

VOL VIII

# AGRÁRIAS

PESQUISA E INOVAÇÃO NAS CIÊNCIAS QUE  
ALIMENTAM O MUNDO

EDUARDO EUGÊNIO  
SPERS  
(Organizador)

 EDITORA  
ARTEMIS

2022

VOL VIII

# AGRÁRIAS

PESQUISA E INOVAÇÃO NAS CIÊNCIAS QUE  
ALIMENTAM O MUNDO

EDUARDO EUGÊNIO  
SPERS  
(Organizador)

 EDITORA  
ARTEMIS

2022



O conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons Atribuição-Não-Comercial NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0). Direitos para esta edição cedidos à Editora Artemis pelos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento, desde que sejam atribuídos créditos aos autores, e sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

A responsabilidade pelo conteúdo dos artigos e seus dados, em sua forma, correção e confiabilidade é exclusiva dos autores. A Editora Artemis, em seu compromisso de manter e aperfeiçoar a qualidade e confiabilidade dos trabalhos que publica, conduz a avaliação cega pelos pares de todos manuscritos publicados, com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

<b>Editora Chefe</b>	Prof. <sup>a</sup> Dr. <sup>a</sup> Antonella Carvalho de Oliveira
<b>Editora Executiva</b>	M. <sup>a</sup> Viviane Carvalho Mocellin
<b>Direção de Arte</b>	M. <sup>a</sup> Bruna Bejarano
<b>Diagramação</b>	Elisângela Abreu
<b>Organizador</b>	Prof. Dr. Eduardo Eugênio Spers
<b>Imagem da Capa</b>	Shutterstock
<b>Bibliotecária</b>	Janaina Ramos – CRB-8/9166

#### Conselho Editorial

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ada Esther Portero Ricol, *Universidad Tecnológica de La Habana “José Antonio Echeverría”*, Cuba  
Prof. Dr. Adalberto de Paula Paranhos, Universidade Federal de Uberlândia  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Amanda Ramalho de Freitas Brito, Universidade Federal da Paraíba  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Clara Monteverde, *Universidad de Buenos Aires, Argentina*  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Júlia Viamonte, Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP), Portugal  
Prof. Dr. Ángel Mujica Sánchez, *Universidad Nacional del Altiplano, Peru*  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Angela Ester Mallmann Centenaro, Universidade do Estado de Mato Grosso  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Begoña Blandón González, *Universidad de Sevilla, Espanha*  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Carmen Pimentel, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Catarina Castro, Universidade Nova de Lisboa, Portugal  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cirila Cervera Delgado, *Universidad de Guanajuato, México*  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cláudia Padovesi Fonseca, Universidade de Brasília-DF  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cláudia Neves, Universidade Aberta de Portugal  
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos, Universidade Federal da Grande Dourados  
Prof. Dr. David García-Martul, *Universidad Rey Juan Carlos de Madrid, Espanha*  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Deuzimar Costa Serra, Universidade Estadual do Maranhão  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Dina Maria Martins Ferreira, Universidade Estadual do Ceará  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Eduarda Maria Rocha Teles de Castro Coelho, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Portugal  
Prof. Dr. Eduardo Eugênio Spers, Universidade de São Paulo  
Prof. Dr. Eloi Martins Senhoras, Universidade Federal de Roraima, Brasil



Prof.ª Dr.ª Elvira Laura Hernández Carballido, *Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*, México  
Prof.ª Dr.ª Emilas Darlene Carmen Lebus, *Universidad Nacional del Nordeste/ Universidad Tecnológica Nacional*, Argentina  
Prof.ª Dr.ª Erla Mariela Morales Morgado, *Universidad de Salamanca*, Espanha  
Prof. Dr. Ernesto Cristina, *Universidad de la República*, Uruguay  
Prof. Dr. Ernesto Ramírez-Briones, *Universidad de Guadalajara*, México  
Prof. Dr. Gabriel Díaz Cobos, *Universitat de Barcelona*, Espanha  
Prof.ª Dr.ª Gabriela Gonçalves, Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP), Portugal  
Prof. Dr. Geoffroy Roger Pointer Malpass, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil  
Prof.ª Dr.ª Gladys Esther Leoz, *Universidad Nacional de San Luis*, Argentina  
Prof.ª Dr.ª Glória Beatriz Álvarez, *Universidad de Buenos Aires*, Argentina  
Prof. Dr. Gonçalo Poeta Fernandes, Instituto Politécnico da Guarda, Portugal  
Prof. Dr. Gustavo Adolfo Juarez, *Universidad Nacional de Catamarca*, Argentina  
Prof.ª Dr.ª Iara Lúcia Tescarollo Dias, Universidade São Francisco, Brasil  
Prof.ª Dr.ª Isabel del Rosario Chiyon Carrasco, *Universidad de Piura*, Peru  
Prof.ª Dr.ª Isabel Yohena, *Universidad de Buenos Aires*, Argentina  
Prof. Dr. Ivan Amaro, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil  
Prof. Dr. Iván Ramon Sánchez Soto, *Universidad del Bío-Bío*, Chile  
Prof.ª Dr.ª Ivânia Maria Carneiro Vieira, Universidade Federal do Amazonas, Brasil  
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz, *University of Miami and Miami Dade College*, Estados Unidos  
Prof. Dr. Jesús Montero Martínez, *Universidad de Castilla - La Mancha*, Espanha  
Prof. Dr. João Manuel Pereira Ramalho Serrano, Universidade de Évora, Portugal  
Prof. Dr. Joaquim Júlio Almeida Júnior, UniFIMES - Centro Universitário de Mineiros, Brasil  
Prof. Dr. José Cortez Godinez, Universidad Autónoma de Baja California, México  
Prof. Dr. Juan Carlos Cancino Diaz, Instituto Politécnico Nacional, México  
Prof. Dr. Juan Carlos Mosquera Feijoo, *Universidad Politécnica de Madrid*, Espanha  
Prof. Dr. Juan Diego Parra Valencia, *Instituto Tecnológico Metropolitano de Medellín*, Colômbia  
Prof. Dr. Juan Manuel Sánchez-Yáñez, *Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo*, México  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil  
Prof. Dr. Leinig Antonio Perazolli, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Brasil  
Prof.ª Dr.ª Livia do Carmo, Universidade Federal de Goiás, Brasil  
Prof.ª Dr.ª Luciane Spanhol Bordignon, Universidade de Passo Fundo, Brasil  
Prof. Dr. Luis Fernando González Beltrán, Universidad Nacional Autónoma de México, México  
Prof. Dr. Luis Vicente Amador Muñoz, *Universidad Pablo de Olavide*, Espanha  
Prof.ª Dr.ª Macarena Esteban Ibáñez, *Universidad Pablo de Olavide*, Espanha  
Prof. Dr. Manuel Ramiro Rodriguez, *Universidad Santiago de Compostela*, Espanha  
Prof.ª Dr.ª Márcia de Souza Luz Freitas, Universidade Federal de Itajubá, Brasil  
Prof. Dr. Marcos Augusto de Lima Nobre, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Brasil  
Prof. Dr. Marcos Vinicius Meiado, Universidade Federal de Sergipe, Brasil  
Prof.ª Dr.ª Mar Garrido Román, *Universidad de Granada*, Espanha  
Prof.ª Dr.ª Margarida Márcia Fernandes Lima, Universidade Federal de Ouro Preto, Brasil  
Prof.ª Dr.ª Maria Aparecida José de Oliveira, Universidade Federal da Bahia, Brasil  
Prof.ª Dr.ª Maria Carmen Pastor, *Universitat Jaume I*, Espanha  
Prof.ª Dr.ª Maria do Céu Caetano, Universidade Nova de Lisboa, Portugal  
Prof.ª Dr.ª Maria do Socorro Saraiva Pinheiro, Universidade Federal do Maranhão, Brasil  
Prof.ª Dr.ª Maria Lúcia Pato, Instituto Politécnico de Viseu, Portugal



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maritza González Moreno, *Universidad Tecnológica de La Habana*, Cuba  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Mauriceia Silva de Paula Vieira, Universidade Federal de Lavras, Brasil  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Odara Horta Boscolo, Universidade Federal Fluminense, Brasil  
Prof. Dr. Osbaldo Turpo-Gebera, *Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa*, Peru  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Patrícia Vasconcelos Almeida, Universidade Federal de Lavras, Brasil  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Paula Arcoverde Cavalcanti, Universidade do Estado da Bahia, Brasil  
Prof. Dr. Rodrigo Marques de Almeida Guerra, Universidade Federal do Pará, Brasil  
Prof. Dr. Saulo Cerqueira de Aguiar Soares, Universidade Federal do Piauí, Brasil  
Prof. Dr. Sergio Bitencourt Araújo Barros, Universidade Federal do Piauí, Brasil  
Prof. Dr. Sérgio Luiz do Amaral Moretti, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Silvia Inés del Valle Navarro, *Universidad Nacional de Catamarca*, Argentina  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Solange Kazumi Sakata, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. Universidade de São Paulo (USP), Brasil  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Teresa Cardoso, Universidade Aberta de Portugal  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Teresa Monteiro Seixas, Universidade do Porto, Portugal  
Prof. Dr. Valter Machado da Fonseca, Universidade Federal de Viçosa, Brasil  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Vanessa Bordin Viera, Universidade Federal de Campina Grande, Brasil  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Vera Lúcia Vasilévski dos Santos Araújo, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Brasil  
Prof. Dr. Wilson Noé Garcés Aguilar, *Corporación Universitaria Autónoma del Cauca*, Colômbia

#### **Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

A277 Agrárias: pesquisa e inovação nas ciências que alimentam o mundo - Vol. VIII / Organizador Eduardo Eugênio Spers. – Curitiba-PR: Artemis, 2022.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-87396-68-2

DOI 10.37572/EdArt\_260822682

1. Ciências agrárias. 2. Pesquisa. 3. Agronegócio. 4. Agroecologia. I. Spers, Eduardo Eugênio (Organizador). II. Título.

CDD 630

**Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166**



## APRESENTAÇÃO

As Ciências Agrárias são um campo de estudo multidisciplinar por excelência, e um dos mais profícuos em termos de pesquisas e aprimoramento técnico. A demanda mundial por alimentos e a crescente degradação ambiental impulsionam a busca constante por soluções sustentáveis de produção e por medidas visando à preservação e recuperação dos recursos naturais.

A obra **Agrárias: Pesquisa e Inovação nas Ciências que Alimentam o Mundo** compila pesquisas atuais e extremamente relevantes, apresentadas em linguagem científica de fácil entendimento. Na coletânea, o leitor encontrará textos que tratam dos sistemas produtivos em seus diversos aspectos, além de estudos que exploram diferentes perspectivas ou abordagens sobre a planta, o meio ambiente, o animal, o homem e a sociedade no ambiente rural.

É uma obra que fornece dados, informações e resultados de pesquisas tanto para pesquisadores e atuantes nas diversas áreas das Ciências Agrárias, como para o leitor que tenha a curiosidade de entender e expandir seus conhecimentos.

Este Volume VIII traz 25 artigos de estudiosos de diversos países, divididos em quatro eixos temáticos: *Cultura e Sociedade no Contexto Rural; Produção Sustentável; Produção Vegetal e Solos e Aquacultura, Produção Animal e Veterinária.*

Desejo a todos uma proveitosa leitura!

Eduardo Eugênio Spers

## SUMÁRIO

### CULTURA E SOCIEDADE NO CONTEXTO RURAL

#### **CAPÍTULO 1..... 1**

DESAFIOS DE UMA PAISAGEM CULTURAL MEDITERRÂNICA: O MONTADO, O TIRADOR DE CORTIÇA E A TRANSMISSÃO DO SABER-FAZER TRADICIONAL

Sónia Bombico

Carlos Manuel Faísca

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_2608226821](https://doi.org/10.37572/EdArt_2608226821)

#### **CAPÍTULO 2.....28**

DISEÑO DE UN SISTEMA DE BUENAS PRACTICAS AGRICOLAS COMO ESTRATEGIA DE IMPLEMENTACION EN LA ASOCIACION APRIMUJER UBICADA EN EL MUNICIPIO DE SAN VICENTE DE CHUCURI

Leidy Andrea Carreño Castaño

Mónica María Pacheco Valderrama

Héctor Julio Paz Díaz

Miguel Arturo Lozada Valero

Rafael Calderón Silva

Jhoan Arley Ochoa Martínez

Angélica María Montoya Hernández

Irina Alean Carreño

Shirley Mancera

Daniel Augusto Buitrago Ibañez

Ana Milena Salazar

Sandra Milena Montesino Rincón

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_2608226822](https://doi.org/10.37572/EdArt_2608226822)

#### **CAPÍTULO 3..... 38**

ESPECIES FORESTALES DE IMPORTANCIA CULTURAL DE BADIRAGUATO SINALOA

Yulisa Rodríguez López

Heréndira Flores Almeida

Gilberto Sandoval Varela

Bladimir Salomón Montijo

Aidé Avendaño Gómez

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_2608226823](https://doi.org/10.37572/EdArt_2608226823)

**CAPÍTULO 4..... 50**

CONTRIBUCIÓN POTENCIAL DE LAS SEMILLAS DE *Carica papaya* Linn Y SU ACEITE EN LA SALUD

Amelia Andrea Espitia Arrieta  
Jennifer Judith Lafont Mendoza  
Ana Karina Paternina Zapa

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_2608226824](https://doi.org/10.37572/EdArt_2608226824)

**CAPÍTULO 5.....62**

PROTOTIPOS DE INNOVACIÓN SOCIAL EN PESCA ARTESANAL, REGIÓN DE LOS RÍOS – CHILE

Griselda Ilabel Pérez  
Meyling Tang Ortiz  
Claudio Barrientos Aguila

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_2608226825](https://doi.org/10.37572/EdArt_2608226825)

**PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL**

**CAPÍTULO 6.....70**

CONCEPTO DE BIORREFINERÍA: DESARROLLO SOSTENIBLE Y PROPUESTA DE PROCESO LIMPIO EN LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE RESIDUOS INDUSTRIALES DE PISTACHO (*Pistacia vera* var. *Kerman*)

Daniela Zalazar-García  
Rosa Rodriguez  
María Paula Fabani  
Germán Mazza  
Marcelo Echegaray  
Romina Zabaleta  
Eliana Sanchez  
Erick Torres

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_2608226826](https://doi.org/10.37572/EdArt_2608226826)

**CAPÍTULO 7..... 83**

REDUCCIÓN DE LA CANTIDAD DE VINAZA POR AUMENTO DE LA CONCENTRACIÓN FINAL DE ETANOL POR FERMENTACIÓN DE *Saccharomyces cerevisiae*

María Laura Muruaga  
María Gabriela Muruaga  
Cristian Andrés Sleiman  
Nora Inés Perotti

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_2608226827](https://doi.org/10.37572/EdArt_2608226827)

**CAPÍTULO 8.....97**

EVALUACIÓN DE LA *CHLORELLA SP* Y LA *DUNALIELLA TERTIOLECTA* COMO FUENTE POTENCIAL DE ÁCIDOS GRASOS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL

Dally Esperanza Gáfaró Álvarez  
Mónica María Pacheco Valderrama  
Daniel Augusto Buitrago Ibañez  
Yuleisi Tatiana Caballero Hernandez  
Leidy Andrea Carreño Castaño  
Ana Milena Salazar Beleño  
Miguel Arturo Lozada Valero  
Leidy Carolina Ortiz Araque  
Olga Cecilia Alarcón Vesga  
Sandra Milena Montesino Rincón  
Cristian Giovanni Palencia Blanco  
Nora Milena Ortiz Garcia

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_2608226828](https://doi.org/10.37572/EdArt_2608226828)

**CAPÍTULO 9..... 110**

A TEMPORARY IMMERSION SYSTEM (TIS) BIOREACTOR USED FOR THE IN VITRO PROPAGATION OF *PRUNUS* AND *PYRUS* ROOTSTOCKS

Carlos Rolando Mendoza  
Ramon Dolcet-Sanjuan

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_2608226829](https://doi.org/10.37572/EdArt_2608226829)

**CAPÍTULO 10.....125**

CARACTERIZAÇÃO DE CORANTES PARA ELABORAÇÃO DE CEREJAS CANDEADA: ERITROSINA VERSUS VERMELHO GARDENIA

Juan Ignacio González Pacheco  
Mariela Beatriz Maldonado  
Ariel Fernando Márquez Agüero  
Emanuel Félix Condori Laura  
Paula Anabella Giorlando Videla

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_26082268210](https://doi.org/10.37572/EdArt_26082268210)

**PRODUÇÃO VEGETAL E SOLOS**

**CAPÍTULO 11..... 141**

THE QUALITY OF APPLE FRUIT PRODUCTS WHEN USING THE GROWTH BIOREGULATOR ALBIT IN THE SYSTEM OF PROTECTION

Svetlana Levchenko  
Elena Stranishevskaya

Elena Matveikina  
Vladimir Boiko  
Nadezhda Shadura  
Vitalii Volodin  
D. Belash  
Ya. Volkov  
Marina Volkova

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_26082268211](https://doi.org/10.37572/EdArt_26082268211)

**CAPÍTULO 12 ..... 151**

THE EFFECT OF VEGETATIVE TREATMENT OF GRAPES WITH A PREPARATION  
BASED ON AMINO ACIDS ON THE PHENOLIC COMPLEX OF BERRIES

Svetlana Levchenko  
Elena Ostroukhova  
Sofia Cherviak  
Vladimir Boyko  
Dmitriy Belash  
Irina Peskova  
Nataliya Lutkova  
Mariya Viugina  
Olga Zaitseva  
Aleksandr Romanov

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_26082268212](https://doi.org/10.37572/EdArt_26082268212)

**CAPÍTULO 13 ..... 162**

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE ACEITES SEMILLAS CON APROVECHAMIENTO  
POTENCIAL ZONAS TROPICALES

Amelia Andrea Espitia Arrieta  
Jennifer Judith Lafont Mendoza

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_26082268213](https://doi.org/10.37572/EdArt_26082268213)

**CAPÍTULO 14 ..... 175**

PLAGAS DESENCADENANTES DE EPIFITIAS DEL CULTIVO DE PLATANO &  
ESTRATEGIAS DE CONTROL

Francisco Angel Simón Ricardo  
Renso Oswaldo Lozano Gámez  
Cristhian Andrés Méndez Cedeño  
Luis Pérez Vicente

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_26082268214](https://doi.org/10.37572/EdArt_26082268214)



**CAPÍTULO 15 ..... 191**

EFFECTOS ABIÓTICOS DE LA SALINIDAD EN CULTIVOS DE ARÁNDANO BAJO RIEGO POR GOTEJO, EN LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

Alejandro Pannunzio  
Pamela Texeira  
Luciana Tozzini

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_26082268215](https://doi.org/10.37572/EdArt_26082268215)

**CAPÍTULO 16 ..... 200**

EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO DEL GRANO CON LOS TRES HÍBRIDOS ASOCIADOS CON TRES NIVELES DE LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA EN EL CULTIVO DE MAÍZ ENTRE LA ASPERSIÓN Y GOTEJO POR FERTIRIEGO DURANTE LA ESTACIÓN SECA EN UN SUELO VERTISOL

Kentaro Tomita  
Jaime Proaño

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_26082268216](https://doi.org/10.37572/EdArt_26082268216)

**CAPÍTULO 17 ..... 209**

APLICAÇÃO DE TÉCNICAS DE MACHINE LEARNING PARA CLASSIFICAÇÃO DA APTIDÃO DOS SOLOS PARA O REGADIO

Pedro Torres  
António Canatário Duarte  
João Gerales  
Sílvia Marques

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_26082268217](https://doi.org/10.37572/EdArt_26082268217)

**AQUACULTURA, PRODUÇÃO ANIMAL E VETERINÁRIA**

**CAPÍTULO 18 ..... 225**

INFLUENCIA DE LAS VARIABLES MORFOLOGICAS Y POBLACIONALES DE *Eichornia crassipes* Y *Pistia stratiotes* SOBRE LA COMUNIDAD DE MACROINVERTEBRADOS ACUATICOS EN UNA MADRE VIEJA DEL VALLE DEL CAUCA

Daniel Feriz Garcia  
Jency Nathaly Palacio Bayer  
Laura Melissa Muños Burbano

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_26082268218](https://doi.org/10.37572/EdArt_26082268218)

**CAPÍTULO 19 .....239**

**AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE ACHIGÃS PRODUZIDOS EM AQUACULTURA**

António Moitinho Rodrigues

António Vasco de Mello

Miguel de Mello

Filipa Inês Pitacas

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_26082268219](https://doi.org/10.37572/EdArt_26082268219)

**CAPÍTULO 20 .....250**

**EFICÁCIA DO TRATAMENTO COMBINADO DE AMITRAZ E FLUMETRINA NO CONTROLO DA VARROOSE**

Maria Alice Carvalho Hipólito

Catarina Manuela Almeida Coelho

Sância Maria Afonso Pires

Jorge Belarmino Ferreira de Oliveira

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_26082268220](https://doi.org/10.37572/EdArt_26082268220)

**CAPÍTULO 21 .....263**

**CAPTACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE AGUA PARA RIEGO DE PASTURAS EN CHIPAUQUIL (DPTO. VALCHETA). ARGENTINA**

Juan José Gallego

Ciro Adrián Saber

Germán Cariac

Pablo Giovinne

Julio Argentino Llampá

Horacio Alberto Pallao

Diego Milipil

Hernán Zelmer

Roberto Angel Molina

Ines Mora Jara

María Victoria Cortés

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_26082268221](https://doi.org/10.37572/EdArt_26082268221)

**CAPÍTULO 22 .....270**

**POTENCIALES MECANISMOS POR LOS CUALES SE MANIFIESTAN LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS EMERGENTES DEL CERDO**

Carlos J. Perfumo

Mariana Machuca

Alejandra Quiroga

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_26082268222](https://doi.org/10.37572/EdArt_26082268222)

**CAPÍTULO 23 .....285**

CONFORTO TÉRMICO PARA FRANGOS DE CORTE EM CENÁRIOS DE MUDANÇA CLIMÁTICA NO RS

Zanandra Boff de Oliveira  
Emanuel Luis Christmann  
Eduardo Leonel Bottega  
Tiago Rodrigo Francetto

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_26082268223](https://doi.org/10.37572/EdArt_26082268223)

**CAPÍTULO 24 .....298**

GANADERÍA EQUINA EXTENSIVA, FIESTAS Y PRODUCTOS TRADICIONALES: COOPERATIVA MONTE CABALAR Y RAPA DAS BESTAS DE SABUCEDO (A ESTRADA, PONTEVEDRA)

Francisco Xavier Barreiro  
Adolfo Cano Guervós

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_26082268224](https://doi.org/10.37572/EdArt_26082268224)

**CAPÍTULO 25 .....316**

VINCRISTINA SUBCUTÁNEA COMO VIA ALTERNATIVA PARA EL TRATAMIENTO DE TUMOR VENÉREO TRANSMISIBLE EN PERROS

Gloria Beatriz Cabrera Suarez  
David Octavio Rugel González

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_26082268225](https://doi.org/10.37572/EdArt_26082268225)

**SOBRE O ORGANIZADOR.....326**

**ÍNDICE REMISSIVO ..... 327**

# CAPÍTULO 1

## DESAFIOS DE UMA PAISAGEM CULTURAL MEDITERRÂNICA: O MONTADO, O TIRADOR DE CORTIÇA E A TRANSMISSÃO DO SABER-FAZER TRADICIONAL

Data de submissão: 21/05/2022

Data de aceite: 10/06/2022

**Sónia Bombico**

Universidade de Évora  
Portugal

CIDEHUS – Centro Interdisciplinar de  
História, Culturas e Sociedades

MED - Instituto Mediterrâneo para a

Agricultura, Ambiente e Desenvolvimento

Cátedra UNESCO em

Património Imaterial e

Saber-Fazer Tradicional

CHANGE – Global Change and

Sustainability Institute

ORCID: 0000-0001-5742-2202

**Carlos Manuel Faisca**

Universidade de Coimbra  
Portugal

CEIS20 – Centro de Estudos

Interdisciplinares

ORCID: 0000-0001-7501-021X

**RESUMO:** Este trabalho aborda o montado enquanto paisagem cultural. Apresenta-se uma leitura diacrónica da relação entre o Homem e o montado de sobreiro, fazendo referência às principais fontes históricas disponíveis. Aborda-se a importância do sector corticeiro em Portugal, e faz-se

referência aos problemas relacionados com a formação e a carência de conhecimento científico na área da subcultura. Focam-se os conceitos de património cultural imaterial e de conhecimento ecológico tradicional, aplicados ao estudo do montado. Apresentam-se os resultados de um questionário aplicado a tiradores de cortiça, entre as comunidades rurais do sul de Portugal, em que se abordam as condições laborais, a continuidade da transmissão do saber-fazer tradicional e o declínio do montado. Por fim, perspetivam-se linhas de trabalho futuro.

**PALAVRAS-CHAVE:** Sobreiro. Paisagem cultural. Tiradores de cortiça. Património cultural imaterial. Mediterrâneo. Questionários.

CHALLENGES OF A MEDITERRANEAN  
CULTURAL LANDSCAPE: THE MONTADO,  
THE CORK HARVESTER AND THE  
TRANSMISSION OF TRADITIONAL  
KNOWLEDGE

**ABSTRACT:** This work discusses the cork oak forest as a cultural landscape. A diachronic reading of the relationship between man and the cork oak forest is presented, referring to the main historical sources available. The importance of the cork sector in Portugal is discussed and reference is made to the problems related to the lack of training and scientific knowledge in subculture. The concepts of intangible cultural heritage and traditional ecological knowledge, applied to

the study of the cork oak forest, are focused on. The results of a questionnaire applied to cork strippers among rural communities in southern Portugal are presented. Finally, future lines of work are envisaged.

**KEYWORDS:** Cork oak tree. Cultural landscape. Cork strippers. Intangible cultural heritage. Mediterranean. Questionnaires.

## 1 INTRODUÇÃO

O montado é a mais extensa paisagem cultural do sul da Península Ibérica. Fruto da ação do Homem na Natureza, o montado resulta do estabelecimento de um frágil equilíbrio entre a exploração económica e a preservação ambiental. Nos montados de sobro, que constituem a maioria dos montados portugueses, a extração de cortiça é uma ação fundamental para a sustentabilidade económica e cultural de todo o sistema, bem como para a preservação da paisagem. Em Portugal, a área de sobro é ligeiramente superior a 700 mil hectares, enquanto a de azinho não atinge os 350 mil (INE, 2019, p.51-52). A quase totalidade das duas espécies florestais vegetam em Portugal em sistema de montado.

A extração de cortiça interfere nos processos fisiológicos da árvore, com implicações diretas na qualidade da cortiça produzida e na sobrevivência da própria árvore (Natividade, 1950, p.109). Torna-se, assim, essencial identificar as formas de transmissão do conhecimento relacionado com a extração da cortiça, por forma a avaliar a manutenção e continuidade, a longo prazo, de uma paisagem cultural e de um sistema económico que, apesar de muito ativo, se encontra em declínio e sujeito a ameaças. De facto, pela primeira vez desde que há registos, a área de povoamento de sobro registou uma diminuição entre 2005 e 2015 (Faísca, 2014, p.31; Uva, 2015, p.6). Um dos principais desafios à preservação do sistema agro-silvo-pastoril de montado é o da manutenção da prática tradicional de extração de cortiça. Dentro desta problemática, os tiradores de cortiça assumem o papel de atores principais e, por esse motivo, são indissociáveis de quaisquer soluções que possam surgir.

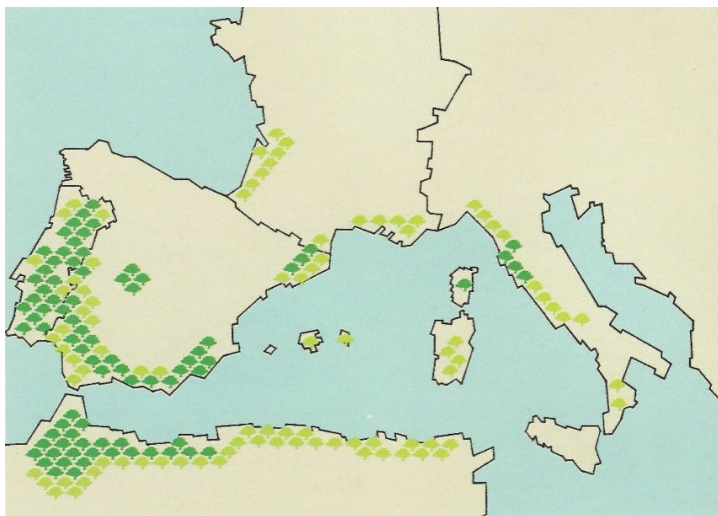
É precisamente nos tiradores de cortiça que este artigo se foca a partir de um questionário realizado, em 2019, no Alentejo. O objetivo principal é apresentar um diagnóstico preliminar sobre os problemas de transmissão do conhecimento de um saber-fazer tradicional essencial para a manutenção do montado de sobro – a extração de cortiça. Pretende-se ainda definir os eixos futuros de investigação que, esperançosamente, levarão à produção de propostas de resolução de uma das maiores ameaças à sobrevivência de todo este ecossistema.

## 2 O MONTADO: ECOSSISTEMA E PAISAGEM CULTURAL DO MEDITERRÂNEO OCIDENTAL

O sobreiro (*Quercus Suber L.*) cresce exclusivamente no Mediterrâneo Ocidental nas zonas onde, devido à influência do Oceano Atlântico, a amplitude das oscilações térmicas e a elevada aridez estival do clima mediterrânico típico são atenuadas (Natividade, 1950, p.33). Distribuindo-se, conforme a Figura 1, essencialmente por Portugal (34%), Espanha (25%), Marrocos (18%) e Argélia (11%) (APCOR, 2021), o sobreiro é parte integrante de um ecossistema extraordinário denominado montado, que resulta de uma paisagem cultural única assente num sistema agro-silvo-pastoril.

O Homem é parte integrante e fundamental deste ecossistema. A sua ação foi imprescindível na criação dos montados e a intervenção humana é necessária à sua manutenção, sem a qual o sistema evolui de forma natural para uma formação de tipo bosque mediterrânico (Fonseca, 2004, p.10).

Fig. 1 – Distribuição potencial do sobreiro no planeta. (Oliveira, 1991)



O termo “montado” é aplicado a um conjunto heterogêneo de sistemas de produção florestal não lenhosa, baseados na exploração de quercíneas – o sobreiro e/ou a azinheira – de modo conjugado com uma utilização não intensiva do solo com finalidade agrícola, pecuária ou cinegética. Pode incluir desde as formações naturais de matagais arborizados (sobreirais ou azinhais) até povoamentos arbóreos dispersos mantidos pela atividade humana (montados de sobreiro ou azinho) (Pinto-Correia, Ribeiro e Potes, 2013, p.9). A relativa estabilidade do sistema de montado resulta da equilibrada intervenção das comunidades humanas na floresta mediterrânica que, apesar de continuada, tem



respeitado razoavelmente as limitações do meio. Os estudos historiográficos revelam uma evolução gradual da intervenção humana no meio ambiente, aproveitando as suas potencialidades.

Em 1992, a Convenção do Património Mundial da UNESCO reconheceu a necessidade de proteção das paisagens culturais, definindo-as como “*combined works of nature and man*”.

As paisagens culturais são “*illustrative of the evolution of human society and settlement over time, under the influence of the physical constraints and/or opportunities presented by their natural environment and of successive social, economic and cultural forces, both external and internal*” (UNESCO, 2012, p.14).

Mas o conceito de Paisagem Cultural não era novo. A UNESCO limitou-se a promover uma conceção desenvolvida por geógrafos alemães, entre o final do século XIX e o início do século XX (Carvalho e Marques, 2019). Também o geógrafo português Orlando Ribeiro abordou o tema das “*paisagens humanizadas*” (Ribeiro, 1945, p.22).

“*O debate atual sobre paisagens culturais centra-se na preservação da sua identidade num contexto de mudanças nos mais variados quadrantes. A transmissão do saber, enraizado na cultura das comunidades, veicula um modo de vida com importância na construção das paisagens, ao longo do tempo.*” (Carvalho e Marques, 2019, p.93)

O montado tem mantido uma resiliência significativa como sistema seminatural de produção, baseado numa utilização extensiva dos recursos. No montado cruza-se a extração da cortiça, o pastoreio, o aproveitamento de frutos para alimentação animal e o cultivo de sequeiro, sob uma cobertura arbórea quase exclusivamente de sobreiro (*Quercus suber L.*), azinheira (*Q. ilex L.*) ou ambos (Pinto-Correia e Fonseca, 2009). Há ainda, embora pouco significativas, áreas de montado com outras quercíneas, como o Carvalho-Negral, ou em regime misto com Pinheiro.

Além das árvores, desenvolvem-se determinadas espécies arbustivas no sob coberto vegetal tais como as estevas e os sargaços (*Cistus spp.*), as giestas (*Cytisus spp.*, *Retama spp.*), as urzes (*Erica spp.*), a murta (*Myrtus spp.*), a aroeira (*Pistacia lentiscus*) ou o medronheiro (*Arbutos unedo*). Estas ocorrem em função da gestão e do tipo de solos (Pereira, Bugalho e Caldeira, 2008, p.17).

Em determinados períodos históricos, a intervenção humana intensificou-se introduzindo alterações na paisagem e alguns desequilíbrios no sistema, agravados nas últimas décadas pelas alterações climáticas. A ação humana registou-se essencialmente ao nível da mecanização progressiva, da exploração intensiva da cortiça e da introdução de espécies pecuárias de maior porte, sobretudo bovinas. A mecanização e a intensificação da cerealicultura conduziram a uma progressiva

destruição do estrato arbóreo, sobretudo em três períodos: o período que se seguiu ao “Regime dos Cereais” instituído por Elvino de Brito, em 1889; a “Campanha do Trigo” entre 1929 e 1938; e a época da “Reforma Agrária”, entre 1975 e 1979. Após a entrada de Portugal na Comunidade Europeia, em 1986, reduziu-se a área dedicada ao cultivo de cereais (Faisca, 2019a). No entanto, em 1992, a atribuição de ajudas diretas à produção, no âmbito da revisão da Política Agrícola Comum (PAC), incluindo um prémio por cabeça de gado, mais elevado no caso dos bovinos, conduziu a uma generalização da produção de bovinos no sob coberto do montado, com impactos negativos na sua regeneração (Pinto-Correia, Ribeiro e Potes, 2013, p.14).

O montado de sobro caracteriza-se por uma área arbórea escassamente povoada (c. 80 árvores/hectare). Os sobreiros surgem intercalados por áreas de arbustos (c.55%), por vezes por pastagens (c. 40%) e, menos frequentemente, pela cultura de cereais (c. 5%) (Faisca, 2020).

A secular exploração económica do montado de sobro, ainda dominante, mantém o equilíbrio ecológico do ecossistema e desempenha um papel fundamental na retenção de água, na conservação do solo e, sobretudo, no sequestro de carbono. É fundamental a manutenção das árvores simultaneamente à extração da mais valiosa matéria-prima do montado de sobro – a cortiça. De nove em nove anos, entre o final da primavera e meados do verão, o sobreiro é descortiçado e dá-se início à sua regeneração. Embora o processo de descortiçamento provoque algum *stress* no sobreiro, a exploração da cortiça é uma atividade compatível com o sequestro de carbono. O dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) atmosférico é captado e armazenado (sequestrado) na madeira do tronco (na cortiça), nos ramos, nas raízes das árvores e no solo da floresta (Gil, 2004, p.65-66).

A proporção de carbono extraído na cortiça constitui uma percentagem muito pequena (normalmente inferior a 10%) do total fixado em cada novénio. Como a árvore se mantém intacta, a cortiça pode ser extraída repetidas vezes sem que isso afete diretamente o “stock” de carbono do montado (Pinto-Correia, Ribeiro e Potes, 2013, p.21). Por outro lado, o montado desempenha um papel importante na retenção de água e na conservação do solo, impedindo o avanço da desertificação natural (Pereira, Bugalho e Caldeira, 2008, p.32-34).

O montado é também um *hotspot* de biodiversidade, constituindo o habitat de 24 espécies de répteis e anfíbios, mais de 160 espécies de aves, 37 espécies de mamíferos e de uma média de 135 espécies de plantas diferentes por cada quilómetro quadrado (APCOR, 2021). É também aqui que se encontram os últimos refúgios de várias espécies ameaçadas de extinção como a Águia-Imperial e o Lince Ibérico (Pinto-Correia, Ribeiro e Potes, 2013, p.24). De facto, a biodiversidade deste ecossistema coloca à disposição

uma vasta panóplia de produtos naturais que foram aproveitados pelas populações locais, ao longo dos diferentes períodos históricos, e que atualmente atingem um valor de mercado cada vez maior. É o caso de alguns produtos alimentares presentes em muitos pratos da cozinha alentejana entre os quais os espargos, a bolota, outros fungos e alguns tubérculos. Noutra perspetiva, as ervas aromáticas e as plantas medicinais também são recolhidas para utilizações que vão desde chás (tomilho), perfumes (esteva), especiarias (orégãos) e medicamentos (alecrim verde).

Guardião da biodiversidade, absorvente de gases com efeito de estufa e fator de combate à desertificação natural e humana, o ecossistema do montado de sobreiro tem um valor ambiental, social e económico incalculável, que é simultaneamente muito frágil.

### **3 A EVOLUÇÃO DA IMPORTÂNCIA ECONÓMICA DO SECTOR CORTICEIRO EM PORTUGAL**

As fontes apontam-nos para uma utilização silvo-pastoril do bosque mediterrânico com limpeza dos matos, proteção do sobreiro e aproveitamento múltiplo dos recursos, através da prática da apicultura, pecuária, agricultura e silvicultura, no início da Idade Média (Alonso, 1998; Barata e Leite, 1996; Grove e Rackham, 2001). O Código Visigótico, do século VII, regista as primeiras normas que procuram regulamentar a exploração deste ecossistema pelo Homem, protegendo a apicultura, proibindo o abate de sobreiros e de azinheiras, e prevendo penas para quem causasse danos no arvoredo (Barros, 1950). Recentemente foi iniciada uma investigação sobre as evidências da exploração de cortiça em época romana, cuja materialidade é revelada através da frequente identificação de tampas de cortiça em ânforas romanas de produção lusitana, em naufrágios no Mediterrâneo (Bombico e Carneiro, 2016). Sabe-se, igualmente, que no século XIV a cortiça era um produto presente no comércio europeu (Soldevila i Temporal, 2009, p.599-600).

A partir do século XV regista-se uma pressão crescente sobre a floresta mediterrânica em Portugal. Se for tida em conta a exploração económica do sobreiro a partir dessa época, compreendem-se perfeitamente as razões do progressivo desaparecimento da árvore em distintas regiões, sobretudo a norte do Rio Tejo. A madeira de sobreiro era utilizada para a construção civil e para a construção naval, que se intensificou especialmente a partir do período da expansão marítima. Por outro lado, ocorriam de forma sistemática abates de sobreiros para a obtenção de lenha e carvão. Paralelamente, o crescimento populacional, em regiões como o Minho, exigia o alargamento da área cultivada, através de arroteamentos, para dar resposta às necessidades alimentares (Faisca, 2014, p.11-16). Assim, a época moderna caracteriza-se pelo recuo contínuo da

área de sobreiro, não obstante as diversas ordens régias em sentido contrário. Alguns forais manuelinos têm referências diretas ao pagamento de taxas ou coimas pelo abate de sobreiros e azinheiras. A legislação de 1593 proíbe o abate de sobreiros para fazer carvão, nas áreas junto ao curso do Rio Tejo, e o legislador reconhece “(...) *por não se cumprir a dita Ley extravagante, estão as matas do limite della muy danificadas, & outras muitas destruídas & acabadas de todo (...)*” (Portugal, Leis, Decretos, etc. 1593).

A situação começa a inverter-se apenas a partir dos meados do século XVIII, com o surgimento dos primeiros montados, segundo a generalidade dos autores (Natividade, 1950; Balabanian, 1984; Silbert, 1978). É neste período que se começa a esboçar uma técnica suberícola no Alentejo, baseada em desbastes seletivos, conducentes a uma baixa densidade do arvoredo, permitindo o aproveitamento agrícola do solo e a utilização integral dos frutos (bolota) pelo gado (Natividade, 1950, p.46). Porém, nesta fase inicial a preferência recaía especialmente sobre os montados de azinho, cujos frutos são mais adequados à engorda dos porcos, registando-se ainda pouco investimento no desenvolvimento do montado de sobreiro (Mendes, 2002, p.47).

A forte valorização da rolha de cortiça, a partir do final do século XVII, é a alavanca para o investimento nas áreas de sobreiro em França e, no século seguinte, na Catalunha. Contudo, em Portugal só a partir de meados do século XIX é que a exploração da cortiça se torna uma atividade economicamente remuneradora (Faisca, 2019b, p.95-107). De facto, na centúria de Oitocentos, a procura de matéria-prima estende-se às regiões com maior superfície de sobreiro do planeta, ou seja, o Sudoeste da Península Ibérica (Andaluzia e Extremadura em Espanha; Alentejo e Algarve, em Portugal). Este movimento teve consequências bastante claras na paisagem do Alentejo, estimando-se que a área de sobreirais tenha duplicado ao longo da segunda metade do século XIX (Fonseca, 1996, p.54; Radich e Alves, 2000, p.77). Este fenómeno é assinalado por agrónomos (Paulo de Moraes e Ramiro Larcher Marçal), geógrafos (Gerardo Pery) e etnógrafos (Silva Picão). Alguns desses especialistas consideram que o avanço do montado de sobreiro ocorreu, não só por aproveitamento de terrenos incultos, mas também à custa do montado de azinho preterido relativamente à “árvore da cortiça” (Faisca, 2014, p.17).

É então que industriais corticeiros de origem inglesa, catalã e portuguesa (ainda que estes em menor número) percorrem o Sul de Portugal em busca de matéria-prima. Alguns fixaram fábricas no Alentejo, como é o caso de George Robinson em Portalegre, Thomas Reynolds em Estremoz, Henry Bucknall em Ponte de Sor e Andrés Camps em Évora. O número de unidades fabris e de operários corticeiros aumenta consideravelmente nas últimas décadas do século XIX (Lains, 2003, p.138; Parejo Moruno, 2009, p.88). O sector corticeiro torna-se uma das principais atividades económicas portuguesas: a

cortiça transformada era uma das principais exportações industriais, ao mesmo tempo que a cortiça em bruto o era no sector primário.

A Primeira Guerra Mundial (1914-1918) teve um fortíssimo impacto negativo no sector corticeiro uma vez que, além do abrandamento do comércio internacional, as principais potências em conflito eram os maiores consumidores de cortiça. Em 1900, o Reino Unido representava 36% das exportações portuguesas de cortiça e a Alemanha 24% (Parejo Moruno, 2010). Uma década depois, surge um novo fator de ameaça à manutenção do montado – a “Campanha do Trigo” (1929-1938). Os incentivos extraordinários à produção de trigo tiveram como consequência a expansão da área de cultivo deste cereal. Em muitos montados foram semeados campos de trigo junto dos sobreiros, disputando nutrientes do solo com as árvores e danificando o sistema radicular devido à mobilização do solo na preparação do terreno para a lavoura (Figura 4). Em casos extremos ocorreu mesmo a desarborização de algumas áreas, não obstante tal ter sido tornado ilegal (Faisca, 2014, p.26-27).

Figura 2 – Montado lavrado para a produção cerealífera. (Natividade, 1950, p.273)



Contudo, é neste período que surge a primeira legislação contemporânea de regulamentação florestal do sobreiro, publicada em 1927 (Decreto n.º 13658). Durante o Estado Novo procurou-se fazer face a um conjunto de problemas da fileira da cortiça que incluíram a falta de mão-de-obra qualificada e a má gestão do montado de sobreiro, através da ação da Junta Nacional de Cortiça (García Pereda, 2009). Em simultâneo, do ponto de vista florestal, vários organismos, como a Estação Experimental do Sobreiro e do Eucalipto e a Comissão de Fomento Subericola, interferiram no sector levando à expansão da área de sobreiro em Portugal. É neste contexto que Portugal se torna líder

mundial do sector corticeiro em termos florestais, industriais e comerciais (Zapata Blanco, 2002; Parejo Moruno, 2010).

Atualmente, o sector vive um período paradoxal. Por um lado, a vitalidade económica do sector da cortiça, que em 2018 representou mais de 1.000M € das exportações portuguesas (APCOR, 2020), está na base do emprego de muitas zonas rurais do interior entre tiradores, trabalhadores da indústria e serviços relacionados com produtos do montado de sobreiro (apicultura, cinegética e turismo). Neste sentido, quase dois terços do valor das exportações de cortiça a nível mundial pertencem a Portugal. Espanha representa menos de um quinto do total, a França, a Itália e a Alemanha apresentavam valores muito tímidos (APCOR 2017, 2018 e 2019). Outros países, historicamente relevantes no negócio da cortiça, como o Reino Unido e a Alemanha, têm hoje um papel completamente marginal no sector a nível global.

Contudo, por outro lado, o sobreiro encontra-se em declínio colocando à indústria um problema grave na oferta de matéria-prima, quer em quantidade, quer em qualidade. Alterações climáticas, sobre-exploração dos recursos naturais e más práticas, onde se inclui a tiragem, são alguns dos principais motivos. As soluções com recurso ao sobreiro intensivo de regadio podem, eventualmente, resolver o quantitativo da oferta de matéria-prima, mas com um impacto ecológico imprevisível alterando todo o equilíbrio do ecossistema do montado. Perante a enorme importância que detém, nos territórios onde subsiste, torna-se fundamental que agricultores, proprietários, cientistas, políticos e cidadãos juntem forças para que o montado de sobreiro se mantenha, como tem acontecido, pelo menos, nos últimos duzentos anos.

#### **4 A TIRAGEM DE CORTIÇA: PRÁTICA, FORMAÇÃO E LEGISLAÇÃO**

A quantidade e a qualidade da cortiça produzida por um sistema de montado de sobreiro, ou por um sobreiro, dependem das características das árvores, do clima, do solo, mas também do tratamento silvícola que é dado a todo o ecossistema (Faisca, 2015, p.416). A execução do descortiçamento é dos aspetos mais importantes, já que esta atividade interfere nos processos fisiológicos da árvore. O sobreiro não suporta o descortiçamento integral e a tiragem de cortiça é uma operação delicada que, se efetuada de forma menos correta, por exemplo ferindo a árvore ou realizando tiragens precoces, pode comprometer, de forma irremediável e crónica, a qualidade da cortiça produzida ou até mesmo levar à morte do sobreiro (Goes e Tenreiro, 2000, p.31-35).

Assim, o recurso a mão-de-obra especializada é essencial. Contudo, a falta desta é um problema diagnosticado, pelo menos, desde os finais do século XIX. O proprietário Clemente Menères, não compreendendo as especificidades da tiragem da cortiça,



contratou trabalhadores que segundo as suas próprias palavras “não sabiam nada de extração de cortiça” que acabaram por danificar muito sobreiros (Menères, 1915, p.24). Fontes da mesma época relatam queixas de proprietários e agrónomos sobre a forma como os sobreiros eram explorados pelos rendeiros, denunciando descortiçamentos precoces, cujo tempo de criação da cortiça era inferior aos nove anos recomendados (Faisca, 2015).

A ausência de instrução suberícola era generalizada entre trabalhadores e proprietários. Apenas em 1864 foi criada, no Instituto Geral de Agricultura em Lisboa, a licenciatura em *Engenharia Silvícola*. Esta contava com disciplinas exclusivamente florestais (*Princípios gerais de silvicultura, Topografia e artes florestais, Economia agrícola e florestal, legislação agrária e florestal*), num total de 13 cadeiras técnicas, acrescida de um ano de estágio na Quinta Florestal da Marinha Grande. É de salientar que esta zona era já dominada por pinheiros, ou seja, dificilmente o aluno teria contacto com questões suberícolas durante o seu ano de estágio (Faisca, 2019, p.291-292). Mais tarde, em 1886, surge o curso de *Regente Florestal*, uma formação de nível intermédio. Por seu turno, a nível elementar, criam-se seis escolas práticas de agricultura distrital. Apenas a Escola Prática de Agricultura de Portalegre, situada no concelho de Alter do Chão, previa a lecionação de conteúdo suberícola através da disciplina de “*Cultura económica da vinha, da oliveira, do sobreiro e da azinheira, e utilização dos productos d’estas plantas*”. No entanto, o alcance destas formações era curto, quer pelo número reduzido de estudantes do ensino superior à época, quer pela efemeridade de algumas destas iniciativas pois, por exemplo, a Escola Prática de Agricultura de Portalegre apenas funcionou durante seis anos (Faisca, 2019, p.293-295).

Figura 3 – Tiradores de cortiça em Trás-Os-Montes nas propriedades de Clemente Menères. (Menères, 1915)



De forma a suprir este problema, o Estado, a partir da segunda década do século XX, atuou em duas vertentes: a legislativa e a educativa.

Até então, a proteção, gestão e manutenção do montado de sobre estava limitada à sensibilidade dos proprietários, rendeiros e trabalhadores. A generalidade dos proprietários era pouco consciente dos riscos e raramente impunha condições no sentido de regular o descortiçamento, aquando do estabelecimento dos contractos de arrendamento (Faisca, 2015).

A nível legislativo regulou-se de forma muito específica a tiragem de cortiça. Assim, por exemplo, o 1.º artigo do Decreto-Lei n.º 27776, de 24 de junho de 1937, determinou que *“Não é permitida a extração de cortiça amadia e secundeira com menos de nove anos de criação”*, enquanto o 2.º artigo restringiu *“A desbóia de chaparros (...) à altura em que a circunferência sobre a cortiça não seja inferior a 60 centímetros”*. Já na década de 1950, o Decreto-Lei n.º 38271, de 26 de maio de 1951, fixou os meses em que se poderia efetuar a poda de sobreiros nos montados ou nas propriedades com mais de dez daquelas árvores. A lei atualmente em vigor é o Decreto-Lei 169/2001, de 25 de maio, alterado pelo Decreto-Lei n.º 155/2004, de 30 de junho. Esta legislação impõe que o corte ou a poda de sobreiros e azinheiras sejam requeridos e autorizados pelo ICNF, I.P. Estes decretos reproduzem e reforçam as proibições da legislação anterior e introduzem algumas regras novas. Destacamos a alínea a) do artigo 16.º que proíbe *“mobilizações de solo profundas que afetem o sistema radicular das árvores ou aquelas que provoquem destruição de regeneração natural”*.

Quanto à ação educativa, foram criados programas de educação formal e não-formal, administrados essencialmente pela Junta Nacional de Cortiça (JNC). O mais impactante, provavelmente, terá sido a escola de podadores de sobreiros e tiradores de cortiça que, entre 1947 e 1966, formou mais de 3.000 indivíduos (García Pereda, 2009, p.73). Em simultâneo, a JNC editou obras técnicas, como o *ABC do podador de sobreiro e do tirador de cortiça*, produziu programas radiofónicos, distribuiu folhetos e cartazes técnicos e forneceu assistência técnica aos proprietários (García Pereda, 2016, p.61). Infelizmente, com a extinção da JNC, em 1972, e do Instituto dos Produtos Florestais, em 1988, este tipo de formação praticamente desapareceu.

Recentemente, o CINCORK – Centro de Formação da Indústria da Cortiça – procurou recuperá-las, mas com pouco sucesso. Este falhanço contrasta com o sucesso que a mesma entidade tem obtido nas formações relativas à gestão e produção industrial de cortiça.

O ICNF – Instituto de Conservação da Natureza e das Florestas – promove uma ação de formação para tiradores de cortiça. Esta, com um total de 21 horas letivas, é destinada

aos trabalhadores no ativo e é composta por quatro módulos distintos: I - Segurança e saúde no Trabalho Florestal (SST) e medidas preventivas de proteção ambiental, II - Extração de Cortiça, III- Descortiçamento e IV-A Cortiça: Cálculos de produção. Infelizmente, não temos acesso a qualquer informação relativa ao número de indivíduos formados ou ao número de cursos lecionados, e desconhecemos se, atualmente, esta formação continua a ser ministrada. A julgar pelos resultados do questionário, o impacto desta iniciativa foi também bastante limitado.

Figura 4 – Capa do abc do podador de sobreiros e do tirador de cortiça, editado pela JNC.



Figura 5 – Mapa com a distribuição do sobreiro em Portugal de 1966. (ABC do tirador e do podador de cortiça, Junta Nacional de Cortiça: 7)



## 5 PATRIMÓNIO CULTURAL IMATERIAL E CONHECIMENTO ECOLÓGICO TRADICIONAL: UMA INTERAÇÃO DE CONCEITOS

*“Entende-se por património cultural imaterial as práticas, representações, expressões, conhecimentos e competências – bem como os instrumentos, objetos, artefactos e espaços culturais que lhes estão associados – que as comunidades, grupos e, eventualmente, indivíduos reconhecem como fazendo parte do seu património cultural. Este património cultural imaterial, transmitido de geração em geração, é constantemente recriado pelas comunidades e grupos em função do seu meio envolvente, da sua interação com a natureza e da sua história, e confere-lhes um sentido de identidade e de continuidade, contribuindo assim para promover o respeito da diversidade cultural e a criatividade humana”* (Convenção da UNESCO para a Salvaguarda do Património Cultural Imaterial, 2003, Artigo 2º, ponto 1).

A prática tradicional de extração de cortiça encontra enquadramento nos domínios considerados como património cultural imaterial descritos nas alíneas d) *conhecimentos e usos relacionados com a natureza e o universo* e e) *técnicas artesanais tradicionais*, do ponto 2 do artigo 2º da Convenção da UNESCO.

Em 2021, a tiragem de cortiça integrou o Inventário Nacional do Património Cultural Imaterial, na sequência de um processo proposto pelo Município de Coruche em 2018 ([PROC/0000000080](#) - Tiragem da cortiça no concelho de Coruche).

A Comissão Nacional da UNESCO apresentou, em 2017, o [“Montado, Cultural Landscape”](#) à *Tentative List* da UNESCO, colocando-o assim na lista provisória a considerar para uma futura candidatura a Património da Humanidade.

Felizmente, as políticas públicas nacionais sustentam de forma clara a valorização do montado de sobreiro como património natural e cultural. Como vimos, o sobreiro foi legalmente protegido em Portugal desde a Idade Média. As leis atuais proíbem o seu abate e regulamentam a gestão dos montados. Merece, também, nota o facto de, em dezembro de 2011, o Sobreiro ter sido instituído Árvore Nacional de Portugal pela Assembleia da República.

A prática tradicional de tiragem de cortiça surge, também, perfeitamente alinhada com o conceito de Conhecimento Ecológico Tradicional (TEK - Traditional Ecological Knowledge).

Fikret Berkes define o conceito de Conhecimento Ecológico Tradicional como *“a cumulative body of knowledge, practice, and belief, evolving by adaptive processes and handed down through generations by cultural transmission, about the relationship of living beings (including humans) with one another and with their environment”* (Berkes, 2012; Berkes, Colding e Folke, 2000). O conceito tem ganho destaque nas últimas décadas, na sequência do reconhecimento da sua importância na gestão dos recursos naturais, no desenvolvimento sustentável e na adaptação das comunidades às alterações climáticas.

Merece, igualmente, destaque a Convenção sobre a Diversidade Biológica (1992), retificada por Portugal através do decreto n.º 21/93, de 21 de junho, tendo entrado em vigor a 21 de março de 1994. Esta convenção inclui princípios nos quais se enquadra a proteção do montado e a valorização da prática tradicional de extração de cortiça. Destaque para o artigo 10 (alínea c) que refere “*protect and encourage customary use of biological resources in accordance with traditional cultural practices that are compatible with conservation or sustainable use requirements*”. A convenção destaca também a importância do conhecimento e das tecnologias tradicionais e indígenas, nos artigos 17 e 18, respetivamente.

## **6 O MONTADO, O TIRADOR DE CORTIÇA E A TRANSMISSÃO DO SABER-FAZER TRADICIONAL: UM ESTUDO INTEGRADO**

O tema da transmissão do saber-fazer tradicional, associado à tiragem de cortiça, apresenta-se como fundamental na discussão atual dos desafios do desenvolvimento sustentável das áreas rurais do sul da Península Ibérica. A questão torna-se essencial pela conjugação de dois grandes fatores. A importância económica do sector corticeiro e o facto da prática tradicional se manter inalterada.

Graças às suas especificidades técnicas, a prática tem resistido à introdução de novas tecnologias. A ausência de soluções mecânicas eficientes tem permitido a sobrevivência de um saber-fazer tradicional que se resume na trilogia Homem – Machada – Sobreiro.

Foi pelo exposto que em 2019 se aplicou um questionário a um conjunto de tiradores de cortiça. Questionário, esse, que se subdivide em distintas dimensões de recolha e análise de dados, conforme será exposto à continuação.

