos y Cambio Climático (IDIGER). (2018). Documento técnico de soporte: Estudios básicos «Amenazas por inundaciones en perspectiva de cambio climático». Bogotá: Secretaría Distrital de Planeación. Recuperado de <http://www.sdp.gov.co/sites/default/files/4-DOCUMENTO-TECNICO-DE-SOPORTE/Gestion%20del%20Riesgo.%20Amenazas%20inundacion%20Urbano.pdf>

Instituto Distrital de Gestión de Riesgos y Cambio Climático (IDIGER). (s. f.). Caracterización General del Escenario de Riesgo por Inundación. Bogotá: Instituto Distrital de Gestión de Riesgos

y Cambio Climático. Recuperado de <https://www.idiger.gov.co/rinundacion>

Instituto Geográfico Agustín Codazzi (2019). Aero-grafía de la Localidad de Suba año 1995 y año 2004.[Figura 3]. Recuperado de <https://geoportal.igac.gov.co/contenido/consulta>

Rodríguez, M, y Guarín, R. (2015). ANÁLISIS DE LOS PROGRAMAS DE PREVENCIÓN Y MITIGACIÓN DE LA GESTIÓN DEL RIESGO EN LA LOCALIDAD DE SUBA – BOGOTÁ. (Tesis de especialización). *Universidad Santo Tomás*, Bogotá, Colombia. Recuperado de <https://repository.usta.edu.co/handle/11634/2246?show=full>

Serrano, R., & Romero, D. (2017). Propuesta de mitigación para los sectores críticos de inundación en la localidad de Suba (1.^a ed.). Bogotá, *Universidad Piloto de Colombia*. Recuperado de <https://books.google.com.co/books?id=4ptYDwAAQBAJ&pg=PT21&lpg=PT21&dq=riesgo#v=onepage&q=riesgo&f=false>

Secretaría Distrital de Planeación (SDP). (2014). Proyecciones de población por localidades para Bogotá 2016-2020. Bogotá: *Secretaría Distrital*

de Planeación. Recuperado de <http://www.sdp.gov.co/sites/default/files/boletin69.pdf>

Secretaría Distrital de Planeación. (2017). Localidad de Suba Diagnóstico de los principales aspectos territoriales, de infraestructura, demográficos y socioeconómicos. Bogotá: *Secretaría Distrital de Planeación*. Recuperado de <http://www.sdp.gov.co/gestion-estudios-estrategicos/informacion-cartografia-y-estadistica/repositorio-estadistico/monografia-localidad-de-suba-2017%5D>

Unidad Nacional para la Gestión del Riesgo de Desastres. (2018). Atlas de riesgo de Colombia: revelando los desastres latentes. Bogotá: *Unidad Nacional para la Gestión del Riesgo de Desastres*. Recuperado de <https://repositorio.gestiondelriesgo.gov.co/handle/20.500.11762/27179>

Vallejo, A, y Vélez, J. (2009). La percepción del riesgo en los procesos de urbanización del territorio. *Letras Verdes Revista Latinoamericana de Estudios Socioambientales*. Recuperado de <https://revistas.flacsoandes.edu.ec/letasverdes/article/view/833>

Conflictos 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 (2) año 2021

RIAA (2021). Revisores Académicos de los artículos publicados en la Revista de Investigación Agraria y Ambiental – RIAA, Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD. Ojeda G. & Bonilla M. (Dir. Ed.). Comité Editorial: 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.