## **7 QUESTIONÁRIO**

### **7.1 OBJETIVOS**

O principal objetivo consiste na análise da gestão do montado e do seu recurso mais valioso – a cortiça – de uma perspetiva ainda pouco explorada dando voz a um dos grupos com maior intervenção – os tiradores de cortiça.

Ainda que a uma escala bastante circunscrita, quer numérica quer geográfica, o questionário foi pensado para cumprir os seguintes objetivos específicos:

- Caracterizar o perfil profissional, socioeconómico e demográfico do tirador de cortiça em Portugal;
- Identificar as formas de transmissão do saber-fazer tradicional e do património cultural associado à tiragem da cortiça, nas comunidades rurais do sul de Portugal;



- Identificar as ameaças e limitações à continuidade das formas tradicionais de transmissão e prática, no contexto das alterações sociais dos últimos 100 anos e da globalização;
- Identificar as causas do declínio do montado e as ameaças ao património natural e à biodiversidade, na perspetiva do tirador de cortiça;
- Avaliar o “vazio” no campo da formação profissional nesta área e analisar a opinião dos tiradores relativamente a isso;
- Avaliar a cultura científica dos tiradores.

Figura 6 - Duas parelhas (equipas) de tiradores a trabalhar. (Município de Coruche, 2017)



## 7.2 ESTRUTURA

O questionário aplicado contém um total de 57 questões em diferentes formatos (questões abertas, de seleção, definição de grau de importância e de escolha múltipla) e foi dividido em quatro partes.

Parte 1 - O Tirador: Destinada a registar os dados pessoais do inquirido e as suas condições profissionais.

Parte 2 - Transmissão e Prática do Saber-fazer Tradicional: Nesta secção pretende-se conhecer as condicionantes da aprendizagem da prática e o ambiente geral da transmissão do saber-fazer.

Parte 3 - O Montado como Herança Cultural, Património Material e Imaterial: Destinada a avaliar a visão do inquirido sobre o montado e a registar alguns dados sobre o património material e imaterial associado à prática.



Parte 4 - Ciência e Comunicação: Esta última secção pretende caracterizar a cultura geral e científica dos tiradores relativamente à sua área de trabalho.

O inquérito foi criado no *Google Forms* e foi disseminado através de e-mail e das redes sociais (Facebook), entre o verão e o outono de 2019. Considerando o perfil etário e de escolaridade de parte dos inquiridos, uma percentagem dos inquéritos foi realizada presencialmente e em suporte de papel, tendo sido as respostas posteriormente inseridas no formulário digital. A aplicação desta estratégia permitiu uma interação direta com os tiradores, o que resultou, em alguns dos casos, na recolha de informação complementar. Ao mesmo tempo permitiu-nos refletir sobre abordagens alternativas a aplicar em futuros projetos que incluam modelos mais diversificados e abrangentes de questionário, inquérito e entrevista, assim como outras questões importantes a ter em consideração.

### 7.3 RESULTADOS

Responderam, ao questionário, um total de 20 tiradores de cortiça, todos portugueses e provenientes de distintas “comunidades” rurais do Alentejo.

A idade média dos inquiridos é de 43 anos, tendo o mais jovem 24 e o mais velho 59 anos de idade.

Quanto à formação, pode-se concluir que o grupo possui a escolaridade obrigatória para a sua respetiva faixa etária, sendo que 25% cumpriu a escolaridade até ao 6º ano, 45% até ao 9º ano e apenas um dos inquiridos possui formação superior.

São, na sua totalidade, trabalhadores sem formação profissional específica na área, mais concretamente na técnica de descortiçamento, e que adquiriram o saber-fazer através de formação informal, o que atesta a continuidade da prática tradicional, transmitida de geração em geração.

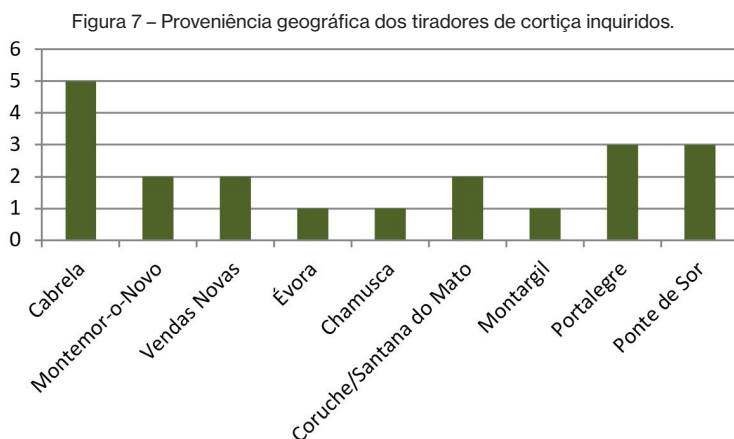
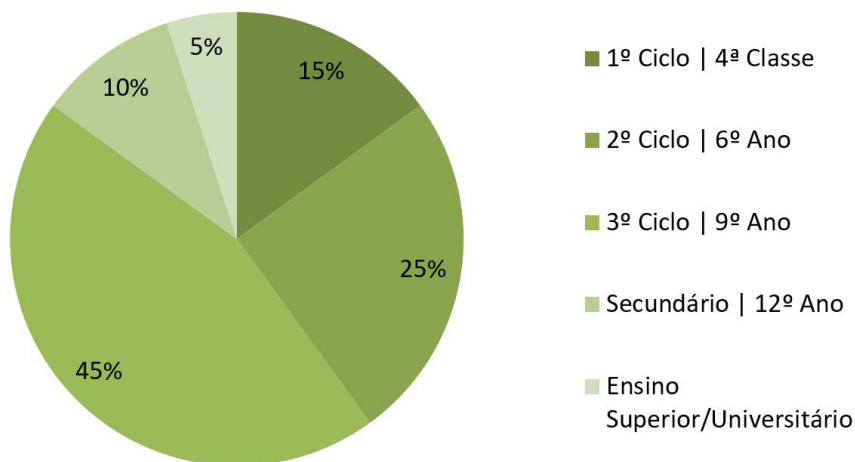


Figura 8 - Escolaridade dos inquiridos.



Tendo em consideração que a extração de cortiça é uma atividade sazonal, desenvolvida nos meses de Verão (maio a agosto), é natural que os tiradores afirmem dedicar-se a outras atividades ao longo do ano. Ainda que, na atualidade, a agricultura seja cada vez mais mecanizada e exija menos mão-de-obra, quase dois terços dos inquiridos afirma dedicar-se a outras atividades agroflorestais, tais como a esgalha ou a apanha de pinhas. Os restantes complementam a tiragem de cortiça com atividades fora do sector primário, salientando-se somente a construção civil (15%), visto que mais nenhuma atividade apresenta relevância estatística. Curioso é verificar que, à data do inquérito, nenhum dos inquiridos trabalhava na indústria corticeira. A relação dos tiradores com a indústria corticeira é explorada na questão “Conhece alguma fábrica de transformação de cortiça?” (Parte 4). À qual 25% responde afirmativamente, referindo tendo trabalhado numa; 40% diz já ter visitado uma fábrica e 35% respondeu que não conhece, nunca tendo entrado numa fábrica de cortiça. As respostas a esta questão são ilustrativas da fraca relação entre o sector agroflorestal e a indústria transformadora da matéria-prima.

É ainda de salientar o facto de 55% dos inquiridos afirmar que costuma aproveitar os períodos de férias da sua atividade laboral principal para fazer a campanha da cortiça. Este dado é indicador das dificuldades no recrutamento de recursos humanos, revelando ainda outra realidade – o recurso sazonal a mão-de-obra especializada que busca cada vez mais segurança laboral noutros sectores profissionais.

Relativamente às condições de trabalho, questionámos os tiradores sobre a segurança no trabalho, a dureza da atividade e a remuneração.

Metade dos inquiridos disse nunca ter tido um acidente de trabalho, 45% assumiu já ter tido acidentes ligeiros e apenas um dos inquiridos considera ter sofrido um acidente

grave. No que concerne aos equipamentos de proteção individual, a totalidade dos tiradores confirma a utilização de luvas e 42% refere usar botas de biqueira de aço. A utilização de outro tipo de equipamentos, como o capacete (1 utilizador) ou o arnês (2 utilizadores), é escassa. À pergunta “Considera que conseguiria com facilidade tirar cortiça se tivesse obrigatoriamente de usar um arnês de segurança para subir às árvores?” a totalidade dos inquiridos respondeu negativamente.

Ao pedido de classificação da dureza física da atividade, numa escala de 1 (leve) a 5 (muito dura), 25% dos tiradores selecionaram o grau 3, 35% o grau 4 e 40% o grau 5.

Relativamente ao grau de especialização do trabalho, numa escala de 1 (nada especializado) a 5 (muito especializado), 80% dos tiradores escolheu o grau 5, confirmando a perceção individual relativamente à especificidade da prática.

No que diz respeito à remuneração do trabalho, foi, igualmente, pedido aos inquiridos que selecionassem uma opção numa escala de 1 (muito mal pago) a 5 (muito bem pago). Metade dos tiradores selecionou o nível 3, 20% o nível 4, 15% o nível 2 e outros 15% o nível 1. As respostas revelam uma perspetiva individual bastante diversificada sobre o valor do trabalho.

A generalidade dos inquiridos aprendeu a tirar cortiça no início da idade adulta ou nos primeiros anos da vida laboral, com idades compreendidas entre os 16 e os 26 anos.

Mais de dois terços dos inquiridos afirmou ter aprendido com uma pessoa mais velha da sua comunidade (aldeia ou vila) ou residente na mesma região. Dentro destes, 32% dos tiradores confirmaram que a aprendizagem foi feita com um familiar de uma geração anterior à sua (avô, pai ou tio). Nenhum dos inquiridos referiu uma aprendizagem formal através de um curso de formação. Estes dados confirmam, mais uma vez, a persistência de uma transmissão do saber-fazer tradicional de geração em geração.

Questionámos os tiradores sobre o tempo que consideram necessário para a aprendizagem. Perante as duas opções de resposta – uma a três campanhas de cortiça ou mais de três campanhas de cortiça – 85% dos inquiridos considerou que bastam uma a três campanhas para se adquirir conhecimento e técnica suficiente para desempenhar um bom trabalho.

Procurámos avaliar a continuidade da atividade por parte dos tiradores. 68% dos inquiridos diz nunca ter interrompido a atividade, tendo tirado cortiça todos os anos desde que aprendeu. 16% diz ter interrompido por um período superior a 5 anos, 11% confirma ter feito uma pausa de 1 a 3 anos e 5% interrompido a atividade num período entre 3 e 5 anos. Estes resultados parecem ser o reflexo da diminuição da empregabilidade agrícola que, conjugada com o carácter sazonal da atividade, não permite a manutenção de uma comunidade permanente de tiradores. Este facto é ainda confirmado quando 83% dos

inquiridos refere que interrompeu a tiragem de cortiça por ter uma ocupação profissional que o impediu de participar nas campanhas de cortiça.

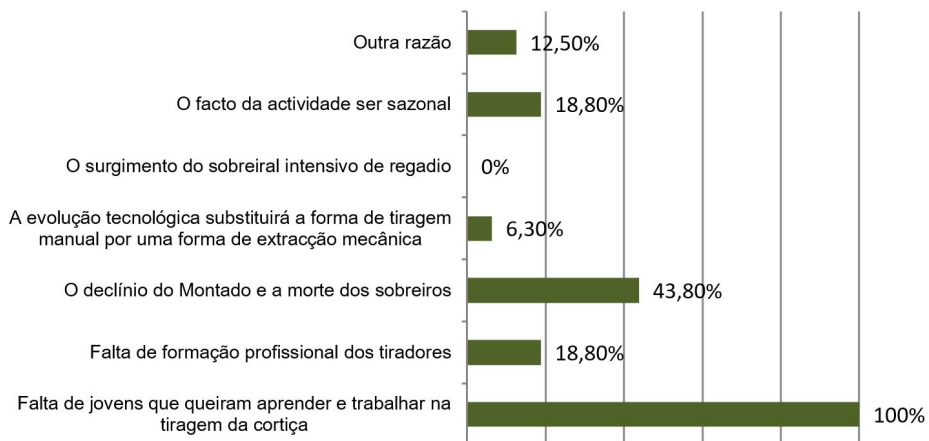
Procurámos compreender melhor o contexto da transmissão. Perguntamos aos tiradores se já tinham ensinado alguém. As respostas foram bastante equilibradas, mas com uma ligeira maior ponderação negativa (55%) do que afirmativa (45%). De entre estes últimos, metade afirmou ter transmitido o saber-fazer apenas a uma pessoa e 80% confirma que os aprendizes eram indivíduos mais jovens do que eles próprios.

À pergunta “gostava que os seus filhos/sobrinhos/filhos de amigos/crianças da sua vila aprendessem a tirar cortiça?” 79% respondeu que sim. Tendo sido apontadas as seguintes razões: “É sempre bom saber fazer de tudo um pouco”; “Para dar continuidade a um trabalho, que também é uma arte...”; “É uma arte, que se passa de geração em geração”; “Porque é uma atividade que cada vez menos gente aprende”; “Porque já há muita falta de mão-de-obra”; “Porque é uma Arte, e é importante não se perder. Independentemente de se puder ter outro trabalho ou formação, e também porque é bem pago”; “Para haver continuidade da atividade”; “Porque é muito importante para o nosso país que a indústria corticeira se mantenha ativa”; “Pela transmissão de valores e continuação da tradição familiar, se possível numa lógica de complementaridade com outro emprego” e “Tradição e vencimento complementar”. Um dos inquiridos acrescenta – “O meu filho já tira!”. Por outro lado, 21% dos tiradores diz que não gostaria que os mais jovens aprendessem, apontando como razões principais a dureza e o perigo do trabalho.

A larga maioria dos tiradores (75%) considera que a continuidade da transmissão da prática tradicional está em perigo, apontando como principais razões a falta de jovens que queiram aprender e o declínio do montado. Na opção “outras razões” os tiradores apontaram o facto dos gestores do trabalho preferirem tiradores experientes, não dando oportunidade a novos aprendizes.

No que concerne à continuidade da transmissão, apenas 25% dos tiradores considera que a existência de cursos teórico-práticos poderá contribuir para a melhoria da prática. 65% defende que o “ensino” deve continuar a ser feito, exclusivamente, no campo entre mestres e aprendizes e 10% diz não ter opinião sobre o assunto. A leitura dos resultados dos inquéritos, somada às opiniões assinaladas em conversa informal, resulta no registo de uma ideia generalizada entre os inquiridos – a não necessidade de um ensino formal. No entanto, face à pergunta “Gostava de receber formação profissional relacionada com a tiragem da cortiça e/ou a gestão do montado?” 47% dos inquiridos respondeu “sim”, a par de 42% de respostas negativas e 11% de responderam que não sabem. Parece-nos, portanto, haver um caminho a percorrer no sentido de dar resposta à falta de mão-de-obra especializada, através da promoção de uma aprendizagem de qualidade.

Figura 9 – Razões, apontadas pelos inquiridos, quanto aos perigos à continuidade da transmissão da prática tradicional de tiragem da cortiça.



80% dos tiradores considera que o montado está em declínio. Relativamente às razões desse declínio, 81% selecionou a opção “Alterações Climáticas e Aquecimento Global”. Seguem-se as pragas florestais e a má tiragem de cortiça (golpes de machada que ferem as árvores), ambas selecionadas por 43% dos inquiridos. A mobilização dos solos (charruas e arados que danificam as raízes das árvores) foi selecionada como razão para o declínio do montado por 38% dos indivíduos. Como outras razões foi apontada a má gestão do montado por parte dos proprietários, interessados no lucro imediato e pouco preocupados com a manutenção dos montados e com a limpeza dos terrenos. A presença do gado bovino nos terrenos – pisando e comendo os sobreiros novos – foi, igualmente, mencionada como causa do declínio do montado, por um dos inquiridos.

Procurámos perceber, junto dos tiradores, a proveniência e longevidade da sua principal ferramenta de trabalho – a machada corticeira.

As respostas à pergunta “Quantos anos tem a sua machada?” são reveladoras da longevidade das mesmas, mostrando que a machada é uma ferramenta de uso duradouro. 37% dos inquiridos confirmou que a machada tinha entre 10 e 20 anos de utilização. Apenas um dos tiradores afirmou que a sua machada tem menos de 3 anos.

A machada corticeira é uma ferramenta diferenciada e com características próprias, especialmente ao nível do cabo – arqueado e com a ponta em cunha. A produção das machadas está associada a oficinas artesanais e couteiros especializados. Infelizmente, esta é uma atividade em franco declínio. Com vista a mapear alguns dos produtores, pedimos aos tiradores que nos indicassem onde compraram a machada e se conheciam outros couteiros. Surgiram algumas localizações: Paião (Montemor-o-

Novo), Cabrela (Montemor-o-Novo), Alcáçovas, Portel, Azervadinha (Coruche), Biscainho (Coruche) e Montargil. Infelizmente muitas das oficinas indicadas já não laboram.

Nos últimos anos, têm sido desenvolvidos alguns protótipos de máquinas para descortiçar, cuja praticidade se tem revelado muito reduzida. Nesse sentido, perguntámos aos inquiridos se tinham conhecimento das experiências feitas com esses protótipos. 70% respondeu afirmativamente e 30% negativamente. À pergunta “Acha que esse tipo de máquina pode trazer vantagens, facilitando o trabalho?” 75% dos inquiridos respondeu que não.

Figura 10 - A afiar a machada (Município de Coruche, 2017).



Com o objetivo de recolher algum vocabulário associado à prática tradicional, pedimos aos inquiridos que indicassem três vocábulos associados ao descortiçamento. Registaram-se os seguintes termos: *amola(r)*, *arredonda*, *bóia*, *caleira*, *caneiros*, *canudo*, *forca* e *folho*.

A última parte do questionário pretendia avaliar o conhecimento e interesse dos tiradores pela informação disponível sobre o montado e o sector corticeiro.

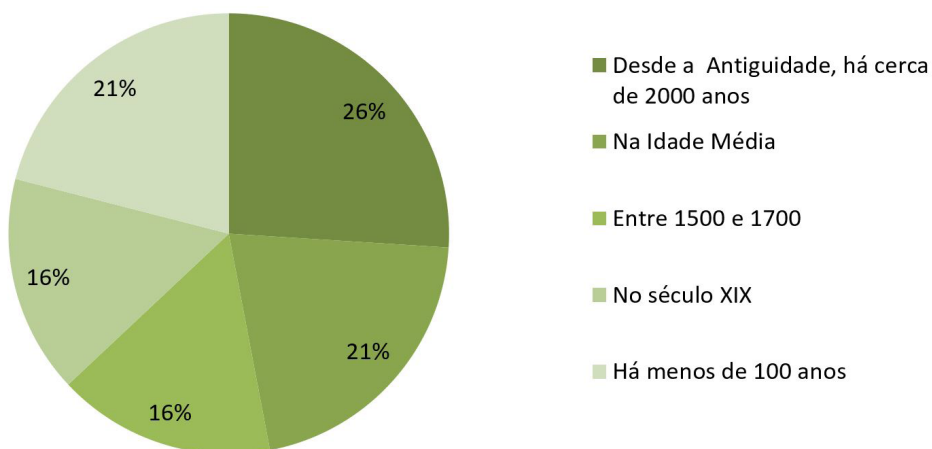
Os resultados revelam que os inquiridos são, na sua generalidade, bons recetores de informação, difundida pelos meios de comunicação social. 75% confirma ser espectador ou leitor regular de artigos de jornal ou reportagens televisivas sobre a cortiça, a indústria corticeira e o montado. No entanto, não estão predispostos para a pesquisa de informação ou aprofundamento de dados. 60% diz não ter por hábito pesquisar na internet sobre a temática e 70% diz que nunca leu um livro ou um artigo científico sobre esses temas. Apenas oito dos inquiridos já ouviu falar da APCOR, 6 conhece o Observatório do Sobreiro

e da Cortiça (Coruche) e 12 sabe o que é o ICNF – Instituto da Conservação da Natureza. 90% dos tiradores diz nunca ter ouvido falar de Joaquim Vieira Natividade, considerado o primeiro grande estudioso da subericultura em Portugal.

Por outro lado, 90% dos inquiridos confirma que costuma verificar se as garrafas de vinho que compra possuem rolhas de cortiça natural.

Por fim, pedimos aos tiradores para balizar no tempo a antiguidade da utilização da cortiça pelo homem. O enunciado da questão era o seguinte: “O Homem começou a utilizar a cortiça há muito tempo. Tem ideia de quão antiga é essa utilização? Assinale a opção que lhe parece mais próxima de realidade.” Como podemos observar no gráfico que se segue as respostas foram muito variadas. O que nos leva a concluir que há, ainda, um longo caminho a percorrer, não só no campo da própria investigação sobre o tema, como na comunicação dos resultados científicos à sociedade.

Figura 11 - Percentagens de resposta quanto à antiguidade da utilização da cortiça pelo homem, segundo a opinião dos inquiridos.



## 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A abordagem ao tema da paisagem cultural de montado enquanto resultado da ação humana, através dos tiradores de cortiça e da, ainda ativa, transmissão do seu saber-fazer tradicional, levanta um conjunto de questões para as quais é necessário desenvolver planos de trabalho futuro.

As questões centrais desenvolvem-se em torno das comunidades rurais de tiradores de cortiça, da formação e das condições de trabalho. O grande desafio é o da manutenção da prática tradicional de descortiçamento, e do património cultural imaterial a ela associado, de forma integrada permitindo a preservação da paisagem, a sustentabilidade do montado e o abastecimento à indústria transformadora.



A amostra resultante do questionário aplicado é manifestamente reduzida – 20 respostas – pelo que poderá não ser representativa da globalidade da comunidade de tiradores portugueses. Ainda assim, consideramos que a aplicação do questionário permitiu identificar problemas e tendências que requerem, evidentemente, uma investigação mais profunda e alargada.

Urge conhecer e caracterizar as comunidades, contabilizar os tiradores no ativo, analisar a sua distribuição geográfica e avaliar a sua evolução ao longo do último século, pelo menos. Por outro lado, consideramos que a discussão sobre a gestão sustentável do montado seria grandemente enriquecida se tivesse em conta, também, a perspetiva do tirador de cortiça, conhecedor profundo do território e capaz de avaliar a evolução recente da paisagem.

Figura 12 - Pranchas no chão e mulher começando a juntar (Município de Coruche, 2017).



Se a prática não for bem executada, a extração de cortiça pode representar um perigo para a sustentabilidade do montado, é, assim, essencial iniciar uma reflexão e uma discussão alargada sobre a formação dos tiradores. O experiente e treinado manuseio da machada é essencial para a sustentabilidade do montado e do sector corticeiro.

Nesse sentido, elencamos algumas linhas de investigação futura, necessariamente transversais e interdisciplinares:

- Avaliação da dimensão da comunidade portuguesa de tiradores de cortiça. Atualmente não existem dados que nos permitam ter uma ideia do número de trabalhadores no ativo.



- Mapeamento e caracterização geográfica, social e cultural das comunidades de tiradores em Portugal.
- Estudo das dinâmicas laborais e da mobilidade dos grupos.
- Leitura da dinâmica de entrada de trabalhadores estrangeiros nos grupos de tiradores, associada aos movimentos de migração e imigração.
- Análise do papel desempenhado pelas mulheres no trabalho. Desconhece-se, atualmente, a existência de mulheres tiradoras, surgindo estas associadas a outras funções, entre as quais juntar cortiça, dirigir grupos (capatazes) e marcar os sobreiros após o descortiçamento.
- Discutir a atratividade da atividade e a possibilidade de criação de modelos laborais mais flexíveis ou mistos.
- Propor modelos de formação técnica e profissional, ajustados às necessidades.
- Discutir os benefícios de criação de uma associação profissional para os tiradores de cortiça e profissionais afins.
- Iniciar uma recolha sistemática das fontes históricas relacionadas com a gestão do montado e a exploração da cortiça, ao longo dos distintos períodos históricos, da antiguidade à atualidade. É fundamental analisar a evolução da atividade, na longa duração, por forma a avaliar as potencialidades do conhecimento histórico para o planeamento de uma gestão mais sustentável do montado.
- Criar redes de cooperação para a gestão do montado. É essencial fomentar a cooperação entre os proprietários, a indústria corticeira, as instituições de investigação (universidades, institutos e centros de investigação e inovação) e, também os profissionais que executam o descortiçamento – os tiradores de cortiça.
- Criar redes e projetos de cooperação internacional com instituições dos países em que o sobreiro e a exploração de cortiça são uma realidade, entre os quais Espanha, França, Itália, Marrocos, Argélia e Tunísia.
- Fomentar estratégias de comunicação de ciência para a sociedade, por forma a promover a cultura científica dos trabalhadores do sector e dos proprietários.

## 9 AGRADECIMENTOS

Os autores desde artigo gostariam de agradecer aos tiradores de cortiça que gentilmente responderam ao questionário, sem os quais não teria sido possível realizar este estudo.

## 10 FINANCIAMENTO

Este trabalho foi financiado por Fundos Nacionais através da FCT, no âmbito do Financiamento Estratégico do CIDEHUS – Universidade de Évora (UIDB/00057/2020).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alonso, A. C. (1998). “Formación histórica de la dehesa. La Dehesa – Aprovechamiento sostenible de los recursos naturales”, *Jornadas de Agronomía*, Editorial Agrícola Española, Madrid.

APCOR, Associação Portuguesa de Cortiça – Floresta. [Em-linha] Santa Maria da Feira: APCOR [consult. 23 ago. 2021] Disponível em: <https://www.apcor.pt/montado/floresta/>

Balabanian, O. (1984). *Problemas agrícolas e Reformas Agrárias no Alto Alentejo e na Estremadura Espanhola*, Barbosa & Xavier, Braga.

Barata, F. T. e Leite, A. M. A. (1996). “Coberto vegetal e Paisagens Alentejanas: Esboço da Linha Evolutiva desde a Idade Média”, *Actas do I Colóquio Internacional de Ecologia da Vegetação*, Universidade de Évora.

Barros, H. G. (1950). *História da administração pública em Portugal nos séculos XII a XV*. Tomo IX, 2ª Ed. Livraria Sá da Costa, Lisboa.

Berkes, F., Colding, J. e Folke C. (2000). “Rediscovery of traditional ecological knowledge as adaptive management”, *Ecological applications*, 10, 1251–1262.

Berkes, F. (2012). *Sacred ecology*, 3rd ed. London: Routledge.

Bombico, S. e Carneiro, A. (2016). “Do Mar ao Montado: Evidências da utilização e exploração de cortiça na Lusitânia Romana”, Rangel Preciado, J. F.; Faisca, C. M.; Bombico, S. e Mourisco, P. (Coord.) *El alcornocal y el negocio corchero: Una perspectiva histórica e interdisciplinar/O Montado de sobro e o sector corticeiro: uma perspectiva histórica e transdisciplinar*, Gráficas Diputación de Badajoz, 19-43.

Branco, A. (2005). *O Impacto das florestas no Crescimento económico moderno durante o Estado Novo (1930-1974)*, Tese de Doutoramento, Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa.

Carvalho, R. e Marques, T. (2019). “A evolução do conceito de paisagem cultural”, *Revista de Geografia e Ordenamento do Território (GOT)*, n.º 16 (março), Centro de Estudos de Geografia e Ordenamento do Território, 81-98.

Faisca, C. M. (2014). *Criando os chaparraís: dois séculos de montado de sobro no Alentejo*. Lisboa, Portugal: Apenas Livros. 2014.

Faisca, C. M. (2015). “Criando uma desvantagem? A regulação contratual das práticas suberícolas em Espanha e Portugal (1852-1914)”, *Revista Portuguesa de História*, 46, 413-431.

Faisca, C. M. (2018). “Estratégias cooperativas no setor florestal corticeiro alentejano oitocentista, um fator de desenvolvimento? (1852-1914)”, *História e Economia: Revista Interdisciplinar*, 21, 101-117.

Faisca, C. M. (2019ª). “A produção agrícola no Alentejo (1929-2018): uma primeira abordagem”, *Revista de Estudios Económicos y Empresariales*, 31, 39-64.

Faisca, C. M. (2019b). *El negocio corchero en Alentejo: explotación forestal, industria y política económica, 1848-1914*, Tese de doutoramento, apresentada à Universidad de Extremadura. Disponível em: <http://dehesa.unex.es/handle/10662/10257>

Faisca, C. M. (2020). "Economy and Ecology in the Iberian Cork Oak Forests: Land Use in the Second Half of the 19<sup>th</sup> Century", *Configurações*, 26, 83-105.

Fonseca, A. (2004). *O Montado no Alentejo (Século XV a XVIII)*, Ed. Colibri, Lisboa.

Fonseca, H. A. (1996). *O Alentejo no século XIX: economia e atitudes económicas*, Lisboa: Imprensa Nacional Casa da Moeda.

Gil, Luís (2004). *Cortiça: da árvore aos produtos finais*. São Brás de Alportel: Pelcor.

Goes, J. e Tenreiro, P. (2000). *A gestão do montado de sobro na charneca de Ponte de Sor*. Ponte de Sor: Aflosor.

Grove, A. T. e Rackham, O. (2001). *The nature of Mediterranean Europe An Ecological History*, Yale University Press, New Haven.

INE, Instituto Nacional de Estatística, I.P. - *Estatísticas Agrícolas 2018*, Edição de 2019 [consult. 23 ago. 2021] Disponível em: <https://www.ine.pt>

Lains, Pedro (2003). *Os progressos do atraso*, Lisboa: Imprensa de Ciências Sociais.

Liga Agrária de Alter do Chão (1904). *Relatório e Contas 1903*. Alter do Chão: s.n.

Menères, C. (1915). *40 anos de Traz-Os-Montes: publicação de um grupo de amigos de Clemente Menères*, Porto: Tip. Oficinas de O Comercio do Porto.

Mendes, A. C (2002) *A economia do sector da cortiça em Portugal: Evolução das actividades de produção e de transformação ao longo dos séculos XIX e XX. Working Paper*, Porto: Universidade Católica Portuguesa

Natividade, J. V. (1950). *Subericultura*, Lisboa: Ministério da Economia - Direcção-Geral dos Serviços Florestais e Aquícolas, 1ª Edição. Lisboa.

Oliveira, M. A. e Oliveira, L. M. (1991). *A cortiça*. Lisboa: Grupo Amorim.

Parejo Moruno, F. (2009). *El negocio de exportación corchera en España y Portugal durante el siglo XX: cambios e intervención pública*, Tese de Doutoramento, Badajoz, Universidad de Extremadura.

Parejo Moruno, F. (2010). *El negocio del corcho en España durante el siglo XX*, Madrid: Banco de España.

Pereda García, I. (2009). *Junta Nacional da Cortiça (1936-1972)*, Euronatura 2. Lisboa: Euronatura.

Pereda García, I. (2016). *Dicionário Ilustrado da Cortiça*, Euronatura, Lisboa.

Pereira, J. S., Bugalho, M. N. e Caldeira, M. C. (2008). *Do sobreiro à cortiça - Um sistema sustentável*, Edição da APCOR.

Pinto-Correia T. e Fonseca A. (2009). "Use and management of the Montado in Southern Portugal: The long history of a highly resilient land use system", Aronson J., Pausas J.G., Santos Pereira J. - *Cork Oak Woodlands in Transition: Ecology, Management, and Restoration of an Ancient Mediterranean Ecosystem*, Island Press Editors, 49-55.

Pinto-Correia, T; Ribeiro, N e Potes, J. (Coord.) (2013). *Livro Verde dos Montados*, ICAAM, Évora.

Radich, M. C. e Alves, A. (2000). *Dois séculos da floresta em Portugal*, Lisboa: Celpa - Associação da Indústria Papeleira.

Ribeiro, Orlando (1945). "Expressão da terra portuguesa", *Atlântico*, Lisboa, 6, 20-29.

Santos, J. B., (1966). "Defesa da Riqueza Subericola", *Cortiça*, 336.

Silbert A. (1978). *Le Portugal Méditerranéen à la fin de l'Ancien Régime, XVIII - Début du XIX Siècle. Contribution à l'histoire agraire comparée*, Vol.2. Textos de História - 1. Instituto Nacional de Investigação Científica, 2ª Edição. Lisboa.

Soldevila i Temporal, X. (2009). "Suredes i suro al Baix Empordà medieval", *Suredes i indústria surera: avui, ahir i demà / Alcornocales e indústria corchera: hoy, ayer y mañana / Cork oak woodlands and cork industry: present, past and future*, Santiago Zapata Blanco (Ed.), Palafrugell: Museu del Suro de Palafrugell, 594-602.

Zapata Blanco, S. (2002). "Del suro a la cortiça: el ascenso de Portugal a primera potencia corchera del mundo", *Revista de Historia Industrial*, n. 22, 109-37.

Uva, J. S. (Coord.) (2015). *6.º Inventário Florestal Nacional*, Lisboa: Instituto da Conservação da Natureza e Florestas.

UNESCO. Convention Concerning the Protection of the World Cultural and Natural Heritage - sixteenth session [online]. In: Item 6 - Evaluation report on the implementation of the Convention. Santa Fé, New Mexico, USA: World Heritage Committee, UNESCO. 1992. Disponível em: <https://whc.unesco.org/archive/convention-en.pdf>.

UNESCO. Intergovernmental Committee for the Protection of the World Cultural and Natural Heritage. [Operational Guidelines for the Implementation of the World Heritage Convention](#). UNESCO World Heritage Centre, 2012, p. 14.

## CAPÍTULO 2

### DISEÑO DE UN SISTEMA DE BUENAS PRACTICAS AGRICOLAS COMO ESTRATEGIA DE IMPLEMENTACION EN LA ASOCIACION APRIMUJER UBICADA EN EL MUNICIPIO DE SAN VICENTE DE CHUCURI

Data de submissão: 06/06/2022

Data de aceite: 24/06/2022

#### **Leidy Andrea Carreño Castaño**

Ingeniera Agroindustrial  
Esp. Gerencia en Salud Ocupacional  
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucia  
Barrancabermeja, Santander, Colombia  
leydi.carreno@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0002-4374-5235>

#### **Mónica María Pacheco Valderrama**

Ingeniera de Alimentos  
M.Sc. Ciencia y Tecnología de Alimentos  
cPh.D. en Gestión  
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucia  
Barrancabermeja, Santander, Colombia  
Monica.pacheco@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0003-2051-4589>

#### **Héctor Julio Paz Díaz**

Ingeniero Agroindustrial  
Esp. Gerencia en Seguridad, Riesgos  
Laborales y Salud en el Trabajo  
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucia  
Barrancabermeja, Santander, Colombia  
hector.paz@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0002-3278-7667>

#### **Miguel Arturo Lozada Valero**

Ingeniero Agroindustrial, Esp. Agronegocios  
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucia  
Barrancabermeja, Santander, Colombia  
miguel.lozada@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0001-8719-7616>

#### **Rafael Calderón Silva**

Ingeniero Agrónomo  
Esp. Aseguramiento de la Calidad e  
Inocuidad Agroalimentaria  
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucia  
Barrancabermeja, Santander, Colombia  
rafael.calderon@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0003-2107-1062>

#### **Jhoan Arley Ochoa Martínez**

Ingeniero Agroindustrial  
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucia  
Barrancabermeja, Santander, Colombia  
jhoan.ochoa@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0003-1002-6354>

#### **Angélica María Montoya Hernández**

Ingeniera Química, Esp. Química Ambiental  
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucia  
Barrancabermeja, Santander, Colombia  
angelica.montoya@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0003-4562-9665>

**Irina Alean Carreño**  
Microbióloga Agrícola y Veterinaria  
Esp. Gestión Ambiental  
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucia  
Barrancabermeja, Santander, Colombia  
irina.carreño@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0002-1505-7259>

**Shirley Mancera**  
Ingeniero Agrónomo  
Esp. Aseguramiento de la Calidad e  
Inocuidad Agroalimentaria  
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucia  
Barrancabermeja, Santander, Colombia  
shirley.mancera@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0002-4583-2252>

**Daniel Augusto Buitrago Ibañez**  
Ingeniero Agroindustrial  
Mag. Dirección Logística  
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucia  
Barrancabermeja, Santander, Colombia  
daniel.buitrago@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0002-0561-6811>

**Ana Milena Salazar**  
Ingeniero Agrónomo  
Esp. Aseguramiento de la Calidad e  
Inocuidad Agroalimentaria  
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucia  
Barrancabermeja, Santander, Colombia  
ana.salazar@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0001-7592-2550>

**Sandra Milena Montesino Rincón**  
Ingeniera Agroindustrial  
Esp. Gerencia en Salud Ocupacional  
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucia  
Barrancabermeja, Santander, Colombia  
sandra.montesino@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0002-3437-6976>

**RESUMEN:** El presente trabajo pretende diseñar un sistema de Buenas Prácticas Agrícolas como estrategia de implementación en la asociación APRIMUJER ubicada en el municipio de San Vicente de Chucuri, mediante una autoevaluación inicial y posterior a ello el diseño de un manual de buenas prácticas y una cartilla pedagógica. Para tales fines se siguen los lineamientos propuestos por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) mediante la resolución No. 030021 del 23 de abril 2017 y la resolución 082394 del 29 de diciembre de 2020. Los resultados de la autoevaluación evidencian que la mayoría de las áreas presentan grandes deficiencias, pero es el aspecto del registro documental el que mayores valoraciones negativas ha tenido en casi todos los puntos de control. Tanto el manual de buenas prácticas como la cartilla son un punto de partida para mejorar la situación observada.

**PALABRAS CLAVES:** Autoevaluación. Prácticas. Resolución. Resultados.

## DESIGN OF A SYSTEM OF GOOD AGRICULTURAL PRACTICES AS AN IMPLEMENTATION STRATEGY IN THE APRIMUJER ASSOCIATION LOCATED IN THE MUNICIPALITY OF SAN VICENTE DE CHUCURI

**ABSTRACT:** This work aims to design a system of “Good Agricultural Practices” as an implementation strategy in the “APRIMUJER” association located in the municipality of San Vicente de Chucuri, through an initial self-assessment and after that the design of a manual of good practices and a pedagogical booklet. For such purposes, the guidelines proposed by the Colombian Agricultural Institute (ICA) through resolution No. 030021 of April 23, 2017 and resolution 082394 of December 29, 2020 are followed. The results of the self-assessment show that most of the areas present major deficiencies, but it is

the documentary record aspect that has had the highest negative ratings in almost all the control points. Both the good practices manual and the booklet are a starting point for improving the situation observed.

**KEYWORDS:** Self appraisal. Practices. Resolution. Results.

## 1 INTRODUCCIÓN

El concepto de Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) que ofrece la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) es “la aplicación de los conocimientos de que se dispone para lograr la sostenibilidad ambiental, económica y social de la producción y de los procesos posteriores a la producción en la explotación agrícola con el fin de obtener alimentos y productos agrícolas no alimenticios inocuos y sanos.” (FAO, 2003) Con las BPA se busca un equilibrio entre el medio ambiente, el crecimiento económico y el desarrollo social en torno a las prácticas agrícolas, a través del conocimiento técnico, ambiental, económico, productivo y entre otros, durante todas las etapas de la producción agrícola.

La producción agrícola es dependiente de los suelos que son capaces de desarrollar cultivos de buen rendimiento. Sin embargo, para el desarrollo de estos cultivos la capacidad del suelo varía de acuerdo con las propiedades físicas y químicas junto con su formación y el tipo de estos. En ese sentido, las BPA, fueron concebidas bajo la consideración de una necesidad de instaurar prácticas sostenibles en la agricultura por la presión y el riesgo que las prácticas inapropiadas que la agricultura convencional genera un impacto negativo hacia los ecosistemas y los recursos naturales (Manchego, 2017).

El Municipio de San Vicente de Chucuri, ha sido considerado ampliamente como despensa agrícola del departamento de Santander, especialmente en la producción de cacao; 17 mil hectáreas son destinadas a este producto y su producción oscila alrededor de las 7.000 toneladas/año, convirtiéndose en el municipio con mayor producción de Colombia (semana rural, 2019). Bajo ese escenario aparece APRIMUJER, organización de carácter social que brinda acompañamiento a las mujeres en el sector rural del municipio, cuenta con 130 socias activas dedicadas al cultivo del cacao.

Las BPA han demostrado ser acciones que están involucradas en la producción, procesamiento y transporte de los productos agrícolas, los cuales están orientados a asegurar la inocuidad de los productos y a la protección del medio ambiente (Moyano, 2016). Se deben adoptar y aplicar desde la selección del material vegetal hasta la actividad de cosecha y post- cosecha, permitiendo la trazabilidad de la actividad productiva y la garantía para el consumidor final (Palacios, 2017).

Dicho lo anterior, este proyecto busca como primera medida el aprovechamiento en las pérdidas de producción de cultivos, realizando controles significativos durante la

post-cosecha mediante la implementación de un diseño de Buenas Prácticas Agrícolas para la mejora de la calidad de estos productos, así mismo el desarrollo del diseño de las BPA nos llevará a determinar los requerimientos de calidad que debe tener un cultivo, aspecto que nos va a permitir obtener una mejora continua en los procesos, desarrollando prácticas ambientales sostenibles y de esta forma, mejorar la competitividad de este sector fruticultor (Palacios, 2017).

## 2 MATERIALES Y MÉTODOS

Los materiales usados para el desarrollo de este proyecto: Computadora, acceso a internet, programas ofimáticos, lista de chequeo.

### 2.1 FUENTES PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

El método empleando para el desarrollo del proyecto se basa en consultas a fuentes primarias como los son normas vigentes que rigen la implementación de las buenas prácticas agrícolas y la normatividad regida por el ICA. Fuentes secundarias, como textos y publicaciones, internet, trabajos de grado.

### 2.2 DETERMINAR EL CUMPLIMIENTO NORMATIVO DE LAS FINCAS ASOCIADAS A APRIMUJER MEDIANTE UNA AUTOEVALUACIÓN INICIAL

Para desarrollar este objetivo se realizó una autoevaluación en las 30 fincas asociadas a APRIMUJER, Con el fin de determinar el nivel de cumplimiento a la normatividad reglamentaria requerida por el ICA.

Instrumento: Para recolectar los datos de la información se utilizó una lista de chequeo basada en la RESOLUCION No.082394 de 2020, para lograr la interacción y acercamiento entre los asociados con su fincas o predios, esta lista de chequeo se aplicó a las 30 fincas asociadas de APRIMUJER, a través de un formato que contiene 56 preguntas con el fin de determinar el cumplimiento.

### 2.3 DISEÑAR UN MANUAL DE BUENAS PRÁCTICAS AGRÍCOLAS POR MEDIO DE LA RESOLUCIÓN ICA 30021 DE 2017 Y RESOLUCIÓN ICA 082394 DE 2020 PARA IMPLEMENTACIÓN EN FINCAS ASOCIADAS CON APRIMUJER EN EL MUNICIPIO DE SAN VICENTE DE CHUCURI

Para diseñar este manual, se tuvo en cuenta el índice requerido por la Resolución ICA 30021 de 2017 y la resolución ICA 082394 de 2020, y las normas requeridas. Se



investigaron documentos como manuales realizados por la FAO para determinar una correcta elaboración.

## 2.4 ELABORACIÓN DE UNA CARTILLA PEDAGÓGICA DE IMPLEMENTACIÓN, CON EL FIN DE DARLES A CONOCER LA IMPORTANCIA DE APLICAR LAS BUENAS PRÁCTICAS AGRÍCOLAS EN SUS CULTIVOS

De acuerdo a la autoevaluación realizada, se desarrolla una cartilla pedagógica con la finalidad de darles a conocer a los asociados de APRIMUJER, la importancia de aplicar las buenas prácticas agrícolas en el predio y los beneficios que pueden traer.

## 3 RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS

### 3.1 DETERMINAR EL CUMPLIMIENTO NORMATIVO DE LAS FINCAS ASOCIADAS A APRIMUJER, MEDIANTE UNA AUTOEVALUACIÓN INICIAL

Siguiendo las recomendaciones realizadas en la resolución 082394 de 2020 por el ICA en el cual se adquirió el compromiso “en el plan de acción, de incorporar elementos de aseguramiento de calidad y de inocuidad de referentes internacionales, a fin de generar mejores puntos de control para la certificación de Buenas Prácticas Agrícolas” mediante la implementación de una lista de chequeo se desarrolla una autoevaluación inicial en fincas asociadas a APRIMUJER, de allí se obtiene la evaluación de 16 áreas específicas:

En relación con las **áreas de instalaciones sanitarias** se establece que 70% de los predios no cuentan con baño para los trabajadores cerca al área de trabajo, un 63% tampoco disponen de un sistema de lavado de manos para los mismos. Aun así, un 40% de los predios cuentan con avisos informativos alusivos a las actividades de limpieza.

Se puede apreciar para las disposiciones referentes al **área de almacenamiento de insumos agrícolas**, que un 70% de los predios encuestados no cuentan con un área de almacenamiento. Por otra parte, cerca de la mitad de los predios (43%) están dotados de un botiquín de primeros auxilios, sin embargo, en su mayoría no disponen de extintor multiusos (87%), tampoco de kit de uso en caso de derrame de insumos agrícolas (90%). Finalmente, solo un 30% de los predios encuestados poseen avisos informativos claros, alusivos a las actividades y riesgos relacionados con el manejo de los insumos agrícolas y al uso de elementos de protección personal.

Frente al **área de dosificación y preparación de mezclas de insumos agrícolas** se evidencia para los predios que cuentan con un área de dosificación y con área de preparación de mezclas de los insumos agrícolas se tiene que un 33% responde positivamente a cada uno de esos ítems.

El análisis de **área de almacenamiento de combustibles y aceites**, indica que el 67% de los predios encuestados no almacenan de forma segura los combustibles y aceites.

De igual forma, en cuanto al **área de acopio transitorio de productos cosechados** se observa que tan solo un 23% de los predios cuenta con dicha zona y 77% almacena el material de empaque en un sitio limpio.

Otro aspecto para tener en cuenta está relacionado con el **área destinada al bienestar de los trabajadores** donde se encuentra que el 80% de los predios no cuenta con áreas para el consumo de alimentos y descanso.

Al observar los criterios relacionados con el **área de almacenamiento de equipos, utensilios y herramientas** se evidencia que el 43% de los predios encuestadas cuentan con área de almacenamientos de equipos, utensilios y herramientas; el 66% de los equipos, utensilios y herramientas empleados en la cosecha no se protegen de la contaminación; el 60% de todos los equipos, utensilios y herramientas no se mantienen en buenas condiciones de operación y limpieza; tan solo un 33% de los predios encuestados cuentan con procedimientos e instructivos para su manejo, que eviten los riesgos de contaminación cruzada o su deterioro y mal funcionamiento. Siguiendo la misma dinámica anterior, de los predios sondeados un 20% mantienen los registros documentales de todas las actividades de mantenimiento, verificación/calibración, limpieza y desinfección que se realizan.

Respecto al **componente ambiental**, el **criterio del Agua** se tiene que en un 37% de los predios se han identificado fuentes de agua para las labores de los mismos. No obstante, un 90% de los predios evaluados no cuentan con los permisos correspondientes para el uso del agua; de la misma forma, en cuanto a su calidad, en un 90% no aplica para los alimentos de consumo humano. A su vez, se encuentra que la totalidad de los predios no tienen un sistema de riego ni realizan un manejo racional del agua y no han definido las acciones para su protección. Por último, en solo un 10% de los predios se evaluaron las características y recursos de la zona, de los riesgos asociados al suelo y fuentes del agua.

Por su parte, en el **área de Manejo de residuos sólidos y líquidos** se encuentra que el 83% de los predios no cuentan con un plan de manejo de residuos líquidos y sólidos; en un 90% las aguas contaminadas con plaguicidas no se disponen en un sitio de área de vertimiento de aguas sobrantes debidamente identificado y alejado de las fuentes de agua; 40% de los predios se encuentran despejados de la basura o residuos; solo el 23% los plaguicidas vencidos se almacenan de forma segura y el 37% el material vegetal resultante de podas fitosanitarias, es retirado del predio o enterrado.

En cuanto al **área de Manejo de protección de suelos** se encuentra que un 10% de los predios hacen rotación de cultivos cuando es técnicamente posible, al igual que

un 10% se emplean técnicas de manejo de suelo para mantener su estructura, prevenir la compactación, erosión y corregir problemas de saturación hídrica.

Manteniendo esa tendencia negativa, en el **área Protección de insectos benéficos y polinizadores** se tiene en un 77% de los predios no se conoce la selectividad de los plaguicidas sobre los polinizadores y en un 87% no existen medidas para aumentar las poblaciones de insectos benéficos y polinizadores.

La aplicación del instrumento arrojó que para el **área material de propagación** se encuentra que un 57% el material utilizado para la siembra cumple con la reglamentación vigente, expedida por el instituto colombiano Agropecuario-ICA. No obstante, al utilizar material de propagación genéticamente modificado, solo un 37% este está autorizado por el instituto colombiano Agropecuario-ICA. En los casos en los que el material de propagación es obtenido en el predio el 40% de las veces el proceso garantiza la calidad y la sanidad del material, y apenas un 20% registran las aplicaciones de plaguicidas en el material de propagación obtenido en el predio.

Dentro del análisis que se ha venido desarrollando, es en el **área de nutrición del cultivo** donde se encuentran grandes disparidades en los resultados, por una parte, se tiene que un 73% de los predios encuestados no ha diseñado un plan de fertilización (inorgánica y orgánica) basado en el análisis de suelo y los requerimientos de la especie sembrada; un 87% de los predios no cuentan con análisis de suelos y también un 87% de los mismos no registran las aplicaciones de los fertilizantes. Por otra parte, el 97% los insumos agrícolas utilizados en esta labor cuentan con el registro otorgado por el Instituto Colombiano Agropecuario- ICA y son adquiridos en los almacenes autorizados por esta misma entidad, a su vez la totalidad de los predios (100%) para la preparación de abonos orgánicos tienen implementados procedimientos de técnicas de compostaje; lo que conlleva a que 97% de los predios llevan registros cuando el abono es preparado en los mismos.

En lo referente al **área de protección del cultivo** se obtiene que un 17% de los predios cuentan con un plan para la protección fitosanitaria del cultivo dentro de los principios del manejo integrado de plagas (MIP), el cual es planeado y ejecutado bajo la supervisión del asistente técnico; el 53% del personal que manipula estos productos está capacitado y sigue las recomendaciones de uso del fabricante contenidas en la etiqueta, aun así, el 90% de las aplicaciones de plaguicidas no están registradas documentalmente ni tampoco se cumple con el periodo de carencia (90%) ni con el periodo de reentrada (90%). Por último, aunque un poco más de la mitad (53%) de los plaguicidas químicos y bioinsumos agrícolas utilizados en esta labor cuentan con el registro otorgado por el ICA para el blanco biológico descrito específicamente en la etiqueta.

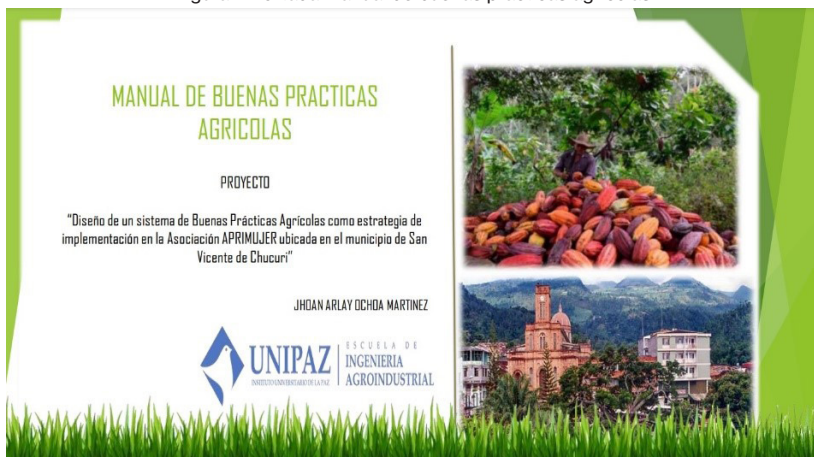
En cuanto al **área del personal**, se tiene que el 97% de los predios cuentan con elementos de protección personal requeridos de acuerdo con las labores realizadas, no obstante, el 90% de los predios no cuentan con un plan de capacitación permanente para su personal, debidamente documentado ni tampoco con un procedimiento de manejo de emergencias o contingencias.

Finalmente, en el análisis para **área de trazabilidad** se encuentra que en el 90% de los predios no se ha implementado un procedimiento que permita dar seguimiento al producto.

### 3.2 DISEÑAR UN MANUAL DE BUENAS PRÁCTICAS AGRÍCOLAS POR MEDIO DE LA RESOLUCIÓN ICA 30021 DE 2017 Y RESOLUCIÓN ICA 082394 DE 2020 PARA IMPLEMENTACIÓN EN FINCAS ASOCIADAS CON APRIMUJER EN EL MUNICIPIO DE SAN VICENTE DE CHUCURI

El manual ha sido realizado en ejercicio del desarrollo del proyecto, cuyo objetivo comunica los conceptos de las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), con la intención de instruir los sistemas de producción en pro de una agricultura sostenible y ecológicamente protegida, lograr productos de excelente calidad, así mismo se busca cooperar con la garantía de una buena salud alimentaria que en ese mismo sentido mejore las condiciones laborales de los productores y sus núcleos familiares. El manual está dirigido a los productores en especial cacaoteros que se encuentran en Asociación APRIMUJER, maestros y maestras de escuelas rurales especialmente del municipio San Vicente de Chucuri, y a grupos familiares en general.

Figura 1. Portada manual de buenas prácticas agrícolas.



### 3.3 ELABORACIÓN DE UNA CARTILLA PEDAGÓGICA DE IMPLEMENTACIÓN, CON EL FIN DE DARLES A CONOCER LA IMPORTANCIA DE APLICAR LAS BUENAS PRÁCTICAS AGRÍCOLAS EN SUS CULTIVOS

Esta guía se ha desarrollado con el objetivo de brindar las pautas necesarias para la implementación de las buenas prácticas agrícolas (BPA) encaminada bajo el contexto de recomendaciones que van de la mano con el cuidado del medio ambiente, higiénicamente admisibles, económicamente viables y orientadas a la protección del personal que ejerce dicha actividad.

Figura 2. Portada guía de implementación de buenas prácticas agrícolas.



## 4 CONCLUSIONES

Una vez analizados los datos obtenidos de la autoevaluación inicial mediante la ficha de chequeo de BPA en las fincas asociadas a APRIMUJER se puede evidenciar que en la mayoría de los predios no cumplen con las buenas prácticas agrícolas.

Se concluye que de los 30 predios de las fincas asociadas que participaron en el siguiente estudio, tres ya se encuentran certificadas por el Instituto colombiano agropecuario ICA en las Buenas Prácticas Agrícolas.

Aunque en la mayoría de los aspectos evaluados presentan grandes deficiencias es el aspecto del registro documental el que mayores valoraciones negativas ha tenido en casi todos los puntos de control. Los incipientes acercamientos de obtener mejores indicadores de acuerdo con la lista están directamente relacionados con las que involucran al Instituto Colombiano Agropecuario- ICA.

## BIBLIOGRAFÍA

Manchego Díaz, O y Ramírez Sierra, F. (2018) Implementación de buenas prácticas agrícolas (BPA resolución 30021 del 28 de abril del 2017 y actualizada en la Resolución ICA 082394 del 2020) para reducir el impacto socio ambiental, en la producción de cacao en 10 fincas de productores de Cacao de Paccelli (ASOPROCAP) del municipio de Tibú, Norte de Santander. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional abierta y a distancia UNAD]. <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/25635/%20%09odiazma.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Moyano López, C. (2016) Formulación de un plan para implementar la técnica de buenas prácticas agrícolas en un cultivo de maracuyá del municipio de Suaza en el Huila bajo lineamientos PMI. [Tesis de Especialización, Universidad Militar Nueva Granada]. <https://repository.unimilitar.edu.co/bitstream/handle/10654/14932/LopezMoyanoCarolina2016.pdf?sequence=1>

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). (2003) Elaboración de un marco para las buenas prácticas agrícolas. <http://www.fao.org/3/Y8704s/Y8704s.htm>

Palacios Ruiz, J. S. (2017) Diseño de un sistema de buenas prácticas agrícolas como estrategia para la certificación orgánica otorgada por <Grup Ecocert para la empresa agricultura e inversiones AGRIN S.A.S. [Pasantía institucional, Universidad Autónoma de Occidente]. <https://red.uao.edu.co/bitstream/handle/10614/9904/T07574.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

Resolución 082394 de 2020 [ Instituto Colombiano Agropecuario-ICA]. Por la cual se modifica los artículos 2, 3, 4, 12, y 14 de la Resolución 30021 de 2017. 29 de diciembre de 2020.

Semana Rural. (2019) Cacaoteros de Santander, los más productivos y “duchos” en el monitoreo del clima. <https://semanarural.com/web/articulo/cacaoteros-de-santanderlos-mas-productivos-y-duchos-en-el-monitoreo-del-clima/1235>

# CAPÍTULO 3

## ESPECIES FORESTALES DE IMPORTANCIA CULTURAL DE BADIRAGUATO SINALOA

Data de submissão: 07/06/2022

Data de aceite: 24/06/2022

### Yulisa Rodríguez López

Universidad para el Bienestar  
Benito Juárez García UBBJ  
Boulevard Juan S. Millán S/N  
esquina S/n  
Calle Manzana 27, lote 27  
Colonia el Llano, C. P 8050  
Badiraguato, Sinaloa

<https://orcid.org/0000-0003-0383-7562>

### Heréndira Flores Almeida

Universidad para el Bienestar  
Benito Juárez García UBBJ  
Boulevard Juan S. Millán S/N  
esquina S/n  
Calle Manzana 27, lote 27  
Colonia el Llano, C. P 8050  
Badiraguato, Sinaloa

<https://orcid.org/0000-0003-3305-0584>

### Gilberto Sandoval Varela

Universidad para el Bienestar  
Benito Juárez García UBBJ  
Boulevard Juan S. Millán S/N  
esquina S/n  
Calle Manzana 27, lote 27  
Colonia el Llano, C. P 8050  
Badiraguato, Sinaloa

<https://orcid.org/0000-0002-1001-0478>

### Bladimir Salomón Montijo

Universidad para el Bienestar  
Benito Juárez García UBBJ  
Boulevard Juan S. Millán S/N  
esquina S/n  
Calle Manzana 27, lote 27  
Colonia el Llano, C. P 8050  
Badiraguato, Sinaloa

Facultad de Biología de la  
Universidad Autónoma de Sinaloa  
Ciudad Universitaria  
Avenida de las Américas S/N y  
Boulevard Universitarios, C.P. 80010  
Culiacán, Sinaloa, México

<https://orcid.org/0000-0002-5053-9691>

### Aidé Avendaño Gómez

Universidad para el Bienestar  
Benito Juárez García UBBJ  
Boulevard Juan S. Millán S/N  
esquina S/n  
Calle Manzana 27, lote 27  
Colonia el Llano, C. P 8050  
Badiraguato, Sinaloa

<https://orcid.org/0000-0002-6469-0536>

**RESUMEN:** El objetivo de este estudio fue documentar las especies forestales de importancia cultural en la cabecera municipal de Badiraguato, Sinaloa, México, por tal motivo en el año 2020 se aplicaron 62 listados libres y entrevistas en la cabecera municipal, las preguntas incluyeron el nombre de los sistemas agroforestales de la región, los



árboles considerados de importancia cultural en la comunidad, su ubicación, formas de uso y manejo, con la información obtenida se calculó el Índice de Fidelidad (IF) de Friedman para evaluar las especies con mayor frecuencia de mención y consenso entre la población. Los resultados señalaron 66 especies forestales útiles, se documentaron ocho formas de aprovechamiento, tres sistemas agroforestales y tres formas de manejo, se encontró que la especie con mayor número de usos, formas de manejo y presente en los sistemas agroforestales fue el cardón seguido por el guamúchil, la guásima, el pochote, el tepehuaje, el palo Brasil, la ciruela, el guaje, el guanacaste, la ilama, el guayabo y el palo colorado, la mayoría especies nativas del país. Sin embargo, los resultados de Índice de Fidelidad incluyeron principalmente a especies introducidas como los cítricos, el mango y el aguacate, cultivados como frutales y ornamentales en los huertos familiares. Aunque en la actualidad no existen grupos étnicos en la zona de estudio, los resultados sobre las formas de uso, aprovechamiento y manejo coinciden con los reportados por otros autores para los grupos indígenas mayo del norte del Estado. Se recomienda la realización de estudios más profundos sobre el impacto de las formas de manejo en los procesos de diversificación de las especies nativas e introducidas, así como la creación de paisajes culturales para la región.

**PALABRAS CLAVE:** Sistemas agroforestales. Especies nativas. Mayos. Biocultural.

## FOREST SPECIES OF CULTURAL IMPORTANCE OF BADIRAGUATO SINALOA

**ABSTRACT:** The aim of this study was to document the forest species of cultural importance in the municipality of Badiraguato, Sinaloa, for this reason in 2020, 62 free lists and interviews were applied, the questions included the name of the agroforestry systems of the region, trees considered of cultural importance in the community, location, forms of use and management, the Friedman Fidelity Index (IF) was calculated to evaluate the species with the highest frequency of mention and consensus among the population. The results indicated 66 useful forest species, eight forms of exploitation, three agroforestry systems and three forms of management were documented, it was found that the species with the highest number of uses, forms of management and present in the three agroforestry systems was the cardón followed by the guamúchil the guásima, the pochote, the tepehuaje, the brasil wood, the plum, the guaje, the guanacaste, the ilama, the guayabo and the redwood, most of which are native species of the country. However, it was observed that the results of the Fidelity Index included mainly introduced species, cultivated as fruit trees and ornamentals in home gardens, such as citrus, mango and avocado. Even though currently there are no ethnic groups in the study area, results on the forms of use and management coincide with those reported by other authors for the mayo indigenous groups of the north of the State. It is recommended that more in-depth studies will be carried out on the impact of management forms on the diversification processes of native and introduced species, as well as the creation of cultural landscapes for the region.

**KEYWORDS:** Agroforestry systems. Native species. Mayos. Biocultural.

## 1 INTRODUCCIÓN

Sinaloa posee una gran riqueza florística asociada a su privilegiada posición geográfica entre las provincias fisiográficas de la Sierra Madre occidental, la costa del



pacífico y la planicie costera del noroeste (Rzedowski, 2006). De acuerdo con Vega *et al* (2021) existen 3882 especies de plantas vasculares de las cuales 74 son endémicas estrictas para el estado, por su parte Téllez *et al* (2020) señalan en su artículo sobre árboles de México 577 especies de especies nativas para Sinaloa, incluidas en 79 familias y 268 géneros, con respecto a la presencia de árboles en sistemas agroforestales y estudios bioculturales para Sinaloa con excepción de los trabajos realizados por sistema tradicional milpa de los Mayo- Yoreme de Lara *et al.*, (2017), los árboles frutales de los huertos familiares (López-Ortiz, Osuna-Flores, de la Torre-Martínez, & Olivos-Ortiz, 2017), el empleo de cercas vivas en la ganadería (Reyes Jimenez & Martínez Alvarado, 2011), los sistemas silvopastoriles de mezquite (López Vega & Olivas Velarde, 2021) y las investigaciones realizadas por Beals (2016) son pocos los estudios en estos temas para la región (Avendaño *et al* en prensa).

Aunque los estudios bioculturales son relativamente recientes (dos a tres décadas), resultan de vital importancia para los procesos de conservación de la diversidad genética, específica y ecosistémica, donde “la diversidad biológica y la cultural son mutuamente dependientes y geográficamente coexistentes”. Este tipo de estudios provee de información sobre las interacciones que surgen entre la diversidad biológica, las culturas y las lenguas, a partir de la biodiversidad, la etnodiversidad (número de lenguas) y la agrobiodiversidad (variedad de especies y de paisajes domesticados (Toledo y Barrera-Bassols, 2008). De igual forma ayudan a comprender el impacto del manejo sobre las especies y ecosistemas, sus procesos de conservación, diversificación y la creación de paisajes culturales (Casas, 2001), como señala Leff (2016) las prácticas de manejo pasan a través de la mediación de la cultura, de la internalización y racionalidad ecológica en los valores culturales y las prácticas productivas de las comunidades indígenas, tribales y campesinas: para transformarse en el espacio geográfico evolucionando en el mundo biológico a través los estilos de vida y el aprovechamiento sustentable de los recursos.

Por esta razón el presente estudio tuvo como objetivo entender ¿Cuál es la importancia cultural de algunas especies forestales del municipio de Badiraguato, Sinaloa? y ¿Cómo esta moldea la diversidad forestal existente en los sistemas agroforestales de la cabecera municipal?

Para motivos de este trabajo se definieron los sistemas agroforestales utilizando los criterios descritos por Farrel y Altieri (1999), conforme a la composición y disposición de los componentes, función, escala socioeconómica, nivel de manejo y la distribución ecológica. En cuanto a la estructura, los sistemas agroforestales pueden agruparse de la siguiente manera:

- Agrosilvicultura: el uso de la tierra para la producción secuencial o concurrente de cultivos agrícolas y cultivos boscosos.
- Sistemas silvopastorales: sistemas de manejo de la tierra en los que los bosques se manejan para la producción de madera, alimento y forraje, como también para la crianza de animales domésticos.
- Sistemas agrosilvopastorales: sistemas en los que la tierra se maneja para la producción concurrente de cultivos forestales y agrícolas y para la crianza de animales domésticos.
- Sistemas de producción forestal de multipropósito: en los que las especies forestales se regeneran y manejan para producir no sólo madera, sino también hojas y/o frutas que son apropiadas para alimento y/o forraje.

Los componentes se pueden disponer temporal o espacialmente y se utilizan varios términos para señalar las variadas disposiciones. La base funcional se refiere al producto principal y al papel de los componentes, en particular los arbolados. Estos pueden ser funciones productivas (producción de las necesidades básicas, como alimento, forraje, leña, otros productos) y roles protectores (conservación del suelo, mejoramiento de la fertilidad del suelo, protección ofrecida por los rompevientos y los cinturones de protección) (Farrel y Altieri, 1999).

Entre las preguntas planteadas estuvieron ¿Cuáles de los sistemas agroforestales descritos en la literatura se encuentran en la comunidad?, ¿Qué árboles están presentes en cada uno de ellos?, ¿Bajo qué criterios culturales las personas de la comunidad usan estas especies?, se tuvo como supuesto que las especies con mayor número de usos y presencia en los sistemas anteriormente descritos serían las culturalmente importantes.

## 2 MATERIAL Y MÉTODOS

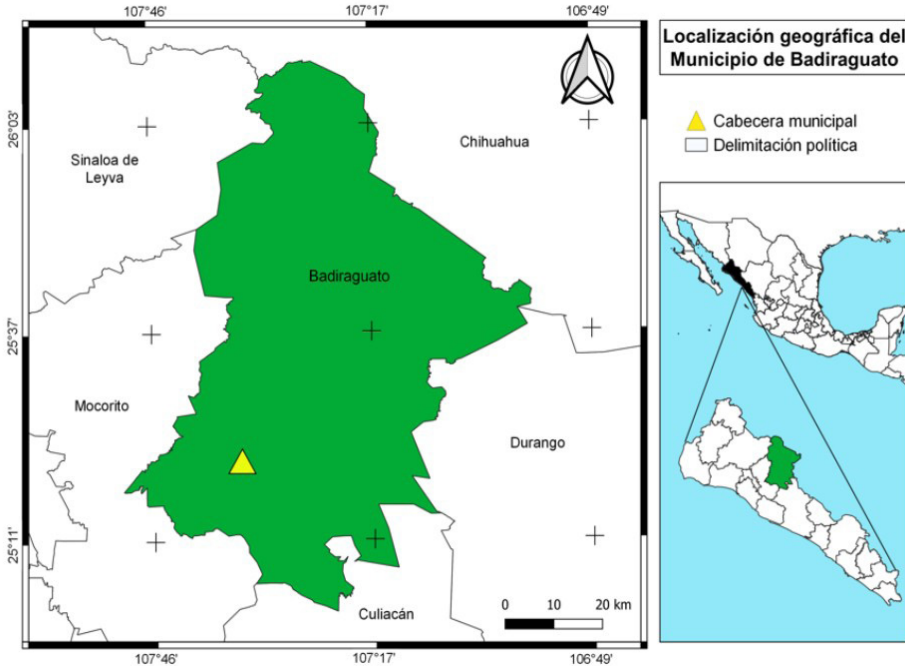
### 2.1 ZONA DE ESTUDIO

Este estudio se llevó a cabo en el año 2020 en Badiraguato (Figura. 1), uno de los 18 municipios de Sinaloa, con 15 sindicaturas que poseen grandes extensiones de vegetación de Selva Baja Caducifolia, Bosques de Pino-encino, matorral xerófilo, Su altura sobre el nivel del mar fluctúa entre los 150 y 2300 metros en sus partes más altas, está integrado por más de 530 localidades, de las cuales las más importantes son Badiraguato cabecera, Surutato, Boca de Arroyo y El Huejote, su clima es cálido y semiárido (SEMARNAT, 2015; <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM25sinaloa/municipios/25003a.html>).

## 2.2 ASPECTOS CULTURALES DE LA ZONA DE ESTUDIO

El municipio fue fundado en 1605 por el jesuita Hernando de Santarén, Históricamente en Badiraguato se ubicó el grupo cultural tebaka, rama descendiente de los cahitas, que compartieron el territorio con los tarascos o purépechas y los nahuas, la palabra Badiraguato proviene del vocablos cahita-tarascos: ba, “dira”; huato, hibridismo; cuyas raíces son las siguientes: la voz cahita ba; “agua”, “arroyo o río”; y las radicales tarascas dira, “muchos” y huata o huato, cerro; que literalmente puede interpretarse como “arroyo entre montañas” . (<http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM25sinaloa/municipios/25003a.html>). Del grupo Cahita actualmente sobrevive la cultura Mayo-Yoreme al norte del Sinaloa. (López Aceves, 2007).

Figura 1. Mapa de la zona de estudio Badiraguato, Sinaloa. (Fuente, Avendaño *et al.*, en prensa)



## 2.3 OBTENCIÓN Y ANÁLISIS DE INFORMACIÓN EN CAMPO

Para la realización de este estudio se aplicaron 62 listados libres y entrevistas en la cabecera municipal a productores y amas de casa, las preguntas incluyeron qué nombre reciben los espacios donde obtienen madera, alimento y forraje y crían animales domésticos, así como los espacios donde cultivan y conservan árboles, ¿Cuáles árboles considera de importancia para la comunidad?, ¿Dónde se encuentran?, ¿Cuáles son sus formas de uso? ¿Si pudiera sembrar árboles cuales serían y por qué?, con la información

obtenida sobre las especies de árboles se calculó el Índice de Fidelidad de Friedman (Friedman *et al.*,1986) con la siguiente formula  $IF = Ip/lu * 100$ ,  $I_p$ = al número de informantes que mencionaron conocer a las especies,  $l_u$ = al total de menciones para todas las especies de árboles. Las especies registradas fueron identificadas con ayuda estudios previos en el estado (Vega et al, 2021), mientras que los nombres científicos se consultaron en la página web “plants of the world” (POWO, 2022). Las formas de manejo descritas fueron delimitadas de acuerdo a los criterios descritos por Casas (2001).

### 3 RESULTADOS

Las personas entrevistadas fueron un 63% de mujeres y el restante varones con un rango de edad de 19 a los 56 años, los cuales mencionaron 66 especies para la comunidad (Cuadro 1, Figura 2). Aunque existen un mayor número de especies arbóreas éstas fueron descritas como las útiles, por otro lado, se encontró que las personas reconocen como sistemas agroforestales al monte (espacio donde se encuentran los árboles silvestres, con ganado de pastoreo y en ocasiones cultivos), la milpa (espacio donde convergen cultivos agrícolas y especies forestales toleradas) y el huerto familiar (especies forestales cultivadas, con plantas medicinales y en ocasiones animales de traspatio). Como se puede observar en este estudio se registraron ocho formas de uso para las especies forestales, el cardón fue el que más usos reportó por los entrevistados seguido por el guayabo, guamúchil, la guásima, el pochote, tepehuaje, el palo Brasil, la ciruela, el guaje, el guanacaste, la ilama y el palo colorado. En el caso de los sistemas agroforestales registrados se encontró que los árboles presentes en los tres descritos (monte, milpa y huerto familiar) fueron nuevamente el cardón, seguido por el guaje, el guamúchil, el guayabo, el mauto y el tepehuaje, mientras que las especies con las tres formas de manejo fueron el cardón, la ciruela, el guaje el guamúchil, guanacastle, guayabo, ilama, y palo colorado. Finalmente, en el Índice de Fidelidad las especies con mayor valor fueron el tepehuaje, el limón, cardón, brasil, aguacate, mango, encino, mauto, guaje, guásima y el tamarindo (Cuadro. 1).

Cuadro 1. Árboles y arbustos de importancia cultural de la Cabecera municipal de Badiraguato Sinaloa.

Árboles	Nombre científico	Usos	Ubicación	Manejo	IF
Aguacate	<i>Persea americana</i> Mill.	A, M, S	H	C	4.34
Alamo	<i>Populus</i> spp	S	M, R	S	0.48
Aliso	<i>Alnus</i> spp	S	M, R	S	0.24
Algarrobo	<i>Prosopis laevigata</i> (Humb. & Bonpl. ex Willd.) M.C.Johnst.	S	M, MI	S, T	0.96

Árboles	Nombre científico	Usos	Ubicación	Manejo	IF
Algodón	<i>Gossypium</i> spp	O	H, M	S, T	0.48
Amapa	<i>Handroanthus impetiginosus</i> (Mart. ex DC.) Mattos	S, O	M	S, T	0.48
Apomo	<i>Brosimum alicastrum</i> Sw	A, F, S	H, M	S, T	0.24
Arrayan	<i>Psidium oligospermum</i> Mart. ex DC.	A, S	H, M	S, T	0.96
Ayale	<i>Crescentia alata</i> Kunth.	A, M, S	H, M	S, T	0.96
Barril	No identificado	S	M	S, T	0.48
Brasil	<i>Haematoxylum brasiletto</i> H.Kars.	L, C, P, S, CV	M, MI	S	4.58
Cacachila	<i>Karwinskia latifolia</i> Standl.	M, S	H, M	S, T	0.24
Cacaloxochitl	<i>Plumeria rubra</i> L	O, S	H, M	S, T, C	2.17
Cacaragua	<i>Vallesia glabra</i> (Cav.) Link	M, S	H, M	S, T	0.48
Cardón	<i>Pachycereus pecten-aboriginum</i> (Engelm. ex S.Watson) Britton & Rose	A, F, L, M, C, CV, O	H, M, MI	S, T, C	4.71
Cedro	<i>Cedrela odorata</i> L	A, M, C	H, MI	S, T	2.41
Chipil	<i>Crotalaria</i> spp	S, M	M	S	0.48
Chutama	No identificado	S	H, M	S	0.96
Ciruela	<i>Spondias purpurea</i> L.	A, F, M, S	H, M	S, T, C	1.93
Cocoboy	<i>Swietenia humilis</i> Zucc.	CV, S	M, MI	S	1.45
Copal	<i>Bursera</i> spp,	C, M	H, M	S, T	0.48
Copalquin	<i>Hintonia latiflora</i> (Sessé & Moc. ex DC.) Bullock	M, S	M	S	0.48
Cuilon	<i>Mimosa</i> spp	S, CV	M, MI	S, T	0.48
Cupreso	<i>Juniperus deppeana</i> Steud.	C, L, O	H, M	T, C	2.17
Encino	<i>Quercus</i> spp	C, L, M, S, P	M, MI	S, T	4.10
Granada	<i>Punica granatum</i> L.	A, S	H	C	0.24
Guaje	<i>Leucaena leucocephala</i> (Lam.) de Wit	A, F, S, L	H, M, MI	S, T, C	3.61
Guamuchil	<i>Pithecellobium dulce</i> (Roxb.) Benth.	A, F, S, L, C	H, M, MI	S, T, C	4.41
Guanacastle	<i>Enterolobium cyclocarpum</i> (Jacq.) Griseb.	C, F, L, P	M, MI	S, T, C	2.17
Guasima	<i>Guazuma ulmifolia</i> Lam.	A, C, F, L, M	M, MI	S, T	3.37
Guayabo	<i>Psidium guajava</i> L.	A, C, F, L, M, S	H, M, MI	S, T, C	2.69
Higuera	<i>Ficus petiolaris</i> Kunth	M, S	H, M, MI	S, T	2.40
llama	<i>Vitex mollis</i> Kunth.	A, F, M, S	H, M	S, T, C	1.93
lima	<i>Citrus × aurantiifolia</i> (Christm.) Swingle	A, M, S	H	C	2.17
limon	<i>Citrus × aurantium</i> L.	A, M, S	H	C	5.06
Mango	<i>Mangifera indica</i> L.	A, S	H	C	4.34

Árboles	Nombre científico	Usos	Ubicación	Manejo	IF
Mauto	<i>Lysiloma divaricatum</i> (Jacq.) J.F.Macbr.	A, F, M, S	H, M, MI	S, T	4.10
Melon papayo	<i>Carica papaya</i> L.	A, M, S	H	C	0.96
Mezquite	<i>Prosopis juliflora</i> (Sw.) DC.	A, F, S	M, MI	S, T	2.65
Mora	<i>Maclura tinctoria</i> (L.) D.Don ex Steud.	C, S	M	S	0.48
Moringa	<i>Moringa oleifera</i> Lam.	M, F, S	H	C	0.96
Naranjas	<i>Citrus spp.</i>	A, M, S	H	C	2.20
Naranjito	<i>Citrus × sinensis</i> (L.) Osbeck	A, M, S	H	C	3.93
Neem	<i>Azadirachta indica</i> A. Juss	M, S	H	C	0.72
Nogal	<i>Juglans spp</i>	C, S	H	C	0.48
Palma	<i>Sabal spp</i>	S, O	H, M	S, T	1.93
Palo Blanco	<i>Piscidia mollis</i> Rose	S, O	M, MI	S, T	0.48
Palo Colorado	<i>Coulteria platyloba</i> (S.Watson) N. Zamora	C, L, S, P	M, MI	S, T, C	3.45
Palo dulce	<i>Sin identificar</i>	L, S	M	S	0.48
Palo mulato	<i>Sin identificar</i>	L, S	M	S	0.48
Palo santo	<i>Ipomoea arborescens</i> (Humb. & Bonpl. ex Willd.) G.Don	C, F, L, M	M, MI	S, T	0.48
Papache	<i>Randia echinocarpa</i> Moc. & Sessé ex DC.	A, M, S	H, M	S, T	1.20
Pitaya	<i>Stenocereus spp</i>	A, M	M, MI	S, T	1.63
Pinguica	<i>Arctostaphylos pungens</i> Kunth	O, S	H	C	1.69
Pino	<i>Pinus spp</i>	C, L, S, P	M	S	0.48
Platano	<i>Musa x paradisiaca</i> L.	A, M, S	H	C	1.93
Pochote	<i>Ceiba aesculifolia</i> (Kunth) Britten & Baker f.	A, F, O, S, C	H, M	S, T	1.45
Tabachin	<i>Caesalpinia pulcherrima</i> (L.) Sw.	C, O, S	H, M	S, T	0.96
Tamarindo	<i>Tamarindus indica</i> L.	A, M, S	H	C	2.89
Tepehuaje	<i>Lysiloma watsonii</i> Rose	C, L, M, S, P	H, M, MI	S, T	5.54
Toronja	<i>Citrus spp.</i>	A, M	H	C	1.69
Varablanca	<i>Casearia spp</i>	A, S	H	C	0.72
Vinolo	<i>Vachellia campeachiana</i> (Mill.) Seigler & Ebinger	C, L	M	S, T	1.45
Yaca	<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.	A	H	C	0.48
Zapote	<i>Casimiroa edulis</i> La Llave.	A, S	H	C	0.48
Zorillo	<i>Senna atomaria</i> (L.) H.S.Irwin & Barneby.	C, F, L	M	S, T	0.48

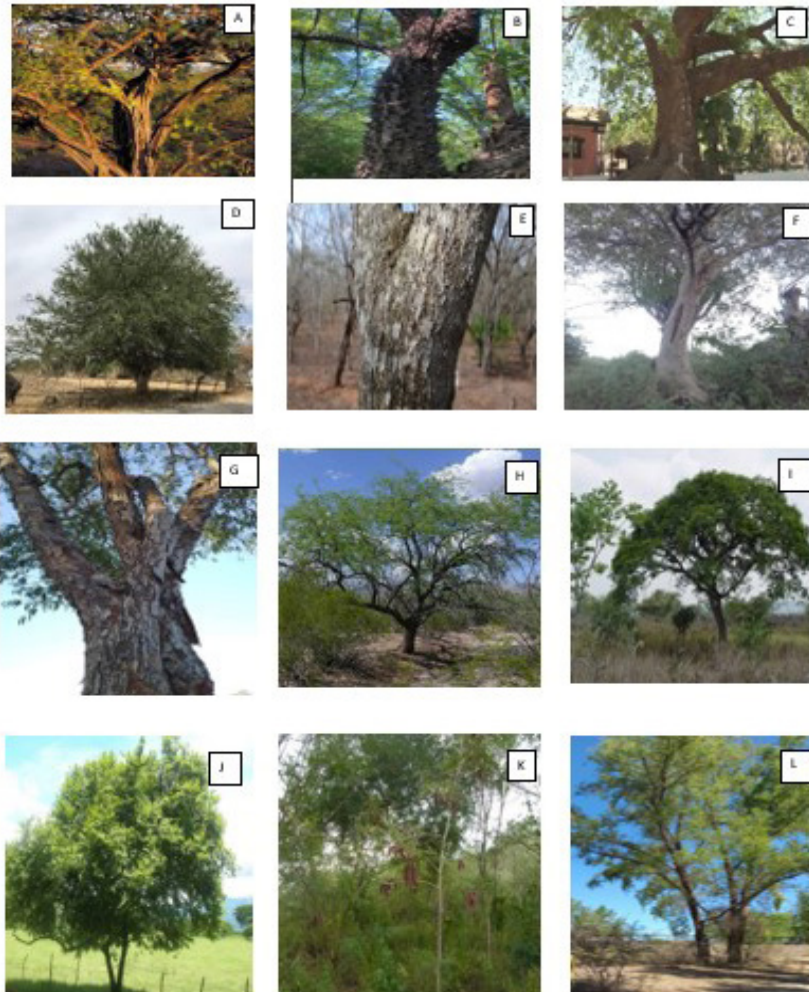
Clave de uso: A= alimento, C= construcción, CV= cerca viva, F= forrajera, L= leña o combustible, O= ornamental, P= poste, S= fuente de sombra. Clave de ubicación: H=huerto familiar, M= monte, MI= milpa, R= ribera de los ríos.

Clave de la forma de manejo C= cultivada, T= tolerada, S= silvestre.

## 4 DISCUSIÓN

Una proporción muy grande de las cerca de 7000 especies de plantas útiles de México, son recursos de uso múltiple para las poblaciones humanas locales (Caballero y Cortés, 2001). Aunque la evidencia disponible, indica que los grupos indígenas de México han desarrollado un amplio y detallado cuerpo de conocimiento sobre su entorno vegetal, comunidades como Badiraguato dónde ya no es posible encontrar a estos grupos aún muestran formas de manejo y aprovechamiento tradicional de los recursos que constituyeron parte fundamental de las culturas de la región, ejemplo de lo anterior es que la mayoría de las especies con mayor número de usos y formas de manejo son nativas a México y a la región con excepción de la guayaba y el guaje (POWP, 2021).

Figura 2. Ejemplo de árboles de importancia cultural de la cabecera municipal de Badiraguato, Sinaloa a) brasil, b) pochote, c) guanacaxtle, d) guamúchil, e) vinolo, f) mora, g) mauto, h) mezquite, i) tepehuaje, j) guásima, k) palo colorado, l) álamo.





En este caso se propone revisar a la especie de *P. guajava* ya que las personas entrevistadas refieren guayabas silvestres, cuyos frutos son pequeños, con mayor número de semillas y amargos. De acuerdo con la literatura esta especie es introducida a la región, probablemente existe la posibilidad que lo que falten sean estudios genéticos, morfológicos y ecológicos para la especie que abarquen la región norte del país.

En el caso del cardón es conocido que esta especie fue y es parte fundamental de la cultura Mayo del sur de Sonora y Norte de Sinaloa (Yetman & Van Devender, 2002) Además de árboles como el brasil, tepeguaje, los to'rotos (Burseras), las pitayas, el guamúchil, los mezquites, el mauto y el guaje (Beals, 2016). El cardón se usa en la región como cerca viva y ornato, en las milpas se conserva ya que es difícil de cortar y quemar por la gran cantidad de agua que almacena, aunque amarga, salva de la sed a los productores durante las largas jornadas en el campo. Adicionalmente su uso medicinal está asociado a la curación de heridas y trastornos digestivos. Las otras especies son multipropósito, además de dar sombra, alimentan al ganado, son medicinales, sirven para postes y materiales de construcción.

Aunque los resultados de las formas de uso, manejo y sistemas agroforestales mostraron congruencia al señalar a las mismas especies, el índice de Fidelidad de uso que surge de la pregunta ¿Cuáles árboles considera de importancia para la comunidad?, se registran aquellas especies presentes en los huertos familiares como los cítricos, el aguacate, los mangos, estas especies en su mayoría introducidas y cultivadas, se consideran importantes por su valor nutrimental. De igual forma se registraron especies como los encinos, los cuales de acuerdo con las entrevistas son importante para reintegrarlos a la comunidad, debido al sobre aprovechamiento hoy en día son difíciles de encontrar. Aunque Vega *et al* (2021), mencionan 48 especies nativas para Sinaloa la velocidad de deforestación en la región es considerable ubicando al estado de Sinaloa en el número 15 y 17 a nivel mundial y a Badiraguato entre los municipios con mayor pérdida de la cobertura forestal (Monjardín-Armenta, Pacheco-Angulo, Plata-Rocha, & Corrales-Barraza, 2017). Aunque tanto el monte como la milpa están conformados principalmente por especies nativas, mientras que los huertos presentan un mayor número de especies introducidas, consideramos que con los resultados obtenidos aún no es posible contestar la pregunta sobre ¿Cómo la cultura moldea la diversidad forestal existente en los sistemas agroforestales de la cabecera municipal de Badiraguato?, hacen falta mayores estudios que muestren la variación intraespecífica, sus frecuencias y la conformación de paisajes bioculturales propios de la región.

## 5 CONCLUSIÓN

Se registraron 66 especies forestales de importancia cultural, demostrada por sus formas de aprovechamiento, manejo y presencia en los agroecosistemas. mismas que comprenden a la mayoría señaladas para los grupos indígenas del norte del Estado. A pesar de no encontrarse grupos étnicos en la región las formas de aprovechamiento y valor cultural continúan dentro de los sistemas agroforestales de la región, consideramos que hacen falta estudios a profundidad que muestren cual ha sido el impacto de las formas de manejo y aprovechamiento sobre los procesos de diversificación de especies y la creación de paisajes culturales.

## REFERENCIAS

Avendaño A., Salomón B., Márquez G (2022). Árboles nativos de Sinaloa del Sistema agroforestal huerto familiar. Polibotánica en Prensa.

Caballero, J., & Cortés, L. (2001). Percepción, uso y manejo tradicional de los recursos vegetales en México. Plantas, cultura y sociedad. Estudio sobre la relación entre seres humanos y plantas en los albores del siglo XXI. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa y Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca. México, DF, México, 79-100.

Casas, A. (2001). Silvicultura y domesticación de plantas en Mesoamérica. Plantas, cultura y sociedad. Estudio sobre la relación entre seres humanos y plantas en los albores del siglo, 21, 123-158.

Beals, R. (2016). Etnografía del Noroeste de México. México: XXI.

Farrell, J. G., & Altieri, M. A. 1999. Sistemas agroforestales en Agroecología: Bases científicas para una agricultura sustentable. Nordan-Comunidad, Montevideo, Uruguay.

Friedman, J., Yaniv, Z., Dafni, A., & Palewitch, D. (1986). A preliminary classification of the healing potential of medicinal plants, based on a rational analysis of an ethnopharmacological field survey among Bedouins in the Negev Desert, Israel. *Journal of ethnopharmacology*, 16(2-3), 275-287.

Lara-Ponce, E., Valdés-Vega, J., Medina-Torres, S., & Martínez-Ruiz, R. (2017). Situación de la agricultura de mayos y mestizos del Norte de Sinaloa, México. *AGRICULTURA, SOCIEDAD Y DESARROLLO*, 14, 577-597.

Leff Zimmerman, E. (2016). Cultura y manejo sustentable de los recursos naturales.

López Aceves, H. E. (2007). Los Mayos de Sinaloa: esbozo etnográfico y regional. *Cuicuilco*, 14(39), 11-33.

López Vega, K. C., & Olivas Velarde, J. C. (2021). Sistema Silvopastoril Tradicional de Mezquite (*Prosopis juliflora*) en el ejido el carricito, El Fuerte Sinaloa. Tesis de Licenciatura para obtener el Título de Ingeniero Forestal. Mochicahui, El Fuerte, Sinaloa, México: Universidad Indígena de Sinaloa.

López-Ortiz, D., Osuna-Flores, I., de la Torre-Martínez, M., & Olivos-Ortiz, A. (2017). Diversidad de árboles frutales de traspatio en Mochicahui,. *Rev. Biodivers. Neotrop.*, 7(1), 6-13. doi: <http://dx.doi.org/10.18636/bioneotropical.v7i1.489>

Monjardín-Armenta, S., Pacheco-Angulo, C., Plata-Rocha, W., & Corrales-Barraza, G. (2017). La deforestación y sus factores. *Madera y Bosques*, 23(1), 7-22. doi:doi:10.21829/myb.2017.2311482

POWO. (2021). Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Obtenido de <http://www.plantsoftheworldonline.org/>

Reyes Jimenez, J. E., & Martínez Alvarado, C. O. (2011). Establecimiento y manejo de cercas vivas. Cuicacán, Sinaloa: Fundación Produce Sinaloa, SAGARPA, Gobierno del Estado de Sinaloa.

Rzedowski, J. (2006). *Vegetación de México* (Primera ed.). México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.

SEMARNAT. (2015). Inventario Estatal Forestal y de Suelos - Sinaloa 2014. Comisión Nacional Forestal. Retrieved from <https://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/Libros2013/CD002873.pdf>

Tellez, O., Mattana, E., Diazgranados, M., Kühn, N., Castillo-Lorenzo, E., Lira, R., . . . Ulian, T. (2020). Native trees of Mexico: diversity, distribution, uses and conservation. *PeerJ*, 8(e9898). doi: <https://doi.org/10.7717/peerj.9898>.

Toledo, V. M., & Barrera-Bassols, N. (2008). La memoria biocultural: la importancia ecológica de las sabidurías tradicionales (Vol. 3). Icaria editorial.

Yetman, D., & Van Devender, T. (2002). *Mayo Ethnobotany, Land, History, and Traditional Knowledge in Northwest Mexico*. University of California Press.

Vega, R., Vega I.F., Delgado F. (2021). *Flora Nativa y Naturalizada de Sinaloa*. Universidad Autónoma de Sinaloa y Colegio de Posgraduados. Primera Edición 243p. <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM25sinaloa/municipios/25003a.html> (consultada en abril del 2022).

# CAPÍTULO 4

## CONTRIBUCIÓN POTENCIAL DE LAS SEMILLAS DE *Carica papaya* Linn Y SU ACEITE EN LA SALUD<sup>1</sup>

Data de submissão: 10/05/2022

Data de aceite: 10/06/2022

### **Amelia Andrea Espitia Arrieta**

Universidad de Córdoba  
Docente catedrática e Investigadora  
Grupo Físicoquímica Orgánica  
Departamento de Química  
Magíster en Ciencias Químicas, Químico  
Montería, Córdoba, Colombia  
<https://orcid.org/0000-0002-3397-6662>

### **Jennifer Judith Lafont Mendoza**

Universidad de Córdoba  
Docente Titular de Tiempo Completo  
Investigadora Senior  
Directora Grupo de Físicoquímica Orgánica  
Dpto de Química  
Doctora en Ciencias Mención Gerencia  
Magíster en Ciencias Químicas  
Montería, Córdoba, Colombia  
<https://orcid.org/0000-0001-8862-2442>

### **Ana Karina Paternina Zapa**

Universidad de Córdoba  
Estudiante Carrera de Química  
Semillero de Físicoquímica Orgánica  
Departamento de Química  
Montería, Córdoba, Colombia  
<https://orcid.org/0000-0003-4138-2407>

**RESUMEN:** El propósito de la presente investigación fue analizar las potencialidades de las semillas de *Carica papaya* Linn y aceite para su aprovechamiento como factor determinante en la salud. Por lo cual, se realizó una revisión bibliográfica exhaustiva con enfoque cualitativo de tipo descriptivo, documentados en estudios científicos de autores como Gudimella *et al.*, (2022); Gnanamangai *et al.*, (2022); Rao *et al.*, (2022); Pereira *et al.*, (2021); Nandini *et al.*, (2021); Agada *et al.*, (2020); Hafid *et al.*, (2020); Ávila *et al.*, (2020), Morais *et al.*, (2017); Sharma *et al.*, (2016); entre otros. Las semillas presentaron alto contenido de proteínas, carbohidratos, lípidos, fibra, minerales, fitoquímicos que incluyen antioxidantes los cuales brindan un alto valor nutricional beneficiando la salud de poblaciones desnutridas. Asimismo, las semillas demostraron actividad biológica potencial para prevenir enfermedades como la Diabetes Mellitus y el Cáncer hepático. El aceite de la semilla de *Carica papaya* Linn evidenció cantidades significativas de ácidos grasos insaturados resaltando el oleico que es un omega-9 benéfico para la prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares. Conforme a lo anterior, la semilla y el aceite de *Carica papaya* Linn posee importancia en la salud humana dado a que contribuye con una alimentación nutritiva, saludable y con principios activos que se pueden explorar en la industria farmacológica.

**PALABRAS CLAVE:** *Carica papaya* Linn. Semillas. Aceite. Potencialidades. Salud.

<sup>1</sup> Los autores expresan que no tienen conflicto de intereses.

**ABSTRACT:** The purpose of this research was to analyze the potential of *Carica papaya* Linn seeds and oil for their use as a determining factor in health. Therefore, an exhaustive bibliographic review was carried out with a descriptive qualitative approach, documented in scientific studies by authors such as Gudimella *et al.*, (2022); Gnanamangai *et al.*, (2022); Rao *et al.*, (2022); Pereira *et al.*, (2021); Nandini *et al.*, (2021); Agada *et al.*, (2020); Hafid *et al.*, (2020); Ávila *et al.*, (2020), Morais *et al.*, (2017); Sharma *et al.*, (2016); among others. The seeds presented a high content of proteins, carbohydrates, lipids, fiber, minerals, phytochemicals that include antioxidants, which provide a high nutritional value, benefiting the health of undernourished populations. Likewise, the seeds showed potential biological activity to prevent diseases such as Diabetes Mellitus and liver cancer. *Carica papaya* Linn seed oil showed significant amounts of unsaturated fatty acids, highlighting the oleic acid, which is a beneficial omega-9 for the prevention and treatment of cardiovascular diseases. In accordance with the above, the seed and oil of *Carica papaya* Linn is important in human health since it contributes to a nutritious, healthy diet and with active ingredients that can be explored in the pharmaceutical industry.

**KEYWORDS:** *Carica papaya* Linn. Seeds. Oil. Potentialities. Health.

### 1 INTRODUCCIÓN

La *Carica papaya* Linn popularmente llamada “papaya” es un fruto tropical, que tiene su origen en América Central, que se ha extendido por la zona tropical y subtropical del mundo; pertenece la familia *Caricaceae*, distribuida en 6 géneros y 35 especies aproximadamente. El cultivo se encuentra expandido en Brasil, África, Hawái, Sri Lanka, India, Australia, Archipiélago Malayo, siendo India el mayor productor de *Carica papaya* Linn en el mundo contribuyendo con un 42% de la producción, es decir, con una cantidad aproximada de 3 millones de toneladas anualmente (Sharma *et al.*, 2016; Pandey *et al.*, 2016).

Es calificada una planta arbustiva con una tasa rápida de desarrollo de 2-10 m de altura, de corta vida, tallo sencillo muy ramificado, tronco recto, suave, hueco y cilíndrico de color gris, con un diámetro aproximado de 10-30 cm. *La Carica papaya* Linn es una especie trioica o polígama, las plantas adultas poseen tres tipos sexuales: masculinas (estambre), femeninas (pistilo) y hermafroditas (bisexuales) (Jiménez *et al.*, 2014), siendo estas últimas las favoritas por los productores debido al excelente uso comercial que se le puede dar, por la forma alargada del fruto, la cavidad confinada de sus semillas y se le atribuye mayor tiempo durante la poscosecha (mínimo un año).

La *Carica papaya* Linn contiene grandes cantidades de compuestos bioactivos y de valor nutracéutico, lo que proporciona beneficios potenciales para la salud (Nwofia *et al.*, 2012), es de gran utilidad en el tratamiento de muchas enfermedades (estreñimiento, amenorrea, cáncer, prevención de úlceras), por lo cual es considerada una fruta con propiedades funcionales (Krishna *et al.*, 2008; Ayoola y Adeyeye, 2010; Aravind *et al.*, 2013).

Numerosos estudios han reportado que todas las partes del árbol *Carica papaya* Linn; hojas, frutos, semillas, látex, cortezas tallos y flores son ricas en componentes bioactivos por lo que se utilizan en diversos tratamientos de enfermedades, tales como: la presión arterial, cáncer, diabetes, malaria y dengue; en la medicina tradicional son utilizadas en tratamientos para el agrandamiento del hígado, el bazo, las pecas y el crecimiento canceroso (Gnanamangai *et al.*, 2022; Gudimella *et al.*, 2022; Pereira *et al.*, 2021).

La planta de *Carica papaya* Linn y sus partes contienen látex (jugo lechoso), el cual posee papaína, esta se puede ver con facilidad cuando se dispone superficialmente en cualquier parte de la planta; la papaína es ampliamente utilizada en las industrias alimentaria y farmacéutica; se emplea como agente antimicrobiano, antibiótico y antifúngico en la producción ganadera (Rao *et al.*, 2022). La papaína también tiene otras aplicaciones en la industria de alimentos como: el ablandamiento de carne para humanos, alimentos para peces, perros y preparación de hidrolizados de proteínas (Hafid *et al.*, 2020).

Las hojas de *Carica papaya* Linn son reconocidas en etnomedicina por su actividad potenciadora de plaquetas, el extracto obtenido de su cocción es utilizado en países como Malasia y parte de la India para incrementar el recuento de las mismas, a pesar de que estudios clínicos y preclínicos han demostrado que efectivamente el extracto de las hojas tiene estas potencialidades los mecanismos subyacentes aún no están claros (Nandini *et al.*, 2021).

Diversos estudios fitoquímicos de las semillas de *Carica papaya* Linn han reportado la presencia de una cantidad significativa de saponinas, alcaloides, flavonoides, fenoles, terpenoides y esteroides, los cuales tienen propiedades antioxidantes, relacionadas con la actividad inhibitoria contra las enzimas  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa y el estrés oxidativo relacionado con la diabetes, siendo estos posibles mecanismos que ayudan a reducir los niveles de azúcar en la sangre para controlar la diabetes mellitus tipo 2 (Agada *et al.*, 2020).

Se han realizado investigaciones sobre los usos de las semillas de papaya como fuente de aceite, las cuales han reportado una composición alta de ácidos grasos insaturados (78,33%), siendo el oleico el de mayor proporción (73,5%), seguido de los saturados (21,7%) destacándose el palmítico (15,8%), cabe resaltar que al ácido oleico se le atribuyen propiedades antiinflamatorias y antitumorales por lo que el aceite obtenido de semillas de *Carica papaya* Linn podría ser benéfico para la salud humana (Yanty *et al.*, 2014; Briones-Labarca *et al.*, 2015).

Acorde con las diversas aplicabilidades reportadas sobre esta planta, las semillas son poco utilizadas; por lo cual en este trabajo se pretende analizar las potencialidades de las semillas de *Carica papaya* Linn y aceite para su aprovechamiento como factor determinante en la salud.

## 2 METODOLOGÍA

Esta investigación tuvo un enfoque cualitativo de tipo descriptivo, con diseño documental, realizada mediante la revisión exhaustiva en diversas bases de datos como Sciencedirect, Scielo, Scopus, Redalyc, Google Academic, entre otras, en las cuales se hizo la búsqueda de diversos estudios científicos relacionados con las potencialidades de las semillas de *Carica papaya Linn* para su aprovechamiento; la información científica encontrada fue organizada de tal manera que se pudiera analizar de sus semillas la composición nutricional y fitoquímica, cuyos compuestos activos dan origen a diversas utilidades como la actividad protectora del entorno celular contra los efectos nocivos de las actividades oxidativas e inflamatorias de los carcinógenos, las semillas de *Carica Papaya Linn* son ricas en alcaloides que tienen propiedades quimiopreventivas, anticancerígenas y analgésicas

De igual forma el perfil de ácidos grasos y propiedades fisicoquímicas del aceite, demostraron diversas actividades potenciales como la prevención y control de enfermedades cardiovasculares, los efectos positivos sobre la aparición de tumores y la alta composición de ácidos grasos insaturados, composición química importante que lo hacen atractivo para la producción de biodiesel.

Tanto las semillas de *Carica Papaya Linn* como su aceite presentaron altas potencialidades biológicas, farmacológicas, alimenticias y nutricionales beneficiosas para la salud humana.

## 3 RESULTADOS

Las semillas de papaya ocupan alrededor del 20% de la masa fresca del fruto, estas exhiben valores nutracéuticos de gran relevancia en la dieta humana, son ricas en macro y micronutrientes, (Ávila *et al.*, 2020). De igual forma contienen cantidades considerables de fibra dietética, la cuales se les atribuyen muchos beneficios a la salud como: eliminación de toxinas del sistema digestivo y reducción de los niveles de colesterol (Morais *et al.*, 2017; Kadiri, *et al.*, 2016).

En cuanto al aceite de semilla de papaya se encontró que es rico en ácidos grasos monoinsaturados (Samaram *et al.*, 2015), siendo el más abundante el ácido oleico, que junto con tocoferoles y carotenoides le confieren propiedades nutricionales y funcionales (Penteado *et al.*, 2021).

### 3.1 CONTENIDO NUTRICIONAL DE LAS SEMILLAS *Carica papaya Linn*

Las semillas de *Carica papaya* son ricas en minerales tales como: K, Ca, P y Mg, (Santos *et al.*, 2014) siendo estos necesarios para el funcionamiento adecuado de



los sistemas fisiológicos y metabólicos del cuerpo humano, también se destaca el alto contenido de proteínas, lípidos y carbohidratos, convirtiéndolas en fuentes alternativas de energía que puedan complementar a las poblaciones desnutridas (Doto & Abihud, 2021); como se observa en la Tabla 1.

Tabla 1. Valor nutricional en semillas de *Carica papaya* Linn.

Parámetro	Valor nutricional (mg por 100 g)	
	(Santos <i>et al.</i> , 2014)	(Maisarah <i>et al.</i> , 2014)
Humedad	2.40–9.83	5.4
Ceniza	6.94–10.6	8.2
Carbohidrato	8.4–27.6	15.5
Proteína	24.3–31.80	25.1
Lípido	20.97–30.1	-
Fibra dietética	17.0–22.6	45.6
Ácido ascórbico	0.12–0.15	14.44
Sodio	39.80	23.4
Potasio	743.30–1635.50	2115.7
Calcio	725.00–8435.10	681.4
Zinc	5.00–6.17	-
Fósforo	566.9	-
Cobre	0,50–1,09	-
Manganeso	2.50–3.10	-
Magnesio	218.80–332.50	423.5

De igual forma, las semillas de *Carica papaya* Linn mejoran los fitoquímicos y las propiedades funcionales de los cereales como la harina de maíz, con efectos positivos en la salud humana (Ávila *et al.*, 2020); los principales compuestos que otorgan propiedades nutricionales y funcionales son antioxidantes, como: fenoles, tocoferoles, fitoesteroles y carotenoides (Gupta *et al.*, 2020; Enríquez-Ochoa *et al.*, 2020).

En las semillas también se determinaron compuestos con actividad protectora del entorno celular contra los efectos nocivos de las actividades oxidativas, e inflamatorias de los carcinógenos, como compuestos fenólicos, isotiocianatos, terpenos, fitoesteroles, flavonoides y antraquinonas (Doto & Abihud, 2021; Doan *et al.*, 2020). Estos antioxidantes presentes en las semillas de *Carica papaya* Linn de acuerdo a estudios realizados han mostrado uso potencial en el tratamiento de cánceres como el Carcinoma Hepato Celular, debido a que tienen capacidad antiinflamatoria y antiulcerogénica (Panzarini *et al.*, 2014) (Véase Tabla 2).

La aplicación de antioxidantes también podría ser un efectivo tratamiento sobre la diabetes mellitus; por tal razón los inhibidores naturales se obtienen de las plantas, por

ser menos costosos, menos tóxicos y están disponibles a diferencia de medicamentos comerciales como acarbosa, voglibosa y miglitol, utilizados para reducir la glicemia en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. (Sabiú y Ashafa, 2016; Agada *et al.*, 2020).

Otros estudios han reportado que las semillas de *Carica papaya Linn* son ricas en alcaloides que tienen propiedades quimiopreventivas, es bien sabido que a los alcaloides se les atribuyen diversas actividades biológicas como: agentes antibacterianos, antiespasmódicos, quimiopreventivos, anticancerígenos y analgésicos (Kyei-Barffour *et al.*, 2021).

Tabla 2. Perfil fitoquímico de las semillas de *Carica papaya Linn*.

<b>Constituyentes fitoquímicos</b> <b>(Kyei-Barffour et al., 2021)</b>	<b>Valor nutracéutico</b>
<b>Fenólicos</b>	<b>(mg/g)</b>
p -Ácido camarico	0.35
Kaempferol-3-glucósido	0.12
ácido p-hidroxibenzoico	0.39
Quercetina-3-galactósido	0.16
ácido cafeico	0.43
Ácido ferúlico	0.62
<b>Fitoesteroles</b>	<b>(mg/g)</b>
Campesterol	1.0
Estigmasterol	0.6
β-sitosterol	5.4
<b>Otros fitoquímicos</b>	<b>%</b>
Flavonoides	3,66
Alcaloides	7,25
Fitatos	0.15
Esteroides	0.49
Terpenoides	1.33
Oxalatos	2.33
Glucósidos	9.19
Estrobosteroides	0.28
Carotenoides	19.75
Antraquinonas	21.50
Flobataninos	0.38

También se ha reportado que el extracto de la semilla de *Carica papaya Linn* ralentiza el esperma humano, mediante un estudio dirigido por (Ghaffarilaleh *et al.*, 2019) en el cual, reportan que en la medicina tradicional se utilizan estas semillas como medicamento

anticonceptivo para hombres y abortivo en la mujer. Los análisis en este estudio revelaron que el extracto de semilla de *Carica papaya Linn* afecta significativamente en forma negativa en los parámetros de motilidad espermática definitivos para la fertilidad; por tanto, se hace pasar por un candidato probable para la anticoncepción masculina.

El contenido de aceite extraído de la semilla de *Carica papaya Linn* oscila entre 20,97% y 30,10% este puede variar de acuerdo con diversos factores medioambientales (lluvias, sequías, inundaciones), tipo de terreno, entre otros. Además, posee un alto contenido de fitoquímicos lipofílicos y ácidos grasos esenciales, destacándose en mayor proporción el ácido oleico (Briones-Labarca *et al.*, 2015). El ácido oleico está ampliamente identificado como un agente antiinflamatorio e incluso puede tener efectos positivos sobre los genes asociados con la aparición de tumores). Los ácidos: palmítico, araquídico, linolénico y esteárico también se encuentran presentes en estas semillas en menor proporción (Tabla 3).

Tabla 3. Perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de *Carica papaya Linn*.

Ácido graso	# dobles enlaces	Porcentaje (%)	
		(Senrayan & Venkatachalam, 2019)	(Yanty <i>et al.</i> , 2014)
Láurico	(C12:0)	-	-
Mirístico	(C14:0)	0.49	0.3
Palmítico	(C16:0)	14.96	15.8
Palmitoleico	(C16:1)	1.77	0.4
Margórico	(C17:0)	-	0.1
Esteárico	(C18:0)	5.93	5.1
Oleico	(C18:1)	70.84	73.7
Linoleico	(C18:2)	4.58	4.0
Linolénico	(C18:3)	0.38	-
Araquídico	(C20:0)	0.46	0.4
Gadoleico	(C20:1)	0,51	0.4
Saturados		21.84	21.7
Insaturados		78.08	78.3

Como se puede observar en la Tabla 3 el mayor porcentaje de ácido graso corresponde al oleico (70,84%), siendo este valor muy próximo al reportado en aceites comerciales como el de canola (64%) y oliva (71,4%-76,8%). Este ácido graso es llamado omega-9 al cual se le atribuyen propiedades como reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares, elevar los niveles de lipoproteínas de alta densidad, donde su función es transportar el exceso de colesterol que se encuentra en los tejidos hasta el hígado para posteriormente ser eliminadas (Dorado *et al.*, 2017).

El hecho de contener mayor por porcentaje de ácidos grasos insaturados (78,08%) lo convierte en una importante fuente potencial para la producción de biodiesel (Anwar *et al.*, 2019).

Los resultados obtenidos del análisis de las propiedades fisicoquímicas del aceite extraído de la semilla de *Carica papaya Linn* evidenciaron un bajo valor para el índice de peróxido, esto podría ser atribuido a la no formación de peróxidos e hidroperóxidos, debido a la oxidación de los lípidos durante el proceso de extracción y análisis del aceite; valores bajos del índice de peróxido le permiten al aceite cumplir con la norma alimenticia Codex (< 10 meq H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/kg y las normas para aceites procesados y almacenados (1 meq H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/kg) (Bouanga *et al.*, 2011), por lo tanto este aceite se puede considerar que exhibe alta estabilidad frente a la oxidación.

Para el índice de yodo, los valores reportados indican que este aceite tiene un alto grado de insaturaciones, esto es acorde al perfil de ácidos grasos el cual muestra un porcentaje del 78,08 % para los insaturados y 21,84 para los saturados.

En cuanto al índice de saponificación, se muestran valores que indican que este aceite contiene en promedio triacilgliceroles de bajo peso molecular. En cuanto al índice de acidez estuvo por encima del permitido por la norma Codex alimentaria para aceites comestibles (4 mg/g), este valor podría ser atribuido a una hidrólisis enzimática, por la lipasa de *Carica papaya Linn* durante el secado de las semillas y en el proceso de extracción (Dorado *et al.*, 2017), estos valores se encuentran reportados en la Tabla 4.

Tabla 4. Propiedades fisicoquímicas de la semilla de *Carica papaya Linn*.

<b>Propiedades Fisicoquímicas / Unidades</b>	<b>(Senrayan &amp; Venkatachalam, 2019)</b>	<b>(Dorado <i>et al.</i>, 2017)</b>	<b>(Lee <i>et al.</i>, 2011)</b>
Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	0.45	0,94	-
Valor de saponificación (mg KOH / g)	187.30	177	183,3
Índice de peróxido (mEq / Kg)	-	0	-
Valor de yodo (I <sub>2</sub> / 100 g de aceite)	70.90	68,4	64,1
Valor ácido (mg / KOH / g)	2.52	5,54	4,4

## 4 CONCLUSIONES

Con base a los resultados de la presente investigación teórica, acerca de las potencialidades de las semillas de la papaya (*Carica papaya Linn*), se destaca su composición nutricional con alto contenido proteínas, lípidos y carbohidratos, convirtiéndolas en fuente potencial de suplementos alimenticios direccionadas hacia el mejoramiento de la salud en las poblaciones desnutridas.

Las semillas también poseen alto contenido de minerales siendo estos benéficos para el adecuado funcionamiento de sistemas fisiológicos y metabólicos; asimismo, mejoran las propiedades funcionales y nutricionales de los cereales, por su contenido significativo de fitoquímicos (fenoles, tocoferoles, fitoesteroles y carotenoides, entre otros) contribuyendo de forma positiva en la salud humana.

La semilla de *Carica papaya Linn* tiene actividad que protege las células contra los efectos nocivos de los carcinomas (actividades oxidativas e inflamatorias), debido a la presencia de isocianatos, flavonoides, terpenos fitoesteroles, saponinas y alcaloides, antioxidantes usados en el tratamiento del carcinoma Hepato celular. Estos antioxidantes tienen actividad inhibitoria contra las enzimas  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa los cuales reducen los niveles de azúcar en la sangre para controlar la diabetes mellitus tipo 2.