ÁREA AGRÍCOLA

Faria, A.V., Barbosa, K.P., Costa, A.R., Silva, P.C., Drumond, A.A., França, J.B., y Silva, G.M. (2021). Profundidad de siembra y tamaño de las semillas: desarrollo de las plántulas de frijol Mungo. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 13 - 24. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3833>

Monteiro, L., Ferreira, A., Faria, G., Rodrigues, M., and Boliani, A. (2021). Influence of scarification and gibberellic acid on seed dormancy and germination of pomegranate seedlings. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 25 - 37. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3852>

Nunes, A., Coelho, D., Soldi, C., Werner, S., Maraschin, M., Boff, P., and Boff, M. (2021). Vegetative growth of *Hypericum perforatum* L. plants treated with high dynamized dilutions over different growing seasons. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 39 - 49. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.4237>

Paim, L.P., Avrella, E.D., Horlle, J.C., Fior, C.S., Lazarotto, M., and Brunes, A.P. (2021). Response of *Lupinus bracteolaris* seeds to pre-germinative treatments and experimental conditions. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 51 - 66. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.4278>

Castañeda-Cardona, C., Portela-Puerta, R., y Morillo-Coronado, Y. (2021). Caracterización molecular con marcadores ISSR de la colección de cítricos de la UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 67 - 84. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3884>

Avrella, E.D., Paim, L.P., Tedesco, M., Emer, A.A., Schafer, G., de Souza, P.V., y Fior, C.S. (2021). Suelo mineral como componente de sustrato para plantas. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 85 - 98. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.4111>

ÁREA PECUARIA

Castrillón, M., y Campos, R. (2021). Respuesta inmune en neonatos bovinos de madres vacunadas y no vacunadas con bacterina contra neumonenteritis. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 99 - 113. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3620>

Suarez-Romero, H., Borrás-Sandoval, L., y Rodríguez-Molano, C. (2021). Caracterización de bloques multinutricionales con bovinaza enriquecidos con un preparado a base de bacterias ácido lácticas. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 115 - 126. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3914>

ÁREA AMBIENTAL

Ramírez-Velasco, C., Pérez, D., Pereira, R., y Bolaños-Alomía, F. (2021). Análisis comparativo de emisiones de CO₂ de un motor empleando diésel y biodiésel. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 127 - 145. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3603>

Arias, A., Ramos, E., y Delgado, Z. (2021). Identificación y clasificación de sustancias químicas cancerígenas en una planta procesadora de alimentos cárnicos. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 147 - 160. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3881>

Posada, A., Mejía, D., Polanco-Echeverry, D., y Cardona, J. (2021). Rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR): Una revisión sistemática 1990-2019. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 161 - 178. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.4040>

Alean-Flórez, J., Márquez-Méndez, D., Burgos-Núñez, S., Enamorado-Montes, G., y Marrugo-Negrete, J. (2021). Productos farmacéuticos y de cuidado personal presentes en aguas superficiales, de consumo humano y residuales en el Departamento de Córdoba, Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 179 - 197. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.4231>

Valbuena, T., Ayala, A., Sierra, D., y Gómez, L. (2021). Propuesta conceptual para la mitigación de riesgo por inundación en la unidad de planeamiento zonal (UPZ) Tibabuyes, localidad de Suba. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(2), 199 - 214. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3823>

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).

Periocidad

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.

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 250 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 1024pixeles). Un ejemplo de figura:

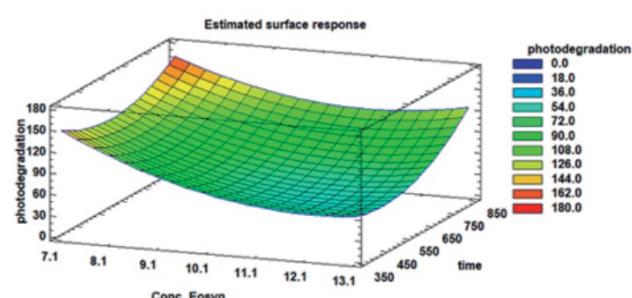


Figura 1. Título de la figura. Leyenda de la figura, el tipo de letra verdana tamaño 9. Fuente de: xx

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 case of working papers, only one evaluating pair and the concept of one of the members of the scientific committee are required, since they are NOT part of the official articles 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.

Finally, the **working papers** are versions prior to the publication of academic articles, book chapters, reviews, which are of priority to disclose. This type of document complies with the same parameters: introduction, materials and methods, preliminary results and discussion, 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 ma-

nuscripts 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.