El aceite de las semillas de *Carica papaya Linn* posee alto contenido de ácidos grasos insaturados destacándose el oleico (omega-9) al cual se le atribuyen propiedades como la prevención y control de enfermedades cardiovasculares y efectos positivos sobre la aparición de tumores. La alta composición de insaturados en el aceite lo hace atractivo para la producción de biodiesel.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agada, R., Wurochekke, A., Sarkiyayi, & S., Thagariki, D. (2020). In vitro and in vivo inhibitory effects of *Carica papaya* seed on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase enzymes. *Heliyon*. 6 (3).
- Anwar, M., Rasul, M., Ashwath, N & Nabi, N. (2019). The potential of utilising papaya seed oil and stone fruit kernel oil as non-edible feedstock for biodiesel production in Australia – A review, *Energy Reports*. 5, 280-297. <https://doi.org/10.1016/j.egy.2019.02.007>.
- Aravind, G., Bhowmik, D., Duraivel, S., & Harish, G. (2013). Traditional and Medicinal Uses of *Carica papaya*. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 1(1), 7-15.
- Ávila, S., Kugo, M., Hornung, P. S., Apea-Bah, F. B., Songok, E. M., & Beta, T. (2020). *Carica papaya* seed enhances phytochemicals and functional properties in cornmeal porridges. *Food Chemistry*, 323, 126808.
- Ayoola, P. B., & Adeyeye, A. (2010). Phytochemical and Nutrient Evaluation of *Carica Papaya* (Pawpaw) Leaves. *International Journal of Research and Reviews in Applied Sciences*. 5, 325–328.

Bouanga Kalo G, Matos L, Nzikou J, Ganongo-Po F, Malela K, Tchicailat-Landou, M., & Desobry S. (2011). Physico-chemical properties of seed oil from papaya (*Carica papaya*) and the kinetics of degradation of the oil during heating. *Advance Journal of Food Science and Technology*. 3(1), 45-49.

Briones-Labarca, V., Plaza-Morales, M., Giovagnoli-Vicuña, C., & Jamett, F. (2015). High hydrostatic pressure and ultrasound extractions of antioxidant compounds, sulfuraphane and fatty acids from Chilean papaya (*Vasconcellea pubescens*) seeds: Effects of extraction conditions and methods. *LWT-Food Science and Technology*, 60(1), 525-534.

Doan, M. T. N., Huynh, M. C., Pham, A. N. V., Chau, N. D. Q., & Le, P. T. K. (2020). Extracting seed oil and phenolic compounds from papaya seeds by ultrasound-assisted extraction method and their properties. *Chemical Engineering Transactions*, 78, 493-498.

Dorado, D., Hurtado, A., & Martínez, H. (2017). Extracción supercrítica de aceite de semillas de papaya (*Carica papaya*): composición y propiedades fisicoquímicas. *Vitae, Revista de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias*. 24 (2), 35-45.[http://dx.doi.org/10.17533/udea.vitae.v24n2\(2\)a05](http://dx.doi.org/10.17533/udea.vitae.v24n2(2)a05).

Dotto, J., & Abihudi, S. (2021). Nutraceutical value of *Carica papaya*: A review, *Scientific African*. 13, 2468-2276. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2021.e00933>.

Enriquez-Ochoa, D., Sánchez-Trasviña, C., Hernández-Sedas, B., Mayolo-Deloisa, K., Zavala, J., Rito-Palomares, M., & Valdez-García, J. E. (2020). Aqueous two-phase extraction of phenolic compounds from *Sedum dendroideum* with antioxidant activity and anti-proliferative properties against breast cancer cells. *Separation and Purification Technology*, 251, 117341.

Ghaffarilaleh. V., Fisher, D., & Henkel, R. (2019). *Carica papaya* seed extract slows human sperm. *Journal of Ethnopharmacology*. 241. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.111972>.

Gnanamangai, B., Ramachandran. G., Maruthupandy, M., Priya, V., Karthikeyan, G., Mothana, R., Noman, O., & Nasr, F. (2022). Bioactive compounds coated 2D scaffold from seeds of *Carica papaya* for bacterial and parasitic skin infections. *Physiological and Molecular Plant Pathology*.117. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2021.101778>.

Gudimella, K., Gedda, G., Kumar, P., Babu, B., Yamajala, B., Venkateswara, B., Singh, P., Kumar, D., & Sharma, A. (2022). Novel synthesis of fluorescent carbon dots from bio-based *Carica Papaya* Leaves: Optical and structural properties with antioxidant and anti-inflammatory activities, *Environmental Research*. 204. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111854>.

Gupta, A., Narkowicz, C. K., Al-Aubaidy, H. A., Jelinek, H. F., Nichols, D. S., Burgess, J. R., & Jacobson, G. A. (2020). Phytosterol supplements do not inhibit dipeptidyl peptidase-4. *Diabetes & Metabolic Syndrome: clinical research & reviews*, 14(5), 1475-1478.

Hafid, K., John, J., Sayah, T., Domínguez, R., Becila, S., Lamri, M., Dib, A., Lorenzo, J & Gagaoua, M. (2020). One-step recovery of latex papain from *Carica papaya* using three phase partitioning and its use as milk-clotting and meat-tenderizing agent. *International Journal of Biological Macromolecules*. 146, 798-810. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.048>.

Jiménez, V.M., Mora, E., & Gutiérrez, M.V. (2014). Biology of the papaya plant. In: R. Ming, and P. Moore, editors, *Genetics and genomics of papaya. Plant genetics and genomics: Crops and models*. Vol10. Springer, NY, USA. p. 17-34.

Kadiri, O., Olowoye, B., Fawale, O. S., & Adalumo, O. A. (2016). Nutraceutical and antioxidant properties of the seeds, leaves and fruits of *Carica papaya*: Potential relevance to humans diet, the food industry and the pharmaceutical industry-a review. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 4(12), 1039-1052.

- Krishna, K. L., Paridhavi, M., & Patel, J. A. (2008). Review on nutritional, medicinal and pharmacological properties of papaya (*Carica papaya* linn.). *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 7(4) 364–373.
- Kyei-Barffour, I., Kwarkoh, R., Acheampong, D., Brah, A., Akwetey, S. & Aboagye, B. (2021). Alkaloidal extract from *Carica papaya* seeds ameliorates CCl4-induced hepatocellular carcinoma in rats, *Heliyon*.7(8). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07849>.
- Lee, W., Lee, M., & Su. (2011) Characteristics of papaya seed oils obtained by extrusion-expelling processes. *Journal Science Food and Agriculture*. 91(13), 2348-54.
- Maisarah, A., Asmah, R., & Fauziah, O. (2014). Proximate Analysis, Antioxidant and Anti Proliferative Activities of Different Parts of *Carica papaya*. *Journal of Tissue Science & Engineering*. 4(2), 1-7.
- Morais, D. R., Rotta, E. M., Sargi, S. C., Bonafe, E. G., Suzuki, R. M., Souza, N. E., ... & Visentainer, J. V. (2017). Proximate composition, mineral contents and fatty acid composition of the different parts and dried peels of tropical fruits cultivated in Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 28, 308-318.
- Nandini, C., SubbaRao, V., Venugopal, M., Mohammad, B., Mruthunjaya, K., Manjula, S., & Jayashree, K. (2021). Platelet enhancement by *Carica papaya* L. leaf fractions in cyclophosphamide induced thrombocytopenic rats is due to elevated expression of CD110 receptor on megakaryocytes, *Journal of Ethnopharmacology*. 275. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114074>.
- Nwofia, G. E., Ojmelukwe, P., & Eji, C. (2012). Chemical composition of leaves, fruit pulp and seeds in some *Carica papaya* (L) morphotypes. *Int. J. Med. Arom. Plants*, 2(1), 200–206.
- Pandey, S., Cabot, P., Shaw, N., & Hewavitharana, A. (2016) Propiedades antiinflamatorias e inmunomoduladoras de *Carica papaya*, *Journal of Immunotoxicology*, 13(4), 590-602. <https://doi.org/10.3109/1547691X.2016.1149528>.
- Panzarini, E., Dwikat, M., Mariano, S., Vergallo, C., & Dini, L. (2014). Administration dependent antioxidant effect of *Carica papaya* seeds water extract. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/281508>
- Penteado, D., Rodrigues, R., Borges, A., Ribeiro, M., & Romero, J. (2021). Water sorption properties of papaya seeds (*Carica papaya* L.) formosa variety: An assessment under storage and drying conditions, *LWT*. 138. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110458>.
- Pereira, J., Correa de Souza, C., Gomes, A., & Freitas-Silva, O. (2021) Current technologies to control fungal diseases in postharvest papaya (*Carica papaya* L.), *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 36, 1878-8181.
- Rao, R., J. Raju, T., Srilatha, D., Nagalakshmi, M., Raju, S., & Prakash, B. (2022). Effect of supplementing papaya (*Carica papaya*) latex on performance, carcass traits and nutrient digestibility in broiler chicken fed recommended and sub-optimal levels of dietary protein. *Animal Feed Science and Technology*, 285. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2022.115226>.
- Sabiu S., Ashafa A. (2016). Estabilización de la membrana y cinética de las enzimas metabolizadoras de carbohidratos ( $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa) potenciales inhibidores de *Eucalyptus obliqua* L. Her. (Myrtaceae) Extracto de hoja etanólica de Blakely: una evaluación in vitro South Afr. *Journal. Botanic*. 105. 264 – 269.
- Samaram, S., Mirhosseini, H., Tan, C. P., Ghazali, H. M., Bordbar, S., & Serjouie, A. (2015). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of oil from papaya seed by response surface methodology: Oil recovery, radical scavenging antioxidant activity, and oxidation stability. *Food Chemistry*, 172, 7-17.



Santos, C. M. D., Abreu, C. M. P. D., Freire, J. M., Queiroz, E. D. R., & Mendonça, M. M. (2014). Chemical characterization of the flour of peel and seed from two papaya cultivars. *Food Science and Technology*, 34(2), 353-357.

Senrayan, J., & Venkatachalam, S. (2019). Optimization of ultrasound-assisted solvent extraction (UASE) based on oil yield, antioxidant activity and evaluation of fatty acid composition and thermal stability of *Coriandrum sativum* L. seed oil. *Food science and biotechnology*, 28(2), 377-386.

Sharma S.K., Mitra S.K., & Saran S. (2016). Papaya production in India - history, present status and future prospects. *International Society for Horticultural Science (ISHS)*. 87 - 94. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1111.13>.

Yanty, M., Nazrim. M., Bangun, N., Kamariah, L., Ghazali, M. (2014). Physico-chemical Characteristics of Papaya (*Carica papaya* L.) Seed Oil of the Hong Kong/Sekaki Variety. *Journal of oleo science*. 63(9). 885-892.

# CAPÍTULO 5

## PROTOTIPOS DE INNOVACIÓN SOCIAL EN PESCA ARTESANAL, REGIÓN DE LOS RÍOS – CHILE<sup>1</sup>

Data de submissão: 10/05/2022

Data de aceite: 08/06/2022

### **Griselda Ilabel Pérez**

Ingeniera Comercial  
Universidad Austral de Chile  
Master en Gestión de Empresas:  
Pymes y Economía Social  
Universidad Internacional de Andalucía  
Directora Fundación Cocinamar  
griselda@cocinamar.cl

### **Meyling Tang Ortiz**

Periodista  
Universidad Austral de Chile  
Master en Economía Pesquera  
Universidad Santiago de Compostela  
Vicepresidenta Fundación Cocinamar  
meyling@cocinamar.cl

### **Claudio Barrientos Aguila**

Biólogo Marino  
Universidad Austral de Chile  
Secretario Fundación Cocinamar  
fundacion@cocinamar.cl

**RESUMEN:** En la región de Los Ríos, ubicada a 860 km de Santiago de Chile, se han desarrollado tres iniciativas de Innovación Social en Pesca Artesanal, con un instrumento de la Corporación de Fomento de la Producción, en sus líneas 1: “prototipos de innovación social” y línea 2: “validación de la innovación social”, que permitió realizar un proceso de ensayo y error para dar con algunas soluciones a problemáticas existentes en la pesca artesanal, principalmente comercialización y diversificación productiva. Primero, trabajamos en un sistema de gestión para plantas de procesos artesanales, un proyecto de activación del turismo de base comunitaria en la costa de Corral y una venta de suscripción de productos del mar hasta producto mínimo viable. El modelamiento de los prototipos fue todo un desafío para el equipo profesional que no está acostumbrado a utilizar técnicas de creatividad ni de modelamiento y que además gestiona otros proyectos en distintos puntos de Chile, pero en sí la experiencia de trabajo ha sido muy enriquecedora para los beneficiarios y nosotros, que hemos cambiado nuestra manera de proyectar las cosas y trabajar las brechas que se mantienen en las comunidades pesqueras, a la hora de emprender negocios. Al respecto de la innovación social, la Cepal sostiene que “las innovaciones sólo tienen sentido si se difunden y se ponen al servicio de otras personas”. El presente artículo va en esa línea y presentará las dos experiencias que mantenemos activas en la Región de Los

<sup>1</sup> Agradecemos el apoyo del Comité de Fomento de la Región de Los Ríos y la Corporación de Fomento de la Producción, por su financiamiento para llevar nuestras ideas a la realidad. Proyectos línea 1 prototipos de innovación social: 17IS14-82702 LAPA y 17IS14-82703 Travesía. Proyectos línea 2 Validación de la innovación social: 19VEILR-117912 Travesía y 20VEILR-134122 Aquí hay Pescado.

Ríos, toda vez que los prototipos validados fueron transferidos a Fundación Cocinamar, para darles continuidad.

**PALABRAS CLAVE:** Pesca artesanal. Innovación social. Co-diseño. Prototipos. Validación de la innovación social.

## 1 INTRODUCCIÓN

En 2016 respondimos a un desafío sobre levantar soluciones para las brechas existentes en pesca artesanal y trabajamos con dos ideas: Logística de apoyo a plantas pesqueras artesanales, para cerrar brechas en gestión y trazabilidad y Aquí hay pescado, un modelo de comercialización directa por suscripción en Valparaíso. También prototipamos una iniciativa de turismo de base comunitaria, llamada Travesía. A la par, la Corporación de Fomento de la Producción (CORFO), fue orientando un instrumento de fomento hacia la innovación social, que contaría con tres líneas de financiamiento a partir de todo un proceso del tipo “Desafíos de Innovación”, instancia bastante larga y agotadora. El proceso completo de innovación social impulsado por CORFO fue evaluado en 2020 por el Ministerio de Ciencia en Chile y la línea se descontinuó, pero para nosotros funcionó bastante bien, al aplicarlo en la pesca artesanal; sin embargo, no pudimos acceder a la tercera línea de financiamiento para el escalamiento y el modelo de sustentabilidad.

	1	2	3	4	5
	Desafíos	Ideación	Prototipo	Validación	Escalamiento
Proceso	Identificación de problemas y oportunidades.	Ideación y levantamiento de las mejores soluciones.	Prueba de concepto y desarrollo de prototipo.	Prueba de supuestos críticos hasta aplicación funcional.	Escalamiento de soluciones y modelo de sustentabilidad.
¿Cómo?	Mesas de trabajo territoriales. Participación de la comunidad.	Plataforma de innovación abierta. Curso para proyectos de Innovación Social.	<b>Línea 1. Prototipos de Innovación.</b>	Línea 2. Validación de la Innovación Social.	A través de Sistema público Mercado
Resultado	Desafíos sociales y regionales, priorizados.	Prototipo de inspiración.	Prototipo de Evolución.	Prototipo de validación.	Innovación pública. Empresa social
Ecosistema	Facilitar la articulación y participación de los distintos actores e instituciones, relevando a los beneficiarios finales.			Generar mediciones para evaluar los resultados del proceso y de la inversión inicial.	

Fuente: Subsecretaría de Economía y Empresas de Menor Tamaño, 2019.

Entre 2017 y 2020, retomamos las ideas planteadas y ejecutamos cuatro iniciativas en la Región de Los Ríos – Chile, dos en cada línea de innovación social disponible.

## 2 DESAFÍOS DE LA PESCA ARTESANAL EN CHILE

El diagnóstico encargado por la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (2013), concluye **la existencia de un desarrollo precario de la pesca artesanal en Chile**, originado principalmente por diferentes problemas, agrupados en tres grandes áreas principales, de las cuales, nosotros elegimos la siguiente para abordar:

- I. Problemas que surgen de la actividad pesquera misma: (i) el aumento de la capacidad y del esfuerzo de pesca, producto de la cantidad creciente del número de pescadores y embarcaciones artesanales; (ii) la situación de deterioro de los recursos pesqueros que muestran abundancias decrecientes, producto de la sobrepesca (i.e., discrepancias entre cuotas autorizadas y desembarques por sobre dichas cuotas) generando desembarques variables; (iii) mercados de primera venta atomizados y con asimetrías, en que la demanda detenta un poder de compra importante, y canales de comercialización intrincados que redundan en desembarques con bajo valor; volumen y destino de desembarques con bajo valor agregado; y (iv) el empleo, con bajos ingresos, y el valor económico social del sector con baja apreciación, dada las condiciones señaladas en que se desenvuelve el sector.

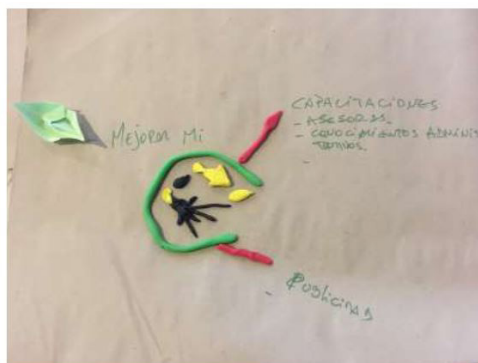
Con estas brechas en mente y pensando en abordar el problema desde el trabajo con las plantas pesqueras de pequeña escala, como unidad de análisis y estudio, planteamos probar el supuesto que “un sistema de gestión y asesoría puede mejorar la operación de una planta pesquera de pequeña escala, a través de una herramienta que permita resolver ciertas brechas y que le haga sentido y sea viable para los pescadores artesanales que administran plantas”, que fue la fase conceptual de LAPA (Logística de Apoyo a Plantas Artesanales).

**Prototipo Lapa:** En el proceso de prueba de concepto se realizó un taller de *design thinking* en el cual los participantes, todos emprendedores y emprendedoras de la costa valdiviana, en la región de Los Ríos, reflexionaron sobre sus haceres, sus problemáticas y necesidades para construir desde ahí una propuesta de apoyo y acompañamiento en las áreas comercial y administrativas. La invitación fue a construir un prototipo o propuesta que identifique la forma y las necesidades que un proyecto de logística de apoyo debiera considerar. Asumiendo las aportaciones de cada mesa como espacios de construcción al prototipo final, podemos concluir que cada grupo resaltó elementos que consideró importantes y fundamentales que debía considerar LAPA:

1. Una plataforma que les permita trabajar en redes con otros del mismo rubro y coordinarse para responder a requerimientos de compradores y/o proveedores.

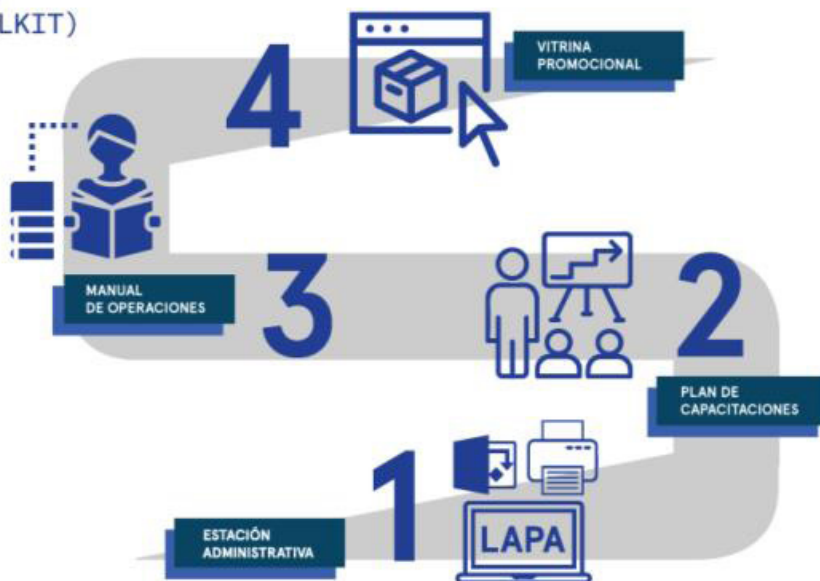
2. Que les brinde apoyo directo y que se vea reflejado en asesoría permanente en terreno en el área de gestión, administración y publicidad, como también en capacitación en las mismas áreas.
3. Debe ser un instrumento flexible a las condiciones y necesidades de cada emprendimiento, con apoyo y capacitación en la gestión de negocio.
4. Debe haber seguimiento a los emprendimientos y apoyo diferenciado según cada emprendimiento con monitores que capaciten en terreno.
5. Con apoyo en diseño y publicidad.

Fotografías del proceso. Taller de co diseño del prototipo con pescadores usuarios del sistema, utilizando metodología design thinking, marzo 2018. Valdivia - Chile.



El empaquetamiento del prototipo desarrollado y validado consistió en los siguientes elementos, los cuales fueron testeados en la etapa de prototipo de innovación o evolución.

## EMPAQUETAMIENTO LAPA (TOOLKIT)

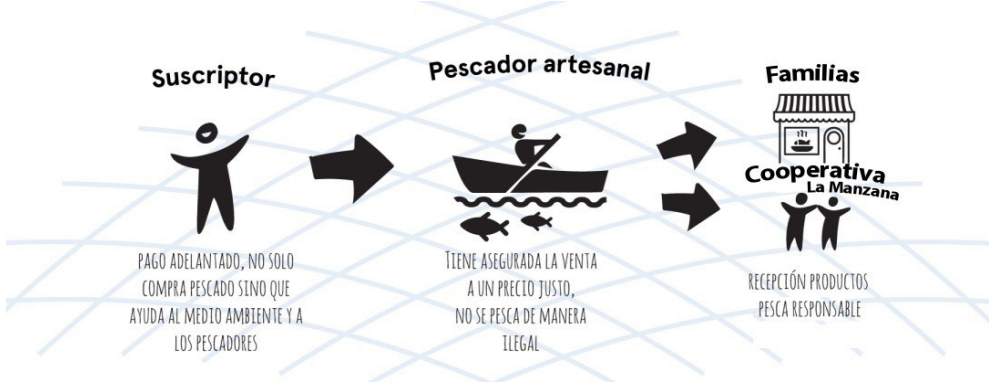


Gracias a esta iniciativa dos plantas pesqueras de pequeña escala, dirigidas por mujeres, se inscribieron en el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura.

**Prototipo Aquí hay Pescado:** Es el prototipo de evolución de LAPA, ya que la vitrina comercial no logró su objetivo inicial, que era generar más clientes, una brecha de las plantas de proceso de pequeña escala, situación que se vió agravada por el COVID19. Por este motivo, con la formalidad alcanzada de las plantas en el proyecto LAPA, el desafío pendiente era lograr mayores ventas y lo probamos, a través de un modelo de suscripción. Por otra parte, en 2016 habíamos realizado las pruebas de concepto en Valparaíso, también con un desafío de innovación y al unir las dos iniciativas logramos avanzar hacia la validación de la innovación social. [www.aquihaypescado.cl](http://www.aquihaypescado.cl).



Figura: Modelo aquí hay pescado.



El programa de consumo responsable Aquí hay Pescado es una comunidad de consumidores que sustentan la compra de pescados y mariscos directamente a pescadores artesanales, a través de una suscripción mensual o trimestral con prepago. El año 2021 pasó su etapa de validación de la innovación social, llegando a 116 familias en la ciudad de Valdivia, aumentando su consumo de productos del mar.





**Prototipo Turismo Comunitario Travesía:** Este programa de turismo de base comunitaria fue para apoyar la diversificación productiva de los pescadores artesanales de la comuna de Corral, región de Los Ríos. Se inició en 2017 con la línea de prototipos y se logró validar en 2021 con el término del proyecto, incluida la crisis sanitaria del COVID19.

Travesía Turismo Comunitario es un prototipo de innovación social financiado por Fomento Los Ríos y desarrollado por Fundación Cocinamar, cuyo objetivo es articular diversas actividades turísticas que realizan pescadores artesanales de la Región de Los Ríos generando valor y fortaleciendo una red de turismo comunitario que genere beneficios a las comunidades. [www.turismotravesia.org](http://www.turismotravesia.org).

Actualmente el único tour que logramos promover y operacionalizar es la salida pelágica que ya tiene 6 salidas, cuyos beneficios son directos para los pescadores de la Isla del Rey, comuna de Corral.



### 3 CONCLUSIONES

Como equipo de trabajo creemos que la única forma de instalar soluciones que disminuyan brechas o aporten al desarrollo de las comunidades pesqueras es repitiendo e iterando las soluciones en distintas comunidades, acompañando el proceso de aprendizaje e incorporación y eso no es posible completarlo con proyectos individuales que duran un año, se necesita más tiempo de dedicación y mayor colaboración entre los distintos actores públicos y privados que intervienen en la problemática a trabajar.

Trabajar en el proceso de innovación social y que el programa haya sido cortado, sin la parte final de la escalabilidad y el modelo de sustentabilidad, nos dejó con los prototipos de validación estructurados y en una etapa muy incipiente de ventas, siendo transferidos a la Fundación Cocinamar para seguir acompañando a los beneficiarios.

## BIBLIOGRAFÍA

Subsecretaría de Pesca y Acuicultura. 2013. Estudio para la Determinación de una Propuesta de Política Pública de Desarrollo Productivo para la Pesca Artesanal.

Subsecretaría de economía y empresas de menor tamaño. Enero 2020. Informe final: Evaluación de resultados del instrumento prototipos de innovación social en las regiones Aysén, Los Lagos, Antofagasta y Valparaíso. Disponible en [https://www.minciencia.gob.cl/legacy-files/evaluacion\\_de\\_resultados\\_prototipo\\_de\\_innovacion\\_social.pdf](https://www.minciencia.gob.cl/legacy-files/evaluacion_de_resultados_prototipo_de_innovacion_social.pdf)

# CAPÍTULO 6

## CONCEPTO DE BIORREFINERÍA: DESARROLLO SOSTENIBLE Y PROPUESTA DE PROCESO LIMPIO EN LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE RESIDUOS INDUSTRIALES DE PISTACHO (*Pistacia vera* var. *Kerman*)

Data de submissão: 10/05/2022

Data de aceite: 08/06/2022

### **Daniela Zalazar-García**

Doctora en Ingeniería Química  
Instituto de Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería (UNSJ)  
Grupo Vinculado al PROBIEN  
(CONICET-UNCo)  
San Juan, Argentina  
<https://orcid.org/0000-0002-4410-1191>

### **Rosa Rodriguez**

Doctora en Ingeniería  
Instituto de Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería (UNSJ)  
Grupo Vinculado al PROBIEN  
(CONICET-UNCo)  
San Juan, Argentina  
<https://orcid.org/0000-0003-1252-4752>

### **María Paula Fabani**

Doctora en Ciencias Químicas  
Instituto de Biotecnología  
Facultad de Ingeniería  
Universidad Nacional de San Juan  
San Juan, Argentina  
<https://orcid.org/0000-0002-4647-379X>

### **Germán Mazza**

Doctor en Ingeniería Química  
Instituto de Investigación y  
Desarrollo en Ingeniería de Procesos  
Biotecnología y Energías Alternativas  
PROBIEN (CONICET-Universidad  
Nacional del Comahue)  
Neuquén, Argentina  
<https://orcid.org/0000-0002-1362-8521>

### **Marcelo Echegaray**

Doctor en Ingeniería Química  
Instituto de Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería (UNSJ)  
Grupo Vinculado al PROBIEN  
(CONICET-UNCo)  
San Juan, Argentina  
<https://orcid.org/0000-0002-1407-7469>

### **Romina Zabaleta**

Ingeniera Agrónoma  
Instituto de Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería (UNSJ)  
Grupo Vinculado al PROBIEN  
(CONICET-UNCo)  
San Juan, Argentina  
<https://orcid.org/0000-0002-0017-8154>

### **Eliana Sanchez**

Ingeniera Agrónoma  
Instituto de Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería (UNSJ)  
Grupo Vinculado al PROBIEN  
(CONICET-UNCo)  
San Juan, Argentina  
<https://orcid.org/0000-0002-3708-4901>

### **Erick Torres**

Ingeniero Industrial  
Instituto de Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería (UNSJ)  
Grupo Vinculado al PROBIEN  
(CONICET-UNCo)  
San Juan, Argentina  
<https://orcid.org/0000-0003-1972-9216>

Todos los CV se encuentran en el siguiente link:  
<https://drive.google.com/drive/folders/1p9TBiZAdp9XBfinPH4mTNs8pWjYTSqSY>

**RESUMEN:** El procesamiento industrial del pistacho genera biorresiduos que pueden ser reutilizados como precursores de componentes bioactivos de interés como los compuestos fenólicos (CF). Por ello, el objetivo de este trabajo es optimizar las condiciones de extracción por agitación (EAM) y de extracción asistida por ultrasonidos (EAU) de CF utilizando la metodología de superficie de respuesta (MSR). Se utilizó un diseño central compuesto (DCC) para analizar los efectos de las variables independientes: relación etanol: agua (E-A) y tiempo de extracción. Además, se evaluaron diferentes alternativas del proceso de extracción mediante un análisis exergético. Se calcularon los consumos de energía y agua, las emisiones de CO<sub>2</sub> y el rendimiento exergético. Las condiciones óptimas para la extracción de CF mediante el método EAU fueron la E-A de 0,5 y un tiempo de extracción de 0,7 y 0,94 h. Para EAM, las condiciones óptimas fueron una la E-A de 0,6 y un tiempo de extracción de 2 y 2,7 h. Un periodo de extracción más largo, para ambas extracciones, produce reacciones de degradación y, por tanto, una pérdida de actividad de captura de radicales. EAM tuvo valores óptimos de E-A comparables a los correspondientes a EAU. Sin embargo, EAM requiere más tiempo para producir ruptura en la célula, disolución y difusión de los compuestos bioactivos en los extractos. De los resultados de la simulación, se encontró, que el uso de reciclaje es conveniente ya que, la exergía de las corrientes no se desperdicia al verterlas al medioambiente. El consumo de energía para la alternativa recomendada, y que usa una relación de E-A 1/1 que incluye el reciclaje de solventes, (E-W 1/1 Rec) fue de 567 MJ/h y su emisión de CO<sub>2</sub> fue de 105 kg/h. La destrucción de exergía indica que las etapas de evaporación y destilación pueden optimizarse hacia una operación más sostenible.

**PALABRAS CLAVE:** Extracción de compuestos fenólicos. Simulación numérica. Optimización de extracción. Residuos industriales de pistacho. Análisis exergético.

## BIOREFINERY CONCEPT: SUSTAINABLE DEVELOPMENT AND PROPOSAL OF CLEAN PROCESS OF THE EXTRACTION OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM PISTACHIO (*Pistacia vera* var. *Kerman*) INDUSTRIAL WASTES

**ABSTRACT:** Industrial pistachio processing generates biowaste that can be reused as precursors of bioactive compounds of interest such as phenolic compounds (PC). Therefore, the aim of this work is to optimize the conditions of stirred extraction (SSE) and ultrasound-assisted extraction (UAE) of PCs using the response surface methodology (RSM). A central composite design (CCD) was used to analyze the effects of the independent variables: ethanol: water (E-A) ratio and extraction time. In addition, different alternatives of the extraction process were evaluated by means of an exergy analysis. Energy and water consumption, CO<sub>2</sub> emissions and exergetic efficiency were calculated. The optimum conditions for CF extraction by the EAU method were E-A of 0.5 and an extraction time of 0.7 and 0.94 h. For EAM, the optimum conditions were an E-A of 0.6 and an extraction time of 2 and 2.7 h. A longer extraction period, for both extractions, results in degradation reactions and thus a loss of radical scavenging activity. EAM had optimal E-A values comparable to those corresponding to EAU. However, EAM requires more time to produce cell rupture, dissolution and diffusion of the bioactive compounds in the extracts. From the simulation results, it was found that the use of recirculation is convenient since the exergy of the streams is not wasted by discharging them into the

environment. The energy consumption for the recommended alternative, which uses an E-A 1/1 ratio including solvent recycling (E-W 1/1 Rec), was 567 MJ/h and its CO<sub>2</sub> emission was 105 kg/h. The exergy destruction indicates that the evaporation and distillation stages can be optimized towards a more sustainable operation.

**KEYWORDS:** Extraction of phenolic compounds. Numerical simulation. Extraction optimization. Industrial pistachio biowaste. Exergy analysis.

## 1 INTRODUCCIÓN

En la industria del pistacho, cuando los frutos se procesan desde la cosecha hasta el envasado, se generan grandes cantidades de biorresiduos. Éstos se componen de exocarpio, fracciones de ramas, tallos y hojas que se eliminan industrialmente con agua, mediante el uso de aspersores. Generalmente, el manejo de estos biorresiduos no se realiza de forma adecuada, generando numerosos problemas ambientales, tales como la contaminación del agua y del suelo.

Por otra parte, el concepto de biorrefinería de “transformar los biorresiduos en materia prima”, ha surgido para alcanzar el desarrollo sostenible. Este tema se ha vuelto más relevante, debido a que los biorresiduos de la agroindustria, son ricos en diferentes compuestos de alto valor añadido como los compuestos fenólicos (CF) (Özbek et al., 2018). Estos compuestos han atraído una atención cada vez mayor en los últimos años, debido a sus diversos beneficios potenciales para la salud y actividades farmacológicas, destacadas por múltiples estudios *in vitro*, *in vivo* y clínico/epidemiológicos (Rasines-Perea y Teissedre, 2017). Los CF se pueden extraer de los biorresiduos utilizando métodos de extracción adecuados, como los no convencionales que reducen los tiempos de proceso (Corrales et al., 2008; Galvan d’Alessandro et al., 2012; Santos-Buelga, 2006). El buen desempeño de estos procesos y la calidad de los compuestos obtenidos, dependen de las condiciones de operación, incluyendo el tipo de solvente, duración y temperatura del proceso (Haas et al., 2018). Conocer las condiciones óptimas de los procesos de extracción, puede ayudar a mejorar la calidad del producto y reducir los consumos de energía y solventes.

Por otra parte, el análisis de exergía permite calcular la eficiencia de un proceso. Aunque la pérdida de exergía no puede evitarse por completo en los procesos reales, se puede minimizar. Diversos autores han empleado el concepto de exergía para detectar ineficiencias energéticas, materiales y ambientales en procesos (Echegaray et al., 2019; Zalazar-Garcia et al., 2022).

Si bien hay diversos trabajos realizados en la optimización de la extracción de CF en pistachos, no hay estudios que focalicen su análisis en los biorresiduos industriales.

Esto es un punto importante a considerar, ya que la matriz de sólidos a extraer es diversa y su contenido acuoso difiere de los estudios previos.

Teniendo en cuenta lo anterior, el objetivo de este trabajo fue encontrar las condiciones óptimas de operación (agitación mecánica o agitación asistida con ultrasonido), medición de tiempo, y proporción de solventes en la extracción de CF de los residuos de pistacho a escala de laboratorio, a partir de la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR). Posteriormente, se analizaron diferentes alternativas industriales para el proceso de extracción de CF a partir de biorresiduos, mediante simulación de procesos. Se consideraron diferentes proporciones de solventes etanol-agua (E-A), una etapa de secado de biorresiduos y reciclaje de solventes. Además, se calculó el consumo de agua, las emisiones de CO<sub>2</sub> y el rendimiento exergético.

## 2 MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de biorresiduos procedentes del procesado del pistacho, fueron proporcionadas por Palos Blancos S.R.L., una empresa ubicada en San Juan, Argentina. Estas muestras se secaron a temperatura ambiente y luego se molieron en un molinillo de café durante 5 minutos. Se tomaron muestras de 2 g. Cada una se mezcló con 18 mL de una solución acuosa de etanol con relaciones volumétricas de E-A de 1/0; 1/10; 7/3; 1/1; 9/10 y 0/1, de acuerdo con Özbek et al. (2018). Un primer grupo de alícuotas fue sometido a sonicación (EAU) con una frecuencia de 40 kHz, durante tiempos de 0,25; 0,35; 0,5; 0,75; 1,12; y 1,25 h a 25 °C. Inicialmente, se probaron los tiempos de extracción asistida con agitación durante 15, 20 y 25 min a temperatura ambiente, según Caldas et al. (2018). Luego, un segundo grupo de las alícuotas fue agitado por tiempos de 2; 2,4; 4; 5,6 y 6 h con agitador magnético. En ambos casos, el sobrenadante se centrifugó durante 30 minutos.

### 2.1 DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (CF) TOTALES, DE FLAVONOIDES TOTALES (FT) Y ACTIVIDAD DE CAPTURA DE RADICALES LIBRES

El contenido de CF de varios extractos se determinó mediante el método descrito por Heldrich. (1990) y Fabani et al. (2013). Los resultados se expresaron como miligramos de equivalentes de ácido gálico por 1 g de biorresiduo de pistacho sobre peso seco (ps), (mg EAG/g ps). El contenido de FT de varios extractos, se determinó siguiendo el procedimiento descrito por Chang et al. (2002) y Fabani et al. (2013). Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de quercetina por 1 g de biorresiduo de pistacho sobre peso seco (ps), (mg EQ/g ps). La actividad de captura de radicales libres

de los extractos, se evaluó mediante la técnica de DPPH reportada por Fabani et al. (2013) y de ABTS reportada por Zalazar et al. (2020a). Los resultados se expresaron como microgramos de extracto, que producen una decoloración del 50 % de solución de radicales de DPPH (EC50  $\mu\text{g/mL}$ ) y de ABTS (EC50  $\mu\text{g/mL}$ ).

## 2.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

Los valores combinados de las variables estudiadas, que establecieron las condiciones óptimas del proceso, se hallaron mediante el uso de MSR. Dos factores (relación E-A,  $x_1$ ) y (tiempo,  $x_2$ ); y tres niveles (1, 0, - 1) de 12 corridas experimentales que incluyen 4 puntos axiales (dos puntos en el eje de cada variable a 0,8 de distancia del centro de cada variable de diseño), 4 puntos centrales y 4 puntos factoriales. El punto central de las variables y el rango establecido para las dos variables independientes, se analizaron mediante ensayos preliminares de dos factores. Las variables dependientes (respuestas) fueron CF (mg EAG/g ps), FT (mg EQ/g ps), DPPH (EC50  $\mu\text{g/mL}$ ) y ABTS (EC50  $\mu\text{g/mL}$ ) respectivamente:  $y_1$ ,  $y_2$ ,  $y_3$  y  $y_4$ . Las variables dependientes se analizaron con una regresión lineal múltiple y luego se ajustaron a una expresión polinómica de segundo orden. La demostración de la homocedasticidad se llevó a cabo con la prueba de Levene y las diferencias significativas entre cuadruplicados de los experimentos se realizaron con ANOVA. El software utilizado para la realización de los cálculos fue MATLABr2015a.

## 2.3 ALTERNATIVAS DE PROCESO Y SIMULACIONES

Todos los modelos unitarios y termodinámicos, para construir los diferentes escenarios del proceso, se desarrollaron e integraron en el gPROMS, el cual es un entorno que permite construir modelos (Process System Enterprise, 2014), de acuerdo a lo informado por Cotabarren et al. (2013). Los valores de la relación E-A considerados en el análisis fueron 1/1 y 7/3. Además, se evaluó la posible inclusión de una etapa de secado y una corriente de reciclaje (Tabla 1 y Figura 1).

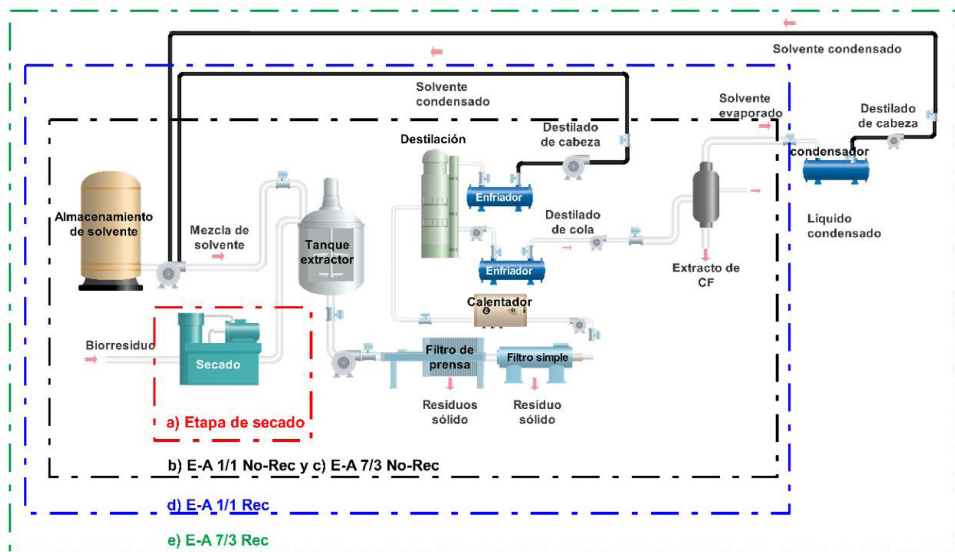
Tabla 1. Diferentes alternativas de procesos analizadas (\*).

Caso	Etapas de secado	Reciclado de vapor	Relación etanol/agua (E-A)	Identificación del proceso
a	•	-	1/1	E-A1/1 No-Rec sec
b	-	-	1/1	E-A1/1 No-Rec
c	-	-	7/3	E-A7/3 No-Rec
d	-	•	1/1	E-A1/1 Rec
e	-	•	7/3	E-A7/3 Rec

(\*) El símbolo • indica que la alternativa incluye la etapa (etapa de secado o flujo de reciclaje).



Figura 1. Escenarios de proceso para la extracción de CF a partir de biorresiduos de pistacho. Los casos a-e corresponden a las alternativas de proceso estudiadas según la descripción dada en la Tabla 1.



## 2.4 BALANCES DE MASA, ENERGÍA Y EXERGÍA

Los balances de masa y energía, las propiedades fisicoquímicas y termodinámicas y los módulos de equipos de procesos unitarios, se programaron ad-hoc, utilizando la ecuación de estado de Peng Robinson Stryjec-Vera - PRSV (Stryjec y Vera, 1986). Los balances de masa y energía se encuentran en el módulo del software y fueron resueltos a través de la simulación. En el proceso estudiado, para realizar el balance de energía, se contabiliza el contenido calórico que contienen los componentes de las corrientes que ingresan y salen de las diferentes etapas; y la energía calorífica removida o entregada. Los balances de exergía para cada corriente y operación del proceso se calcularon a partir de acuerdo a Morris y Szargut. (1986) y Szargut. (2005). Estos balances, (Tabla 2) se resolvieron de acuerdo a lo descrito por Zalazar-García et al. (2020b). Se eligió una base de biorresiduos de 300 kg/h con humedad del 80%. Se eligió conservar la misma relación de sólido/solución utilizada en la experimentación de optimización, es decir, 1/10.

Para evaluar el impacto ambiental, se utilizaron dos indicadores basados en el análisis exergético además del cálculo de la emisión de  $\text{CO}_2$ . Los índices usados fueron el Índice de Sostenibilidad (IS) y el Potencial de Mejora (PI) (Rodríguez et al., 2018a; Rodríguez et al., 2018b).

Tabla 2. Ecuaciones usadas en balances de masa, energía, exergía e índices utilizados para evaluar el comportamiento ambiental.

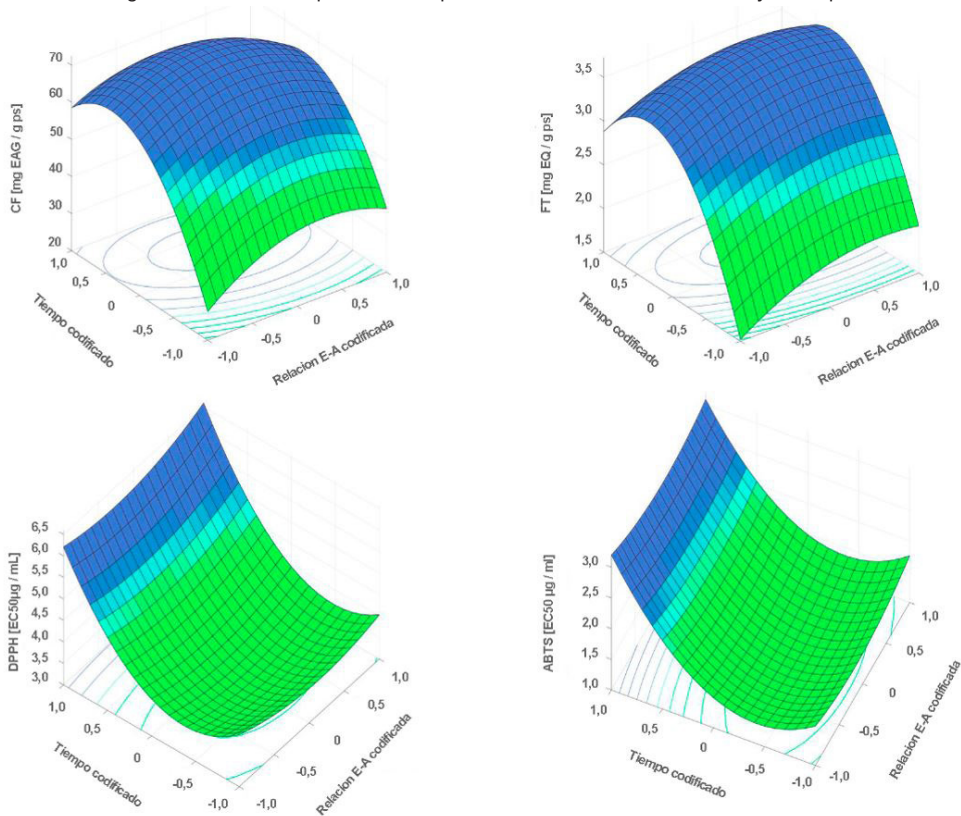
Descripción	Expresión matemática
Balance de masa	$F_e - F_s = 0$
Balance de energía	$\sum_{e=1}^n n_e C_{p_e} T_e - \sum_{s=1}^n n_s C_{p_s} T_s + Q_{etapa} = 0$
Balance de exergía	$\epsilon_{x_{Entrada}} = \epsilon_{x_{Salida}} + \epsilon_{x_{Perdida}}$
Índices	$\epsilon_x = \epsilon_{x_{Física}} + \epsilon_{x_{Química}}$
	$IS = \frac{1}{1 - \frac{n_{ex}}{100}}$
	$PM = \left[ 1 - \frac{\epsilon_{Perdida}}{\epsilon_{Entrada}} \right] \epsilon_{Perdida}$

### 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 COEFICIENTES DE REGRESIÓN Y ANÁLISIS DE LAS SUPERFICIES DE RESPUESTA

Las variables codificadas permitieron una evaluación directa de la variación de los efectos lineales, cuadráticos y de interacción de las variables independientes. En los casos estudiados, las expresiones matemáticas obtenidas presentaron los coeficientes de los términos lineales, que son importantes, ya que un aumento de la relación volumétrica de E-A y del tiempo, mejora el rendimiento de la extracción en los procesos de ultrasonidos y agitación. Cuanto mayor sea la concentración de CF y FT obtenida, más se acercará al óptimo. Las funciones  $y_{DPPH}(x_1, x_2)$  y  $y_{ABTS}(x_1, x_2)$  que representan la actividad de captura de radicales, son geométricas y matemáticamente opuestas a las funciones  $y_{CF}(x_1, x_2)$  y  $y_{FT}(x_1, x_2)$ , en relación a su concavidad. Cuanto más baja sea la concentración de los extractos que alcancen el 50 % de la decoloración de la solución radical, más activos serán los compuestos extraídos y, por tanto, se acercarán al valor óptimo, que representa un mínimo. Esto muestra que las respuestas alcanzan su punto, máximo para el CF y el FT, o mínimo para el DPPH y el ABTS, a una determinada proporción volumétrica de disolventes y a un determinado tiempo. También se encontró que, disminuyen con el aumento de tiempo y la proporción volumétrica de etanol. La figura 2 muestra un ejemplo de la interacción de las variables del proceso de extracción.

Figura 2. Gráficos de superficie de respuesta en función de la relación E-A y el tiempo.



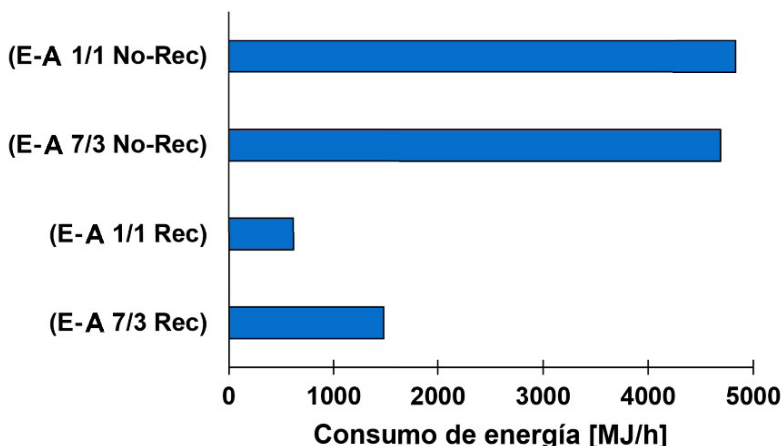
Las condiciones óptimas para la extracción asistida por ultrasonido (EAU) fueron para el CF, 73 mg EAG/g utilizando etanol 45,5 % vol/vol y 0,75 h; para el FT, 3,40 mg EQ/g utilizando etanol 45,5 % v/v y 0,75 h; para el valor EC50 de los radicales DPPH, fue de 3,3 µg/mL utilizando etanol 45,5 % y 0,75 h, y para el valor EC50 de los radicales ABTS fue de 3,6 µg/mL utilizando etanol 45,5 % y 0,75 h. Las condiciones óptimas para la extracción asistida con agitación mecánica (EAM) de CF fue de 75 mg de EAG/g utilizando etanol 45,5 % v/v y 4,5 h; para FT fue de 3,40 mg de EQ/g utilizando etanol 45,5 % v/v y 4,5 h; para el valor EC50 de captura de radicales DPPH fue de 3,6 µg/mL utilizando etanol 45,5 % y 4,5 h y para el valor EC50 de captura de radicales ABTS fue de 1,2 utilizando etanol 45,5 % y 4,5 h.

### 3.2 CONSUMO DE ENERGÍA

La figura 3 muestra la energía suministrada a cada alternativa de proceso. La alternativa E-A 1/1 No-Rec requiere más energía porque la cantidad de masa de agua

por unidad de tiempo a evaporar es mayor. En términos energéticos, su calor latente de vaporización es más grande que el correspondiente al de la solución E-A 7/3. Esto es debido a la mayor contribución por la mayor proporción de agua, cuya entalpía de vaporización es de aproximadamente 2,7 veces mayor que la correspondiente a la del etanol. En el caso de las alternativas con reciclo, al no eliminar el solvente al ambiente, se puede aprovechar su calor a través de intercambiadores, y, por lo tanto, el consumo energético disminuye.

Figura 3. Consumo de energía de las alternativas de proceso evaluadas.



### 3.3 CONSUMO DE AGUA

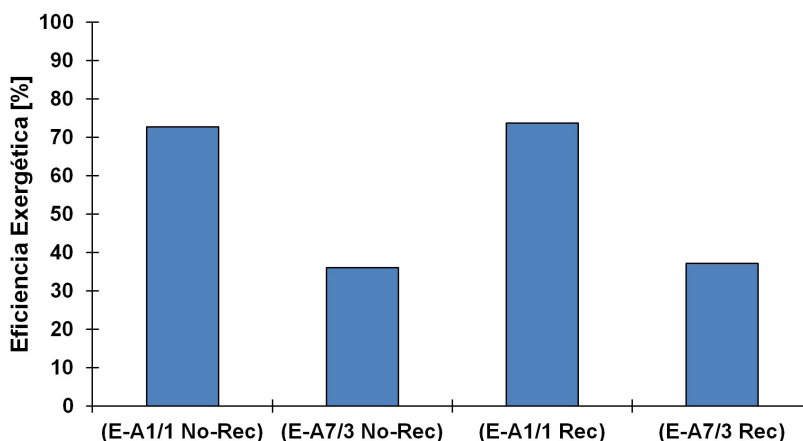
El consumo de agua se puede obtener a partir de los balances de masa y energía, incluida la cantidad de agua utilizada en los equipos auxiliares de transferencia de calor (sistema auxiliar de agua de calefacción/refrigeración). El mayor consumo de agua se observó para la alternativa E-A 1/1 No-Rec. Como se mencionó en la sección anterior, esta alternativa de proceso que no posee reciclo (no es posible aprovechar el contenido energético de las corrientes) y tiene mayor cantidad de agua, requiere mayor energía calórica para concentrar el producto. Como era de esperar, necesitaron un mayor requerimiento de agua de servicio auxiliar.

### 3.4 EFICIENCIA EXERGÉTICA

La figura 4 muestra los rendimientos exergéticos de las diferentes alternativas de proceso consideradas. En términos de rendimiento exergético global, el mayor rendimiento exergético se obtuvo para las relaciones E-A 1/1 Rec y E-A 1/1 No-Rec. Es importante

señalar que el rendimiento exergético consideró las exergías de entrada y salida como si el proceso fuera una caja negra. Es necesario un análisis particular detallado de cada etapa u operación de la unidad, para detectar la ubicación de las etapas que producen más pérdida de exergía.

Figura 4. Eficiencia exergética de las alternativas de proceso evaluadas.



### 3.5 EMISIÓN DE CO<sub>2</sub>

Los resultados se obtuvieron considerando dos fuentes de emisiones de GEI: 1) La generación directa del proceso (incluye los servicios de refrigeración y calefacción) y 2) La generación indirecta resultante de los servicios auxiliares (calentamiento) del proceso. Como se ha indicado anteriormente, las alternativas con flujo de reciclado tienen, por tanto, mayores emisiones de CO<sub>2</sub> por el consumo de servicios auxiliares. Las alternativas de proceso E-A 1/1 No-Rec y E-A 7/3 No-Rec emiten un flujo másico de CO<sub>2</sub> a la atmósfera más elevado. Estos valores más altos se deben a la generación indirecta de GEI liberados durante la quema de combustible, necesaria para la generación de vapor utilizada para suministrar energía al proceso. La alternativa que menos emisiones de CO<sub>2</sub> causó, fue la E-A 1/1 Rec, de 105 kg/h.

### 3.6 ÍNDICE DE SUSTENTABILIDAD Y EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE MEJORA

La relación E-A 1/1 Rec es la alternativa que presentó los mejores valores de estos dos indicadores ambientales. En este caso, la exergía se destruye menos en comparación con las otras alternativas, ya que no requiere utilizar cantidades considerables de disolventes, no se vierten al medio ambiente, y el consumo de energía es más bajo.

### *Etapa de secado: influencia en las alternativas del proceso*

En este trabajo también se evaluó la inclusión de un pretratamiento de los biorresiduos, mediante el secado en un túnel con alimentación de aire caliente y seco (utilizando gas metano como combustible para proporcionar energía térmica). Este análisis se realizó mediante balances de exergía. Para el secado de los biorresiduos, se necesitó una entrada de 3000 MJ/h, debido a la considerable cantidad de agua evaporada. En este caso, el 30% de la exergía entrante se desperdicia debido a los gases de combustión como  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  (g), CO y el exceso de aire que se liberan al medio ambiente. En las secciones anteriores, las alternativas del proceso se analizaron sin tener en cuenta esta operación de secado previa.

## 4 CONCLUSIONES

En el presente trabajo las condiciones óptimas de operación de la extracción por EAU y por EAM de los compuestos fenólicos en residuos industriales de pistacho, utilizando MSR, fueron determinadas a escala de laboratorio. Las condiciones óptimas de operación resultantes de este análisis fueron considerados a los efectos de simular una planta de extracción CF a escala industrial, teniendo en cuenta distintas alternativas de proceso.

Se formularon y resolvieron los balances de masa y los análisis de energía y exergía, para evaluar el rendimiento de diferentes escenarios, para el proceso de extracción de compuestos fenólicos a partir de biorresiduos. Se calcularon, el consumo de agua, las emisiones de  $\text{CO}_2$  y el rendimiento exergético. El análisis se realizó considerando una etapa adicional (secado de biorresiduos) cuando fue necesario. El secado requiere 3000 MJ/h de energía, lo que representa el 70 % del consumo total de la alternativa de mayor consumo energético. Además, al evaporar el agua de los residuos, se genera un mayor consumo de mezcla de disolventes en las etapas posteriores. Por lo tanto, no es aconsejable secar los biorresiduos si se pueden procesar inmediatamente.

Los residuos generados en los procesos agroindustriales también tienen una alta exergía química, ya que están compuestos por macromoléculas como la lignina, la celulosa y la hemicelulosa. Por lo tanto, es necesario buscar alternativas para el uso posterior o la reutilización de estos flujos, con el fin de evitar el desperdicio de exergía. El análisis de exergía mostró, que las etapas de evaporación y destilación de las diferentes alternativas de proceso, pueden optimizarse hacia una operación más sustentable, ya sea cambiando el tipo de operación o modificando las propiedades/condiciones de los servicios auxiliares. En cuanto a las emisiones de  $\text{CO}_2$  y el consumo de agua, los

procesos que incluyen el reciclaje utilizaron menos servicios auxiliares, generando un menor consumo de agua y emisiones de CO<sub>2</sub>. Por lo tanto, la reutilización de los flujos de servicios auxiliares puede ayudar a aumentar la sustentabilidad del proceso. Los índices IS y PM presentaron valores concordantes con los resultados descritos anteriormente, indicando que la alternativa E-A 1/1 Rec es más conveniente. Este proceso incluye una corriente de reciclaje, lo que permite utilizar menos servicios auxiliares, una baja cantidad de agua y menores emisiones de gases de efecto invernadero. La inclusión de la corriente de reciclado redujo considerablemente las necesidades de disolvente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Caldas, T. W., Mazza, K. E. L., Teles, A. S. C., Mattos, G. N., Brígida, A. I. S., Conte-Junior, C. A., Borguini, R. G., Godoy, R. L. O., Cabral, L. M. C. y Tonon, R. V. (2018). Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non-conventional extraction methods. *Industrial Crops and Products*, 111, 86–91. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.012>
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. y Chern, J. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 7802. <https://pdfs.semanticscholar.org/b3de/c5e57477b0489135bd5b43a27f9b7cee7d31.pdf>
- Corrales, M., Toepfl, S., Butz, P., Knorr, D. y Tauscher, B. (2008). Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9(1), 85–91. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.06.002>
- Cotabarren, I. M., Bertin, D. E., Bucalá, V. y Piña, J. (2013). A Validated Flowsheeting Tool for the Study of an Industrial Granulation Process. *Industrial & Engineering Chemical Research*, 52(43), 15198–15210.
- Echegaray, M., Zalazar-García, D., Mazza, G. y Rodriguez, R. (2019). Air-steam gasification of five regional lignocellulosic wastes: Exergetic evaluation. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, 31, 115–123. <https://doi.org/10.1016/j.seta.2018.12.015>
- Fabani, M. P., Luna, L., Baroni, M. V., Monferran, M. V., Ighani, M., Tapia, A., Wunderlin, D. A. y Feresin, G. E. (2013). Pistachio (*Pistacia vera* var Kerman) from Argentinean cultivars. A natural product with potential to improve human health. *Journal of Functional Foods*, 5(3), 1347–1356. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.05.002>
- Galvan d'Alessandro, L., Kriaa, K., Nikov, I. y Dimitrov, K. (2012). Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry. *Separation and Purification Technology*, 93, 42–47. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2012.03.024>
- Haas, I. C. da S., Toaldo, I. M., Burin, V. M. y Bordinon-Luiz, M. T. (2018). Extraction optimization for polyphenolic profiling and bioactive enrichment of extractives of non-pomace residue from grape processing. *Industrial Crops and Products*, 112, 593–601. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.058>
- Heldrich, K. (1990). *Official methods of analysis of the association of official analytical chemists*. Association of Official Chemists.
- Morris, D. R. y Szargut, J. (1986). Standard chemical exergy of some elements and compounds on the planet earth. *Energy*, 11(8), 733–755. [https://doi.org/10.1016/0360-5442\(86\)90013-7](https://doi.org/10.1016/0360-5442(86)90013-7)



Özbek, H. N., Halahlih, F., Göğüş, F., Koçak Yanık, D. y Azaizeh, H. (2018). Pistachio (*Pistacia vera* L.) Hull as a Potential Source of Phenolic Compounds: Evaluation of Ethanol–Water Binary Solvent Extraction on Antioxidant Activity and Phenolic Content of Pistachio Hull Extracts. *Waste and Biomass Valorization*, 0(0), 0. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0512-6>

Rasines-Perea, Z. y Teissedre, P. L. (2017). Grape Polyphenols' effects in human cardiovascular diseases and diabetes. *Molecules*, 22(1), 1–19. <https://doi.org/10.3390/molecules22010068>

Rodriguez, R. A., Mazza, G., Echegaray, M., Fernandez, A. y García, D. Z. (2018a). Thermodynamic and Kinetic Study of Lignocellulosic Waste Gasification. En *Gasification for Low-grade Feedstock*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.73288>

Rodriguez, R., Mazza, G., Fernandez, A., Saffe, A. y Echegaray, M. (2018b). Prediction of the lignocellulosic winery wastes behavior during gasification process in fluidized bed: Experimental and theoretical study. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6(4), 5570–5579. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.08.054>

Santos-Buelga. (2006). Extraction and Isolation of Phenolic Compounds. Chapter 17. En *Natural Products Isolation* (Vol. 864, pp. 1–25). <https://doi.org/10.1007/978-1-61779-624-1>

Stryjek, R. y Vera, J. H. (1986). PRSV: An improved peng–Robinson equation of state for pure compounds and mixtures. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 64(2), 323–333. <https://doi.org/10.1002/cjce.5450640224>

Szargut, J. (2005). Exergy method: technical and ecological applications. *International series on developments in heat transfer*, 18, 164.

Zalazar-García, D., Feresin, G. E. y Rodriguez, R. A. (2020a). Optimal operation variables of phenolic compounds extractions from pistachio industry waste (*Pistacia vera* var. Kerman) using the response surface method. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00862-3>

Zalazar-García, D., Román, M. C., Fernandez, A., Asensio, D., Zhang, X., Fabani, M. P., Rodriguez, R. y Mazza, G. (2022). Exergy, energy, and sustainability assessments applied to RSM optimization of integrated convective air-drying with pretreatments to improve the nutritional quality of pumpkin seeds. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, 49(November 2021). <https://doi.org/10.1016/j.seta.2021.101763>

Zalazar-García, D., Torres, E., Rodriguez-Ortiz, L., Deng, Y., Soria, J., Bucalá, V., Rodriguez, R. y Mazza, G. (2020b). Cleaner and sustainable processes for extracting phenolic compounds from bio-waste. *Journal of Environmental Management*, 273(111154). <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111154>

# CAPÍTULO 7

## REDUCCIÓN DE LA CANTIDAD DE VINAZA POR AUMENTO DE LA CONCENTRACIÓN FINAL DE ETANOL POR FERMENTACIÓN DE *Saccharomyces cerevisiae*<sup>1</sup>

Data de submissão: 19/05/2022

Data de aceite: 08/06/2022

### María Laura Muruaga

Cátedra de Química General  
Área de Ciencias Básicas  
Facultad de Ciencias Naturales e  
Instituto Miguel Lillo  
Universidad Nacional de Tucumán  
Argentina  
Licenciada en Biotecnología  
Dra. en Ciencias Biológicas  
San Miguel de Tucumán  
Tucumán-Argentina  
CV

### María Gabriela Muruaga

Cátedra de Química General  
Área de Ciencias Básicas  
Facultad de Ciencias Naturales e  
Instituto Miguel Lillo  
Universidad Nacional de Tucumán  
Argentina  
Licenciada en Biotecnología  
San Miguel de Tucumán  
Tucumán-Argentina  
CV

<sup>1</sup> Parte de este artículo fue presentado en el X Convención Internacional Sobre Medio Ambiente y Desarrollo (La Habana, Cuba, 2015) y XXXV Jornadas Científicas de la Asociación de Biología de Tucumán (Tafí del Valle, Tucumán, Argentina, 2018), en la Revista Renewable Energy 85 (2016) y es derivado de la disertación de tesis doctoral de Dra. María Laura Muruaga titulada: "Producción de bioetanol a partir de melazas de caña de azúcar por *Saccharomyces sp.* Determinación de los flujos energético, másico y del impacto ambiental del proceso de producción". Universidad Nacional de Tucumán, 2014.

### Cristian Andrés Sleiman

Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología  
Cátedra de Introducción a Maquinarias  
Azucareras II  
Departamento de Industria Azucarera  
Universidad Nacional de Tucumán  
Argentina  
Ingeniero Químico  
MBA: Master in Business Administration  
San Miguel de Tucumán  
Tucumán-Argentina  
CV

### Nora Inés Perotti

Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología  
Secretaría de Gestión y Extensión  
Universidad Nacional de Tucumán  
CONICET. Argentina  
Ingeniera Química  
San Miguel de Tucumán  
Tucumán-Argentina  
CV

**RESUMEN:** El sector sucroalcoholero tucumano, produce etanol, azúcar, bagazo, residuo sólido de la molienda para obtener papel y electricidad y vinaza que es el principal efluente líquido generado durante la producción de alcohol etílico. La descarga de este tipo de efluentes no tratados produce la contaminación de los ríos. El objetivo de este trabajo es obtener menores cantidades de vinaza al utilizar cepas de levaduras aisladas de melazas que produzcan altos porcentajes

de alcohol. Se tomaron muestras de melazas de distintos ingenios tucumanos para llevar a cabo aislamientos de levaduras usando medios YPD e YPS con antibióticos. Para la propagación de los microorganismos se utilizó medio YPS con 50 g/l de sacarosa incubando en baño termostático a 30°C con agitación. Las fermentaciones se realizaron por duplicado en frascos con 200 ml de medio YPS partiendo de 250 g/L de sacarosa que fueron incubados en estufa a 30°C. Se determinó ART y concentración de etanol. Se aislaron tres cepas de levaduras de elevado poder fermentativo: A2, A10 y A11, que produjeron 11,74; 12,81 y 13,20% de etanol respectivamente. Desde el punto de vista ambiental al utilizar la cepa *Saccharomyces cerevisiae* A2, aislada en este trabajo, se lograría disminuir en un 30% los niveles de vinaza generados pasando de un promedio de  $13 \frac{L_{\text{vinaza}}}{L_{\text{alcohol}}}$  a  $9 \frac{L_{\text{vinaza}}}{L_{\text{alcohol}}}$ . Al producir la cepa *Saccharomyces cerevisiae* A2 a gran escala y utilizarla en los ingenios traerá beneficios para la producción, consumo energético y ventajas ambientales disminuyendo la contaminación en ríos. Al producir la cepa *Saccharomyces cerevisiae* A2 a gran escala y utilizarla en los ingenios traerá beneficios para la producción, consumo energético y ventajas ambientales.

**PALABRAS CLAVE:** Vinaza. Bioetanol. Fermentación. Cepas hiperproductoras.

## REDUCTION OF THE AMOUNT OF VINASSE BY INCREASING THE FINAL CONCENTRATION OF ETHANOL BY FERMENTATION OF *Saccharomyces cerevisiae*

**ABSTRACT:** The Tucuman sugar and alcohol sector produces ethanol, sugar, bagasse, solid waste from milling to obtain paper and electricity and vinasse, which is the main liquid effluent generated during the production of ethyl alcohol. The discharge of this type of untreated effluent produces pollution of the rivers. The objective of this work is to obtain lower amounts of vinasse using yeast strains isolated from molasses that produce high percentages of alcohol. Molasses samples were taken from different Tucuman sugar mills to carry out yeast isolations using YPD and YPS media with antibiotics. For the propagation of the microorganisms YPS medium with 50 g/l of sucrose was used incubating in thermostatted bath at 30°C with agitation. The fermentations were carried out in duplicate in flasks with 200 ml of YPS medium starting from 250 g/L of sucrose that were incubated at 30°C. ART and ethanol concentration were determined. Three strains of high fermentative power were isolated: A2, A10 and A11, which produced 11.74; 12.81 and 13.20% ethanol respectively. From the environmental point of view when using the strain *Saccharomyces cerevisiae* A2, isolated in this work, it would be possible to reduce the vinasse levels generated by 30%, going from an average of  $13 \frac{L_{\text{vinasse}}}{L_{\text{alcohol}}}$  to  $9 \frac{L_{\text{vinasse}}}{L_{\text{alcohol}}}$ . Producing the *Saccharomyces cerevisiae* A2 strain on a large scale and using it in the mills will bring benefits for production, energy consumption and environmental benefits, reducing pollution in rivers.

**KEYWORDS:** Vinasse. Bioethanol. Fermentation. Hyperproducing strains.

## 1 INTRODUCCIÓN

El impulso del bioetanol en la Argentina, proveniente de la caña de azúcar se plasmó jurídicamente con la sanción de la Ley 26.334, “Régimen de Promoción de la Producción de Bioetanol” en el año 2008. La Ley 26.093, “Régimen de Regulación y Promoción para la Producción y Usos Sustentables de Biocombustibles”, entró en vigencia en el año 2010

y estableció que se deberá abastecer con el 5% como mínimo de etanol a la totalidad de las naftas, porcentaje que fue aumentando con los años.

El objetivo de garantizar la sustentabilidad en la producción de etanol es suficiente estímulo en la búsqueda de tecnologías alternativas que contribuyan a satisfacerla o bien de perfeccionar las existentes.

Esto significará una oportunidad para el sector azucarero para ampliar las superficies sembradas con caña de azúcar y para los industriales la producción de etanol anhidro.

Tabla 1: Distribución de los ingenios azucareros en Argentina (Seixas., 2007).

Provincias	Nº de Ingenios
Tucumán	15
Jujuy	3
Salta	2
Santa fe	2
Misiones	1

Para incrementar la producción de etanol, sin incrementar la superficie de caña sembrada, las estrategias se basan en disminuir los porcentajes de producción de azúcar, ya sea: a) produciendo mieles con mayores contenidos de azúcar para ser destinadas a fermentación alcohólica; b) considerar el uso de las melazas, sin alterar de esta forma el proceso productivo, adicionando jugo de caña en los mostos para fermentación.

Los biocombustibles son aquellos combustibles de origen biológico, obtenidos a partir de biomasa utilizando restos orgánicos, estos proceden habitualmente del azúcar, trigo, maíz o semillas oleaginosas, por lo que son considerados una energía renovable, a diferencia de los derivados del petróleo obtenidos de yacimientos petrolíferos.

El interés en su uso se ha incrementado en la medida en que los gobiernos buscan disminuir e inclusive eliminar la dependencia de los combustibles fósiles, para garantizar a futuro, mayor seguridad energética, a la vez que se beneficia el ambiente.

Dichos biocombustibles se pueden presentar tanto en forma sólida (biomasa), líquida (bioalcoholes, biodiesel) y gaseosa (biogas, biohidrógeno).

Una de las principales ventajas de los biocombustibles es que disminuyen la emisión de gases a la atmósfera con la consiguiente disminución del efecto invernadero (Balat y col., 2009).

Los combustibles renovables reducen el volumen total de CO<sub>2</sub> que se emite a la atmósfera, ya que los vegetales utilizados para su producción, absorben CO<sub>2</sub> a medida que crecen mediante la fotosíntesis, por lo que se produce un proceso de ciclo cerrado. Además, reducen la lluvia ácida, mejoran la calidad del aire en zonas urbanas, no contaminan el agua y producen menor cantidad de residuos.

Algunos gases atmosféricos retienen y evitan que parte del calor proveniente del sol retorne al espacio, estos componen menos de una centésima parte de los gases de la atmósfera, y son los llamados “gases de efecto invernadero”, entre ellos se incluyen principalmente vapor de agua (H<sub>2</sub>O), dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), metano (CH<sub>4</sub>), óxidos de nitrógeno (NO<sub>x</sub>) y ozono (O<sub>3</sub>), los cuales son necesarios para el mantenimiento de la temperatura terrestre; pero un incremento del contenido de estos gases en la atmósfera, causa lo que llamamos efecto invernadero (Maas y col., 2008). Por este motivo la quema de hidrocarburos es uno de los factores que explica el calentamiento global, por las emisiones de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (Pirkov y col., 2008).

Los biocombustibles son a menudo mezclados con otros combustibles en pequeñas proporciones, facilitando una reducción útil pero limitada de los gases de efecto invernadero. Pueden llegar a sustituir totalmente a las naftas o al gasoil (Kotaka y col., 2008).

Las reservas de los combustibles fósiles: petróleo, gas, etc.; están presentando señales de agotamiento. Se estima que a mediano plazo ya no será posible cubrir la demanda mundial y, en consecuencia, se espera un fuerte aumento en los precios (Pirkov y col., 2008).

Esta situación, sumada a la contaminación ambiental y al calentamiento global, provocados principalmente por el uso desmedido de este tipo de combustibles, es un reto de enormes proporciones, pero también una oportunidad para la implementación de energías renovables.

## 2 MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 MEDIOS DE CULTIVO

**Medio YPD agar (gL<sup>-1</sup>):** extracto de levadura, 10, peptona, 10, dextrosa, 20, agar, 15.

**Medio YPS de propagación (gL<sup>-1</sup>):** extracto de levadura, 10, peptona, 10, sacarosa, 50.

**Medio YPS de fermentación (gL<sup>-1</sup>):** extracto de levadura, 10, peptona, 10, sacarosa, 250.

#### **Medio Melaza de fermentación**

La muestra de melaza, utilizada para preparar los medios de cultivo, se tomó de Ingenios Tucumanos para ser utilizada en los distintos ensayos. Se determinó la

concentración de azúcares reductores totales (ART) y se diluyó la melaza hasta 25% de ART. Se esterilizó en autoclave a 1 atm de sobrepresión (121 °C) durante 15 min (Basso y col., 2008).

Todos los medios se esterilizaron en autoclave a 1 atm de sobrepresión (121°C) durante 15 min. (Nishida y col., 2004).

## 2.2 AISLAMIENTOS DE LEVADURAS A PARTIR DE MELAZA DE CAÑA DE AZÚCAR Y UVAS

Se tomaron muestras de melazas de Ingenios Tucumanos y uvas de diferentes viñedos de la provincia de Salta.

Para llevar a cabo aislamientos de levaduras se utilizó medio YPD agar adicionado de antibióticos (composición en gL<sup>-1</sup>: ampicilina, 20; tetraciclina, 10; cloranfenicol, 20; eritromicina, 20).

Se realizaron diluciones sucesivas de cada una de las muestras de melaza (10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup>) y se inocularon 100 µL de las diluciones en medio de cultivo YPD agar por diseminación en superficie utilizando espátula de Drigalsky. Se incubaron a 30 °C durante 24 horas. Por último, se repicaron las colonias aisladas.

Las uvas fueron lavadas con agua destilada y se inoculó con 100 µL del agua de lavado en mismo medio en las condiciones antes descritas para los aislamientos de melaza.

## 2.3 SELECCIÓN DE LEVADURAS CON MAYOR PRODUCCIÓN DE ETANOL

### 2.3.1 Preparación de inóculos para ensayos de fermentación

Se hizo crecer cada microorganismo en medio YPS de propagación, con agitación constante a 200 rpm y 30 °C. Luego de 72 h, se tomó una muestra para medir la Densidad Óptica (D.O) a 640 nm.

Se inoculó el medio de fermentación con 0,50 g de biomasa L<sup>-1</sup>.

### 2.3.2 Fermentación

Las fermentaciones se realizaron por triplicado en frascos con 50 mL de medio YPS con 250 gL<sup>-1</sup> de sacarosa. Se utilizó un frasco para cada toma de muestra, el cual fue representativo para cada tiempo de fermentación. Los frascos se inocularon con 0,50 gL<sup>-1</sup> de biomasa base seca. Fueron incubados en estufa a 30°C. Se tomaron muestras cada 8 h, estando cada muestra representada por un frasco.

El medio de cultivo de cada frasco fue centrifugado, en el sobrenadante se determinó azúcares reductores totales (ART), azúcares reductores directos (ARD), y

concentración de etanol. El peso seco, para determinar la producción de biomasa, fue calculado a partir del precipitado.

## 2.4 CARACTERIZACIÓN Y TAXONOMÍA MOLECULAR

La extracción de ADN se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Yamada y col., 2002.

La corrida electroforética de las muestras de ADN se realizó en gel de agarosa 0,8%. Se sembraron 5 µl de cada muestra de ADN extraído, la tinción se realizó con bromuro de etidio en buffer TAE 1X y se visualizó con el analizador de imágenes Gel Doc. *BIORAD*. La concentración de ADN de cada muestra fue determinada utilizando un marcador de ADN cromosomal K562.

Los fragmentos de PCR fueron secuenciados por MacroGen (Corea), en un secuenciador modelo ABI prisma 373A (PE Applied BioSystems).

Los resultados de la secuenciación fueron analizados por comparación con los genes del ARNr 26S de las bases de datos presentes en el NCBI (National Center for Biotechnology Information) y alineados utilizando el software MEGA 4 (Tamura, y col., 2007). Luego de excluir las regiones ambiguas de las secuencias, inserciones y deleciones, se construyó un árbol evolutivo, usando el algoritmo de Neighbor- Joining (Fitch y col., 1967).

## 2.5 DETERMINACIONES DE BIOMASA, ETANOL Y AZÚCARES.

El crecimiento de las levaduras fue evaluado mediante peso seco. Para determinar la concentración de etanol, se destilaron 10 mL del medio fermentado y luego se realizó la lectura en refractómetro de inmersión CARLS ZEISS. Se optó por el refractómetro de inmersión para medir concentración de etanol por su practicidad, sencillez, rapidez y validez al analizar un gran número de muestras. Los azúcares fueron determinados usando el método volumétrico de Fehling-Causee-Bonnans (F.C.B) (AOAC, 2000; Abate, 1985).

# 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 3.1 AISLAMIENTOS Y SELECCIÓN DE LEVADURAS

Con el objetivo de seleccionar levaduras productoras de etanol, se realizaron aislamientos a partir de muestras de melazas y de uvas, obtenidas de Ingenios de la Provincia de Tucumán y de fincas de Salta respectivamente. Dichos aislamientos



se realizaron en medio YPS agarizado adicionado de antibióticos. Se seleccionaron colonias con aspecto levaduriforme, y se confirmó la identidad de las mismas mediante observación microscópica. Se obtuvieron 30 aislamientos de los cuales, 16 produjeron una concentración de alcohol menor a 5% luego de 120 h de incubación. Cabe destacar que la mayoría de los mismos correspondieron los obtenidos de uvas. Los 14 restantes oscilaron entre el 5 y 13%. Los 7 aislamientos provenientes de las muestras de melazas (A), se muestran en la tabla 2 con sus correspondientes porcentajes de etanol y ART. En esta etapa de selección, se trabajó con fermentaciones largas de 140 horas sólo con el objetivo de estudiar la potencialidad de la cepa con respecto a la producción de etanol.

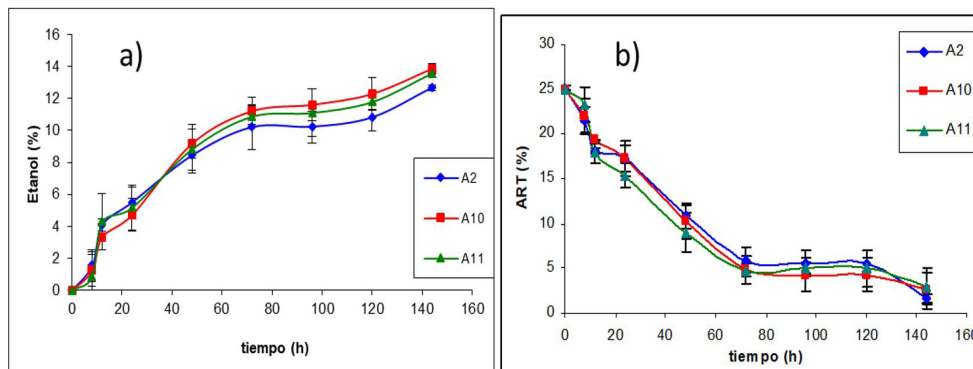
Tabla 2. Producción de etanol y consumo de ART por levaduras aisladas de melazas de caña de azúcar, crecidas en medio YPS con 250 gL<sup>-1</sup> de sacarosa.

AISLMIENTOS	ETANOL (%)	ART FINAL (%)
A1	11,20	3,01
A2	12,87	1,65
A4	8,45	7,12
A5	5,71	10,32
A9	11,87	2,22
A10	13,20	2,55
A11	13,20	3,15

Las concentraciones de etanol más elevadas fueron producidas por los aislamientos A2 (12,87%), A10 (13,20%) y A11 (13,20%). Teniendo en cuenta los criterios utilizados, se seleccionaron los aislamientos A2, A10 y A11 para llevar a cabo los ensayos posteriores.

Los aislamientos seleccionados en este trabajo, fueron incubados en medio YPS con 250 gL<sup>-1</sup> de azúcar, a 30 °C durante 144 h (Fig. 1 a y b, Tablas 3 y 4).

Fig. 1: a) Producción de etanol por los aislamientos A2, A10 y A11, crecidos en medio YPS con 250 gL<sup>-1</sup> de sacarosa a 30 °C. b) Variación de los ART por los aislamientos A2, A10 y A11, en medio YPS con 250 gL<sup>-1</sup> de sacarosa a 30 °C



En la Figura 1 a, se observa que las concentraciones de etanol máximas alcanzadas para las cepas A2, A10 y A11, fueron 12,87; 13,64 y 13,46% respectivamente. Los perfiles de concentración de etanol alcanzada por los aislamientos A2, A10 y A11 fueron muy similares a lo largo del tiempo y las cepas A10 y A11 presentaron mayor concentración final de etanol que la cepa A2.

En la Figura 1 b, se observa que el porcentaje de azúcar residual final para los aislamientos A2, A10 y A11 fue 1,65; 2,55 y 3,15% respectivamente. Estas tres cepas fueron aisladas de melazas donde las mismas ya estaban sometidas a una elevada concentración de azúcares. Díaz Montaña y colaboradores (2008), estudiaron la capacidad fermentativa de cinco cepas de levaduras aisladas a partir de jugo de agave. Dichos autores, observaron valores similares a las 24 horas con tres de ellas, identificadas como *Saccharomyces cerevisiae*, que presentaron una producción de etanol de  $5,18 \pm 0,15\%$ , demostrando una mayor tolerancia al etanol que las dos cepas restantes, aisladas y clasificadas como *Kloeckera africana* y *K. apiculata*, que mostraron escaso crecimiento y produjeron una menor concentración de etanol,  $2,90 \pm 0,20\%$ .

Tabla 3: Valores de ARD (%) durante la fermentación por parte de los aislamientos A2, A10 y A11 en medio YPS 250 gL<sup>-1</sup> a 30 °C.

Tiempo(h)	Aislamientos	A2	A10	A11
12		1,62 %	6,80 %	3,62 %
24		2,18 %	6,35 %	5,84 %
36		3,44 %	6,23 %	5,50 %
48		3,17 %	9,17 %	5,94 %
60		4,46 %	5,00 %	7,25 %
72		4,31 %	6,17 %	5,16 %
144		1,50 %	1,22 %	3,05 %

Los resultados de la Tabla 3 ponen en evidencia que la hidrólisis de sacarosa tuvo lugar durante todo el ensayo; y ni glucosa ni fructosa no se habrían encontrado en concentraciones limitantes. Por otro lado, la hidrólisis de la sacarosa no se vio inhibida por la concentración de etanol. Cabe destacar que a las 144 h, los valores de ARD fueron similares a los de ART para las tres cepas ensayadas, debido a que la mayor parte de la sacarosa se encontraba hidrolizada.

Tabla 4: Producción de biomasa (gL<sup>-1</sup>) durante la fermentación por los aislamientos A2, A10 y A11 en medio YPS 250 gL<sup>-1</sup> de sacarosa a 30 °C.

Tiempo(h)	Aislamiento	A2	A10	A11
12		2,77 gL <sup>-1</sup>	2,61 gL <sup>-1</sup>	2,38 gL <sup>-1</sup>
60		3,68 gL <sup>-1</sup>	3,15 gL <sup>-1</sup>	3,60 gL <sup>-1</sup>
72		3,80 gL <sup>-1</sup>	4,63 gL <sup>-1</sup>	3,67 gL <sup>-1</sup>
144		4,37 gL <sup>-1</sup>	4,71 gL <sup>-1</sup>	4,30 gL <sup>-1</sup>

En la Tabla 4 podemos observar que la biomasa correspondiente a los tres aislamientos fue similar a lo largo de la fermentación; y que las cepas continuaron desarrollándose aun cuando la concentración de etanol había superado el 10% (Fig. 10, 60 horas).

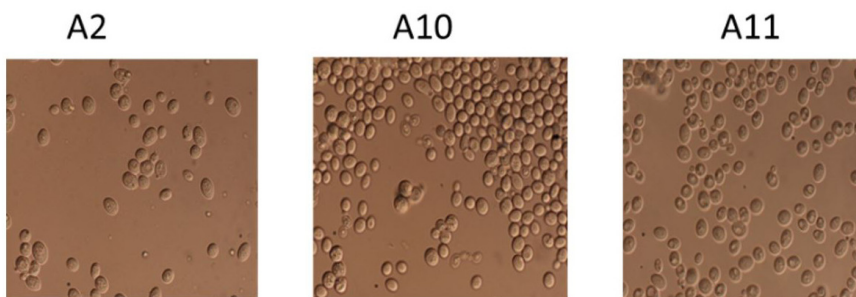
## 3.2 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y DE CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS SELECCIONADOS

Las levaduras seleccionadas, al crecer en medio YPS agarizado, presentaron colonias blancas y cremosas.

Cuando las cepas fueron desarrolladas en medio líquido se observó que la cepa A2 presentaba un crecimiento homogéneo y disperso, mientras que el crecimiento de las cepas A10 y A11 fue floculento. La biomasa se asociaba formando conglomerados o flóculos de 1 mm de diámetro, los que al final de la fermentación se depositaban en la base del frasco de cultivo.

Las tres cepas fueron observadas al microscopio óptico, observándose que los 3 aislamientos presentaban forma ovoide, característica de levaduras. También se pudo observar la presencia de levaduras en división celular por gemación y la ausencia de pseudomicelios (Fig. 2).

Fig. 2: Microscopía óptica de las levaduras aisladas A2, A10 y A11. Aumento 1000 X.



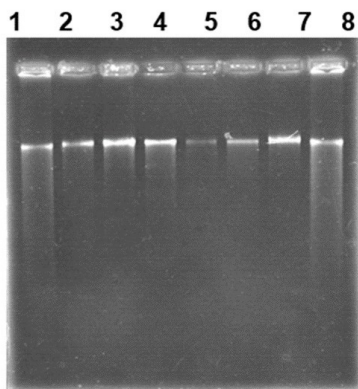
## 3.3 IDENTIFICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS SELECCIONADOS: CARACTERIZACIÓN Y TAXONOMÍA MOLECULAR

Para la identificación de los microorganismos se realizó la caracterización taxonómica molecular de los aislamientos seleccionados, A2, A10 y A11; la cual se llevó a cabo mediante secuenciación del ADNr 26S.

### **Extracción de ADN**

En una primera etapa se realizó la extracción de ADN utilizando perlas de vidrio y shock térmico.

Fig. 3: Electroforesis en gel de agarosa al 0,8% de muestras de ADN correspondientes a las cepas en estudio. **Calles: 1 y 8**, Marcador de ADN cromosomal K562; **2 y 3**, ADN aislado a partir de A2; **4 y 5**, ADN aislado a partir de A10; **6 y 7**, ADN aislado a partir de A11.



### ***Amplificación del ADNr 26S***

Se realizó la identificación taxonómica de las cepas A2, A11 y A11, a través de amplificación del gen ARNr 26S que codifica para la subunidad mayor del ribosoma. Para tal fin, se emplearon cebadores universales (NL1 – NL4) que amplifican la región D1/ D2 del gen mencionado, los cuales permiten establecer relaciones filogenéticas entre las especies de levaduras. A partir del ADN genómico se amplificó el gen en estudio de aproximadamente 550 pb. (Fig. 4).

Fig. 4: Electroforesis en gel de agarosa al 1% de productos de amplificación del gen del ARNr 26S. Calles: **M**. Marcador de peso molecular 1 kb; **1**. Aislamiento A2; **2**. Aislamiento A10; **3**. Aislamiento A11 y **4**. Control negativo.

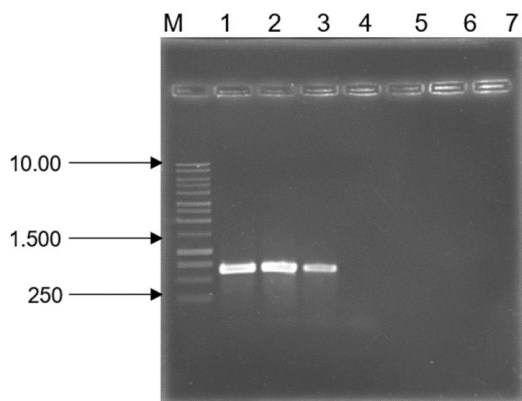
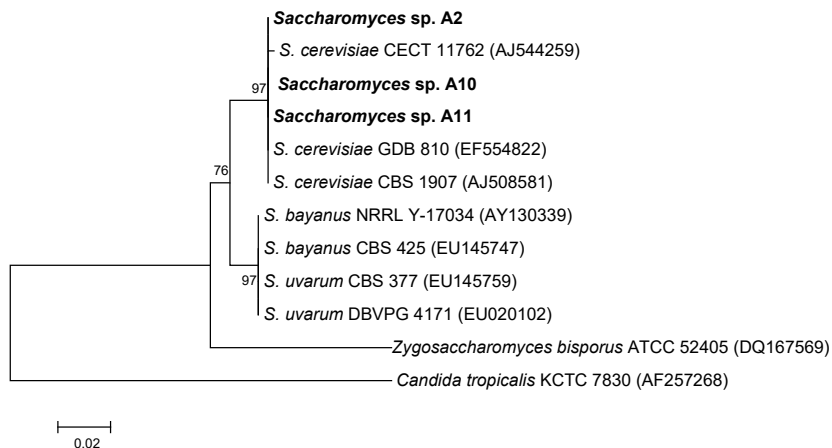


Fig. 5: Árbol filogenético obtenido por el método de Neighbor-Joining, a partir del análisis del ADNr 26S de los aislamientos A2, 10 y 11. Los números de acceso a las cepas tipo se encuentran entre paréntesis.



Los fragmentos amplificados fueron purificados, secuenciados y posteriormente editados para la construcción de un árbol filogenético que permita establecer la identificación de las cepas en estudio (Fig. 5).

A partir de la base de datos del NCBI (Centro Nacional para la Información Biotecnológica) se obtuvieron las secuencias de nucleótidos de los genes del ARNr 26S correspondiente a las cepas de referencia empleadas para la identificación de los aislamientos A2, A10 y A11. En la Figura 5 se observa que los aislamientos A2 y A10, A11, presentan un elevado porcentaje de similitud de aproximadamente del 99% con las cepas de levadura *Sacharomyces cerevisiae* GDB 810 (EF554822) y CBS 1907 (AJ508581), respectivamente.

### 3.4 USO DEL AISLAMIENTO A2 PARA LA PRODUCCIÓN DE ETANOL Y SUS VENTAJAS AMBIENTALES ASOCIADAS

Bajo las condiciones consideradas, para un ingenio tipo (se usaron los balances generados a partir de datos experimentales de un Ingenio en Tucumán, Argentina), se generó un modelo al que se introdujeron las variables que interesan para este trabajo (Tabla 5).

Tabla 5: Efecto del uso de una levadura con mayor poder fermentativo sobre el consumo de caña (%) y el consumo de vapor en destilería (Kg. vapor/litro de alcohol).

Tenor alcohólico	10%	11%	12%
Consumo total de caña (%)	47,22	46,50	45,77
Consumo de vapor en destilería (Kg. vapor/litro de alcohol)	4,50	4,25	4,00
Volumen de vinaza promedio por litro de alcohol ( $L_{vinaza}/L_{alcohol}$ )	13	11	9

En la Tabla 5 se observa que el consumo total de vapor disminuye en un 3,07% al mejorar a 12% la concentración final de alcohol en cuba, y esta disminución se debe principalmente a un ahorro del 11,1% en el consumo de vapor en la destilería. También se puede apreciar que la producción de vinaza se reduce un 30%.

Actualmente una destilería que produce 100 m<sup>3</sup> de alcohol 96° por día, descarga 1300 m<sup>3</sup> de vinaza, es decir, se generan 13L vinaza cada litro de alcohol producido (Secretaría de Estado de Gobierno y Justicia., 2009).

Todos los ingenios tucumanos comienzan sus procesos fermentativos utilizando una levadura comercial de panificación. En la Tabla 6 se compara la cepa comercial de panificación y la cepa aislada, estudiada y seleccionada en este trabajo (*Saccharomyces cerevisiae* A2).

Tabla 6: Comparación levadura Comercial de panificación y *Saccharomyces cerevisiae* A2.

Microorganismo	Origen	Tiempo de Fermentación	Concentración de Etanol	Consumo total de caña	Consumo de vapor en destilería	Producción promedio de vinaza por litro de alcohol
Levadura comercial de panificación	CALSA-ARGENTINA	10 horas	10%	47,22%	4,5 Kg. vapor/litro de alcohol	13 L <sub>vinaza</sub> /L <sub>alcohol</sub>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> A2	Levadura aislada de melaza	10 horas	12%	45,77%	4 Kg. vapor/litro de alcohol	9 L <sub>vinaza</sub> /L <sub>alcohol</sub>

Al comparar ambas cepas se observó que *Saccharomyces cerevisiae* A2 produce mayor porcentaje de etanol (12%) que la cepa comercial de panificación (10%) en el mismo tiempo de fermentación (10h) y se lograría disminuir en un 30% los niveles de vinaza generados pasando de un promedio de 13 L<sub>vinaza</sub>/L<sub>alcohol</sub> a 9 L<sub>vinaza</sub>/L<sub>alcohol</sub> lo que otorgaría un importante beneficio ambiental.

## 4 CONCLUSIONES

Se logró aislar 30 diferentes levaduras a partir de muestras de melaza, jugo de caña de distintos ingenios tucumanos, de suelo de cañaverales y de uvas de la región de Salta, utilizando estrategias y medios que favorecen el crecimiento de dichos microorganismos en el ámbito del laboratorio.

Del total de levaduras aisladas a partir de muestras de melazas, jugos y de uvas, 16 produjeron porcentajes de etanol menores al 5% mientras de las 14 restantes produjeron concentraciones de etanol mayor al 5%.

Se seleccionaron los aislamientos A2, A10 y A11 como buenos productores de etanol con valores de concentración de etanol registrados, en medio YPS a 160 h, de 12,87, 13,64 y 13,46% respectivamente.

Se observó que la cepa A2 presentó un crecimiento homogéneo en medio líquido, esta característica es compatible con la tecnología utilizada actualmente en la industria. Estos resultados señalan a la cepa A2 como candidata a ser usada en la producción industrial de etanol sin necesitar realizar cambios tecnológicos. Se observó que las cepas A10 y A11 presentaban un crecimiento de naturaleza floculento en medio líquido.

Se identificaron taxonómicamente los aislamientos A2, A10 y A12 y el análisis de las secuencias obtenidas permitió asignar una identidad del 99% con *Saccharomyces cerevisiae*.

El escalamiento de esta cepa de levadura con alta producción de etanol, aislada naturalmente del medio ambiente es un punto clave en el circuito sustentable orientado a lograr mejoras a nivel tecnológico e industrial.

Desde el punto de vista ambiental al utilizar la cepa *Saccharomyces cerevisiae* A2 se lograría disminuir en un 30% los niveles de vinaza generados pasando de un promedio de  $13 L_{\text{vinaza}}/L_{\text{alcohol}}$  a  $9 L_{\text{vinaza}}/L_{\text{alcohol}}$  lo que otorgaría un importante beneficio ambiental.

Por lo tanto, incrementar el poder fermentativo en por lo menos dos puntos significa: aumentar la capacidad de producción, un menor consumo energético para la destilación y disminuir los litros de vinaza producidos por litro de alcohol.

Lo que hace de la cepa *Saccharomyces cerevisiae* A2, una productora de bioetanol con potenciales beneficios ambientales, energéticos y económicos, para proyectarla a escala Industrial.

## BIBLIOGRAFÍA

Abate, C.M., Rodríguez, R., Santolaya, O., Garro y Callieri D.A. (1985). Electron microscopy of *Zymomonas* sp. y *Zymomonas* sp.-*Saccharomyces* blocs occurring in a continuous upflow floc reactor producing ethanol from sucrose. *VII International Conference on the Global Impacts of Applied Microbiology*, Helsinki. Finlandia.

A. O. A. C. (2000). *Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemist*. EUA.

Balat, M., Balat, H. (2009). Recent trends in global production and utilization of bio-ethanol fuel. *Applied Energy*, 86, 2273–2282.

Basso, L.C., Amorim, H.V., Oliveira, A.J., Lopes, M.L. (2008). Yeast selection for fuel ethanol production in Brazil. *FEMS yeast research*. 10, 1155–1163.

Fitch, W.M., Margoliash, E. (1967). Construction of phylogenetic trees. *Science*. 155, 279-284.

Kotaka, A., Sahara, H., Kondo, A., Ueda, M., Hata, Y. (2008). Efficient generation of recessive traits in diploid sake yeast by targeted gene disruption and loss of heterozygosity. *Applied Microbiology Biotechnology*. 82, 387–395.

Maas, R.H.W., Bakker, R.R., Boersma, A.R., Bisschops, I., Pels, J.R., Jong, E., Weusthuis, R.A., Reith, H. (2008). Pilot-scale conversion of lime-treated wheat straw into bioethanol: quality assessment of bioethanol and valorization of side streams by anaerobic digestion and combustion. *Biotechnology for Biofuels*. 1, 14.



Nishida, O., Kuwazaki, S., Suzuki, C., Shima, J. (2004). Superior molasses assimilation, stress tolerance, and trehalose accumulation of baker's yeast isolated from dried sweet potatoes. *Bioscience of Biotechnology and Biochemistry*. 68,1442-8.

Secretaría de Estado de Gobierno y Justicia - Subsecretaría de Asuntos Técnicos. Tucumán, Argentina. (2009). *Concentración y combustión de Vinazas*. Recuperado de <https://www.yumpu.com/es/document/view/4813853/concentracion-y-combustion-de-vinazas-tucuman>

Pirkov, I., Albers, E., Norbeck, J., Larsson, C. (2008). Ethylene production by metabolic engineering of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Metabolic Engineering* 10, 276–280.

Seixas, M.A. (2007). *Atlas de la agro energía y los biocombustibles de las Américas*. Inter-American Institute for Cooperation on Agriculture.

Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., Kumar, S. (2007). MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24, 1596-1599.

Yamada, Y., Makimura, K., Mirhendi, H., Ueda, K., Nishiyama, Y., Yamaguchi, H., Osumi, M. (2002). Comparison of Different Methods for Extraction of Mitochondrial DNA from Human Pathogenic Yeasts. *Japan Journal Disease*. 55, 122-125.

## CAPÍTULO 8

### EVALUACIÓN DE LA *CHLORELLA SP* Y LA *DUNALIELLA TERTIOLECTA* COMO FUENTE POTENCIAL DE ÁCIDOS GRASOS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL<sup>1</sup>

Data de submissão: 10/06/2022

Data de aceite: 23/06/2022

#### **Dally Esperanza Gáfaró Álvarez**

Ingeniera Química  
cM.Sc Gestión Ambiental y  
Energética en las Organizaciones  
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucía  
Barrancabermeja, Santander, Colombia  
dally.gafaro@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0002-4374-5235>

#### **Mónica María Pacheco Valderrama**

Ingeniera de Alimentos  
M.Sc. Ciencia y Tecnología de Alimentos  
cPh.D. en Gestión  
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucía  
Barrancabermeja, Santander, Colombia  
Monica.pacheco@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0003-2051-4589>

#### **Daniel Augusto Buitrago Ibañez**

Ingeniero Agroindustrial, cM.Sc.  
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucía  
Barrancabermeja, Santander  
daniel.buitrago@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0002-0561-6811>

#### **Yuleisi Tatiana Caballero Hernandez**

Ingeniera Química  
M.Sc. Ingeniería Química  
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucía  
Barrancabermeja, Santander  
yuleisi.caballero@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0002-0877-3142>

#### **Leidy Andrea Carreño Castaño**

Ingeniera Agroindustrial  
Esp. En Gerencia en Salud Ocupacional  
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucía  
Barrancabermeja, Santander, Colombia  
leydi.carreno@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0002-4374-5235>

#### **Ana Milena Salazar Beleño**

Ingeniera Agroindustrial  
Esp. Aseguramiento de la Calidad e  
Inocuidad Agroalimentaria  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucía  
Barrancabermeja  
Santander, Colombia  
ana.salazar@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0001-7592-2550>

<sup>1</sup> El documento fue presentado como ponencia en el VII Congreso Internacional de Ingeniería Agroindustrial. "Agroindustria y Sostenibilidad, Universidad Pontificia Bolivariana, Colombia, 2021.

### **Miguel Arturo Lozada Valero**

Ingeniero Agroindustrial  
Esp. en Agronegocios  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucía  
Barrancabermeja, Santander, Colombia  
miguel.lozada@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0001-8719-7616>

### **Leidy Carolina Ortiz Araque**

Ingeniera Agroalimentaria  
Ph.D en Ciencias Exactas-Área Química  
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucía  
Barrancabermeja, Santander, Colombia  
leidy.ortiz@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0002-8395-0057>

### **Olga Cecilia Alarcón Vesga**

Ingeniera Agroindustrial  
Esp en gerencia financiera  
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucía  
Barrancabermeja, Santander, Colombia  
olga.alarcon@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0002-9689-5122>

### **Sandra Milena Montesino Rincón**

Ingeniera Agroindustrial  
cMSc en Agronegocios  
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucía  
Barrancabermeja, Santander, Colombia  
sandra.montesino@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0002-3437-6976>

### **Cristian Giovanni Palencia Blanco**

Ingeniero Químico  
M.Sc. en Ingeniería Química  
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucía  
Barrancabermeja, Santander, Colombia  
Cristian.palencia@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0001-9912-1061>

### **Nora Milena Ortiz García**

Ingeniera Química  
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ  
Escuela de Ingeniería Agroindustrial  
Km 14 vía Bucaramanga  
Campus Universitario Santa Lucía  
Barrancabermeja, Santander, Colombia  
Nora.ortiz@unipaz.edu.co  
<https://orcid.org/0000-0003-3339-765X>

**RESUMEN:** De forma reciente, las microalgas han demostrado una amplia potencialidad para ser usadas como fuente de biomasa vegetal en la producción de biocombustibles en razón de su facilidad de cultivo, su velocidad de crecimiento y su marcado contenido de ácidos grasos. Esto último, de forma particular, las convierte en una opción viable para la obtención de biodiesel. Sin embargo, la amplia variedad existente de cepas de algas, cada una de ellas dotada de sus propias características y composición, hace necesaria la investigación de cada cepa, para determinar si la misma, de forma particular, puede resultar idónea para la mencionada obtención de biodiesel. En esa medida, este trabajo tuvo como finalidad hacer una revisión bibliográfica con el objetivo de realizar la caracterización de la *Chlorella* sp. y la *Dunaliella tertiolecta* para el desarrollo del tema. Por la naturaleza del proyecto se implementó una metodología del tipo explicativa-descriptiva en donde se realizó un análisis comparativo de múltiples investigaciones previas en cuanto a diferentes parámetros tales como: condiciones de cultivo y métodos de extracción y características fisicoquímicas del aceite obtenido; una vez analizado todo el material es posible afirmar que tanto la *Dunaliella T.* como la *Chlorella* sp resultan idóneas para la producción de biodiesel al presentar ambas tanto disponibilidad

como facilidad de cultivo, ciclos breves de crecimiento de la biomasa, y un adecuado nivel de lípidos de la misma. De igual forma, el aceite obtenido a partir de ambas cumple con los estándares para la obtención de biocombustibles. En cuanto a la idoneidad de una cepa sobre otra, esta viene dada por los parámetros particulares en los que se enfoque la producción. Así, la *Chlorella* sp tiene una mayor facilidad de cultivo, al ser de agua dulce y requerir pocos recursos para su crecimiento, lo que también disminuye los costos, mientras que la *Dunaliella* T. a pesar de requerir mayores cuidados y recursos, tiene un ciclo de crecimiento más corto, aunado a un alto nivel de lípidos totales, lo que incrementa la eficiencia y el volumen de la producción.

**PALABRAS CLAVE:** Microalgas. Biocombustibles. Biomasa vegetal. Lípidos. Cepa.

## EVALUATION AND CHARACTERIZATION OF CHLORELLA SP AND DUNALIELLA TERTIOLECTA AS A POTENTIAL SOURCE OF FATTY ACIDS FOR THE PRODUCTION OF BIODIESEL

**ABSTRACT:** Recently, microalgae have shown great potential to be used as a source of biomass in the production of biofuels, due to their ease of cultivation, their growth speed and their high fatty acid content. The latter, in particular, makes them a viable option for obtaining biodiesel. However, the wide existing variety of algae strains, each one of them with its own characteristics and composition, makes necessary the investigation of each strain, to determine if it, in particular, can be suitable for the mentioned obtaining of biodiesel. To that extent, the purpose of this document is to make a bibliographic review with the objective of characterizing *Chlorella* sp. and *Dunaliella tertiolecta*; for the development of the topic, due to the nature of the project, an explanatory-descriptive methodology was implemented where a comparative analysis of multiple previous researches was carried out regarding different parameters such as: cultivation conditions and extraction methods and physicochemical characteristics of the oil obtained; once all the material was analyzed, it is possible to affirm that both *Dunaliella* T. and *Chlorella* sp. are ideal for the production of biodiesel since both are available and easy to cultivate, have short biomass growth cycles and an adequate level of lipids in the biomass. Likewise, the oil obtained from both of them meets the standards for obtaining biofuels. As for the suitability of one strain over another, this is given by the particular parameters on which the production is focused. Thus, *Chlorella* sp. is easier to cultivate, as it is freshwater and requires few resources for its growth, which also reduces costs, while *Dunaliella* T, despite requiring greater care and resources, has a shorter growth cycle, together with a high level of total lipids, which increases the efficiency and volume of production.

**KEYWORDS:** Microalgae. Biofuels. Plant biomass. Lipids. Strain.

### 1 INTRODUCCIÓN

El crecimiento constante de la demanda de recursos energéticos, aunado al carácter limitado de algunas de las fuentes más utilizadas para la producción de energía, como son los combustibles fósiles, lleva a una búsqueda constante de fuentes alternativas, que puedan satisfacer las necesidades energéticas tanto actuales como futuras. En este

contexto el biodiesel, combustible elaborado a partir de fuentes orgánicas renovables, como la biomasa vegetal, se convierte en una de las principales alternativas para lograr tal objetivo (Gandón & Torres, 2017).

Sin embargo, la eficiencia del biodiesel depende en gran medida de la calidad de las fuentes particulares de biomasa que se utilicen para su fabricación. Lo que ha llevado, a su vez, a una búsqueda constante de materias primas que puedan resultar idóneas para dicho proceso, sin imponer una carga demasiado elevada en el ambiente, o en recursos necesarios para la alimentación (Hoekman, 2012; Ramos et al., 2016).

En esta medida las microalgas, cúmulos de organismos unicelulares que son capaces de realizar la fotosíntesis, generando biomasa a partir de CO<sub>2</sub> y luz solar, se muestran como una de las fuentes más prometedoras para la obtención de ácidos grasos que puedan ser posteriormente transformados en combustible (Castillo, 2017), toda vez que poseen características favorables, como facilidad de cultivo, acelerada velocidad de reproducción, menor necesidad de recursos que los cultivos tradicionales, y una elevada proporción de contenido graso en relación con su volumen total.

A pesar de sus múltiples características positivas, el uso de las microalgas también supone algunos retos, encaminados a garantizar la eficiencia de la producción, y relacionados con la extensa variedad de microalgas existentes. Sobre este particular, se han identificado por lo menos cincuenta mil especies diferentes de algas, cada una de ellas con su propia caracterización, y diferencias en aspectos primordiales, como el índice total de grasas, y el porcentaje de grasa saturada dentro de las mismas (Richmond, 2004).

Por consiguiente, si se desea garantizar la eficiencia de la producción de biodiesel a partir de microalgas, para promover su utilización como fuente de biomasa vegetal, resulta necesario iniciar por la selección de las cepas más adecuadas para este proceso (García et al, 2017), tanto por su rendimiento, como por la calidad de los aceites obtenidos a partir de ellas.

Así las cosas, el presente documento de investigación tiene como fin la caracterización particular de dos cepas de microalgas -*Chlorella Sp* y *Dunaliella Tertiolecta*-, en razón inicial de su amplia disponibilidad y accesibilidad, recurriendo para ello a una metodología de revisión, que compile los resultados de investigaciones previas, centradas en dichas cepas. Se busca, con esto, tanto una caracterización particular de los aceites obtenidos, como una comparación entre los mismos, para determinar de esta forma no solo la idoneidad de cada cepa, sino también las posibles ventajas entre ellas.

## 2 DESARROLLO DEL TEMA

### 2.1 TRANSESTERIFICACIÓN

Si bien el proceso de producción de biocombustibles es bastante extenso, y abarca múltiples fases entre las que se incluyen la selección y tratamiento de la materia prima, y la obtención del aceite base, la transesterificación es la etapa central de dicho proceso (Rodríguez, 2017), y por consiguiente resulta conveniente detenerse en la misma, para revisar sus características.

De manera puntual, la transesterificación consiste en la transformación de los ácidos grasos, y de forma más particular de los triglicéridos, contenidos en un aceite de origen vegetal o animal, en esteres alcohólicos (López et al, 2015). Estos últimos pueden ser usados de forma directa como biocombustible o, de forma más recurrente, mezclados con combustibles fósiles (Rocha et al, 2019).

Dicho proceso de transformación implica, de forma tradicional, la mezcla del aceite con un solvente -tradicionalmente etanol o metanol-, y con un catalizador, que aumente la eficiencia de la reacción, siendo el más recurrente el uso de catalizadores alcalinos, como el hidróxido de potasio o el hidróxido de sodio, aunque existiendo un repertorio amplio de posibilidades, entre los que se incluyen catalizadores ácidos o incluso de tipo bacteriano (García et al, 2018).

Es de señalar, llegado este punto, que de la eficiencia de la transesterificación, es decir, del volumen total de aceite que logre transformarse en combustible, depende de forma principal la eficiencia general del proceso de obtención de biocombustibles, por lo que la selección adecuada de factores como el catalizador y el solvente a utilizar, resulta crucial (López et al, 2015).

### 2.2 MICROALGAS

El término de microalgas se usa como un genérico para designar a un grupo de microorganismos bastante amplio y de diversas características, pero que se caracteriza de forma principal por compartir la capacidad de realizar el proceso de fotosíntesis, lo que les permite transformar la energía solar en biomasa (Álvarez et al, 2021). Suelen habitar de forma principal en los cuerpos de agua, tanto dulce como salada; pero algunas variedades son capaces de subsistir en el suelo.

A diferencia de las plantas terrestres, las microalgas tienen ciclos reproductivos muy cortos, que les permiten multiplicarse a gran velocidad en medios idóneos, incrementando su biomasa en periodos breves, de pocos días, por lo cual su utilización ha

generado un reciente interés en aquellos campos que dependen de fuentes abundantes de biomasa vegetal, como la producción de alimentos, la fabricación de fertilizantes, y los biocombustibles (Hernández & Labbé, 2014).

Sin embargo, y a pesar de sus múltiples ventajas, el cultivo de microalgas también presenta dificultades. De forma la gran variedad de cepas impide que exista un criterio unificado para su cultivo, toda vez que cada una de las variedades disponibles puede requerir un entorno idóneo diferente, que posibilite su adecuado crecimiento (Yuvraj, 2016).

En el campo particular de los biocombustibles, en años recientes las microalgas se han convertido en una fuente de cada vez mayor interés, por la velocidad con la que pueden generar biomasa vegetal con un alto porcentaje de contenido graso, lo que le hace materia prima para la obtención de aceite, que a su vez puede ser utilizado para la obtención de biodiesel mediante el mencionado proceso de transesterificación (Castillo et al, 2017).

## 2.3 BIORREACTORES

El mecanismo más recurrente para el cultivo de las algas es el establecimiento de un biorreactor, es decir, de un sistema que permite controlar en mayor o menor medida los factores que inciden de forma primaria en el crecimiento de las algas, como la incidencia lumínica, la salinidad del agua y la disponibilidad de nitrógeno, en la búsqueda de su optimización, para lograr de esta forma un aumento más acelerado de la biomasa, y un mayor nivel de ácidos grasos en la misma (Ra et al, 2015).

Existen dos tipos primarios de biorreactores, lo de sistema abierto y los de sistema cerrado. Los primeros son aquellos donde las algas son cultivadas en estanques expuestos a las condiciones ambientales del entorno. Su uso se encuentra muy extendido por su facilidad de fabricación y bajo costo; pero no permite un control estricto de las condiciones de cultivo, toda vez que factores externos, como la lluvia o las impurezas del aire, pueden alterar de manera significativa las condiciones del sustrato de cultivo, o incluso contaminarlo. Por lo cual solo se recomienda su uso con aquellas cepas de algas que son altamente resistentes a las variaciones del entorno (Mancilla, 2017).

En contraparte, un biorreactor de ciclo cerrado, a veces también denominado como un fotobiorreactor, es aquel que se encuentra aislado del entorno, y en el que por consiguiente no tienen influencia significativa las condiciones ambientales. En ellos resulta posible controlar de forma estricta los factores que inciden en el crecimiento algal, incluyendo la exposición a la luz. Son más costosos de elaborar, y requieren una participación más activa y constante en el mantenimiento de la idoneidad de las condiciones de crecimiento, pero es posible lograr con ellos un mayor nivel de rendimiento (Camacho, 2018).



Dentro de los principales factores que deben tenerse en cuenta al interior de un biorreactor, sea de sistema abierto o cerrado, se encuentran los nutrientes contenidos en el medio de cultivo, tales como nitrógeno, fósforo y otros micronutrientes, en conjunto con los parámetros de cultivo, entre los que pueden citarse la temperatura, el PH del agua, y la previamente mencionada inconstancia lumínica (Serrano, 2012).

## 2.4 SELECCIÓN DE CEPAS DE MICROALGAS

Tal como se mencionó previamente, existen una amplia variedad de especies de microalgas, muchas de las cuales han demostrado viabilidad para ser utilizadas como fuentes de biodiesel, en razón de indicadores particulares como el alto contenido de ácidos grasos, su resistencia a las condiciones ambientales o su velocidad de reproducción. De igual manera factores de tipo logístico, como el costo de mantenimiento o la disponibilidad de la cepa, influyen de manera significativa en la selección de las cepas (Mata et al, 2010).

De lo anterior, y dado que el uso de microalgas como fuente de ácidos grasos para la obtención de biodiesel tiene ya más de una década de estar siendo investigado, en la actualidad ya se han delimitado un grupo particular de especies que, por sus características, se han convertido en las fuentes más recurrentes de biomasa para el mencionado fin, entre las que pueden señalarse, de manera general, cepas como la *Neochloris oleoabundans*, la *Scenedesmus armatus*, la *Dunaliella tertiolecta* y la familia de las *Chlorellas* (Fernández, 2012; Braida, 2016).

En el presente documento se hará énfasis de manera particular en las mencionadas *Dunaliella Tertiolecta* y *Chlorella Sp*, que se escogen siguiendo los criterios primarios de alto contenido de ácidos grasos (Pinglo y Valencia, 2016), y amplia disponibilidad de mercado, que facilita su utilización (González et al, 2019).

Así las cosas, la *Dunaliella tertiolecta* es un alga verde, de carácter unicelular, que crece de forma principal en entornos marinos, y por consiguiente se encuentra adaptada a condiciones de muy alta salinidad. Se caracteriza por su muy elevado nivel de ácidos grasos, que ronda el 50% de su biomasa total, en un porcentaje bastante estable, y por su resistencia a las condiciones ambientales, por lo cual puede ser utilizada en biorreactores tanto de tipo cerrado como abierto (Pinglo y Valencia, 2016).

Por su parte la *Chlorella SP*, es una familia de algas verdes unicelulares, que se encuentran adaptada a entornos de muy poca salinidad -agua dulce-. Existen un amplio número de subespecies, siendo la más recurrente la *Chlorella Vulgaris*, que en su generalidad son consideradas aptas como fuentes de biomasa, sin embargo, su porcentaje de aceite varía de forma considerable entre las diversas cepas de la familia. De igual forma,

su eficiencia fotosintética, superior a la de la generalidad de la vegetación terrestre, ha hecho que sea considerada como una fuente viable de alimento y de biocombustible.

Así, haciendo una comparativa de las características básicas de las dos cepas tenemos que:

Tabla 1. Características generales.

Característica	Dunaliella	Chlorella
Tipo de alga	Verde, Monocelular.	Verde, Monocelular.
Entorno	Agua salada	Agua dulce
Porcentaje de lípidos	Cercano al 50%	Varía entre el 25% y el 50%.
Velocidad de crecimiento	Elevada	Elevada
Cultivo	Requiere pocos cuidados, es resistente al entorno.	Requiere pocos cuidados, es resistente al entorno.
Ventajas particulares	Porcentaje estable y elevado de lípidos.	Elevada eficiencia fotosintética.
Disponibilidad	Extensa, bastante usual en los entornos marinos.	Muy extensa, es uno de los tipos más comunes de algas verdes.

Fuente: elaboración propia a partir de Fernández (2012), Braida (2016), Pinglo y Valencia (2016), y Sánchez (2016).

Como puede verse del comparativo, las dos cepas seleccionadas tienen perfiles generales muy similares, en los que la principal diferencia viene dada por el nivel de salinidad del entorno de cultivo. A priori, además, puede señalarse que la principal ventaja de la *Dunaliella* es su elevado nivel de lípidos, que se mantiene constante, mientras que a nivel económico la disponibilidad y los bajos costos de cultivo se ponen a favor de la *Chlorella*.

Sin embargo, para un contraste más detallado de sus características, resulta necesario comparar las condiciones idóneas de cultivo de ambas cepas, que vienen a determinar en gran medida la complejidad y los costos de su utilización como biomasa para la obtención de ácidos grasos (Castillo, 2016). De igual forma, es necesario comparar su ritmo de crecimiento, que también resulta de gran relevancia, ya que determina la longitud del ciclo de producción.

Respecto de este particular, y en el caso particular de la *Chlorella SP*, Nguyen (2019) procedieron a su multiplicación en agua dulce, obtenida de una fuente natural no clorada, usando para ello un sistema cerrado –tanque–, siendo las únicas regulaciones especiales el mantenimiento de una temperatura estable de 25° C, y el control de la intensidad lumínica de 2000 lux, en periodos alternos de 14 horas de luz y 10 de oscuridad. No se añadieron fertilizantes al agua, al ser un experimento de un único ciclo, y se logró el máximo crecimiento en el día 16.

En un experimento similar, Mathimani et al (2016) establecieron una temperatura idónea de 27 grados, y un pH del agua de cultivo de 9, manteniendo ciclos similares de luz y oscuridad, pero sometiendo intencionalmente a las algas a un bajo nivel de nitrógeno. Como consecuencia, el ciclo de cultivo se alargó a 20 días, pero el nivel total de lípidos de la biomasa obtenida fue ostensiblemente más alto -4%-, en relación con el cultivo tradicional.

Por su parte, y en lo referente a la *Dunaliella*, Pinglo y Valencia (2016), quienes trabajaron de forma extensa con dicha cepa para potenciar su crecimiento, y su potencial graso, crearon un proceso de dos etapas, en un biorreactor cerrado, usando como base para el cultivo agua de mar a 18°C, 0.5 g de NaNO<sub>3</sub> por litro, 1.0 ml de solución de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> por litro, 0.010 g vitamina B12, 0.005 g Biotina. El agua de mar tiene una molaridad aproximada de 0.5 M de NaCl, es decir 29 g NaCl/litro. El pH óptimo se encuentra en el rango entre 8.2 y 8.7. Estas condiciones se mantienen durante tres días, en los cuales se mantiene la iluminación de forma permanente, sin pausas de oscuridad. Esta primera fase tiene como objetivo acelerar el crecimiento del alga.

Posteriormente, después del día 3 se aumenta la temperatura del agua a 25°C y se disminuye la concentración de NaNO<sub>3</sub> a 0.05g por litro y se corta la adición de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. También se debe aumentar la molaridad de NaCl a 58 gr/litro. En cuanto a la iluminación, se pasa a ciclos alternos de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Esta segunda etapa tiene como fin aumentar el porcentaje de lípidos en la biomasa.

Según los autores señalados, este proceso especial, aunque requiere de un mayor control y cuidado que la simple reproducción de la *Dunaliella* en condiciones similares a las naturales, acelera la velocidad de crecimiento, llevándola un ciclo total de solo 6 días, al tiempo en que garantiza un nivel maximizado de lípidos, manteniéndolo en los valores superiores esperados para la cepa (Pinglo y Valencia, 2016).

Puede verse entonces que, ateniéndose a lo expuesto previamente, y en lo referente al ciclo cultivo, la *Dunaliella* tiene la ventaja, ya que requiere menos de la mitad del tiempo de reproducción de la *Chlorella*. Sin embargo, si la velocidad no es un imperativo, esta última le aventaja en facilidad de cultivo, y menores requerimientos para su cuidado. El no tener que salar el agua, además, disminuye igualmente los costos.

Una vez completado el ciclo de cultivo, resulta indispensable la cosecha de la biomasa, para separarla del líquido usado como medio de sustento. Existen una amplia variedad de mecanismos para tal recolección, entre los que se encuentran:

Tabla 2. Métodos de extracción de biomasa.

<b>Método</b>	<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
Centrifugación	Rapidez. Sencillez. Eficiencia.	Alto costo. Daño celular. Elevado consumo energético.
Floculación	Sencillez. Bajo daño celular. Bajo costo.	Toxicidad.
Filtración por membrana	Reutilización de agua. Bajo gasto energético. Sin daño celular.	Baja velocidad. Ensuciamiento y obstrucción de filtros.
Sedimentación	Eficiente. Bajo costo. Bajo gasto energético.	Muy baja velocidad. Alta demanda de tiempo.
Campos magnéticos.	Eficiente. Alta velocidad.	Alto costo energético. Requiere infraestructura particular.

Fuente: elaboración propia a partir de Ahmad (2014) y de Mathimani & Mallick (2019).

El siguiente paso, posterior al cultivo y recolección, es la extracción del aceite, de la cual existen múltiples metodologías aplicables, siendo la más usual la centrifugación y el prensado de las algas para extraer los ácidos grasos contenidos en la biomasa, pero existiendo muchas otras tecnologías experimentales, como la extracción mediante el uso de campos magnéticos o de ultrasonidos, que tienen un mayor nivel de eficiencia, aunque también implican un mayor costo y un incremento de la complejidad, aunque el mencionado incremento del rendimiento puede justificar su utilización (Mathimani y Mallick, 2018).

En lo referente al particular del presente documento de investigación, la generalidad de las investigaciones revisadas recurren al método tradicional de secado por centrifugación, prensado para la extracción del aceite, y filtración del mismo, para retiro de los posibles residuos, con la excepción de un caso de separación mediante impulsos eléctricos (Pinglo y Valencia, 2016), por lo cual no se hará especial énfasis en los medios de extracción, si bien el tema resulta de marcado interés para el campo del biodiesel, y por sí mismo configura un tema relevante de investigación.

Finalmente, para completar la exposición de resultados, resulta indispensable la revisión de las características del aceite obtenido a partir de las dos especies de algas seleccionadas, con el fin de determinar tanto su viabilidad individual, como la posible ventaja de la elección de una cepa sobre otra. En este punto, resulta de gran utilidad recurrir a la investigación realizada por Tejada et al. (2015) quien hizo un detallado trabajo de comparación entre diversas cepas de algas, incluyendo las variedades mencionadas:

Tabla 3. Caracterización de los aceites de microalgas.

Parámetro	Dunaliella	Chlorella
Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	0.898	0.893
Índice de acidez	0.513	0.4654
Humedad	0.043	0.055
Punto de humo	50 °C: Olor mantecoso, sin humo. 100 °C: Olor mantecoso (menor), sin humo 150 °C: Leve presencia de humo (color claro) 200 °C: Leve presencia de humo color amarillento	50°C: Olor mantecoso, sin humo. 100°C: Olor mantecoso (menor), sin humo 150°C: Leve presencia de humo (color claro) 200°C: Leve presencia de humo color amarillento.
Índice de refracción	1.492	1.475
Índice de peróxido	3.963	3.744
Índice de yodo	164.35	126.79

Fuente: Tejada et al. (2015)

Como puede evidenciarse a partir del comparativo, salvo por el índice de yodo, no existen grandes diferencias entre los diversos parámetros revisados, lo que señala que ambos aceites tienen un perfil bastante similar, que en ambos casos resulta idóneo para la producción de biodiesel (Tejada et al, 2015; Pinglo y Valencia, 2016; Nguyen, 2019).

### 3 CONCLUSIONES

Revisado todo el material, es posible concluir que tanto la *Dunaliella T.* como la *Chlorella Sp* resultan idóneas para la producción de biodiesel al presentar ambas tanto disponibilidad como facilidad de cultivo, ciclos breves de crecimiento de la biomasa, y un adecuado nivel de lípidos de la misma. De igual forma, el aceite obtenido a partir de ambas cumple con los estándares para la obtención de biocombustibles.

En cuanto a la idoneidad de una cepa sobre otra, esta viene dada por los parámetros particulares de los que se enfoque la producción. Así, la *Chlorella* tiene una mayor facilidad de cultivo, al ser de agua dulce y requerir pocos recursos para su crecimiento, lo que también disminuye los costos, mientras que la *Dunaliella*, a pesar de requerir mayores cuidados y recursos, tiene un ciclo de crecimiento más corto, aunado a un alto nivel de lípidos totales, lo que incrementa la eficiencia y el volumen de la producción.

### 4 AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos al grupo de investigación Grupo de investigación de innovación, desarrollo tecnológico y competitividad en sistemas de producción agroindustrial (GIADAI)

y grupo de trabajo de la Escuela de Ingeniería Agroindustrial del Instituto Universitario de la Paz.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ahmad, A. (2014). Comparison of harvesting methods for microalgae *Chlorella* SP and its potential use as biodiesel feedstock. *Environmental Technology* 35(17), 2244-2253.
- Álvarez, A. Weyers, S., Goemann, H., Peyton, B. & Gardner, R. (2021). Microalgae, soil and plants: A critical review of microalgae as renewable resources for agriculture. *Algal Research* 1 (54). <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102200>
- Camacho, A. (2018). Control automático de concentración de gases en un biorreactor para el cultivo de microalgas. *Compendio de Investigación Academia Journals Chetumal* 2018, 324-329. <https://ciateq.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1020/335/1/Control%20automatico%20de%20concentracion%20de%20gases.pdf>
- Braida, V. (2016). Diseño de procesos para la obtención de biocombustibles a partir de microalgas (Proyecto de pregrado). Universidad ORT de Uruguay.
- Castillo, O., Torres, S., Núñez, C., Peña, V., Herrera, C. & Rodríguez, J. Producción de biodiésel a partir de microalgas: avances y perspectivas biotecnológicas. *Hidrobiológica* 27(3), 337-352.
- Fernández, L. (2012). Producción de combustibles a partir de microalgas. *Revista Ra Ximhai* 8(3), p. 101-115.
- Gandón, J. & Torres, Y. (2017). Caracterización de un biocombustible obtenido a partir de aceite vegetal de desecho. *Tecnología Química* 37 (2), 237-248.
- García, J., Pavía, M., García, T., & Serrano, A. (2017). Principios de Biotecnología y Bioingeniería en el cultivo de microalgas. *Nereis. Revista Iberoamericana Interdisciplinar de Métodos, Modelización y Simulación* 1(9), 115-130.
- García, S., Labrada, B., Lafargue, F. & Díaz, M. (2018). Cinética de la reacción de transesterificación para la producción de biodiesel a partir del aceite de *Jatropha curcas* L. *Tecnología Química* 38(2), 281-297.
- González, Y., Rodríguez, P., Sánchez, Y., & Candido, C. Diseño y simulación de un fotobiorreactor para el cultivo de la microalga *Chlorella Vulgaris*. *Revista Ingeniería Mecánica* 22(3), 169-177.
- Hernández, A. & Labbé, J. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de biología marina y oceanografía* 49(2), 157-173. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572014000200001>
- López, L., Bocanegra, J. & Malagón, D. (2015). Obtención de biodiesel por transesterificación de aceite de cocina usado. *Ing. Univ.* 19 (1), 155-172. doi:10.11144/Javeriana.iyu19-1.sprq
- Mancilla, A. (2017). Control automático para un biorreactor de algas (proyecto de pregrado). Instituto Tecnológico Nacional de Tuxtla Gutiérrez. <http://repositoriodigital.tuxtla.tecnm.mx/xmlui/bitstream/handle/123456789/1421/MDRPIECA2017031.pdf>
- Mata, T., Martins, A., & Caetano, N. (2010) Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 14, pp. 217-232.

Mathimani, T. Beena, B. & Ranjith, R. (2016). Evaluation of microalga for biodiesel using lipid and fatty acid as a marker - A central composite design approach. *Journal of the Energy Institute* 89(3), 436-446. <https://doi.org/10.1016/j.joei.2015.02.010>

Mathimani, T. & Mallick, N. (2018). A comprehensive review on harvesting of microalgae for biodiesel – Key challenges and future directions. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 91, 1103-1120. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.04.083>

Nguyen, T. et al. (2019). Evaluating the potential of green alga *Chlorella* sp. for high biomass and lipid production in biodiesel viewpoint. *Biocatalysts and Agricultural Biotechnology* 17, 184-188. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.11.011>

Pinglo, I. & Valencia, M. (2016). Proyecto de Pre-Factibilidad de Instalación de una Planta de Producción de Biodiesel a Partir de Algas Marinas (Proyecto de pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Ra, C., Chang, K., Kyoung, K., & Choul, L. (2015). Cultivation of four microalgae for biomass and oil production using atwo-stage culture strategy with salt stress. *Renewable Energy* 80, 117-122. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.02.002>

Ramos, F., Díaz, M. & Villar, M. (2016). Biocombustibles. *Ciencia Hoy* 25 (147), 69-73.

Rezania, S., Oryani, B., Park, J., Hashemi, B. & Kumar, K. (2019). Review on transesterification of non-edible sources for biodiesel production with a focus on economic aspects, fuel properties and by-product applications. *Energy Conversion and Management* 1 (201). <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2019.112155>

Rocha, J., Llanes, E., Celi, S. & Peralta, D. (2019). Efecto de la Adición de Biodiésel en el Rendimiento y la Opacidad de un Motor Diésel. *Información Tecnológica* 30(3), 137-146. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642019000300137>

Rodríguez, M. (2017). Desarrollo de un sistema de control predictivo de la temperatura en un reactor de transesterificación (tesis de Maestría). Universidad Católica de Chile. [http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/20.500.12404/9404/RODRIGUEZ\\_MARIELA\\_SISTEMA\\_CONTROL\\_TEMPERATURA\\_TRANSESTERIFICACION.pdf](http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/20.500.12404/9404/RODRIGUEZ_MARIELA_SISTEMA_CONTROL_TEMPERATURA_TRANSESTERIFICACION.pdf)

Sánchez, L. (2016). Estudios sobre la utilización de biomasa algal como materia prima alternativa para la producción de bioetanol (Tesis doctoral). Universidad Nacional de Mar del Plata.

Serrano, L. (2012). Estudio de cuatro cepas nativas de microalgas para evaluar su potencial uso en la producción de biodiesel (tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/10636/299883.2012.pdf>

Tejada, L. et al. (2015). Caracterización y perfil lipídico de aceites de microalgas. *Revista Facultad de Ingeniería* 24(39), 43-54. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=413940776005>

Yuvraj, Vidyarthi, A. & Singh, J. (2016). Enhancement of *Chlorella vulgaris* cell density. *Korean Journal of Chemical Engineering* 33(8), 2396-2405. <https://doi.org/10.1007/s11814-016-0087-5>



# CAPÍTULO 9

## A TEMPORARY IMMERSION SYSTEM (TIS) BIOREACTOR USED FOR THE IN VITRO PROPAGATION OF *PRUNUS* AND *PYRUS* ROOTSTOCKS

Data de submissão: 05/05/2022

Data de aceite: 12/05/2022

### Carlos Rolando Mendoza

Plant in Vitro Culture Laboratory  
Fruticulture Program  
IRTA Fruitcentre  
PCiTAL-Gardeny, 25003  
Lleida, Spain

### Ramon Dolcet-Sanjuan<sup>1</sup>

Plant in Vitro Culture Laboratory  
Fruticulture Program  
IRTA Fruitcentre  
PCiTAL-Gardeny, 25003  
Lleida, Spain

<https://orcid.org/0000-0002-5817-7605>

**ABSTRACT:** A new type of bioreactor, which has been patented (Dolcet-Sanjuan and Mendoza, 2018; Patent Pending ES201831164), is described herein and the results on the propagation of fruit tree rootstocks are detailed. The “GreenTray” (GT) bioreactor based on the temporary immersion system (TIS) principle, is a mid-sized unit reactor, from 1 to 4L capacity, with the distinction in the fact that, firstly, transforms glass, transparent and commercial flasks into a bioreactor; secondly, the flask containing the shoots is placed in horizontal position, and

more importantly, its concept allows for the extraction and cut of all the shoots at once, making more efficient the explants culture and shoot extraction out of the bioreactor. As described here, the GT bioreactor consists of two flasks, one for the shoot explants and the other for the liquid culture media, joined through a perforated adaptor piece that permits the flow of the liquid media from one vessel to the other, driven by pressured air and gravity. The structural simplicity and the modular and independent nature of the bioreactor, helps its operation and reduces the amount of hand labor required for shoot transfers, thereby reducing the cost of the whole micropropagation process, when compared with other commercial TIS bioreactors or with the cultures in vessels with semisolid media. The system has been applied to propagate RootPack-20® (RP-20), a commercial *Prunus spp.* rootstock, and “Py170”, an experimental *Pyrus spp.* hybrid rootstock. Compared with the conventional culture in semisolid medium, GT bioreactor improves by a 10% the multiplication rates of both rootstocks, and more significantly it improves shoot length by a 33% and 26%, and shoot fresh weight by a 21.9% and 30%, for RP-20 and “Py170” respectively. Shoot cultures produced with the GT bioreactor had better leaf development and less hyperhydricity, therefore improved shoot quality, than with the conventional cultures in semisolid media. Culture time required for

<sup>1</sup> Corresponding author: [ramon.dolcet@irta.cat](mailto:ramon.dolcet@irta.cat)

plantlet development was reduced, hence costs to produce high quality commercial plants was 0.11€/plant with the GT bioreactor, significantly less than with the semisolid agar containing media.

**KEYWORDS:** “GreenTray”. GT bioreactor. IRTA-reactor. Temporary immersion system. TIS. Liquid culture. In vitro plant micropropagation.

## 1 INTRODUCTION

Micropropagation has great commercial impact and potential due to the speed of propagation, the high quality of plants that are obtained and the possibility of producing plants free of pathogens (Steward et al., 1970; Ammirato, 1985). Traditional micropropagation methods on semisolid media are limited by the high labor cost. In vitro culture systems based on liquid culture medium are considered to be more effective than culture systems in semisolid medium due to better accessibility of medium components by the plant tissue (Martínez, 2019), ease handling, and possibility of better scaling up and automation. However, as direct liquid immersion of some plant material causes vitrification or hyperhydricity, and sometimes inhibits growth and development of the plant material, TIS bioreactors have emerged as a workable alternative, capturing the benefits of liquid medium and semisolid support. In comparison with both solid and liquid culture systems, TIS bioreactors have been shown to offer technological and quantitative benefits such as higher multiplication rates and reduction of production cost (Etienne, H. and Berthouly, 2002). or explant quality improvements (Tisserat and Vandercook, 1985; Aitken-Christie and Davies, 1988; Etienne and Berthouly, 2002).

The development of propagation systems to produce affordable certified, true-to-type and disease-free fruit tree rootstocks or self-rooted varieties, is a worldwide objective in particular in the Mediterranean areas, such as in Catalonia, leader in the production of stone and pit fruits (MAPAMA, 2016). In order to meet these market demands, it is proposed to develop a technology that maximizes productivity by optimizing the use of resources, guaranteeing the quality of production and innovating in the design.

Unlike traditional micropropagation, bioreactors use liquid media based on the principles of temporary immersion (TIS). This principle is simply immersing the plant material into liquid growth media for short periods of time, sufficient for the plant to uptake nutrients. TIS technology profits from the advantages of liquid cultures, while growing the plants under high gas- exchange environments. Bioreactors have been considered as a promising alternative to the semi-solid culture system. However, there are no profitable bioreactors available for commercial production of fruit tree rootstocks.

There are various TIS bioreactor conformations, which have been described by Georgiev and Schumann (2014). From those, Rita® and Setis® are the most widely used in commercial and research propagation, although they need improvements to facilitate plant manipulation and reduce hyperhydricity in some plant materials. The GT bioreactor described herein, in comparison with the commercial ones, is cheaper, easy to assemble, occupying materials that can be found anywhere in the World. Its adaptability, practicality and low cost make it a good option to make escalations for mass production of plants and to carry out research works.

Herein it's described and evaluated the performance of the GT bioreactor, developed and patented by IRTA, previously called "IRTA-reactor" (Mendoza and Dolcet-Sanjuan, 2017) in comparison with the conventional in vitro culture in vessels. with semisolid medium, through the micropropagation process of the commercial *Prunus spp.* rootstock "RootPack-20®" (RP20), and a new *Pyrus spp.* hybrid pear rootstock "Py170", which is a clonal selection of an IRTA breeding program (Clavería and Asin, 2012).

## 2 MATERIALS AND METHODS

### 2.1 PARTS, ASSEMBLY, AND LIQUID FLOW IN THE GTBIOREACTOR

Two commercial glass flasks are adapted to be used as two different parts of the bioreactor. A first one, placed in its upright position, containing the liquid medium. The other, in horizontal position, having the explants inside through the whole growth process. The reactor is assembled using the following parts (Figure 1): one 2 liter and one 850 mL glass flask and their corresponding metallic lids; four hose plastic fitting; two 0.2 µm PTFE Midisart® 2000 air filters; one 6 mm external diameter glass elbow; 6 mm external diameter silicone hose to connect all parts; one 6 mm external diameter glass tubing; a stainless steel 2-mm-opening mesh and a stainless steel 15-mm-opening grid. These parts are assembled as indicated in Figure 2 to get one bioreactor unit. The bioreactor, without the medium, was autoclaved at 120°C during 30 minutes, and sterile liquid culture media poured in the vertical 850 mL glass flask after opening it under a flow hood.

Figure 1. Parts of the bioreactor: (1) metallic cap with 2 hose plastic fittings for the 2-liter-capacity glass flask (2); (3) Metallic cap with 2 hose plastic fittings for the 850-mL-capacity glass flask (4); (5) 0.2  $\mu\text{m}$  PTFE Midisart® 2000 filter; (6) Glass elbow; (7) Silicone hose; (8) glass tubing; (9) stainless steel 2-mm-opening mesh; and (10) 15-mm-opening stainless steel grid.

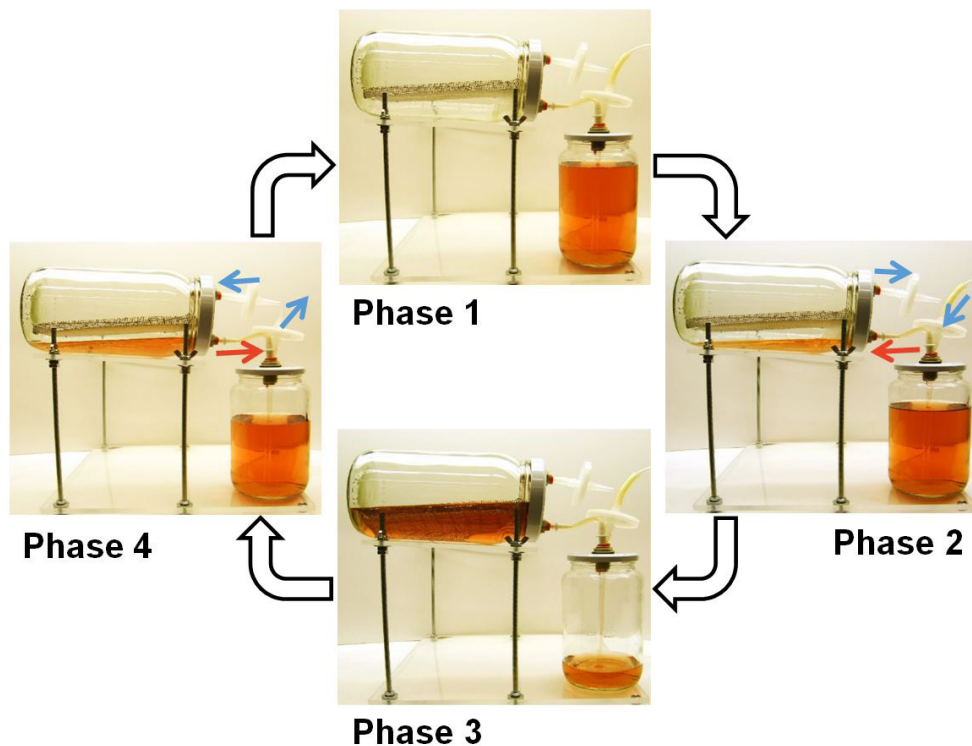


Figure 2. Assembly of the bioreactor.



The liquid medium passes from the first flask to the second flask using air under pressure. The incoming air is supplied by a 4 bar line and passes through a 0.2  $\mu\text{m}$  Millex-FG50PTFE Midisart® 2000 filter (Merck KGaA, Darmstadt, Germany), to avoid contamination (Figure 3). The explants were placed in a stainless steel grid which is inserted into the horizontal flask. The immersion frequencies were controlled by a timer that kept the explants in contact with the culture medium for 1 minute, every 3 hours.

Figure 3. Liquid media (↔) and air (↔) flow in the bioreactor. (Phase 1) media rests in the vertically oriented 850-mL-capacity glass flask, until pressured air pushes the media to the horizontally oriented 2-Liter-capacity glass flask (Phase 2), while air gets out of the latter. Pressured air stops flowing (Phase 3) when stainless steel mesh and grid, holding the explants, are completely immersed in the liquid medium. Media returns by gravity to the original flask moving the air out, while atmospheric air flows into the horizontally oriented flask.



## 2.2 PLANT MATERIALS

Rootstocks of commercial interest in fruit production were used in this study. A *Prunus* rootstock marketed by the industry, named Rootpac®20 (RP-20) (Agromillora Group), and a *Pyrus* rootstock, named “Py170”, under agronomic evaluation by IRTA., RP-20 is a natural hybrid between the “Myrobalan” plum (*Prunus cerasifera Ehr.*) and an almond (*Prunus dulcis*) (Pinochet et al., 2011), can be used as a rootstock for Japanese plums,

peaches, nectarines, almond and some apricot cultivars (Pinochet, 2010). The Py170 is a hybrid between “OH11” (Simard and Michelesi, 2002) and *Pyrus amygdaliformis*, which is in the last phase of selection in an IRTA breeding program, oriented to have tolerance to iron chlorosis and reduced vigor. Shoot tip cultures of both clones were established in vitro as follows.

### 2.3 ESTABLISHMENT OF SHOOT IN VITRO CULTURES

New actively growing shoots, collected from greenhouse potted RP-20 plants or from field grown Py170 trees, were used as source of explants. Explants were 1 to 2-cm-long nodal segments with one to three axillary buds each. Explants were washed for 1 h in stirring distilled water, and surface-sterilized in 70% ethanol for 1 minute, followed by 0.5 % (w/v) NaOCl with 0.1 % (v/v) Tween-20 for 10 minutes. Each explant was rinsed individually three times with sterile distilled water, trimmed, and cultured in a tube containing 15 mL of MS with 5  $\mu$ M BA. Shoots that appeared uncontaminated were screened further for bacterial contamination. Explants that showed bacterial growth on this medium were discarded (Iglesias et al., 2004).

### 2.4 CULTURE MEDIA

Micropropagation in flasks with semisolid agar-containing media were used as the standard culture conditions described earlier (Iglesias et al., 2004). MS (Murashige and Skoog, 1962) supplemented with 3% sucrose and 5mM 6-Benzylaminopurine (BAP), pH to 5.7, agar (7 g/L), autoclaved at 121 ° C for 20 minutes, The same MS+5BAP media, but without agar, was used in the GT bioreactor culture system. . In both culture systems, explants were kept during 3 weeks in MS+5BAP medium, and then moved to MS, without BAP medium, to promote shoot elongation for an additional 3-week-long period.

### 2.5 GREEN TRAY VERSUS CONVENTIONAL IN VITRO CULTURE CONDITIONS

Nodal segments, 1 to 2-cm-long, derived from shoot tip cultures in the multiplication phase, were used as explants to initiated new cultures in the GT bioreactor or in glass flasks. 70 explants per bioreactor and 10 explants per flask, with three replicates per clone, were used. All cultures were kept at 26 $\pm$ 1°C under a photoperiod of 16h of cool-white fluorescent light (70  $\mu$ mol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>), and 8h darkness.

The TIS bioreactor was set at an immersion frequency of 1 minute every 6 hours. After 3 weeks of culture, the culture medium in the bioreactors was replaced with fresh

medium of the same composition but without BAP. In the case of flasks, 50ml of the same medium was dispensed to each flask.

## 2.6 SHOOT MULTIPLICATION EVALUATION

In the case of flasks, with semisolid media, shoot clumps were moved out with the help of forceps, and in the case of the GT bioreactor, were all moved at once by pooling out the tray holding the whole plant material. Individual shoots were separated from the clumps with the help of scapel and forceps. The number of new shoots from each initial explant, their length, fresh weight, and multiplication rate was determined for each container. Additionally, the incidence of vitrification or hyperhydricity was scored for each shoot clump.

## 2.7 ACCLIMATION TO SOIL IN THE GREENHOUSE

Ninety shoots per clone, 4 to 10-cm-long, were removed from the GT bioreactors, rinsed with tap water and planted in trays with 28 wells, of 90-mL-capacity each, containing a mixture peat moss and vermiculite (2:1, v:v). The peat moss Pro Start (Castillo Arnedo S.L.) contained perlite (10%). Plantlets were acclimated to low atmospheric humidity was done gradually from 100 to 60%, in a 3-week-long period, in which soil temperature was kept above 20°C, and air temperature of 26-30°C. The photoperiod was supplemented to 14h light, with LED light (AlternativaLED, Valencia, Spain) to 250  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

Another ninety shoots per clone were treated with 1000 ppm indole-3-butyric acid (IBA) and planted in the same conditions.

The percent survival of acclimated plantlets was determined.

## 2.8 COST EVALUATION AND OCCUPIED IN VITRO GROWTH CHAMBER AREA

The needed in vitro growth chamber area ( $CA_b$ ) and the cost to produce new shoots ( $CS$ ) were separately analyzed for the micropropagation in flasks or in the bioreactor.

The occupied chamber area per shoot produced ( $CA_b$ ) was calculated by dividing the area, in  $\text{cm}^2$ , needed to hold each container ( $Ab$ ) by the number of new explants produced ( $NE$ ).

$$CA_b = \frac{Ab}{NE}$$



The cost to produce each plant, in € per plant (*CP*) was obtained after adding the cost of each container (*CC*), the costs of all the culture media used (*CM*), and the workforce cost needed to complete the culture process (*CWF*), and dividing the sum by the number of new explants produced (*NE*).

$$CP = \frac{CC + CM + CWF}{NE}$$

## 2.8 STATISTICAL ANALYSIS

The experiment was set up as a completely randomized design, with two culture systems, two plant materials, and three containers per treatment. Data was statistically analyzed with JMP Statistics software (version 13.1.0, SAS Institute Inc., Cary, NC). Analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test ( $p \leq 0.05$ ) was performed.

## 3 RESULTS

### 3.1 ASSEMBLY AND OPERATION OF THE GREEN TRAY BIOREACTOR

The principal advantage of the GT bioreactor operation is the facility to move the plant material out of the recipient, or placing it back into it after is being cut, since it is held in a tray easily moved with a pair of forceps. This is the main claim of the patented bioreactor (Dolcet-Sanjuan and Mendoza, 2018; Patent Pending ES201831164). This operation is always done with the recipient in horizontal position, avoiding placing the hands above or close to the flask entrance, and this way reducing the possibilities to contaminate the cultures.

Other advantages of the GT bioreactor are (1) the high illumination of the plant material, since the lid is not shading it, (2) the elimination of all the medium and condensed water in the recipients walls closer to the leaves, since the flask surface is curved and the liquid moves to the bottom where it returns by gravity to the original, and (3) atmospheric air renewal in the recipient holding the plant material each time there is a movement of the liquid media. Such GT bioreactor characteristics enhance leaf development, shoot elongation, and avoids vitrification or hyperhydricity of the plant tissues observed with the plant materials used herein, when cultured in flasks with semisolid media or in other TIS bioreactors.

### 3.2 SHOOT PROLIFERATION IN THE GREEN TRAY BIOREACTOR VERSUS CONVENTIONAL CULTURES IN FLASKS

As shown in Figure 4 and 5, leaf number and stem thickness of shoots produced from both plant materials were comparable after culture in the two culture systems. Although differences in the multiplication rates were observed, after the 6-week-long culture process, no statistically significant differences were found, for Py170 or RP-20, between cultures in flasks with semisolid agar-containing medium or in the temporal immersion system with the GT bioreactor (Table 1). However, significant statistical differences were observed on the shoot length and the fresh weight per shoot between both culture systems. Both rootstocks, Py170 and RP-20, were 35% and 49% longer respectively, when grown in the GT bioreactor than in flasks with semisolid media. This was in concordance with a 43% and a 28% increase in the shoot fresh weight per new shoot, for Py-170 and RP-20 respectively.

Figure 4. Shoot growth after 42 weeks of culture in conventional semisolid agar-containing media (A and C), and culture in the bioreactor (B and D), of RP-20 (A and B) and Py170 (C and D) clones.

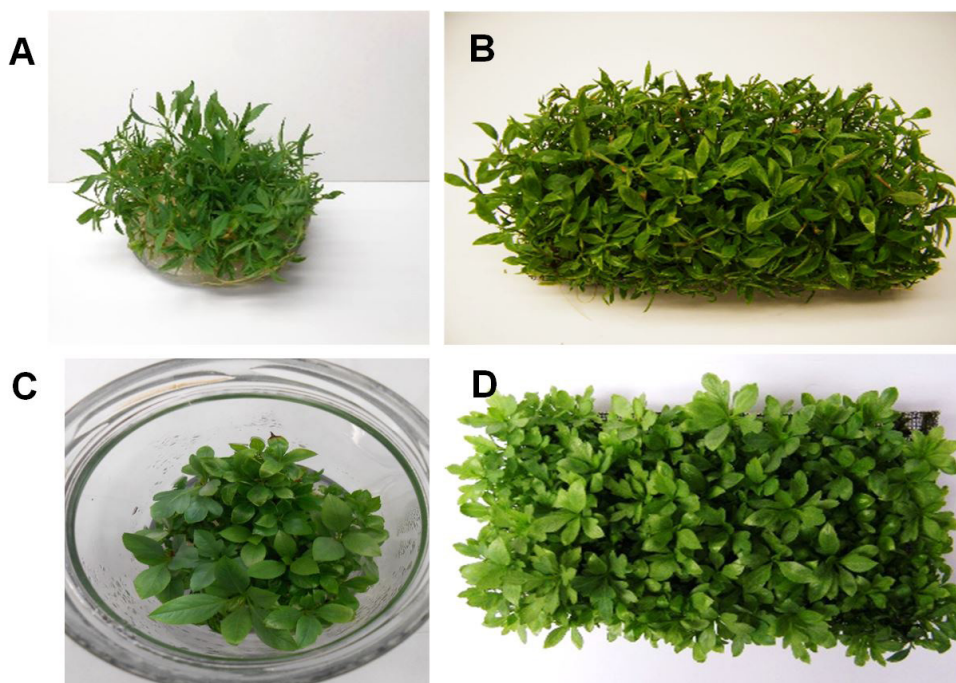
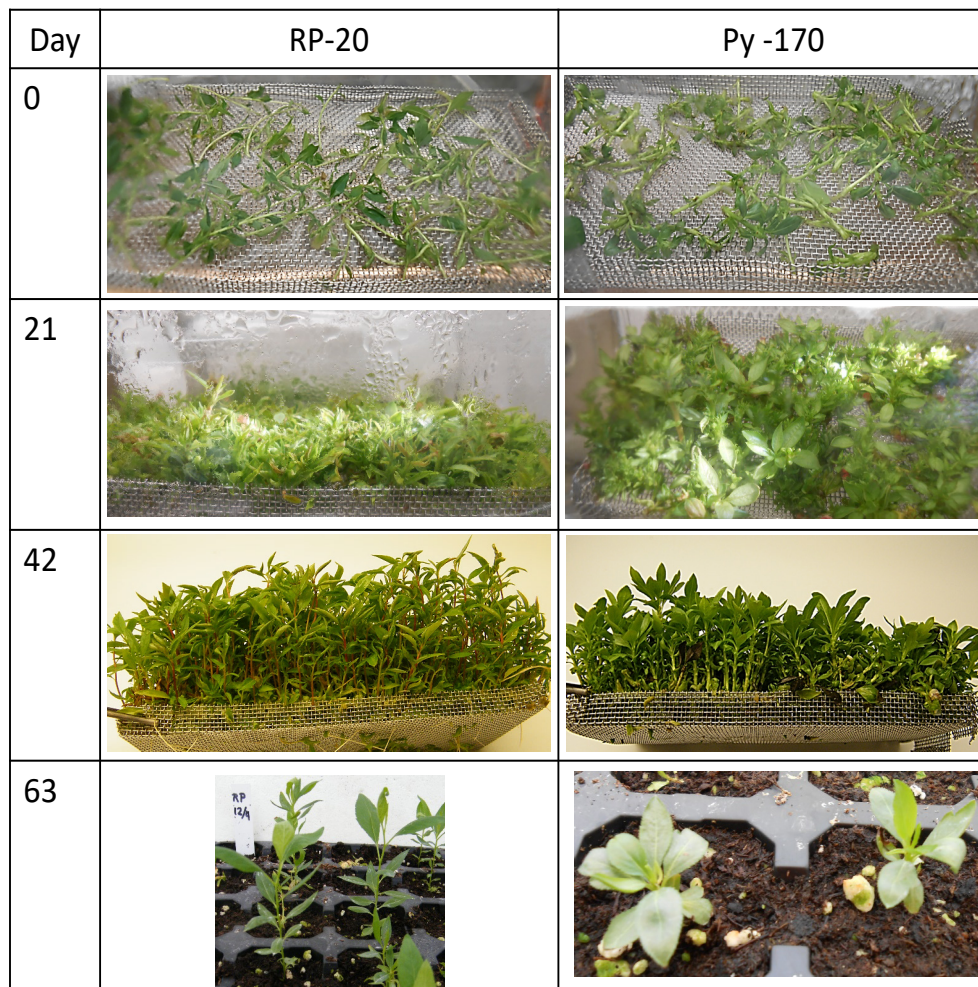


Figure 5. Evolution of the RP-20 and Py170 clones in the bioreactor. Initial explants (0), after 3 weeks of immersion in 5mM BAP (21), after 3 weeks of immersion in 0mM BAP (42), and after direct rooting of shoots in acclimation tunnels.



**Table 1.** Shoot multiplication rates and growth, of RP-20 and Py170 clones, after 6 weeks of culture in semisolid agar-containing medium or in the temporal immersion system with GT IRTA bioreactor.

Clon	Culture System	Multiplication Rate (Shoots / Explant)		Shoot Length (cm)		Fresh weight (grs / explant)	
Py170	Semisolid medium	5.03 ± 0.44	a*	16.90 ± 0.82	a	0.42 ± 0.03	a
Py170	GT bioreactor	5.59 ± 0.45	a	22.84 ± 0.68	b	0.60 ± 0.05	b
RP-20	Semisolid medium	7.29 ± 0.79	a	26.60 ± 0.80	a	0.57 ± 0.06	a
RP-20	GT bioreactor	8.10 ± 0.48	a	39.70 ± 0.69	b	0.73 ± 0.04	a

Values represent mean ± SE (Standard Error) out of three repetitions. \*Means with different letter, within each measured variable, are significantly different according to Tukey HSD (P=0,05)



### 3.3 EVALUATION OF GT BIOREACTOR IN THE ACCLIMATION PHASE

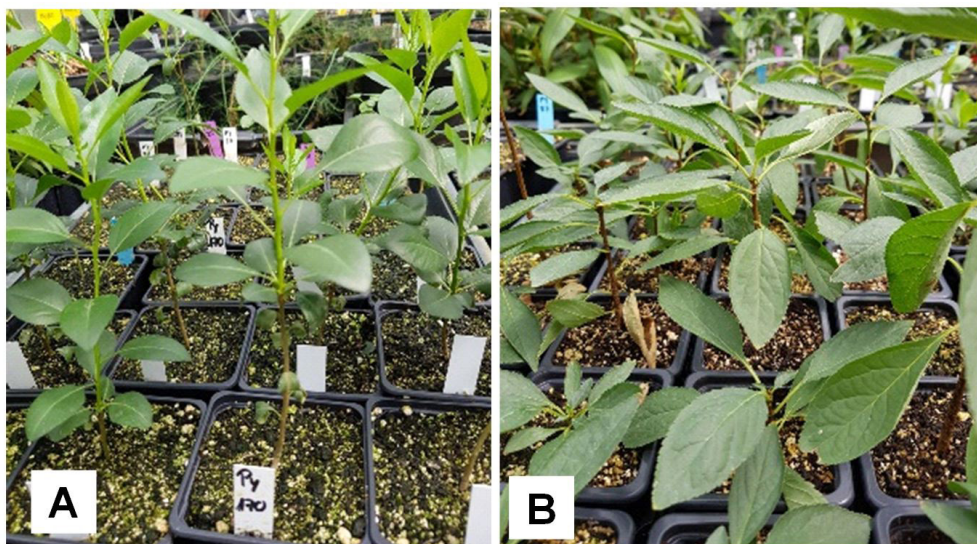
Shoot acclimation and rooting to the greenhouse conditions (Figure 5) and further plant growth and endurance (Figure 6) were highly successful. And 81% or 78% of shoots, Py170 and Rp-20 respectively, derived from the GT bioreactor directly rooted in the acclimation tunnels and survived in greenhouse conditions, without IBA treatment. Indeed the percentage of rooting dropped to 60% and 59%, for Py170 and Rp-20 respectively, when the shoot basis was dipped in IBA before planting, though the root development was better when the explants were treated with IBA (Table 2).

**Table 2.** Rooting of RP-20 and Py170 shoots derived from the GT IRTA bioreactor, treated or not with IBA, after 3 weeks of acclimation and 4 additional weeks of culture in the greenhouse.

Clon	IBA (ppm)	Rooting (%)
Py170	0	81.1 ± 4.0
Py170	1000	60.0 ± 8.8
RP-20	0	78.3 ± 7.3
RP-20	1000	58.6 ± 8.3

Values represent mean ± SE (Standard Error) out of three repetitions.

Figure 6. Actively growing 3-month-old Py170 (A) and RP-20 (B) rooted plants derived from shoots produced in the bioreactor.



### 3.4 COST EVALUATION AND OCCUPIED CHAMBER AREA

Following the protocol described here the cost to produce an acclimated plant of RP-20 with the GT bioreactor was significantly lower than with the conventional method in flasks with semisolid medium (Table 3). While the cost of the container and materials to assemble a GT bioreactor, is sixty times more expensive than that of the flask with semisolid medium, the hand labor is less than one half since the time to produce and acclimated plant is reduced to 9 weeks. In consequence, the cost to produce one plant with the GT bioreactor is 0,11€, seven times less than with the semisolid medium. In addition, the in vitro growth chamber surface needed to get one shoot of RP-20 with the GT bioreactor is 0,32 cm<sup>2</sup>, two and a half times less than with the conventional culture in agar containing medium.

**Table 3.** Comparative costs between the micropropagation in semisolid agar-containing media and the temporal immersion with GT bioreactor, of the RP-20 clone.

Plant growth requirements for each container	Semisolid medium	GT bioreactor
Number of initial explants	15	70
Total time needed for plant production (weeks)	14	9
NE: Number of shoots produced	100	700
Ab: Growth chamber area needed for each container (cm <sup>2</sup> )	81	230
CAb: Growth chamber area needed for each shoot (cm <sup>2</sup> /shoot)	0.81	0.32
Costs for each container		
CC: Container cost (€)	0.45	47.23
CM: Culture media cost (€)	0.28	1.38
CWF: Workforce cost (€)	75.00	30.00
Total Costs (€)	75.73	78.61
CP: Total Cost / Plant (€)	0.76	0.11

## 4 DISCUSSION

The results show that this newly developed Green Tray or GT bioreactor is suitable for mass production of fruit tree species, with survival rate and plant quality similar to those from semisolid medium. Similar results have been obtained in different species such as *Mentha x piperita* L. (Vaidya, 2018), red currant (J. Hautsaloa, 2018), sugarcane (Carrillo-Bermejo, 2018) using liquid media in different temporary immersion systems. The multiplication rate was either similar to or better than that from semisolid medium. Depending on the rootstock, between 400 and 700 shoots could be obtained per bioreactor, whereas in agar containing medium, over 100 shoots per flask were obtained. The average

shoots length was higher in the GT than in the semisolid medium. In addition, while shoots produced had the same quality in both systems, the time needed was shortened two weeks when cultures were done in the GT. In this reactor, shoot hyperhydricity was controlled and eliminated, when immersion time and frequency were corrected for each rootstock. Overall, the analysis of the culture systems results show that the GT is stable, reliable and with greater productivity than the culture in semisolid media.

The results of this study demonstrated the utility of the GT for the micropropagation of the two clones studied, obtaining more plants in a shorter time, occupying less chamber area per explant and reducing costs. The high plantlet survival rate obtained with this system assured the success of the micropropagation process because the *in vitro* rooting phase could be eliminated.

It is reported in the literature that the positive effects of TIS are due to a better aeration and renewal of chemical components at each immersion, otherwise limited in solid condition by the agar matrix. In this way the risk of anoxia and hyperhydricity, frequently observed in constant immersion as well as in solid culture, is significantly reduced (Etienne et al., 1997). The results obtained in the present work are consistent with those obtained in other micropropagation studies using temporal immersion systems in other species (Ramírez et al 2016; Escolana et al 1999, Bernal et al 2008, Niemenak et al 2008; Roels et al 2005) however most of these studies did not make the comparison between different temporal immersion system, or with the culture in semisolid media as here presented.

Microshoots under *in vitro* culture conditions can have a negative net photosynthetic rate and depend on sucrose uptake from the medium for their growth. Few results are available on the mechanisms of sugar uptake in shoot tissue culture systems. It is accepted that sugar uptake is an energy dependent process. Most publications dealing with sucrose uptake by cell cultures assume that sucrose molecules supplied via the culture medium are hydrolysed by cell wall. The use of LED lamps to improve the development of explants in the different stages of micropropagation in temporary immersion systems should be studied in greater depth, always seeking to improve the systems, some works show it that way J. Hausaloa (2018). In our experience (data not shown) the higher light intensity available with the LED lights increases the fixation of CO<sub>2</sub> available in the inner atmosphere of the OGT bioreactor. One of the main drawbacks of the establishment of a micropropagation protocol in a temporary immersion system are the morphological and fisiological abnormalities that occur in the shoots and explants (Ruffoni and Savona 2013). In temporary immersion systems, hyperhydricity problems usually occur, but in the GT bioreactor there were no symptoms of vitrification.

The main advantages of this reactor are, first, the plant material can be easily manipulated, and second, the shoots produced have well developed leaves, which can be easily acclimated in the greenhouse. The production capacity of explants in the GT bioreactor can be 4 to 7 times greater than in semi-solid medium, with the same plant quality, and at lower costs when compared to the conventional micropropagation in semi-solid medium. Consequently, the bioreactor GT is stable and reliable and with higher productivity, and has possibilities to be employed in large scale plant production.

## 5 ACKNOWLEDGEMENTS

This work was partially supported by CERCA Programme / Generalitat de Catalunya, IRTA, INIA project RTA 2012-0049, SEP and Madre Tierra, Puebla, México.

## REFERENCES

Aitken-Christie, J.; Davies, H.E. (1988) Development of a semi-automated micropropagation system. *Acta Hort.*, 230:81-87.

Ammirato P.V.; Styer D.J. (1985). Strategies for large-scale manipulation of somatic embryos in suspension culture. *Biotechnology in Plant Science. Relevance to Agriculture in the Eighties*. Academic Press, New York. 161-178.

Aragon, C.E.; Sánchez, C.; González-Olmedo, J.; Escalona, M.; Carvalho, L.; Amancio, S. (2014) Comparison of plantlets propagated in temporary immersion bioreactor and gelled medium during in vitro growth and acclimatization. *Biol. Plant.*, 58:28-38.

Bernal, A.; Machado, P.; Cortegaza, L.; Carmona, E.R.; Rivero, O.; Zayas, C.M.; Nordaze, O.; Pérez, A.; Santana, I.; Arencibia, A.D. (2008) Priming and biopriming integrated into the sugarcane micropropagation technology by Temporary Immersion Bioreactor (TIBS). *Sugar Tech.*, 10:42-47

Carrillo-Bermejo, E.A.; Herrera-Alamillo, M.A.; González-Mendoza, V.M. (2019) Comparison of two different micropropagation systems of *Saccharum officinarum* L. and expression analysis of PIP21 and EIN3 genes as efficiency system indicators. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 136:399-405.

Claveria, E.; Asín, L.; Iglesias, I.; Vilardell, P.; Bonany, J.; Simard M.H.; Dolcet-Sanjuan, R. (2012) In Vitro Screening for Tolerance to Iron Chlorosis as a Reliable Selection Tool in a Pear Rootstock Breeding Program. *Acta Hort.*, 935: 199-205.

Dolcet-Sanjuan, R., Mendoza C.R. (2018) Reactor system for the in vitro culture of plant material, kit to transform a receptacle in an adequate reactor for such system, and method for the in vitro culture of plant material with such reactor system. IRTA. Patent Pending ES201831164. Priority date: November 29th, 2018.

Escalona, M.; Lorenzo, J.C.; González, B.; Daquinta, M.; González, J.L.; Desjardins, Y.; Borroto, C.G. (1999) Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) micropropagation in temporary immersion system. *Plant Cell Rep.*, 18:743-748.

Etienne, H.; Berthouly, M. (2002) Temporary immersion systems in plant micropropagation. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 69: 215–231.



- Georgiev, V.; Schumann, A.; Pavlov, A.; Bley, T. (2014) Temporary immersion systems in plant biotechnology. *Engineering in Life Sciences*,14: 607-621.
- Hautsaloa, J.; Rantala, S.; Rantanen M.; Nukari A. (2018). Culture medium, LEDs and bioreactor to improve in vitro propagation of red currant. *Acta Hortic.*, 1224:28-29
- Iglesias, I.; Vilardell, P.; Bonany, J.; Clavería, E.; Dolcet-Sanjuan, R. (2004) Micropropagation and field evaluation of the pear (*Pyrus comunnis* L.) "IGE 2002", a new selection of the cultivar Dr. Jules Guyot. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 129(3):389-393.
- Martínez-Estrada, E.; Islas-Luna, B.; Pérez-Sato, J.A.; Bello-Bello, J.J. (2019). Temporary immersion improves in vitro multiplication and acclimatization of *Anthurium andreanum* Lind. *Scientia Horticulturae*, 249:185–191.
- Mendoza, C.R.; Dolcet-Sanjuan, R. (2017) A new type of temporary immersion system (TIS) evaluated with *Prunus* spp and *Pyrus* spp rootstocks. SEBIOT BIOTEC, Murcia, España. 18<sup>th</sup>-21<sup>st</sup> of June, page 79.
- Niemenak, N.; Noah, A.M.; Omokolo, N.D. (2013) Micropropagation of cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* L Schott) in temporary immersion bioreactor. *Plant Biotechnol. Rep.*, 7:383-390.
- Niemenak, N.; Saare-Surminski, K.; Rohsius, C.; Omokolo, N.D.; Lieberei, R. (2008) Regeneration of somatic embryos in *Theobroma cacao* L. in temporary immersion bioreactor and analysis of free amino acids in different tissues. *Plant Cell Rep.*, 27:667-676.
- Pinochet, J. (2010) Replantpac (Rootpack R) a Plum–almond hybrid rootstock for replant situation. *Hort Sciencie* 45:299-301.
- Ramirez, M.; Iglesias, L. (2016) Evaluation of different temporary immersion system (BIT, BIG and RITA) in the micropropagation of *Vanilla planifolia* Jacks. *In Vitro Cell. Dev. Biol.*, 52:154-160.
- Roels, S.; Savona, M. (2005) Physiological and biochemical analysis of growth abnormalities associated with plant tissue culture. *Hort. Environ. Biotechnol.*, 54:191-205.
- Ruffoni, B.; Savona, M. (2013) Physiological and biochemical analysis of growth abnormalities associated with plant tissue culture. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 54(3):191-205.
- Simard, M.H; Michelesi, J.C. (2002) "Pyriam" A new pear rootstock. *Acta Horticulturae*, 596:351-355.
- Mukund R. Shukla, Amritpal S. Singh, Kevin Piuino, Praveen K. Saxena & A. Maxwell P. Jones (2017). Application of 3D printing to prototype and develop novel plant tissue culture system. *Plant Methods* 13, article 6.
- Steward, F.; Ammirato, P.; Mapes, M. (1970) Growth and development of totipotent cells; some problems, procedures and perspectives. *Ann. Bot.*, 34:761–787.
- Tisserat, B.; Vandercook, C.E. (1985) Development of an automated plant culture system. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 5:107-117.
- Vaidya, B. N.; Asanakunov, B.; Shahin, L.; Jernigan, H. L.; Joshee, N.; Dhekney, A. (2019) Improving micropropagation of *Mentha × piperita* L. using a liquid culture system. *In Vitro Cell. Develop. Biol. Plant*, 55:71–80.

## CAPÍTULO 10

### CARACTERIZAÇÃO DE CORANTES PARA ELABORAÇÃO DE CEREJAS CANDEADA: ERITROSINA VERSUS VERMELHO GARDENIA

Data de submissão: 10/05/2022

Data de aceite: 08/06/2022

**Paula Anabella Giorlando Videla**

Universidad Tecnológica Nacional

Facultad Regional Mendoza

Departamento de Ingeniería Química

Mendoza – Argentina

ORCID 0000-0001-5595-9225

**Juan Ignacio González Pacheco**

CONICET

Universidad Tecnológica Nacional

Facultad Regional Mendoza

Departamento de Ingeniería Química

Mendoza – Argentina

ORCID 0000-0002-4447-8562

**Mariela Beatriz Maldonado**

CONICET

Universidad Tecnológica Nacional

Facultad Regional Mendoza

Departamento de Ingeniería Química

Mendoza – Argentina

ORCID 0000-0002-4188-8005

**Ariel Fernando Márquez Agüero**

Universidad Tecnológica Nacional

Facultad Regional Mendoza

Departamento de Ingeniería Química

Mendoza – Argentina

ORCID 0000-0003-2330-7905

**Emanuel Félix Condori Laura**

Universidad Tecnológica Nacional

Facultad Regional Mendoza

Departamento de Ingeniería Química

Mendoza – Argentina

ORCID 0000-0002-0876-0253

**RESUMEN:** Objetivos: Varios de los colorantes artificiales usados en alimentos están cuestionados desde el punto de vista toxicológico, la eritrosina es un claro ejemplo de ellos. Por lo cual, existe la necesidad de hallar colorantes inocuos que sean tecnológicamente manejables y que puedan reemplazar a los primeros. Por su parte, los colorantes naturales, son extraídos de fuentes vegetales, y son inocuos para la salud. Estos colorantes tienen aplicaciones potenciales en productos alimentarios, cosméticos y farmacéuticos. Tradicionalmente las cerezas de tipo marrasquino se han elaborado con eritrosina, razón por la cual, la búsqueda de un reemplazo implica que el mismo se pueda adaptar a las exigencias tecnológicas del proceso. El objetivo de este trabajo, entonces, es el de caracterizar y evaluar diferentes colorantes naturales: rojo rabanito, rojo beterraba y rojo de gardenia para ser usados en la elaboración de cerezas en conserva en reemplazo de los colorantes artificiales usados actualmente. Así como estudiar el espacio de color de diferentes colorantes, cuantificando parámetros y variables más importantes, y así

determinar el colorante más estable. Métodos: Con esta finalidad, se realizaron ensayos de estabilidad del colorante rojo de gardenia, rojo rabanito y beterraba versus eritrosina a diferentes pH, temperaturas y condiciones de luz y oscuridad. Finalmente, se elaboraron cerezas en almíbar de sacarosa y xilitol (1/1) a 35°Bx y 50 ± 2 °C con el colorante que se adaptó mejor a los requerimientos tecnológicos. Se midió en las cerezas los parámetros a, b, y L del espacio de color con Colorímetro Konica Minolta CR-400, con iluminante D65 (luz natural). Primero, se realizaron escalas de pH (1 – 14) a distintas temperaturas (0 – 160 °C) con muestras de colorantes artificiales y naturales. Se utilizó espectrofotómetro UV-Vis Perkin Elmer Lambda 35 para medición de absorbancia, y así establecer la estabilidad del color al variar pH y temperatura. Las soluciones de colorante se acidularon con ácido clorhídrico grado alimentario 0,1 N y alcalinizando con hidróxido de sodio 0,1 N. Resultados: Las soluciones de rojo de gardenia y eritrosina mostraron variación de coloración múltiple a medida que el pH y temperatura de la solución variaba. La decoloración de las soluciones se observó en el rango de pH 1 – 3,8 por correspondiente precipitación del colorante en medio ácido, y en el rango de 13 – 14, posiblemente por formación de leuco-bases. Las soluciones de rojo rabanito y beterraba perdieron el título posiblemente por vencimiento de caducidad. Las soluciones de rojo de gardenia y eritrosina mostraron ligero aumento de absorbancia a 530 nm, para el caso de altas temperaturas (80 – 160 °C), posiblemente debido a trazas de agua evaporada de las soluciones. En contraste, no se observaron cambios significativos en el rango de temperaturas de 0 – 80 °C. Con estos estudios se determinó pH de acción óptima cuyos rangos se sitúan entre 4 – 12. Por otro lado, disminuyó la señal de absorbancia para el caso de las muestras sometidas a luz, en contraste con las almacenadas en oscuridad, en el transcurso de 10 días, posiblemente debido a degradación y descomposición por radiación solar. Conclusión: Finalmente, el colorante rojo gardenia fue elegido para teñir cerezas en almíbar de 50% xilitol – 50% sacarosa, el cual mostró un comportamiento semejante a las cerezas teñidas con eritrosina, demostrando que el remplazo de esta es posible tecnológicamente. Los valores finales de tendencia al rojo fueron 63,0 ± 0,4 para rojo gardenia y para eritrosina 59,4 ± 1,6.

**PALABRAS CLAVES:** Colorantes naturales. Estabilidad. PH y temperatura. Cerezas. Rojo gardenia. Eritrosina.

## DYES CHARACTERIZATION FOR THE ELABORATION OF CANNED CHERRIES: ERYTHROSINE VERSUS RED GARDENIA

**ABSTRACT:** Purpose: Several of artificial colours used in food are questioned from a toxicological perspective, erythrosine is a clear example of them. Therefore, there is a necessity to find innocuous colorants technologically manageable which can be used as a replacement for the first ones. On the one hand, natural dyes are extracted from plant sources, as well as harmless to health. These colorants have potential applications in food, cosmetic and pharmaceutical products. Traditionally, maraschino-type cherries have been elaborated with erythrosine, consequently the search for a replacement implies it can be adapted to the process technological demands. The aim of this work is to characterize and evaluate different natural colourants: red radish, red beterraba and red gardenia to be used in canned cherries production to replace the artificial colours currently used. As well as studying diverse colorants colour space, quantifying important parameters and variables, thus determining the most stable colorant. Methods: Hence, stability tests were

conducted on red gardenia, red radish and beterraba dye in contrast with erythrosine at different pH, temperature, light, and darkness conditions. Finally, cherries were made in sucrose and xylitol syrup (1/1) at 35 °Bx and  $50 \pm 2$  °C using the best adapted colorant to the technological requirements. Colour space a, b, and L parameters were measured in the cherries by means of Konica Minolta CR-400 Colorimeter device, by using D65 illuminant (natural day light). Firstly, pH scales (1 – 14) at different temperatures (0 – 160 °C) were performed with artificial and natural colorants samples. To determine colour stability by varying pH and temperature, UV-Vis Perkin Elmer Lambda 35 spectrophotometer device was used to measure absorbance. Dye solutions were acidified using food grade hydrochloric acid 0.1 N and basified with sodium hydroxide 0.1 N. Results: Red gardenia and erythrosine solutions presented multiple colour changes, provided that pH and temperature of the solution varied. In the pH range 1 – 3.8 discoloration of solutions was observed due to the corresponding dye precipitation in acid medium, as well as in 13 - 14 pH range, possibly due to formation of leucobases. Red radish and beterraba solutions lost the title possibly due to expiration date. For high temperatures case (80 – 160 °C) the red gardenia and erythrosine solutions showed a slight increase in absorbance at 530 nm, possibly due to evaporated water traces from the solutions. By contrast, no significant changes were observed in the 0 – 80 °C temperature range. Based on the foregoing, optimal action pH was determined, whose ranges are between 4 – 12. On the other hand, the absorbance signal decreased for the case of samples subjected to light, in relation to those stored over the course of 10 days in dark conditions, possibly due to degradation and decomposition by solar radiation. Conclusion: In summarise, red gardenia dye was chosen to stain cherries in 50% xylitol - 50% sucrose syrup, which demonstrated a similar behaviour to dyed cherries with erythrosine, demonstrating its replacement is technologically possible. Final red bias values were  $63.0 \pm 0.4$  for red gardenia and  $59.4 \pm 1.6$  for erythrosine.

**KEYWORDS:** Natural colorants. Stability. PH and temperature. Colour space. Cherries. Red gardenia. Erythrosine.

## 1 INTRODUCCIÓN

Los aditivos alimentarios son una de las sustancias de crecimiento exponencial en el mercado de la elaboración de alimentos debido a los hábitos de consumo excesivo de alimentos ultra procesados y la necesidad de los mismos por la población creciente (Maldonado, 2021).

Dentro de estos se hallan los colorantes alimentarios los cuales se usan para reforzar el color de alimentos que pierden el mismo durante su procesamiento, para restituirlo total, parcial o directamente para dar un color nuevo o más atractivo a la vista del consumidor.

Hay colorantes de origen natural y sintéticos. Estos últimos se continúan usando dado que poseen tres características muy interesantes: producción muy barata, tinte muy fuerte y una buena estabilidad química (Downham y Collins, 2000; Oreopoulou *et al.*, 2009).

No obstante, los colorantes sintéticos, si bien son muy versátiles en la industria alimentaria se han hallado en varios estudios que presentan una correlación positiva entre el consumo de los mismos y diversas alteraciones en la salud como: la hiperactividad (Bateman *et al.*, 2004; McCann *et al.*, 2007; Oplatowska-Stachowiak y Elliott, 2015), los defectos en el ADN (Khan *et al.*, 2020), las reacciones alérgicas dermatológicas (Bateman *et al.*, 2004; Panachiyil *et al.*, 2019), la interacción con proteínas (Basu Y Suresh Kumar, 2015; Shahabadi *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2019), los problemas hepatorrenales (Axon *et al.*, 2012) y las deficiencias en la memoria y el aprendizaje como otras alteraciones en el comportamiento (Suglia, Solnick y Hemenway, 2013).

Así por su parte, Mpountoukas *et al.* (2010) realizaron un estudio donde se incluyeron colorantes azoicos (tartrazina) y no azoicos (amaranto y eritrosina) a diferentes concentraciones sobre células sanguíneas humanas y se evaluó su efecto. El estudio arrojó que el amaranto resultó ser genotóxico y citotóxico a altas concentraciones; la eritrosina resultó citotóxica en todas las concentraciones. Por su parte, la tartrazina muestra toxicidad a concentraciones medias y altas. También estos se hallaron capaces de producir daño renal (Wopara *et al.*, 2021).

Específicamente la eritrosina es usada en numerosos alimentos, entre ellos en la elaboración de cerezas al marrasquino (Maldonado *et al.*, 2016) pero en determinadas condiciones, provoca diversos tipos de alergias, modificaciones en la actividad de la tiroides, carcinogenicidad, daño en el ADN y neurotoxicidad, entre otras alteraciones en seres humanos y en animales estudiados (Jennings *et al.*, 1990; Mittal *et al.*, 2006; Chequer *et al.*, 2012). Además, presenta una degradación fotoquímica y bioquímica al ser expuesta a la luz. Por lo cual la Eritrosina no es recomendable debido a la formación de subproductos tóxicos (Mittal *et al.*, 2006), aunque legalmente se puede usar. Esto último lo torna riesgoso sobre todo cuando los alimentos en los que se emplean como lo son las cerezas tipo marrasquino, se expenden en frascos transparentes sin aviso al consumidor de su posible degradación. Por ello en una primera instancia (Maldonado *et al.*, 2016) intentaron estudiar la coloración de cerezas con azul brillante que, si bien es sintético, presenta una IDA menor que la eritrosina y no se degrada con la luz, por esto, aunque no sea el color convencional de la mismas, se adapta tecnológicamente para su reemplazo.

La toxicidad y posibles alteraciones en la salud de los colorantes sintéticos se halla en permanente controversia respecto a la dosis de uso recomendadas y en permanente revisión, lo cual abre paso al intento de sustituir los mismo por colorante naturales. Dado que el consumidor moderno está cada vez más informado, la tendencia a la sustitución de lo sintético por lo natural es un hecho (Muñoz y Maldonado Cid, 2003), pero sin perder

las cualidades tecnológicas de los primeros, por tanto, se busca la estabilización de los pigmentos naturales por distintos métodos.

Adicionalmente, en el mercado de los alimentos hay un enorme interés por los productos orgánicos y naturales, y el consumidor tiende a elegir aditivos naturales y con propiedades funcionales que promuevan la salud (Maldonado, 2021).

Dentro de los colorantes naturales se hallan los que contienen antocianinas que tiene los flavonoides como grupo químico funcional con actividad promotora de la salud (Jibaja Soria y Tuitice Gutiérrez, 2021). Representan el principal grupo de pigmentos hidrosolubles responsables de la gama de colores que abarca desde el rojo al azul. El color depende de la cantidad de grupos hidroxilos y metoxilos presentes en la molécula. Los primeros son los que proporcionan el color azul y el segundo los colores rojizos. En la naturaleza suelen aparecer glicosilados en las posiciones 3 y/o 5 de la molécula. Incluso los restos glicosídicos pueden estar acilados con ácidos orgánicos. De las veinte antocianidinas que se conocen las principales son cianidina, malvidina, peonidina, delfinidina, pelargonidina y malvidina.

Las antocianinas se pueden extraer de diferentes tejidos vegetales (Garzón, 2008; Kechinski *et al.*, 2010). A nivel comercial, las antocianinas se obtienen principalmente de los subproductos industriales de la uva y de frutos (Arrazola, Herazo y Alvis, 2014; Elías Peñafiel, Salas Aquice y Tovalino Párraga, 2018). Los colorantes antocianínicos presentan propiedades antioxidantes (Baltes, 2007). Su empleo además de reforzar la actividad de los sistemas antioxidantes endógenos, aporta una protección adicional contra el estrés oxidativo del alimento cuando son usados en la formulación de los mismos (Bruno, Estela Dominga y Campañone, 2017).

Por su parte, en la elaboración de cerezas confitadas o candedas, el uso de colorantes es una necesidad dado que la estacionalidad de las cerezas es muy corta. Por lo cual su procesamiento requiere de la puesta de las cerezas en solución de anhídrido sulfuroso, lo cual elimina el color rojo natural por transformación en leucobases haciendo luego necesaria la restitución total del color con un colorante al momento de su procesamiento.

(Giusti y Wrolstad, 1996, 2008; Sigurdson, Tang y Giusti, 2017) obtuvieron cerezas al marrasquino con un atractivo color rojo brillante muy estable, con el agregado de extracto de rábanos. Siendo hasta ahora este uno de los pocos antecedentes en el uso de colorantes naturales en la elaboración de cerezas candedas tipo marrasquino, los autores proponen en la presente investigación la caracterización del colorante rojo de gardenia para ser usado en la elaboración de cerezas confitadas.

El colorante rojo de gardenia (E8 – E50) se presenta comercialmente como un polvo rojo-violeta o rojo oscuro, soluble en agua, insoluble en etanol anhidro (Giménez, Angosto y Fernández López, 2013). El mismo es obtenido mediante tratamiento enzimático en una mezcla de hidrolizados de éster de compuestos iridoides contenidas en frutas gardenia y sustancias proteicas descompuestas. Presenta buena resistencia a la luz y el calor, también a agentes oxidantes y agentes reductores, colorea muy bien proteínas e hidratos de carbono. Por todas estas características y además por poseer antocianinas, se lo puede considerar apto para su evaluación frente a la eritrosina a fin de determinar las características que harían posible su sustitución tecnológica en la elaboración de cerezas candeadas tipo marrasquino.

Teniendo en cuenta lo expuesto, el objetivo del presente trabajo es evaluar la estabilidad de colorantes naturales bajo diferentes condiciones de pH, temperatura, y de almacenamiento (luz y oscuridad), así como también se estudiará el espacio de color de los diferentes colorantes, con el objetivo de determinar el colorante más estable y efectivo.

## 2 MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 ESTABILIDAD DE COLORANTES A PH, TEMPERATURA Y LUZ – OSCURIDAD

Se estudiaron solubilización y estabilidad de colorantes en agua, en un rango de temperaturas constantes entre 0 y 160° C. Se usó:

- (1) Eritrosina (colorante E-127) a 238 ppm como testigo.
- (2) Betalaínas a 238 ppm.
- (3) Colorante rojo de gardenia a 238 ppm.
- (4) Colorante rojo rabanito a 238 ppm.

A fin de evaluar su estabilidad frente a la acidez/alcalinidad del medio, se estudió el comportamiento de las soluciones colorantes en el rango de pH de 1 a 14, acidulando con ácido clorhídrico grado alimentario 0,1 N y alcalinizando con hidróxido de sodio 0,1 N (APHA, 2017). Al mismo tiempo las muestras de colorantes se sometieron a distintas temperaturas. Para el caso de 0 °C, las muestras fueron almacenadas en baños de hielo, para el rango de 2 a 8 °C, las muestras se almacenaron en refrigeradores. Se utilizó un baño termostático Cole – Parmer con agitador Technicon para el rango de temperaturas de 8 a 99,9 °C. Mientras que, para temperaturas de 100 a 160 °C, se sumergieron las muestras en baños de aceite. Así mismo, las muestras fueron sometidas a condiciones de almacenamiento de luz y oscuridad, por el transcurso de 10 días. Luego, se midió absorbancia de las distintas muestras con espectrofotómetro UV-Vis Perkin Elmer



Lambda 35, y así establecer estabilidad del color al variar pH y temperatura, y condiciones luz (radiación solar) y oscuridad.

Se reprodujeron todos los ensayos, a diferente temperatura, escalas de pH y medición de absorbancia, por triplicado.

## 2.2 ESPACIO DE COLOR

Por otro lado, a 3 kilogramos cerezas, se les midieron por triplicado los parámetros L, a y b del espacio de color CIELab, con colorímetro Konica Minolta CR-400, iluminante D65. Inicialmente, las mismas se tamañaron y desulfitaron mediante inmersión en baño de agua durante 24 h, previo al proceso de confitado. Para candear el fruto, se utilizó un método de impregnaciones múltiples denominado “Método Lento” o “Francés”, adoptado por Maldonado y González Pacheco (2020). El cual consistió en colocar los frutos en una solución hipertónica de una concentración inicial relativamente baja y aumentar de manera gradual hasta alcanzar la concentración final deseada, dejándolos reposar en un lapso de 24 h entre cada concentración.

A las cerezas, se les añadió la solución edulcorante en cantidad suficiente para cubrir las por completo (proporción 1:1,5 sólido - líquido). La composición de la solución edulcorante o jarabe fue sacarosa 50% - xilitol 50%. El experimento se mantuvo en agitación y a temperatura constante de 50 °C, mediante agitador magnetotérmico. El proceso comenzó con una concentración inicial de 25 Bx en jarabe, para evitar la formación de arrugas en la fruta. El jarabe preparado se hirvió y luego se bajó la temperatura hasta alcanzar los 50 °C. Luego de pasadas las 24 horas en la primera concentración de 25 Bx, las cerezas se colocaron en almíbar de 35 Bx previamente hervido y luego enfriado hasta 50 °C. La tinción se realizó en esta segunda impregnación con eritrosina al 0,0238% (m/V), así como también con rojo de gardenia a la misma concentración. Finalmente, con el fin de producir una ligera precipitación del colorante en el interior del tejido celular, se adicionó al jarabe ácido cítrico al 10% (m/V) y/o solución de  $\text{NaHCO}_3$  al 10% (m/V), hasta mantener un pH entre 4,3 y 4,8.

Muestreo: a medida que se producía la coloración de las cerezas a 35 Bx, se realizó un muestreo de cerezas con diferente frecuencia, la cual fue: al inicio del experimento, a los 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 120, 180 y 300 min, donde se extrajeron dos cerezas al azar de diferentes partes del recipiente a fin de medir el color.

## 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Luego de realizar las escalas de pH para los colorantes eritrosina, betalainas, rojo de gardenia y rojo rabanito en el rango de 1 – 14, se encontró una notable precipitación

de los cuatro colorantes en el rango de pH 1 – 3, mientras que una leve precipitación en el rango 3,1 - 3,8. Por otro lado, la coloración fue homogénea y estable para el rango de 4 – 12 para el rango de temperaturas de 0 – 160 °C (Tabla 1), mientras que existió pérdida de coloración, volviéndose violácea para eritrosina y rojo de gardenia, mientras que transparente para rojo rabanito y betalainas para el caso de pH alcalinos (13 – 14), posiblemente por formación de leucobases (Harivaindaran, Rebecca and Chandran, 2008). A modo ilustrativo, se presenta la escala de pH para eritrosina (Figura 1) y rojo de gardenia (Figura 2) a 25 °C.

Tabla 1. Presentación de los casos extremos de temperatura. Evolución de las señales de absorbancia en cada punto de pH para los cuatro colorantes a 0 y 160 °C. Los resultados son presentados como media ± DS (n=3).

pH	Absorbancia (%)							
	Temperatura del experimento (°C)							
	0	160	0	160	0	160	0	160
	Eritrosina		Gardenia		Rabanito		Beteraba	
1	0,026 ± 0,001	0,008 ± 0,001	0,003 ± 0,001	0,011 ± 0,001	0,011 ± 0,001	0,013 ± 0,001	0,001 ± 0,001	0,003 ± 0,001
2	0,028 ± 0,003	0,021 ± 0,001	0,006 ± 0,001	0,019 ± 0,003	0,021 ±0,004	0,026 ± 0,003	0,011 ± 0,003	0,008 ± 0,003
3	0,346 ± 0,003	0,197 ± 0,003	0,621 ± 0,001	0,237 ± 0,003	0,034 ± 0,003	0,144 ± 0,001	0,023 ± 0,002	0,012 ± 0,002
4	2,310 ± 0,001	2,268 ± 0,001	2,043 ± 0,002	3,108 ± 0,002	0,231 ± 0,001	0,160 ± 0,001	0,086 ± 0,001	0,013 ± 0,001
5	2,980 ± 0,001	2,897 ± 0,001	2,681 ± 0,002	3,079 ± 0,002	0,253 ± 0,001	0,172 ± 0,001	0,089 ± 0,001	0,014 ± 0,001
6	3,078 ± 0,001	3,085 ± 0,003	2,824 ± 0,003	3,104 ± 0,002	0,251 ± 0,001	0,169 ± 0,002	0,093 ± 0,001	0,015 ± 0,001
7	3,023 ± 0,002	3,109 ± 0,002	2,729 ± 0,003	3,108 ± 0,002	0,247 ± 0,001	0,161 ± 0,002	0,098 ± 0,001	0,014 ± 0,001
8	2,932 ± 0,003	3,114 ± 0,002	2,882 ± 0,003	3,089 ± 0,001	0,259 ± 0,001	0,158 ± 0,001	0,099 ± 0,001	0,016 ± 0,001
9	2,889 ± 0,003	3,118 ± 0,002	2,813 ± 0,002	3,064 ± 0,002	0,254 ± 0,001	0,156 ± 0,001	0,095 ± 0,001	0,018 ± 0,002
10	2,931 ± 0,002	3,068 ± 0,002	2,800 ± 0,001	3,086 ± 0,001	0,251 ± 0,001	0,155 ± 0,001	0,092 ± 0,001	0,015 ± 0,002
11	2,975 ± 0,003	3,046 ± 0,002	2,573 ± 0,001	3,058 ± 0,001	0,243 ± 0,001	0,152 ± 0,001	0,064 ± 0,001	0,014 ± 0,001
12	2,731 ± 0,001	2,927 ± 0,003	1,628 ± 0,002	2,998 ± 0,001	0,192 ± 0,001	0,139 ± 0,002	0,017 ± 0,001	0,013 ± 0,001
13	0,311 ± 0,001	0,032 ± 0,001	0,062 ± 0,001	0,141 ± 0,002	0,067 ± 0,001	0,014 ± 0,001	0,007 ± 0,001	0,008 ± 0,001
14	0,135 ± 0,001	0,024 ± 0,001	0,012 ± 0,001	0,014 ± 0,001	0,006 ± 0,001	0,008 ± 0,002	0,005 ± 0,001	0,005 ± 0,001

Figura 1. Escala de pH 1 – 14 de izquierda a derecha para el caso del colorante eritrosina a 25°C.

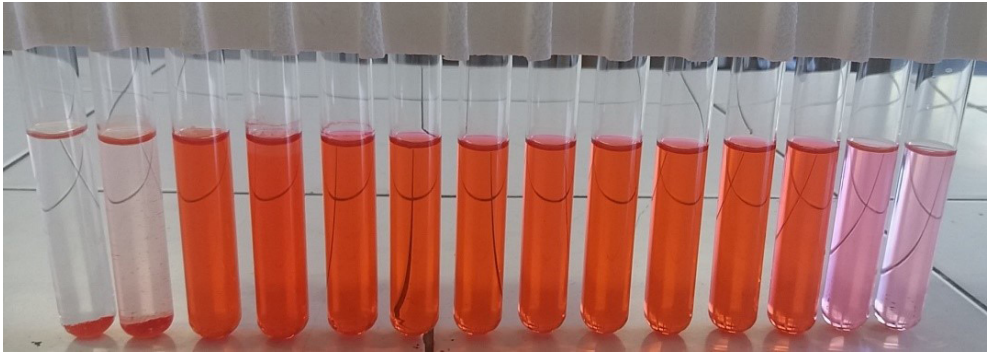
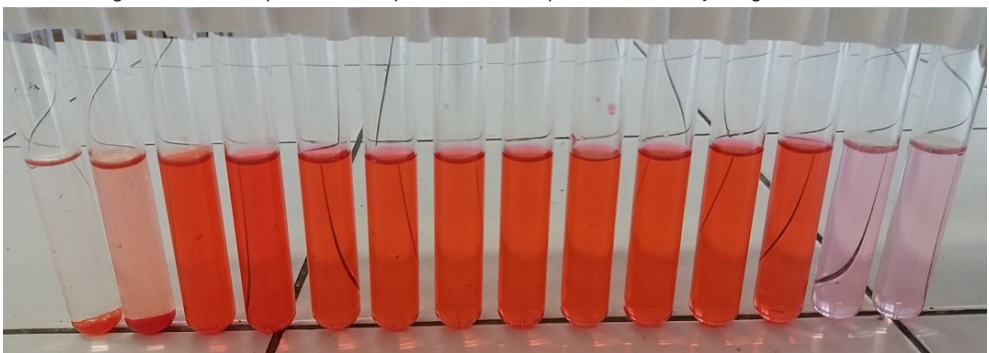


Figura 2. Escala de pH 1 – 14 de izquierda a derecha para el caso de rojo de gardenia a 25°C.



Las soluciones no mostraron un cambio considerable en coloración al variar la temperatura de 0 a 160 °C, sin embargo, hubo un leve aumento de coloración en el rango de 80 – 160 °C, que se evidenciaron en las mediciones de absorbancia por espectrofotometría UV – VIS (Razak, Tumin and Tajuddin, 2011), posiblemente por trazas evaporadas de agua de las muestras (ver Figura 1).

Tabla 2. Evolución de las señales de absorbancia en cada punto de pH para los cuatro colorantes a 25 °C, para condiciones de almacenamiento de luz (radiación solar) y de oscuridad, al cabo de 10 días. Los resultados son presentados como media  $\pm$  DS (n=3).

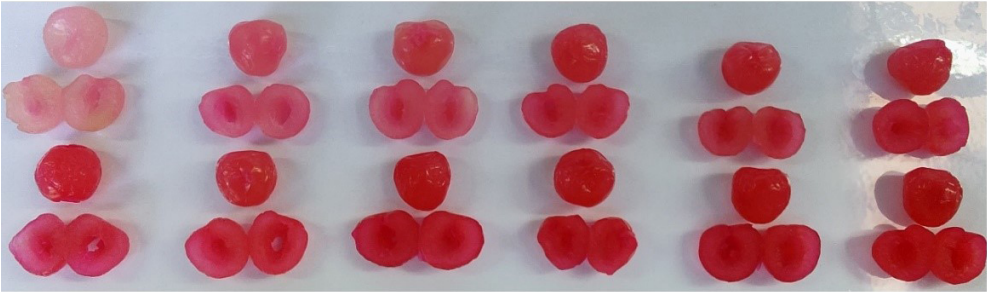
pH	Absorbancia (%)							
	Condiciones de Almacenamiento							
	Luz	Oscuridad	Luz	Oscuridad	Luz	Oscuridad	Luz	Oscuridad
	Eritrosina		Gardenia		Rabanito		Beteraba	
1	0,006 $\pm$ 0,001	0,006 $\pm$ 0,001	0,003 $\pm$ 0,001	0,028 $\pm$ 0,001	0,002 $\pm$ 0,001	0,020 $\pm$ 0,001	0,004 $\pm$ 0,001	0,002 $\pm$ 0,001
2	0,009 $\pm$ 0,003	0,095 $\pm$ 0,003	0,015 $\pm$ 0,003	0,076 $\pm$ 0,004	0,007 $\pm$ 0,002	0,036 $\pm$ 0,003	0,008 $\pm$ 0,002	0,012 $\pm$ 0,003
3	0,279 $\pm$ 0,002	1,461 $\pm$ 0,003	0,488 $\pm$ 0,002	0,705 $\pm$ 0,002	0,030 $\pm$ 0,001	0,029 $\pm$ 0,001	0,012 $\pm$ 0,001	0,021 $\pm$ 0,001

Absorbancia (%)								
Condiciones de Almacenamiento								
	Luz	Oscuridad	Luz	Oscuridad	Luz	Oscuridad	Luz	Oscuridad
pH	Eritrosina		Gardenia		Rabanito		Beteraba	
4	1,724 ± 0,002	2,156 ± 0,001	2,079 ± 0,001	2,139 ± 0,001	0,094 ± 0,002	0,207 ± 0,001	0,046 ± 0,001	0,066 ± 0,001
5	2,322 ± 0,001	2,345 ± 0,001	2,168 ± 0,001	2,385 ± 0,001	0,098 ± 0,001	0,212 ± 0,001	0,051 ± 0,001	0,076 ± 0,001
6	2,385 ± 0,001	2,403 ± 0,001	2,631 ± 0,001	2,401 ± 0,001	0,099 ± 0,001	0,233 ± 0,001	0,054 ± 0,001	0,089 ± 0,001
7	2,684 ± 0,001	2,805 ± 0,001	2,593 ± 0,001	2,568 ± 0,001	0,107 ± 0,002	0,228 ± 0,001	0,055 ± 0,001	0,092 ± 0,002
8	2,635 ± 0,001	2,799 ± 0,001	2,603 ± 0,001	2,662 ± 0,001	0,101 ± 0,002	0,232 ± 0,002	0,050 ± 0,001	0,094 ± 0,002
9	2,528 ± 0,001	2,693 ± 0,001	2,597 ± 0,001	2,526 ± 0,001	0,071 ± 0,002	0,221 ± 0,001	0,054 ± 0,001	0,088 ± 0,001
10	2,241 ± 0,001	2,685 ± 0,001	2,505 ± 0,001	2,509 ± 0,001	0,098 ± 0,001	0,227 ± 0,002	0,056 ± 0,001	0,067 ± 0,001
11	2,163 ± 0,001	2,624 ± 0,001	2,302 ± 0,001	2,018 ± 0,001	0,078 ± 0,001	0,213 ± 0,001	0,004 ± 0,001	0,042 ± 0,001
12	2,402 ± 0,001	2,499 ± 0,001	2,166 ± 0,001	1,300 ± 0,001	0,067 ± 0,001	0,138 ± 0,001	0,003 ± 0,001	0,035 ± 0,001
13	0,005 ± 0,001	0,024 ± 0,001	0,011 ± 0,001	0,061 ± 0,001	0,013 ± 0,001	0,032 ± 0,001	0,002 ± 0,001	0,003 ± 0,001
14	0,001 ± 0,001	0,018 ± 0,001	0,002 ± 0,001	0,017 ± 0,001	0,008 ± 0,001	0,012 ± 0,001	0	0,001 ± 0,001

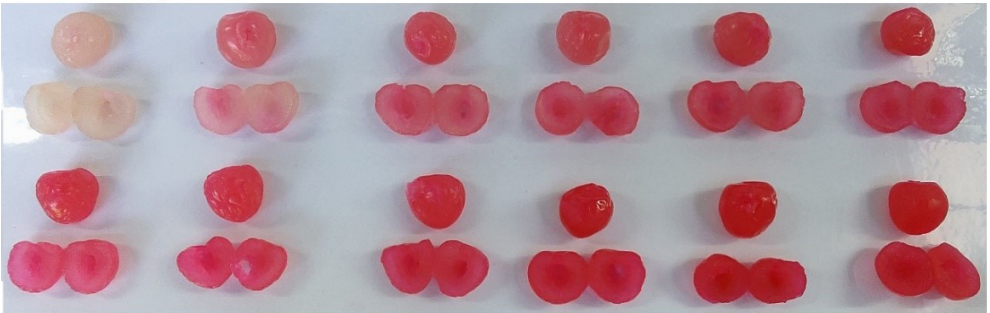
La Tabla 2 muestra la evolución de las señales de absorbancia para cada valor de pH para los cuatro colorantes a 25 °C, evidenciándose un comportamiento similar, para condiciones de almacenamiento de luz y oscuridad. Sin embargo, se puede apreciar una disminución de la señal de absorbancia para el caso de las muestras sometidas a luz durante 10 días, en contraste con las almacenadas en condiciones de oscuridad, posiblemente debido a degradación y descomposición de los colorantes por radiación solar (Jespersen *et al.*, 2004; Duff, Sinclair y Stirling, 2014).

Figura 3. Muestreo de cerezas para medición de parámetros L, a y b del espacio de color, escala CIELab, iluminante D65. Muestreo superior para colorante eritrosina e inferior para rojo de gardenia.

### Muestras con Eritrosina

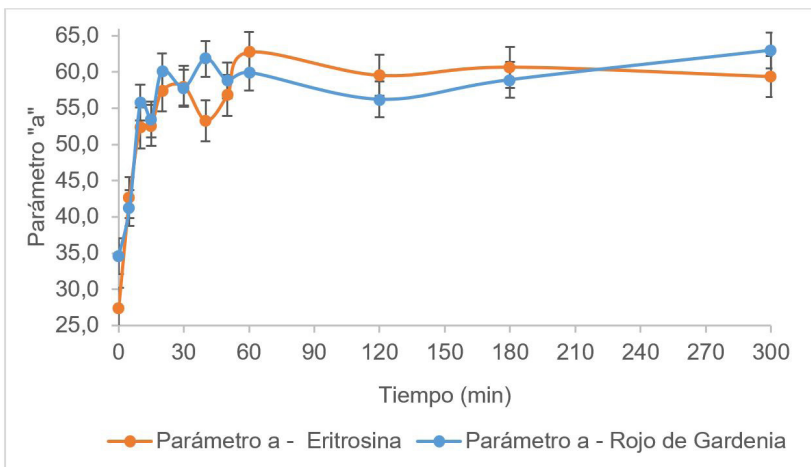


### Muestras con Rojo de Gardenia



La Figura 3 representa el muestreo de las cerezas realizado, para luego determinar sus parámetros L, a y b del espacio de color, escala CIELab, iluminante D65 (Jose y Nair, 2019). Las dos primeras filas corresponden a la coloración con eritrosina y las filas tercera y cuarta, a rojo de gardenia a una concentración de 0,0238% (m/V) y una temperatura de  $50 \pm 2$  °C.

Figura 4. Evolución del parámetro "a" (tendencia al rojo) promedio con relación al tiempo para colorantes eritrosina y rojo de gardenia.



La Figura 4 muestra la evolución en el tiempo del parámetro “a” (tendencia al rojo) promedio, del espacio de color CIELab, para los colorantes eritrosina y rojo de gardenia. De este proceso de coloración se manifiesta un elevado aumento del parámetro a durante la primera hora de tinción, esto podría deberse debido a la elevada diferencia de concentración o de potencial de colorante entre la matriz y la solución edulcorante que rodea a la fruta. Luego el fenómeno de difusión se ralentiza, posiblemente debido a una disminución en la fuerza impulsora y saturación en la matriz. El comportamiento de difusión del colorante en la cereza, tanto para eritrosina como rojo de gardenia es muy similar, obteniéndose valores de tendencia al rojo de  $59,4 \pm 1,6$  para colorante eritrosina y de  $63,0 \pm 0,4$  para colorante rojo de gardenia. Inclusive el colorante rojo de gardenia ha demostrado proporcionar resultados del parámetro “a” más elevados que los proporcionados por eritrosina a la misma concentración y temperatura. Además, sabiendo que ambos colorantes son estables en prácticamente los mismos rangos de pH y temperatura, se puede decir que la sustitución de eritrosina por rojo de gardenia para teñir cerezas es posible tecnológicamente.

#### 4 CONCLUSIONES

Se realizaron escalas de pH (1 – 14) para colorantes eritrosina, betalaínas, rojo de gardenia y rojo rabanito, de concentración 238 ppm, en el rango de temperaturas de 0 – 160 °C. Los colorantes mostraron estabilidad al pH en el rango de 4 – 12 para las diferentes temperaturas posibles. Además, se generó decoloración por precipitación en medio ácido en el rango 1 – 3,8 y posible formación de leucobase en el rango de 13 – 14 para todos los ensayos a distintas temperaturas.

Las respuestas de absorbancia para condiciones de temperatura elevada (80 – 160 °C), mostraron un leve aumento, esto puede deberse a evaporación de trazas de agua de las muestras de colorante. Por otra parte, disminuyó la señal de absorbancia para el caso de las muestras sometidas a luz, en contraste con las almacenadas en oscuridad, en el transcurso de 10 días, posiblemente debido a degradación y descomposición por radiación solar.

El fenómeno de tinción en la cereza, para ambos colorantes, fue muy similar, obteniéndose valores de tendencia al rojo de  $59,4 \pm 1,6$  para colorante eritrosina y de  $63,0 \pm 0,4$  para colorante rojo de gardenia. El pigmento rojo de gardenia ha proporcionado resultados del parámetro “a” más elevados que los obtenidos con eritrosina a la misma concentración y temperatura. Además, al determinar que ambos pigmentos son estables en los mismos rangos de pH y temperatura, se puede decir que la sustitución de eritrosina por rojo de gardenia para teñir cerezas es posible tecnológicamente.



## REFERENCIAS

APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 23. ed. USA: [s. n.], 2017. 1504 p. ISBN 978-0-87553-287-5.

ARRAZOLA, Guillermo *et al.* Obtención y Evaluación de la Estabilidad de Antocianinas de Berenjena (*Solanum melongena* L.) en Bebidas. **Información Tecnológica**, [s. l.], v. 25, ed. 3, 18 Dec. 2013. DOI 10.4067/S0718-07642014000300007. Disponible en: [https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-07642014000300007](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642014000300007). Acceso en: 8 mayo 2022.

AXON ANDREW (United Kingdom). Institute of Cellular Medicine *et al.* Toxicology: **Tartrazine and sunset yellow are xenoestrogens in a new screening assay to identify modulators of human oestrogen receptor transcriptional activity**. UK: [s. n.], 2012. v. 298. DOI 10.1016/j.tox.2012.04.014. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0300483X12001436#!>. Acceso en: 8 mayo 2022.

BALTES, W. **Química de los alimentos**. 1. ed. [S. l.]: Acribia, 2007. 492 p. ISBN 978-84-200-1081-6. Disponible en: [https://www.editorialacribia.com/libro/quimica-de-los-alimentos\\_54288/](https://www.editorialacribia.com/libro/quimica-de-los-alimentos_54288/). Acceso en: 8 mayo 2022.

BASU ANIRBAN (Kolkata 700 032, India). Biophysical Chemistry Laboratory *et al.* **Food Chemistry: Thermodynamics of the interaction of the food additive tartrazine with serum albumins: A microcalorimetric investigation**. India: [s. n.], 2015. v. 175. DOI 10.1016/j.foodchem.2014.11.141. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814614018792#!>. Acceso en: 8 mayo 2022.

BATEMAN, B *et al.* Community child health, public health, and epidemiology. **The effects of a double blind, placebo controlled, artificial food colourings and benzoate preservative challenge on hyperactivity in a general population sample of preschool children**, University Child Health, Southampton General Hospital, Tremona Road, Southampton SO16 6YD, UK, 21 mayo 2004. DOI 10.1136/adc.2003.031435. Disponible en: <https://adc.bmj.com/content/89/6/506.info>. Acceso en: 8 mayo 2022.

BRUNO, Estela Dominga; CAMPAÑONE, Laura Analía. Alimentos y Bebidas. **Empleo de colorantes naturales en la formulación y elaboración de masas**, Universidad Tecnológica Nacional. Facultad Regional Buenos Aires, n. 1667-8400, abr. 2017. Disponible en: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/57893>. Acceso en: 5 mayo 2022.

CHEQUER, Farah Maria Drumond *et al.* Food and Chemical Toxicology. **Genotoxic and mutagenic effects of erythrosine B, a xanthene food dye, on HepG2 cells**, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP 14040-903, Brazil, v. 50, p. 3447-3451, Oct. 2012. DOI 10.1016/j.fct.2012.07.042. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691512005200?via%3Dihub>. Acceso en: 8 mayo 2022.

DOWNHAM, Alison; COLLINS, Paul. Colouring our foods in the last and next millennium. **International Journal of Food Science + Technology**, UK, v. 35, p. 5-22, 25 Dec. 2001. DOI 10.1046/j.1365-2621.2000.00373.x. Disponible en: <https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1046/j.1365-2621.2000.00373.x>. Acceso en: 8 mayo 2022.

DUFF, D. G.; SINCLAIR, R. S.; STIRLING, D. Light-Induced Colour Changes of Natural Dyes. **Studies in Conservation**, London, UK, v. 22, n. 4, p. 161-169, Nov. 1977. DOI 10.1179/sic.1977.020. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1179/sic.1977.020>. Acceso en: 4 mayo 2022.

ELÍAS PEÑAFIEL, Carlos César Augusto *et al.* **Obtención de antocianinas de papa nativa “Yawar Wayku” (*Solanum Stenotomum*) para la elaboración de un colorante natural aplicable a alimentos**. 2018. Tesis (Título Profesional Ingeniero Agroindustrial y Agronegocios) - Universidad San Ignacio de Loyola, [S. l.], 2018. Disponible en: <https://repositorio.usil.edu.pe/items/91f35a4a-9ab5-4632-bd54-35412f8d57d1>. Acceso en: 8 mayo 2022.



GARZÓN, Gloria Astrid *et al.* **Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos**. 3. ed. rev. Bogotá, Colombia: Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, 2 May 2008. v. 13. ISBN 0120-548X. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-548X2008000300002](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-548X2008000300002). Acceso en: 8 mayo 2022.

GIMÉNEZ, Pedro J.; MORENO, José M.; FERNÁNDEZ, José A. Bioactividad de colorantes rojos naturales. **Jornadas de Introducción a la Investigación de la UPCT**, Universidad Politécnica de Cartagena, año 1888-8356, p. 91-93, abr. 2013. Disponible en: <https://repositorio.upct.es/handle/10317/3376>. Acceso en: 5 mayo 2022.

GIUSTI, M.M.; WROLSTAD, R.E. Radish Anthocyanin Extract as a Natural Red Colorant for Maraschino Cherries. **Journal of Food Science**, Institute of Food Technologists, v. 61, p. 688-694, Jul. 1996. DOI 10.1111/j.1365-2621.1996.tb12182.x. Disponible en: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-2621.1996.tb12182.x>. Acceso en: 8 mayo 2022.

GIUSTI, M.M.; WROLSTAD, R.E. Color Quality of Maraschino Cherries. **Color Quality of Fresh and Processed Foods**. [S. l.]: Catherine A. Culver and Ronald E. Wrolstad, Jun. 13 2008. v. 983, p. 43-53. ISBN 9780841274198. Disponible en: <https://pubs.acs.org/isbn/9780841274198>. Acceso en: 8 mayo 2022.

HARIVAINDRAN, K. V.; REBECCA, O. P. S.; CHANDRAN, S. Study of Optimal Temperature, pH and Stability of Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*) Peel for Use as Potential Natural Colorant. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Faisalabad, Pakistán, v. 11, n. 18, p. 2259-2263, Oct. 2006. DOI 10.3923/pjbs.2008.2259.2263. Disponible en: <https://scialert.net/abstract/?doi=pjbs.2008.2259.2263>. Acceso en: 5 mayo 2022.

JENNINGS ANTHONY S. (USA) *et al.* Effects of oral erythrosine (2',4',5',7'-tetraiodofluorescein) on the pituitary-thyroid axis in rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, [S. l.], v. 103, p. 549-556, 1 maio 1990. DOI 10.1016/0041-008X(90)90327-Q. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0041008X9090327Q?via%3Dihub#!>. Acceso en: 8 mayo 2022.

JESPERSEN, L.; STRØMDAHL, L. D.; OLSEN, K.; SKIBSTED, L. H. Heat and light stability of three natural blue colorants for use in confectionery and beverages. **European Food Research and Technology**, Heidelberg, Deutschland, v. 220, n. 3-4, p. 261-266, 10 Nov. 2004. DOI 10.1007/s00217-004-1062-7. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00217-004-1062-7>. Acceso e: 5 mayo 2022.

JIBAJA SORIA, M. G.; TUITICE GUTIÉRREZ, E. A. **Antocianinas y su aplicación como colorantes naturales para alimentos**. 18 feb. 2021. 76 p. Trabajo de titulación previo a la obtención del Título de Químico de Alimentos (Químico de Alimentos) - Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador, 2021. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/22622>. Acceso en: 5 mayo 2022.

JOSE, A.; NAIR, A. M. A comparative study on the degradation kinetics, pigment stability and colour characteristics of juice model systems coloured with purple yam and red cabbage anthocyanins. **Annals. Food Science and Technology**, Targoviste, Romania, v. 20, n. 4, p. 855-864, 25 Nov. 2019. Disponible en: [http://www.afst.valahia.ro/images/documente/2019/issue4/IV.7\\_Jose.pdf](http://www.afst.valahia.ro/images/documente/2019/issue4/IV.7_Jose.pdf). Acceso en: 5 maio 2022.

KECHINSKI, C. P *et al.* Degradation Kinetics of Anthocyanin in Blueberry Juice during Thermal Treatment. **Journal of Food Science**, Chicago, IL, v. 75, n. 2, 1 May 2010. Food Chemistry, p. 173-176. DOI 10.1111/j.1750-3841.2009.01479.x. Disponible en: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1750-3841.2009.01479.x>. Acceso en: 5 mayo 2022.

KHAN, I. S. *et al.* Genotoxic effect of two commonly used food dyes metanil yellow and carmoisine using *Allium cepa* L. as indicator. **Toxicology Reports**, Detroit, Michigan, v. 7, p. 370-375, 15 Feb. 2020. DOI 10.1016/j.toxrep.2020.02.009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214750018307820>. Acesso em: 5 maio 2022.

MALDONADO, M. *et al.* Uso del colorante Azul Brillante en cerezas en conserva. **Revista Española de Nutrición Comunitaria**, Madrid, España, v. 22, n. 2, p. 38-48, abr. 2016. DOI 10.14642/RENC.2016.22.2.5137. Disponível em: [http://www.renc.es/imagenes/auxiliar/files/RENC\\_2016-2-06.pdf](http://www.renc.es/imagenes/auxiliar/files/RENC_2016-2-06.pdf). Acesso em: 20 abr. 2022.

MALDONADO, M. B. B. Nuevos desafíos para la industria alimentaria y los nuevos conocimientos acerca del tercer cerebro. **Revista de Nutrición Clínica y Metabolismo**, Colombia, v. 4, n. 4, p. 92-97, nov. 2021. DOI 10.35454/rncm.v4n4.326. Disponível em: <https://www.sciit.net/article/cd0af19893f467d28b302a80b8661834>. Acesso em: 2 maio 2022.

MALDONADO, M.; GONZÁLEZ PACHECO, J. Shrinkage Phenomenon in Cherries During Osmotic Dehydration. **Annals. Food Science and Technology**, Targoviste, Romania, v. 21, n. 1, p. 19 - 30, 28 Feb. 2020. Disponível em: [http://www.afst.valahia.ro/images/documente/2020/l.2\\_Maldonado.pdf](http://www.afst.valahia.ro/images/documente/2020/l.2_Maldonado.pdf). Acesso em: 5 maio 2022.

MCCANN, D. *et al.* Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. **The Lancet**, London, England, v. 370, n. 9598, p. 1560-1567, 6 Sept. 2007. DOI 10.1016/S0140-6736(07)61306-3. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(07\)61306-3/fulltext#section-7c530872-6235-4433-899c-b3f276970189](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(07)61306-3/fulltext#section-7c530872-6235-4433-899c-b3f276970189). Acesso em: 5 maio 2022.

MITTAL, A.; MITTAL, J.; KURUP, L.; SINGH, A. K. Process development for the removal and recovery of hazardous dye erythrosine from wastewater by waste materials – Bottom Ash and De-Oiled Soya as adsorbents. **Journal of Hazardous Materials**, St. Louis, Missouri, v. 138, n. 1, p. 95-105, 2 nov. 2006. DOI 10.1016/j.jhazmat.2006.05.038. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S03043889406005139?via%3Dihub>. Acesso em: 4 maio 2022.

MPOUNTOUKAS, P. *et al.* Cytogenetic evaluation and DNA interaction studies of the food colorants amaranth, erythrosine and tartrazine. **Food and Chemical Toxicology**, United Kingdom, v. 48, n. 10, p. 2934-2944, Oct. 2010. DOI 10.1016/j.fct.2010.07.030. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0278691510004886?via%3Dihub#!>. Acesso em: 3 maio 2022.

MUÑOZ, O.; MALDONADO CID, S. **Antocianinas y Betalainas Colorantes Naturales de Aplicación Industrial**. Santiago de Chile: Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED) y la Comisión Nacional Científica y Tecnológica de Chile (CONICYT), 2003. ISBN 956-299-032-X. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10533/205957>. Acesso em: 5 maio 2022.

OPLATOWSKA-STACHOWIAK, M.; ELLIOTT, C. T. Food colors: Existing and emerging food safety concerns. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Massachusetts, United States, v. 57, n. 3, p. 524-548, 16 Oct. 2016. DOI 10.1080/10408398.2014.889652. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2014.889652>. Acesso em: 6 maio 2022.

OREOPOULOU, V. *et al.* Assessing food additives: the good, the bad and the ugly. **Quality Assurance and Safety of Crops & Foods**, QLD, Australia, v. 1, n. 2, p. 101-110, 19 May 2019. DOI 10.1111/j.1757-837X.2009.00012.x. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1757-837X.2009.00012.x>. Acesso em: 5 maio 2022.

PANACHIYIL, G. M.; BABU, T.; SEBASTIAN, J.; DODDAIAH, N. A pediatric case report of fixed drug eruption related to carmoisine colorant present in paracetamol syrup. **Indian Journal of Pharmacology**, India, v. 51, n. 4, p. 279-281, 13 Sept. 2019. DOI 10.4103/ijp.IJP\_29\_19. Disponível em: <https://www.ijp-online.com/article.asp?issn=0253-7613;year=2019;volume=51;issue=4;page=279;page=281;aulast=Panachiyil>. Acesso em: 4 maio 2022.

RAZAK, N. A.; TUMIN, S. M.; TAJUDDIN, R. Effect of Temperature on the Color of Natural Dyes Extracted Using Pressurized Hot Water Extraction Method. **American Journal of Applied Sciences**, NV, USA, v. 8, n. 1, p. 45-49, 31 Jun. 2011. DOI 10.3844/ajassp.2011.45.49. Disponível em: <https://www.thescipub.com/abstract/10.3844/ajassp.2011.45.49>. Acesso em: 5 mayo 2022.

SHAHABADI, N.; AKBARI, A.; JAMSHIDBEIGI, M.; MORADI FILI, S. Interaction studies of copper complex containing food additive carmoisine dye with human serum albumin (HSA): Spectroscopic investigations. **Luminescence: The Journal of Biological and Chemical Luminescence**, United Kingdom, v. 32, n. 7, p. 1319-1327, Nov. 2017. DOI 10.1002/bio.3328. Disponível em: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/bio.3328>. Acesso em: 4 mayo 2022.

SIGURDSON, G. T.; TANG, P.; GIUSTI, M. Mónica. Natural Colorants: Food Colorants from Natural Sources. **Annual Review of Food Science and Technology**, CA, USA, v. 8, p. 261-280, Feb. 2017. DOI 10.1146/annurev-food-030216-025923. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-food-030216-025923>. Acesso em: 5 mayo 2022.

SUGLIA, S. F.; SOLNICK, S.; HEMENWAY, D. Soft Drinks Consumption Is Associated with Behavior Problems in 5-Year-Olds. **The Journal of Pediatrics**, USA, v. 163, n. 5, p. 1323-1328, 1 Nov. 2013. DOI 10.1016/j.jpeds.2013.06.023. Disponível em: <https://www.jpeds.com/article/S0022-3476%2813%2900736-1/fulltext#%20>. Acesso em: 5 mayo 2022.

WANG, R.; HU, X.; GONG, D.; ZHANG, G. Interaction between quinoline yellow and human serum albumin: spectroscopic, chemometric and molecular docking studies. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, United Kingdom, v. 99, n. 1, p. 73-82, 15 Jan. 2019. DOI 10.1002/jsfa.9144. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.9144>. Acesso em: 5 mayo 2022.

WOPARA, I. *et al.* Anxiogenic and memory impairment effect of food color exposure: upregulation of oxido-neuroinflammatory markers and acetyl-cholinestrerase activity in the prefrontal cortex and hippocampus. **Heliyon**, London, UK, v. 7, n. 3, p. e06378, 1 Mar. 2021. DOI 10.1016/j.heliyon.2021.e06378. Disponível em: [https://www.cell.com/heliyon/fulltext/S2405-8440\(21\)00483-7?\\_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS2405844021004837%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/heliyon/fulltext/S2405-8440(21)00483-7?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS2405844021004837%3Fshowall%3Dtrue). Acesso em: 6 mayo 2022.

# CAPÍTULO 11

## THE QUALITY OF APPLE FRUIT PRODUCTS WHEN USING THE GROWTH BIOREGULATOR ALBIT IN THE SYSTEM OF PROTECTION

Data de submissão: 28/04/2022

Data de aceite: 16/05/2022

### **Svetlana Levchenko**

Federal State Budget Scientific  
Institution All-Russian National  
Research Institute of Viticulture and  
Winemaking Magarach of the RAS  
31 Kirova str., 298600  
Yalta, Republic of Crimea, Russia  
<https://orcid.org/0000-0001-5423-0520>

### **Elena Stranishevskaya**

Federal State Budget Scientific  
Institution All-Russian National  
Research Institute of Viticulture and  
Winemaking Magarach of the RAS  
31 Kirova str., 298600  
Yalta, Republic of Crimea, Russia  
<https://orcid.org/0000-0002-2840-5638>

### **Elena Matveikina**

Federal State Budget Scientific  
Institution All-Russian National  
Research Institute of Viticulture and  
Winemaking Magarach of the RAS  
31 Kirova str., 298600  
Yalta, Republic of Crimea, Russia  
<https://orcid.org/0000-0001-9109-7394>

### **Vladimir Boiko**

Federal State Budget Scientific  
Institution All-Russian National  
Research Institute of Viticulture and  
Winemaking Magarach of the RAS  
31 Kirova str., 298600  
Yalta, Republic of Crimea, Russia  
<https://orcid.org/0000-0002-2401-7531>

### **Nadezhda Shadura**

Federal State Budget Scientific  
Institution All-Russian National  
Research Institute of Viticulture and  
Winemaking Magarach of the RAS  
31 Kirova str., 298600  
Yalta, Republic of Crimea, Russia  
<https://orcid.org/0000-0002-8365-0521>

### **Vitalii Volodin**

Federal State Budget Scientific  
Institution All-Russian National  
Research Institute of Viticulture and  
Winemaking Magarach of the RAS  
31 Kirova str., 298600  
Yalta, Republic of Crimea, Russia  
<https://orcid.org/0000-0002-2842-6092>

### **D. Belash**

Federal State Budget Scientific  
Institution All-Russian National  
Research Institute of Viticulture and  
Winemaking Magarach of the RAS  
31 Kirova str., 298600  
Yalta, Republic of Crimea, Russia  
<https://orcid.org/0000-0003-3525-2948>

### **Ya. Volkov**

Federal State Budget Scientific  
Institution All-Russian National  
Research Institute of Viticulture and  
Winemaking Magarach of the RAS  
31 Kirova str., 298600  
Yalta, Republic of Crimea, Russia  
<https://orcid.org/0000-0001-8976-4979>

**ABSTRACT:** The quality of apple fruit products when using the biostimulant Albit as one of the ways to reduce the environmental risk of application pesticides on fruit plantations in the integrated plant protection system, was investigated. The active ingredient of the preparation Albit is a natural biopolymer poly-beta-hydroxybutyric acid from soil bacteria *Bacillus megaterium*. The Albit mode of action is based on the stimulation of plant natural defense reactions. The research was carried out on apple trees of the 'Renet Simirenko' variety. We used the Albit five times in general protection system in the following plant growth stages: inflorescence emerge; beginning of flowering; end of flowering; fruit size up to 10 mm; fruit size up to 20 mm; ripening of fruits. With five-fold application of the preparation Albit at a rate of 100 ml/ha in the apple tree protection system with low and moderate progression of diseases (up to 35.0%), the biological effectiveness in protection against scab consisted of: on leaves - 87.0 % and on fruits - 81.8 %; when protecting against powdery mildew: on shoots - 81.8 % and on leaves - 81.3 %. The positive effect of Albit on growth and generative development of apple trees (increase in the leaf area - by 11.8-49 %, annual shoot growth - by 8-12 %, average fruit weight - by 16.8-30 %) was observed. It was found that using of the preparation Albit promoted to an increase in the total chlorophyll content of apple leaves by 9.7 %, relative to the control. The analysis of experimental data showed that five-fold application of the preparation Albit helped to improve the conditional parameters of fruits. With regard to the control, the content of dry matter increased by 6.3 %, mass concentration of sugars - by 8.6 %; while mass concentration of titratable acids decreased by 17.4 %.

**KEYWORDS:** Productivity. Conditional parameters. Biological effectiveness. Fruits. Immune.

## A QUALIDADE DOS PRODUTOS DE MAÇÃ AO USAR O BIORREGULADOR ALBIT DE CRESCIMENTO NO SISTEMA DE PROTEÇÃO

**RESUMO:** Foi investigada a qualidade dos produtos da macieira ao utilizar o bioestimulante Albit como uma das formas de reduzir o risco ambiental da aplicação de agrotóxicos em frutíferas no sistema fitossanitário integrado. O ingrediente ativo da preparação Albit é um ácido poli-beta-hidroxibutírico biopolímero natural da bactéria do solo *Bacillus megaterium*. O modo de ação Albit é baseado na estimulação das reações de defesa natural da planta. A pesquisa foi realizada em macieiras da variedade 'Renet Simirenko'. Utilizou-se o Albit cinco vezes no sistema de proteção geral nas seguintes fases de crescimento das plantas: inflorescência emergente; início da floração; final da floração; tamanho do fruto até 10 mm; tamanho do fruto até 20 mm; amadurecimento dos frutos.

Com aplicação quintupla do preparado Albit na proporção de 100 ml/ha no sistema de proteção da macieira com progressão baixa e moderada de doenças (até 35.0%), a eficácia biológica na proteção contra a sarna consistiu em: nas folhas – 87.0 % e nas frutas – 81.8 %; ao proteger contra o oídio: nos rebentos – 81.8 % e nas folhas – 81.3 %. Foi observado o efeito positivo de Albit no crescimento e desenvolvimento generativo de macieiras (aumento da área foliar – 11.8-49 %, crescimento anual da parte aérea - 8-12 %, peso médio do fruto – 16.8-30 %). Verificou-se que o uso da preparação Albit promoveu um aumento no teor de clorofila total das folhas de macieira em 9.7 %, em relação ao controle. A análise dos dados experimentais mostrou que a aplicação quintupla da preparação Albit ajudou a melhorar os parâmetros condicionais dos frutos. Com relação ao controle, o teor de matéria seca aumentou 6.3%, a concentração de açúcares em massa - 8,6%; enquanto a concentração de massa de ácidos tituláveis diminuiu 17.4%.

**PALAVRAS CHAVES:** Produtividade. Parâmetros condicionais. Eficácia biológica. Frutos. Imunidade.

## 1 INTRODUCTION

In connection with expansion of the list of environmental problems associated with traditional agriculture, scientists all over the world began to pay special attention on the necessity to reduce using mineral fertilizers and synthetic pesticides by combining them with biological fertilizers and pesticides of new generation, or replacing chemical fertilizers and synthetic pesticides with organic preparations. This is especially true for agricultural production, located in recreation areas (Mushinskiy et al., 2018; Volynkin et al., 2021). The Crimean Peninsula is a favorable place for production of environmentally friendly products (Volkova et al., 2020).

Recent years, apple plantations are under a large number of stress factors due to extreme meteorological conditions and severe pesticide loading in the plant protection system. All the above affects general physiological condition and productivity of plants (Ryabchinskaya et al., 2003).

An important technique for reducing negative consequences of the complete use of chemical fungicides is the introduction of biologically active substances - growth and immune stimulants, into the plant protection systems against a complex of phytopathogens (Batukaev et al., 2019). Using of mineral and organic fertilizers has a significant effect on the growth and development of plants, especially under stress conditions, and helps to increase cropping capacity, improves product quality and disease resistance (Boiko et al., 2021; Belash et al., 2021; Stranishevskaya et al., 2018; Stamenković et al., 2018; Jivan et al., 2014).

However, most farmers prefer to use mainly chemical fertilizers and pesticides instead of organic ones, since they are not sure about the effectiveness of the former and

are afraid of losing part of the yield (Wang et al., 2018; Stranishevskaya et al., 2016; Volkov et al., 2016). The solution to this problem is the development of optimal technologies for using organic fertilizers in the system of intensive farming, allowing not only to achieve long-term high productivity of agricultural crops, but also to maintain soil biodiversity and fertility (Qaswar et al., 2020; Klimenko et al., 2020).

A new promising preparation of the group of immune and growth stimulants, which has a fungistatic effect against the causative agent of apple scab, is the Albit. Its main active ingredient is the metabolic product of the bacterium *Pseudomonas aureofaciens* - poly-beta-hydroxybutyric acid (6.2 g/ha), the stimulating effect of which on plants is enhanced by micro-additives of mineral fertilizers: magnesium sulfate + potassium phosphate + potassium nitrate + carbamide (Zlotnikov et al., 2008).

The goal of the research is to study the all-around effect of the preparation Albit, FP on apple trees and develop regulations for its use on this culture in order to improve physiological condition of plants and increase their productivity, and expand the assortment of agents, alternative to chemical fungicides, and reduce pesticide pressure on the crops. The inclusion of this ecologically safe preparation in the apple garden protection systems against scab will contribute to the total improvement of phytosanitary condition of agrocenoses due to sanitation of plants and enhancement of the activity of various natural defensive reactions with a general increase in their productivity (Stranishevskaya et al., 2020).

## 2 MATERIALS AND METHODS

The research was carried out in the piedmont zone of the Republic of Crimea, in Bakhchisarai district, Kashtany village, in agro-industrial enterprise “Sady Alminskoy Doliny”, in apple plantations of the ‘Renet Simirenko’ variety in 2019. According to the goals, the experiment had three treatments: I. The control - without using means of chemical protection; II. The Albit, FP, 100 ml/ha at the following growth stages: inflorescence emerge – 100 % protection system + Albit, FP; end of flowering – 100 % protection system + Albit, FP; fruit size up to 10 mm -75 % of fungicides + Albit, FP; fruit size up to 20 mm -75% of fungicides + Albit, FP; ripening of fruits - 0% of fungicides + Albit, FP. III. The production standard is the plant protection application system adopted in farming.

The presence of apple scab – (*Venturia inaequalis* (Cooke) Wint.); apple powdery mildew (*Podosphaera leucotricha* Salm), was determined in the following plant growth stages: inflorescence emerge; beginning of flowering; end of flowering; fruit size up to 10 mm; fruit size up to 20 mm; ripening of fruits. The experiment: type of research -



field, small-plot technique. Plot size and location: 0.03 ha, randomized. The number of accounting trees is six per variant. Dates of application: 04.23., 05.06., 06.03., 06.24. and 08.20.2019. Date of harvesting: 09.25. Harvesting method: manual, fruits were harvested from each model plant.

Technological assessment was carried out according to the following parameters: the leaf-area duration of the shoot was determined in the field using method of measuring the diameter of each leaf on trees and selected shoots. The content of conditional parameters was determined using areometric method (total sugars) (Interstate Standard Fruit and vegetable products. Methods for determination of sugars, 1987), and titrimetric method (Interstate Standard "Fruit and vegetable products. Determination of titratable acidity", 2013). The content of leave chlorophyll was determined using colorimetric method with wavelengths of 665 and 649 nm in ethanol extract of pigments from an average sample of leaves weighing 0.5 g, followed by re-calculation taking into account the extract volume and weighed sample (Chakchir B.A., Alekseeva G.M., 2002). To determine the significance of influence of Albit preparation in protection against scab and powdery mildew we analyzed the reliability (P-value at the level of <0.05 according to Fisher's test) in the SPSS Statistics 17.0 software.

### 3 RESULTS AND DISCUSSION

Favorable conditions for primary infection and development of scab came into existence in the second decade of April .2019, for secondary infection - in the third decade of May 2019. The first visual signs of disease development on the fruit ovary in the control variant were registered at the end of apple tree flowering.

The moderate development of scab on apple trees was observed. The intensity of the development of the disease was determined on a five-point scale, examining one hundred leaves and fruits on each accounting tree (four replicates of 4 plants), evenly distributed on 4 accounting branches of the first or second order, oriented to the cardinal points. The development of scab during the harvesting period in the control was 22.3 % on leaves and 29.7 % on fruits. In variants II and III, the development of scab was low and amounted: on leaves – to 2.9 % and 1.5% ( $P_{05} = 1.7$ ) and on fruits – to 5.4 % and 3.7 % ( $P_{05} = 2.1$ ), respectively. The most intensive development of scab was noted on a fruit drop - 23.8 % in the control, 3.2-5.6 % in variants II and III. The difference in the production standard and the variant with using the Albit, FP preparation for all studied parameters is insignificant, within the experimental error. Thus, five-fold using of the Albit, FP preparation during growing season (the last treatment, 36 days before harvesting - without using of

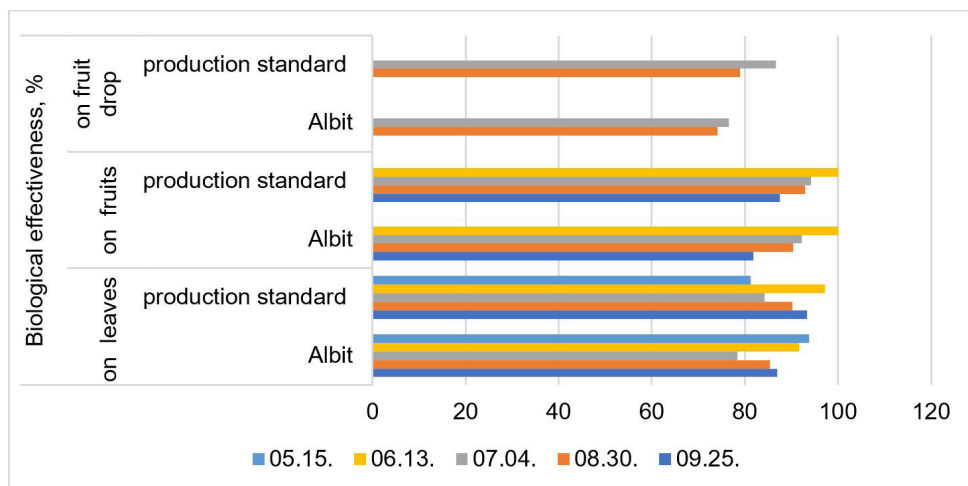
protective measures against scab and powdery mildew) made it possible to reduce the consumption rate of fungicides in variant II without reducing the effectiveness of protective measures carried out.

The effectiveness of apple scab protection system using the Albit, FP preparation on the 10th day after the last spraying, against the background of the moderate development of scab on leaves and fruits in the control, was high, at the production standard level of effectiveness, and amounted to 85.4 and 90.3%, on leaves and fruits, respectively (Figure 1). During the harvesting period, the effectiveness of system of protective measures under study was 87.0% on leaves. The difference with the standard (93.3%) was within the experimental error. On fruits ready for harvesting in the same period, the effectiveness of system of protective measures using the Albit, FP preparation was 81.8 % difference with the production standard (87.5%) was insignificant.

The development of powdery mildew in the control during the growing season of 2019 was observed on leaves and shoots. In both the control and treated variants, the first visual signs of disease development on shoots were noted in the second decade of May.

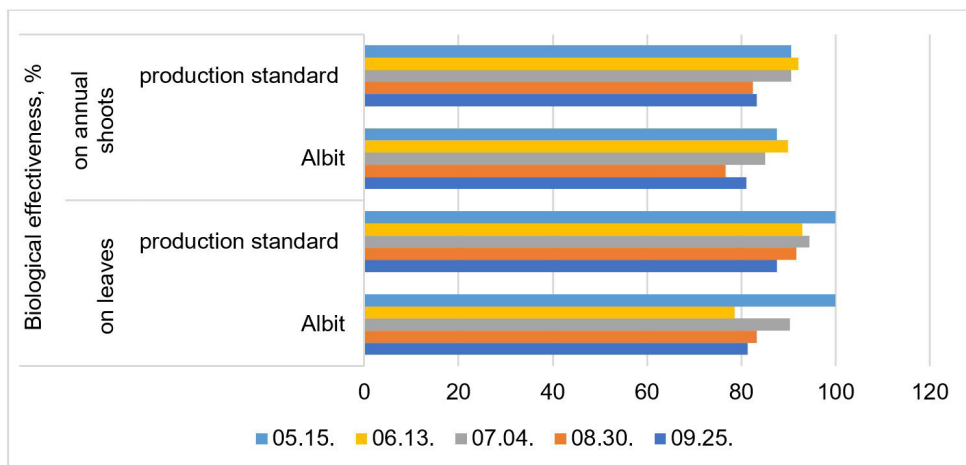
The development of powdery mildew on apple trees was weak to moderate. During the harvesting period in the control variant, the disease development on annual shoots and leaves was 22.2 and 12.8%, respectively; in the variant II, against the background of a decrease in pesticide loading, disease development was 5.3 times lower and amounted to 4.2% on annual shoots and 2.4% on leaves. The difference in the production standard (3,7 % on annual shoots and 1,6% on leaves) and the variant with using the Albit, FP at the rate of 100 ml/ha, was insignificant ( $P_{05} = 1.6$ ), within the experimental error.

Figure 1. Biological effectiveness of protective measures against scab.



Biological effectiveness of the tested scheme of protective measures on annual shoots and leaves of apple trees against powdery mildew, including five-fold spraying of the Albit, FP at a rate of 100 ml/ha remained high throughout the entire period of protective measures and amounted to 76.6 and 83.2% in 10 days after the last application. During harvesting period, the effectiveness of schemes of protective measures using the Albit, FP preparation remained high and amounted to 81.1% on shoots and 81.3% on leaves. The obtained characteristic values were up to production standard level (Figure 2).

Figure 2. Biological effectiveness of protective measures against powdery mildew.



Any measures allowing increase the intensity of photosynthesis positively effect on the accumulation of macronutrients in the vegetative and generative plant organs.

The studies provided show that five-fold using of the preparation Albit, FP has a positive effect on the growth and development of apple trees.

Determining the leaf-area duration of the shoot in the harvesting period showed that the difference between variant II and the control reliably exceeded the parameters of the least significant difference and amounted to 1.5 (Table 1). The difference in the parameter “average shoot length” between the control and variant II (was also significant and amounted to 0.11 m (15.5%)).

Table 1. The effect of the preparation Albit, FP on the leaf-area duration and the amount of shoot growth, P-value <0.05.

Variant	Leaf-area duration, m <sup>2</sup> shoot	Average shoot length, m
1. Control	0,51	0,55
2. Albit, FP, 100 ml/ha	0,76	0,67
3. Production standard	0,68	0,62
P <sub>05</sub>	0,09	0,06

Crops, harvested from the variant II, with five-fold spraying of the Albit, FP during the growing season, were corresponding to standards in 98% of cases. The proportion of the conditioned harvested crops in the standard variant was 96%. In the control this percentage was 71%.

A reliable increase in total cropping capacity by 29.7%, compared to the control, was observed in the variant II (Table 2). The difference with the production standard in terms of total cropping capacity amounted to 16.8% and was also reliable.

Table 2. Cropping capacity of apple plantations by the variants of experiment, P-value <0.05.

Variant of experiment	Distribution of crops by fractions, %				Sampling weight, kg	Increase in the yield, compared to the control, %
	less than 55 mm	55-60 mm	65-70 mm	more than 75 mm		
I. Control	43	19	32	6	11,8	100
II. Albit, FP	12	22	51	15	15,3	129,7
III. Standard	24	21	44	11	13,1	111,0
$P_{05}$	-	-	-	-	0,9	-

The analysis of experimental data showed that using of foliar application contributed to an increase in the total content of chlorophyll in apple leaves by 9.76%, compared to the control (Table 3).

Table 3. The capacity of conditional parameters and content of chlorophyll in leaves in 2019, P-value <0.05.

Variant of experiment	Mass concentration of sugars, g/100 cm <sup>3</sup>	Mass concentration of titratable acids, g/dm <sup>3</sup>	Dry matter content, %	Concentration of coloring agents, mg/l		
				Ca	Cb	Ca+b
I. Control	14,4	9,2	15,1	1,01	1,14	2,15
II. Albit, FP	15,3	7,6	16,4	1,20	1,16	2,36
III. Standard	15,0	8,2	16,1	1,17	1,15	2,32

## 4 CONCLUSION

Thus, it was found that inclusion of the Albit, FP preparation in the apple tree protection system, while simultaneously reducing the consumption rate of chemical fungicides, provides high biological effectiveness against diseases: in protecting leaves and fruits against scab - 87.0 and 81.8%, respectively; in protecting shoots and leaves against powdery mildew - 81.8 and 81.3%, respectively, as well as a significant increase in yield by 29.7 and 16.8%, relative to the control and standard variants, respectively.

The preparation showed positive effect on the quality of the yield: an increase in the proportion of conditioned crops (+ 25% to the chemical standard without Albit), an

increase in the mass concentration of sugars (+ 4.2%) and the content of dry matter (+ 1.8%) in fruits, a decrease in the mass concentration of titratable acids (-7.3%).

Using of the preparation Albit, FP also contributed to an increase in the total content of chlorophyll in apple leaves by 9.7%, compared to the control.

## 5 ACKNOWLEDGEMENTS

The authors want to thank all their colleagues for assistance in the research on this paper.

## LITERATURE CITED

Batukaev, A., Levchenko, S., Ostroukhova, E., Boiko, V., Peskova, I., Probeygolova, P., Belash, D. and Lutkova N. (2019). The effect of foliar fertilizing on ecological optimization of the application of fungicides on the productivity and phenolic complex composition of grapes. In book: BIO Web of Conferences. The 42nd World Congress of Vine and Wine, the 17th General Assembly of the International Organization of Vine and Wine (OIV). 01012. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20191501012>

Belash, D.Yu., Levchenko, S.V., Boiko, V.A. and Romanov A.V. (2021). Evaluation of the effect of foliar treatment with “Algae Super” preparation on the productivity and quality indicators of grapes. *Magarach. Viticulture and Winemaking*. 23(1), 27-31 (in Russian). DOI 10.35547/IM.2021.28.40.004.

Boyko, V.A., Levchenko, S.V., Belash, D.Yu. and Romanov, A.V. (2021) Influence of top dressing the fruit crops productivity in the conditions of the Crimea Republic. *Horticulture and viticulture of the South Russia*. 68(2), 204-214 (in Russian).

Chakchir, B.A. and Alekseeva, G.M. (2002) *Photometric methods of analysis: guidelines*. SPb.: Publishing house of SPKhFA, 44 p.

Interstate Standard 8756.13-87 “Fruit and vegetable products. Methods for determination of sugars”, (1987)

Interstate Standard ISO 750-2013 “Fruit and vegetable products. Determination of titratable acidity” (2013)

Jivan, C. and Sala, F. (2014) Relationship between tree nutritional status and apple quality. *Hort. Sci. (Prague)*. 41, 1–9.

Klimenko, O.E., Klimenko, N.N. and Klimenko, N.I. (2020) Biologization – the way to sustainable development of garden agrocenoses of the Crimea. Rational use of natural resources in agrocenoses. *Materials of the International Scientific and Practical Conference*. 6-7 (in Russian).

Muhammad, Q., Huang, J., Waqas, A., Li, D., Liu, S., Zhang, L., Andong, C., Liu, L., Xu, Y., G, J. and Zhang H. (2020) Yield sustainability, soil organic carbon sequestration and nutrients balance under long-term combined application of manure and inorganic fertilizers in acidic paddy soil. *Soil and Tillage Research*. 104569. DOI 10.1016/j.still.2019.104569.

Mushinsky, A.A., Aminova, E.V., Avdeeva, Z.A., Borisova, A.A. and Tumaeva, T.A. (2019). The effect of organic fertilizer on the productivity and quality of strawberries. *Pomiculture and small fruits culture in Russia*. 59, 335-342 (in Russian). <https://doi.org/10.31676/2073-4948-2019-59-335-342>

Ryabchinskaya, T.A. and Kharchenko, G.L. (2003). Biofungicide and plant growth regulator in protecting apple trees from scab. *Bulletin of plant protection*. 32, 38-47 (in Russian).

Stamenković, S., Beškoski, V., Karabegović, I., Lazić, M. and Nikolić, N. (2018) Microbial fertilizers: A comprehensive review of current findings and future perspectives. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 16(1): e09R01. 18 pages. <https://doi.org/10.5424/sjar/2018161-12117>.

Stranishevskaya, E.P., Levchenko, S.V., Matveikina, E.A., Shadura, N.I., Volodin, V.A., Boyko, V.A. and Belash D. Yu. (2020) Evaluation of the biological effectiveness of the preparation Albit, FP and the impact of its application technology on the productivity and quality of apple trees. Innovative activity as a factor in the development of agroindustrial complex in modern conditions. *Materials of II International Scientific Conference*. 123-128 (in Russian).

Stranishevskaya, E.P., Volkov, Ya.A., Matveikina, E.A., Shadura, N.I. and Volkova M.V. (2018). Principles of creating effective biological technologies for protecting grapes from harmful organisms. *Materials of the Conference "Modern technologies and plant protection products - a platform for innovative development in the agroindustrial complex of Russia"*. St. Petersburg-Pushkin. 150-152 (in Russian).

Stranishevskaya, E.P., Volkov, Ya.A., Matveikina, E.A., Shadura, N.I., Volodin, V.A., Chebotar, V.K. and Zaplatkin A.N. (2016) The effectiveness of biofungicides in protecting against oidium in the vineyards of the Southern coast of Crimea. Problems and prospects of integrated protection of fruit, ornamental, forest crops and grapes of the South Russia: *Proceedings of the International Scientific and Practical Conference, October 24-28, Yalta: Crimea Media Group*. 68-69 (in Russian).

Volkov, Ya.A., Parkhomenko, T.Yu., Parkhomenko, A.L., Stranishevskaya, E.P., Matveikina, E.A. and Volodin, V.A. (2016) Biological protection of vineyards of the Southern Coast of Crimea as a method of obtaining organic products. *Scientific works of the State Scientific Institution of the North Caucasus Zonal Research Institute of Horticulture and Viticulture of the Russian Academy of Agricultural Sciences*. 11, 137-144 (in Russian).

Volkova, M., Matveikina, E., Volkov, Ja. and Stranishevskaya, E. (2020). Organic viticulture as an important aspect of conserving biodiversity in Crimea agrocenoses. *E3S Web of Conferences*. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202017509004>.

Volynkin, V., Likhovskoi, V., Levchenko, S., Vasylyk, I., Ryff, I., Berezovskaya, S., Boyko, V. and Belash D. (2021) Modern trends of breeding cultivars for recreational areas of viticulture. *Acta Hort.* 1307, 13-20. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1307.3>

Wang, Y., Zhu, Y., Zhang, S. and Wang Y. (2018). What could promote farmers to replace chemical fertilizers with organic fertilizers? *Journal of Cleaner Production*. 199, 882-890.

Zlotnikov, A.K., Alyokhin, V.T., Andrianov, A.D. et al. (2009) Biological preparation Albit for increasing yield and plant protection: experiments, recommendations, results of application. *M.: Agrorus*. 248 (in Russian).

# CAPÍTULO 12

## THE EFFECT OF VEGETATIVE TREATMENT OF GRAPES WITH A PREPARATION BASED ON AMINO ACIDS ON THE PHENOLIC COMPLEX OF BERRIES

Data de submissão: 28/04/2022

Data de aceite: 16/05/2022

**Vladimir Boyko**

Federal State Budget Scientific  
Institution “All-Russian National  
Research Institute of Viticulture and  
Winemaking “Magarach” of the  
Russian Academy of Sciences”  
Kirova Street, 31, 298600  
Yalta, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0002-2401-7531>

**Svetlana Levchenko**

Federal State Budget Scientific  
Institution “All-Russian National  
Research Institute of Viticulture and  
Winemaking “Magarach” of the  
Russian Academy of Sciences”  
Kirova Street, 31, 298600  
Yalta, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0001-5423-0520>

**Dmitriy Belash**

Federal State Budget Scientific  
Institution “All-Russian National  
Research Institute of Viticulture and  
Winemaking “Magarach” of the  
Russian Academy of Sciences”  
Kirova Street, 31, 298600  
Yalta, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0003-3525-2948>

**Elena Ostroukhova**

Federal State Budget Scientific  
Institution “All-Russian National  
Research Institute of Viticulture and  
Winemaking “Magarach” of the  
Russian Academy of Sciences”  
Kirova Street, 31, 298600  
Yalta, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0003-0638-9187>

**Irina Peskova**

Federal State Budget Scientific  
Institution “All-Russian National  
Research Institute of Viticulture and  
Winemaking “Magarach” of the  
Russian Academy of Sciences”  
Kirova Street, 31, 298600  
Yalta, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0002-5107-518X>

**Sofia Cherviak**

Federal State Budget Scientific  
Institution “All-Russian National  
Research Institute of Viticulture and  
Winemaking “Magarach” of the  
Russian Academy of Sciences”  
Kirova Street, 31, 298600  
Yalta, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0001-9551-7448>

**Nataliya Lutkova**

Federal State Budget Scientific  
Institution “All-Russian National  
Research Institute of Viticulture and  
Winemaking “Magarach” of the  
Russian Academy of Sciences”  
Kirova Street, 31, 298600  
Yalta, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0002-8126-7596>



### Mariya Viugina

Federal State Budget Scientific  
Institution "All-Russian National  
Research Institute of Viticulture and  
Winemaking "Magarach" of the  
Russian Academy of Sciences"  
Kirova Street, 31, 298600  
Yalta, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0001-6146-2151>

### Olga Zaitseva

Federal State Budget Scientific  
Institution "All-Russian National  
Research Institute of Viticulture and  
Winemaking "Magarach" of the  
Russian Academy of Sciences"  
Kirova Street, 31, 298600  
Yalta, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0002-8204-5610>

### Aleksandr Romanov

Federal State Budget Scientific  
Institution "All-Russian National  
Research Institute of Viticulture and  
Winemaking "Magarach" of the  
Russian Academy of Sciences"  
Kirova Street, 31, 298600  
Yalta, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0002-9999-2657>

**ABSTRACT:** One of the modern problems of winemaking is the lag in the formation of the phenolic complex of berries in relation to the accumulation of sugars during the ripening of grapes. This leads to a distortion of the established organoleptic styles of red wines. It seems promising to influence the metabolism of grapes in the direction of increasing the synthesis of secondary metabolites through the use of foliar dressings. The precursors of the formation of phenolic compounds in the plant cell amino acids. We studied the effect of foliar fertilizers based on a complex of amino acids ("Siamino Pro 500), introduced at the beginning of grape ripening, on the phenolic compounds in grape berries of 4 cultivars from the South Coast zone of the Crimea. Using HPLC, it was revealed that at a similar

level of sugar accumulation (in the range 183-218 g L<sup>-1</sup>), the content of anthocyanins complex in the skins of the experimental grapes of 'Merlot' and 'Shiraz' was 71% and 12% higher than in the control ( $\alpha < 0.05$ ); in 'Cabernet Sauvignon' and 'Sangiovese' it was 17% and 45% less. Experimental processing of 'Merlot' and 'Shiraz' grapes led to an increase in the content of monoglucosides of delphinidin, cyanidin, formed from predecessors, by an average of 1.7 times. In 'Cabernet Sauvignon' and 'Sangiovese', the treatment stimulated the conversion of anthocyanins, increasing the proportion of monoglucosides of malvidin by 1.2 and 1.4 times.

**KEYWORDS:** Phenolic compounds. Phenolic maturity. Complex of amino acids. Berry skin. Seeds.

## O EFEITO DO TRATAMENTO VEGETATIVO DE UVAS COM PREPARAÇÃO À BASE DE AMINOÁCIDOS NO COMPLEXO FENÓLICO DE BAGAS

**RESUMO:** Um dos problemas modernos da vinificação é o atraso na formação do complexo fenólico das bagas em relação ao acúmulo de açúcares durante o amadurecimento das uvas. Isto leva a uma distorção dos estilos organolépticos estabelecidos de vinhos tintos. Parece promissor influenciar o metabolismo das uvas no sentido de aumentar a síntese de metabólitos secundários através do uso de coberturas foliares. Os precursores da formação de compostos fenólicos nos aminoácidos das células vegetais. Estudamos o efeito de fertilizantes foliares à base de um complexo de aminoácidos ("Siamino Pro 500), introduzido no início do amadurecimento da uva, sobre os compostos fenólicos em bagas de uva de 4 cultivares da zona da costa sul da Crimeia. Usando HPLC, foi revelado que em um nível semelhante de acúmulo de açúcar (na faixa de 183-218 g L<sup>-1</sup>), o teor de complexo antocianinas nas cascas das uvas

experimentais 'Merlot' e 'Shiraz' foi de 71% e 12 % maior que no controle ( $\alpha < 0,05$ ), em 'Cabernet Sauvignon' e 'Sangiovese' foi 17% e 45% menor. O processamento experimental das uvas 'Merlot' e 'Shiraz' levou a um aumento no teor de monoglicosídeos de delphinidina, cianidina, formada a partir de antecessores, em média 1.7 vezes. Em 'Cabernet Sauvignon' e 'Sangiovese', o tratamento estimulou a conversão de antocianinas, aumentando a proporção de monoglicosídeos de malvidina em 1.2 e 1.4 vezes.

**PALAVRAS-CHAVE:** Compostos fenólicos. Maturidade fenólica. Complexo de aminoácidos. Casca de baga. Sementes.

## 1 INTRODUCTION

One of the modern problems of winemaking associated with climate change in the direction of increasing ambient temperature is the lag in formation of berry phenolic complex relative to accumulation of sugars during grape ripening. Consequently, research on grapevine genetic diversity has intensified toward finding varieties characterized by early synthesis of anthocyanins in ontogeny under various abiotic environmental factors (Teixeira et al., 2013; Pastore et al., 2017; Garcia et al. 2018); and cross breeding and genetic studies based on creating new genotypes with high climatic plasticity and berry component composition potential for high quality wines (Risovannaya et al., 2017; Ostroukhova et al., 2019., Davis et al, 2012; Adjeva et al, 2015). Studies are underway to modify the anthocyanin pathway using regulatory and structural genes (Boss et al. 1996, Ananga, et al. 2013). The impact on grape metabolism in the direction of increasing the synthesis of secondary metabolites through agronomic practices seems promising (Zhao et al, 2005). It is known that the biosynthesis of phenolic compounds is based on a combination of acetate-malonate and shikimate reactions, with the bulk of phenolic compounds coming from hydroxycinnamic acids, which are formed from phenylalanine and tyrosine (Heldt and Piechulla, 2011). Current studies indicate a positive effect of biostimulants on the intensification of biosynthesis processes, increased resistance to stress and increased pigment content in berries due to stimulation of the phenylalanine pathway. The positive effect of the combined application of nitrogen and potassium fertilizers on the synthesis of polyphenols and the improvement of berry color characteristics in grapes was established (Delgado, 2006). Considering that most of the amino acids in the plant are capable of transformation from one form to another through amination and reamination reactions, treatment of plants with preparations containing amino acids can intensify the synthesis of secondary metabolites, in particular phenolic substances.

The research is devoted to evaluation of the influence of amino acid preparation application at the phenological phase of vegetation “the beginning of berry ripening” the final of ripening stages on formation of phenolic complex of berries and phenolic maturity of the crop.

## 2 MATERIALS AND METHODS

### 2.1 PROCEDURE AND CONDITIONS OF THE EXPERIMENT

Experimental studies were carried out during 2020 on grape ‘Cabernet-Sauvignon’, ‘Merlot’, ‘Shiraz’ and ‘Sangiovese’ from mountain-valley zone of viticulture of Crimea. Planting scheme was 3.0 × 1.5 m. Bushes shape was a cordon on a middle trunk. Vertical shoot positioned trellising system was used. Single foliar treatment with a preparation based on a complex of amino acids (600 g L<sup>-1</sup>) “Seamino Siamino Pro 500” at the rate of 1 kg ha<sup>-1</sup> was carried out on the experimental plot (1 ha for each cultivar). The preparation was applied in at the phenological phase of vegetation “the beginning of berry ripening”. System of agricultural actions without “Seamino Pro 500” application served as a control.

### 2.2 SAMPLE PREPARATION AND CHEMICAL ANALYSIS OF GRAPES

Grape samples from control and experimental plots were taken during the commercial harvesting period (September 10, 2020). Healthy bunches were sampled diagonally of plots, from the shady, sunny, upper, middle and lower parts of bushes. The total weight of each sample was 20 kg. Technological assessment of grapes was carried out according to parameters: of mass concentration of sugars, (Compendium, 2017) and phenolic maturity.

The phenolic maturity of grapes was assessed using the Glories method, based on the determining the potential amount of anthocyanins in the grape berry ( $A_{pH1,0}$ ), concentration of easily extractable anthocyanins in the winemaking conditions ( $A_{pH3,2}$ ), proportion of easily extractable anthocyanins from their potential amount ( $E_a = A_{pH3,2} \times 100 / A_{pH1,0}$ ), the proportion of seed tannins ( $M_p$ ) (Glories, 1998; Rajha, 2017;). The method makes it possible to assess the potential of the present proanthocyanidins and anthocyanins, as well as their ability to be extracted from grapes during processing and further technological operations (Rajha, 2017).

### 2.3 PHENOLIC COMPLEX ANALYSIS BY HPLC METHOD

The quantitative and qualitative composition of the polyphenol complex in the studied samples was determined by HPLC using the Agilent Technologies system (model 1100) with a diode-matrix detector. A Zorbax SBC18 chromatographic column was used for the separation of substances; chromatograms were recorded at the following wavelengths: 280 nm for gallic acid, (+)-D-catechin, (-)-epicatechin and procyanidins, 313 nm for hydroxycinnamic acids derivatives, 371 nm for quercetin and 525 nm for anthocyanins. The substances were identified by comparing their spectral characteristics

in terms of retention time with similar characteristics of the standards. Gallic acid, caffeic acid, (+)-D-catechin, malvidin 3-O-glucoside chloride, quercetin dihydrate, isoquercitrin (FlukaChemie AG, Switzerland), (-)-epicatechin, syringic acid (SigmaAldrich, Switzerland) were used as standards.

## 2.4 STATISTICAL ANALYSIS OF THE DATA

All chemical analyses were performed in triplicate. The entries were mathematically processed with the help of statistical software package SPSS Statistics 17.0. Arithmetic mean value, variance of a single result and standard deviation (SD) were determined. Significance of the difference of indicators in grapes of control and experimental batches was estimated by U-test. The predetermined probability of an erroneous result ( $\alpha$ ) was less than 0.05.

## 3 RESULTS AND DISCUSSION

The application of dressing under experimental conditions had no significant effect on the accumulation of sugars in berries, which allowed us to evaluate the effect of the studied treatment on the phenolic complex of grapes at parity content of sugars in the experimental and control batches of grapes.

From the perspective of wine quality, an important characteristic of berry phenolic complex is, on the one hand, the level of accumulation and extraction of skin anthocyanins; on the other hand, the degree of polymerization and extraction of seed polyphenols (Ribereau-Gayon, et al., 2006; Ren et al., 2017).

Monomeric and dimeric phenolic components of flavonoid and non-flavonoid structure were identified in the skin of the experimental and control lots of grapes using HPLC analysis (Table 1). The content of the components in the control lots of grapes ranged from  $1630.6 \pm 97.8$  mg kg<sup>-1</sup> of skin ('Merlot') to  $6868.0 \pm 549.4$  mg kg<sup>-1</sup> ('Cabernet Sauvignon'). The vegetative treatment of grapes with amino acid based preparation had ambiguous effect on the components content in berry skin: in 'Merlot' and 'Shiraz' grapes their concentration was increased (by 67% and 3% respectively), in 'Cabernet Sauvignon' and 'Sangiovese' - it decreased by 23% and 50%.

The proportion of anthocyanins among identified components in the skins of control lots of grapes ranged from 54% ('Cabernet Sauvignon') to 83% ('Merlot') and increased by 2%-6% under the influence of vegetative treatment of grapes. At the same time, the mass concentration of anthocyanins complex in the skin of the experimental batches of 'Cabernet Sauvignon' and 'Sangiovese' grapes was 17% and 45% lower than in

the control lots, amounting to  $3065.8 \pm 122.6$  and  $1206.3 \pm 78.4$  mg kg<sup>-1</sup>. In contrast, the content of anthocyanins complex in 'Merlot' and 'Shiraz' grapes under the influence of its treatment with 'Si amino Pro 500' increased by 71% and 12%, reaching  $2306.0 \pm 161.4$  and  $2598.5 \pm 90.9$  mg kg<sup>-1</sup>, respectively.

Table 1. The content (arithmetic mean value<sup>1</sup>, mg kg<sup>-1</sup>) of phenolic compounds in the skin of berries.

Phenolic compounds	'Cabernet Sauvignon'		'Merlot'		'Sangiovese'		'Shiraz'	
	control	experiment	control	experiment	control	experiment	Control	experiment
Hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids	87.1	40.5	19.8	25.1	20.6	18.1	49.9	68.6
Flavonols	91.2	119.3	26.9	42.9	9.8	3.0	49.3	52.3
Flavan-3-ols	2045.9	1462.9	165.5	298.4	481.5	166.3	1095.6	935.4
Procyanidins	941.1	510.2	74.0	48.4	178.7	22.7	308.5	266.2
Anthocyanins:								
delphinidin-3-O-β-D-glucoside	358.2	172.9	106.8	199.3	380.2	116.3	173.8	126.0
cyanidin-3-O-β-D-glucoside	79.3	18.2	15.4	22.3	300.3	99.3	29.7	81.2
petunidin-3-O-β-D-glucoside	293.2	131.1	96.6	171.7	377.6	167.2	193.4	375.7
peonidin-3-O-β-D-glucoside	188.9	71.8	53.3	89.7	205.6	124.1	154.8	155.8
malvidin-3-O-β-D-glucoside	1501.3	1567.4	605.7	1211.8	919.8	683.3	994.9	916.9
delphinidin-3-O-β-D-glucoside-6-O-acetate	75.8	42.6	16.8	34.0	0.6	1.4	32.5	147.7
cyanidin-3-O-β-D-glucoside-6-O-acetate	22.9	10.3	4.7	7.1	1.1	0.6	12.6	52.1
petunidin-3-O-β-D-glucoside-6-O-acetate	105.4	50.9	24.3	46.0	1.3	3.7	53.1	196.9
peonidin-3-O-β-D-glucoside-6-O-acetate	3.4	1.1	0.0	3.4	1.1	1.7	6.6	2.7
malvidin-3-O-β-D-glucoside-6-O-acetate	601.2	716.8	204.4	331.7	6.1	2.3	297.1	363.0
petunidin-3-O-β-D-glucoside-6-O-p-coumarate	52.3	15.9	17.0	14.1	6.2	0.4	35.4	41.1
malvidin-3-O-β-D-glucoside-6-O-p-coumarate	420.9	266.9	199.4	175.0	12.4	6.1	331.5	139.4
<b>Total anthocyanins:</b>	3702.8	3065.8	1344.4	2306.1	2212.3	1206.3	2315.4	2598.5
<b>Total phenolic components</b>	6868.0	5198.8	1630.6	2720.9	2902.9	1416.5	3818.7	3921.0

<sup>1</sup>SD-values were lower than 9% for all assays.

Siamino Pro 500 treatment in 'Merlot' grapes stimulated biosynthesis of anthocyanins from precursors quercetin and myricetin (Teixeira et al., 2013; Mattioli et al., 2020), as evidenced by 1.9 and 1.5-fold increases ( $\alpha < 0.05$ ) in monoglucosides of delphinidin, cyanidin, and their derivatives acylated by acetic acid or by p-coumaric acid, and by interconversion of anthocyanins, as indicated by an average 1.7-fold increase in monoglucosides of malvidin, peonidin, petunidin and their derivatives. The increase in the content of the anthocyanin complex in the experimental lots of 'Shiraz' grapes was due to the increased formation of monoglucosides of delphinidin, cyanidin and their derivatives (1.6-fold) and monoglucosides of petunidin (2.2-fold), at the same time there was a 13% decrease in the content of monoglucosides of malvidin relative to control. Considering that the final metabolites of the chain of transformation of anthocyanin compounds of *Vitis vinifera* use cursives for scientific name are malvidin-3-O- $\beta$ -D-glucoside and its derivatives (Narduzzi et al., 2015), the presented data suggest that the anthocyanin complex accumulated in the experimental batches of 'Shiraz' grapes is in the stage of active interconversion of components. In 'Cabernet Sauvignon' grapes the vegetative treatment did not lead to the intensification of biosynthesis of anthocyanins from precursors: on the contrary, the content of monoglucosides of delphinidin, cyanidin and their derivatives in experimental lots was 2 and 3.6 times lower than in control. At the same time, the use of top dressing stimulated mutual transformation of anthocyanins, as evidenced by the increased proportion of monoglucosides of malvidin (from 68% in the control batches to 83% - in the experimental), while the proportion of all other components of the anthocyanin complex decreased. Similar effect was exerted by the treatment on the formation of anthocyanin complex of 'Sangiovese' grape skins. At the same time, in both control and experimental batches, a low proportion of monoglucosides of malvidin (42% and 57%, respectively) with relatively high proportions of monoglucosides of cyanidin, peonidin, petunidin, which indicates incomplete processes of mutual transformation of components and/or variety-specific features of the 'Sangiovese' anthocyanin complex.

The observed effect of vegetative grape treatment on the content and component composition of anthocyanins complex of berry skin was reflected in a significant ( $\alpha < 0.05$ ) increase in the concentration of easily extractable anthocyanins in 'Sangiovese' and 'Shiraz' by 24 % and 47 % relative to control (Table 2).

Table 2. Indicators of phenolic maturity of grapes from experimental and control lots (1).

Cultivar	Option	$A_{pH1.0}$	$A_{pH3.2}$	Ea, %	Mp, %
		mg L <sup>-1</sup>	mg L <sup>-1</sup>		
'Cabernet Sauvignon'	control	1150±67	602±24	52±1	23±1
'Cabernet Sauvignon'	experiment	1104±55	604±24	55±2	21±1
'Merlot'	control	1293±71	651±20	50±1	24±2
'Merlot'	experiment	1031±41	618±21	60±3	20±1
'Sangiovese'	control	1190±36	343±14	29±2	21±2
'Sangiovese'	experiment	841±42	425±17	50±3	14±2
'Shiraz'	control	1468±66	528±26	36±2	23±2
'Shiraz'	experiment	1377±69	776±29	56±2	30±3

<sup>1</sup> arithmetic mean value ±SD;  $A_{pH1.0}$  – potential amount of anthocyanins in the grape berry;  $A_{pH3.2}$  – concentration of easily extractable anthocyanins in the winemaking conditions; Ea – proportion of easily extractable anthocyanins from their potential amount; Mp – the proportion of seed tannins

The grapes of the experimental batches of all cultivars were characterized by a higher proportion of easily extractable anthocyanins from their potential amount (Ea), reflecting the proportion of easily extractable anthocyanins in the anthocyanin complex. In the experimental grapes 'Sangiovese' and 'Shiraz' the increase of Ea index was 20-21%, in the grapes 'Cabernet Sauvignon' and 'Merlot' - 3-10%. Thus, treatment of grapes with "Siamino Pro 500" promoted formation of anthocyanin complex, and at the same level of accumulation of sugars the grapes of experimental batches were characterized by better indicators of "phenolic maturity".

Regarding the other phenolic components of grape skins, it should be noted (Table 1) that in the experimental batches of grapes of all varieties the mass concentration of flavan-3-ols and procyanidins decreased by 2% ('Sangiovese') - 93% ('Shiraz') and 14% ('Shiraz') - 72% ('Sangiovese') respectively.

Phenolic complex of seeds changed under the influence of vegetative treatment of grapes (Table 3). The content of phenolic components in the seeds of the control lots varied from 513.3 ± 40.1 mg kg<sup>-1</sup> ('Sangiovese') to 2299.1±137.9 mg kg<sup>-1</sup> ('Shiraz' in the seeds of experimental lots - less by 12% ('Cabernet Sauvignon') to 38% ('Sangiovese') relative to the control values. The phenolic complex of the seeds of the control and experimental lots of 'Sangiovese' grapes differed by a high proportion of hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids - 21%, and procyanidins and flavan-3-ols accounted for 74% in the experimental lots and 76% in the control. In all other cases, the proportion of procyanidins and flavan-3-ols in the phenolic complex of seeds of control and experimental lots of grapes was 91-96%. A simultaneous reduction in the content of flavan-3-ols (by 3 - 27%) and procyanidins (by 15 - 45%) in the seeds of 'Merlot', 'Sangiovese' and 'Shiraz' grapes was observed under



the effect of vegetative treatment. In the seeds of 'Cabernet Sauvignon' grapes of the experimental lots, the content of flavan-3-ols decreased by 50% relative to control, while the concentration of procyanidins increased by 60%.

Table 3. The content (arithmetic mean value<sup>1</sup>, mg kg<sup>-1</sup>) of phenolic compounds in the seeds.

Phenolic compounds	'Cabernet Sauvignon'		'Merlot'		'Sangiovese'		'Shiraz'	
	control	experiment	control	experiment	control	experiment	control	experiment
Hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids	42.1	77.9	73.7	37.5	110.0	66.7	79.8	39.0
Flavonols	4.6	9.0	1.7	2.4	11.9	2.5	18.5	36.5
Flavan-3-ols	754.1	373.8	282.1	207.1	69.5	58.0	732.7	709.1
Procyanidins	354.7	568.5	479.0	405.7	321.7	77.4	1358.8	1092.6
Anthocyanins:	11.5	2.0	1.4	2.7	0.37	11.4	9.2	7.1
Total phenolic compounds	116.0	1031.2	837.9	655.4	513.4	216.0	2199.0	1884.2

<sup>1</sup>SD-values were lower than 9% for all assays.

The data presented, on the one side indicate that the applied treatment did not stimulate the biosynthesis of procyanidins and flavan-3-ols in grape seeds and grape skins. On the other side, vegetative treatment of grapes promoted oxidative polymerization of components with the formation of high-molecular-weight tannins, which led to a decrease in easily extractable monomeric and dimeric flavonoids.

The analysis of grapes according to the Glories method (Glories and Vivas, 1998). Table 2 showed a decrease ( $\alpha < 0.05$ ) in the extractable polyphenols of seeds in the experimental lots of 'Cabernet Sauvignon', 'Merlot', 'Sangiovese' by 2-7%, which indicates a higher degree of technological maturity of their phenolic complex compared to control. In 'Shiraz' grapes the share of extractable seed polyphenols in the experimental lots was 7% higher than in the control. This indicates incomplete processes of oxidative polymerization and condensation of seed polyphenols.

## 4 CONCLUSIONS

Thus, the treatment of grapes with the preparation "Siamino Pro 500" in the cvs. 'Cabernet Sauvignon', 'Merlot', 'Sangiovese', 'Shiraz' at the beginning of berry ripening stimulated the formation of monoglucosides of delphinidin, cyanidin from precursors (1.7 times on average) and/or transformation of anthocyanins, increasing the proportion of monoglucosides of malvidin in anthocyanins complex by 1.2-1.4 times. At the same time, application of amino-acid-based fertilizer under the experimental conditions had no effect

on the biosynthesis of procyanidins and flavan-3-ols in berry seeds and skin, but it apparently promoted their oxidative polymerization, which reduced the content of procyanidins by 14-72%, flavan-3-ols - by 2-93%. The effect of vegetative treatment of grapes phenolic complex of berries was the improvement of yield phenolic maturity indicators at a close level of sugars accumulation: the share of extractable seed polyphenols decreased, and easily extractable anthocyanins - increased by 3-21%.

## LITERATURE CITED

Adzhieva, V.F., Babak, O.G., Shoeva, O.Yu., Kilchevsky, A.V., and Khlestkina, E.K. (2015) Molecular-genetic mechanisms underlying fruit and seed coloration in plants. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 19 (5), 561573. DOI 10.18699/VJ15.073. (in Russian)

Ananga, A., Georgiev, V., Ochieng, J., Phills, B., and Tsolova, V. (2013) Production of anthocyanins in grape cell cultures: a potential source of raw material for pharmaceutical, food, and cosmetic industries. In: Poljuha D, Sladonja B (eds) *The Mediterranean Genetic Code - Grapevine and Olive*. InTech DOI:10.5772/54592

Boss, P.K., Davies, C., and Robinson, S.P. (1996). Analysis of the expression of anthocyanin pathway genes in developing *Vitis vinifera* L. cv Shiraz grape berries and the implications for pathway regulation. *Plant Physiology*, 111, 1059-1066 DOI: 10.1104/pp.111.4.1059

Compendium of international methods of wine and must analysis. Paris. (2017)

Delgado, R., González, M.R., and Martín, P. (2006). Interaction effects of nitrogen and potassium fertilization on anthocyanin composition and chromatic features of Tempranillo grapes. *Journal international des sciences de la vigne et du vin*. 40 (3), 141-150 DOI:10.20870/oenone.2006.40.3.870

García-Esparza, M. J., Abrisqueta, I., Escriche, I., Intrigliolo, D. S., Álvarez, I., and Lizama, V. (2018). Volatile compounds and phenolic composition of skins and seeds of 'Cabernet Sauvignon' grapes under different deficit irrigation regimes. *Vitis* 57, 83–91 DOI: 10.5073/vitis.2018.57.83-91

Glories, Y. and Vivas, N. (1998). Maturation phenologique: definition et controle. Resume d'intervention presente par Julien Ducruet. *Universite Bordeaux II*. 1-10 (In France)

Heldt, H.-W., and Piechulla, B. (2011). *Plant Biochemistry*. 4-th edition, pp. 656.

Mattioli, R., Francioso, A., Mosca, L., and Silva, P. (2020). Anthocyanins: A Comprehensive Review of Their Chemical Properties and Health Effects on Cardiovascular and Neurodegenerative Diseases. *Molecules* 25, 3809 doi:10.3390/molecules25173809

Narduzzi, L., Stanstrup, J., Mattivi, F. (2015). Comparing wild American grapes with *Vitis vinifera*: a metabolomics study of grape composition. *J Agric Food Chem*. 63 (30), 6823-34 <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01999>

Ostroukhova E., Levchenko S., Likhovskoi V., Volynkin V., Peskova I., Vasylyk I. The dynamics of the phenolic complex of grapes during ripening: comparison of crimean autochthonous and classical cultivars. *Acta Horticulturae*. 2019. T. 1259. C. 105-113.

C. Pastore, S. Dal Santo, S. Zenoni, N. Movahed, G. Allegro, G. Valentini, I. Filippetti, G.B. Tornielli. Whole Plant Temperature Manipulation Affects Flavonoid Metabolism and the Transcriptome of Grapevine Berries *Front. Plant Sci.*, 8, 929 (2017).

Rajha, H.N., Darra, N.E., Kantar, S.E., Hobaika, Z., Louka, N., and Maroun, R.G. (2017). A comparative study of the phenolic and technological maturities of red grapes grown in Lebanon. *Antioxidants*, 6 (1), 8 <https://doi.org/10.3390/antiox6010008>

Ren, M., Wang, X., Du, G., Tian, C., Zhang, J., Song, X., and Zhu, D. (2017). Influence of different phenolic fractions on red wine astringency based on polyphenol/protein binding. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 38 (1), DOI:10.21548/38-1-1295

Ribereau-Gayon, P., Dubourdieu, D. Doneche, B. and Lonvaud, A. (2006). *Handbook of Enology. Volume 1. The Microbiology of Wine and Vinifications. 2nd Edition* (England: John Wiley & Sons, Ltd.). P. 497 (Trans. from French).

Risovannaya, V.I., Gorislavets S.M., Kolosova, A.A., and Volodin, V.A. (2017) Grape cultivar phenotyping on the basis of ampelometric, enochemical and enocarpological characteristics. *Magarach. Viticulture and Winemaking* 3, 25-28. (in Russian)

Teixeira, A., Eiras-Dias, J., Castellarin, S.D., and Gerós, H. (2013) Berry phenolics of grapevine under challenging environments. *International Journal of Molecular Sciences*. 14 (9), 18711-18739. <https://doi.org/10.3390/ijms140918711>

Zhao, J., Davis, L.C., and Verpoorte, R. (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnol. Adv.* 23 (4), 283–333 DOI: 10.1016/j.biotechadv.2005.01.003

## CAPÍTULO 13

### ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE ACEITES SEMILLAS CON APROVECHAMIENTO POTENCIAL ZONAS TROPICALES

Data de submissão: 09/06/2022

Data de aceite: 08/07/2022

#### Amelia Andrea Espitia Arrieta

Universidad de Córdoba  
Docente catedrática e Investigadora  
Grupo Físicoquímica Orgánica  
Departamento de Química  
Magíster en Ciencias Químicas, Químico  
Montería, Córdoba, Colombia  
<https://orcid.org/0000-0002-3397-6662>

#### Jennifer Judith Lafont Mendoza

Universidad de Córdoba  
Docente Titular de Tiempo Completo  
Investigadora Senior  
Directora Grupo de Físicoquímica Orgánica  
Dpto de Química  
Doctora en Ciencias Mención Gerencia  
Magíster en Ciencias Químicas  
Montería, Córdoba, Colombia  
<https://orcid.org/0000-0001-8862-2442>

**RESUMEN:** El objetivo de este trabajo fue realizar análisis físicoquímicos a los aceites de semillas de *Moringa oleifera Lam*, *Azadirachta indica*, *Hevea brasiliensis*, *Ceiba pentandra*, y su composición química a través de métodos cromatográficos y químicos; para ello se recolectaron las semillas de las cuatro especies en estudio, fueron descascaradas,

molidas, secadas y almacenadas al vacío, constituyéndose en las materias primas a las que se les extrajo aceite por los métodos de prensado y solvente, se determinaron propiedades físicoquímicas de humedad, corrosión en lámina de cobre, índices de acidez, peróxido y yodo; también se identificó la composición química de los cuatro aceites mediante técnicas de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Se encontró mayor porcentaje de aceite con extracción por el método de solvente en las cuatro materias primas, las propiedades físicoquímicas evidenciaron aceites con poca humedad, bajos valores de acidez, nivel corrosivo y mayor estabilidad a la oxidación. Todos los aceites presentaron altos porcentajes de ácidos grasos insaturados, resaltando en la *Moringa oleifera Lam* y *Azadirachta indica*, el ácido oleico ( $\omega$ -9) y en los aceites de *Hevea brasiliensis* y *Ceiba pentandra* el linoleico ( $\omega$ -6). Se concluye que los aceites de todas las especies en estudio tienen grandes potencialidades para su uso industrial; siendo los de *Moringa oleifera Lam* y *Azadirachta indica* atractivos para la industria farmacéutica, cosmetológica y de biocombustibles y los de *Hevea brasiliensis* y *Ceiba pentandra* se recomiendan para la industria farmacéutica y producción de biodiesel, de tintas, barnices, pinturas, aerosoles, adhesivos, principalmente.

**PALABRAS CLAVES:** Análisis físicoquímicos. Aceites. Semillas. Métodos de extracción.

## 1 INTRODUCCIÓN

En el departamento de Córdoba existen numerosas especies de plantas oleaginosas que crecen abundantemente en la naturaleza como *Moringa oleifera Lam*, *Azadirachta indica*, *Hevea brasiliensis* y *Ceiba pentandra*, cuyos estudios científicos son diversos, como por ejemplo las semillas de *Moringa oleifera Lam* son usadas principalmente en el tratamiento de aguas y aguas residuales, ya que cuando son adicionadas al agua provocan floculación debido a la presencia de proteínas catiónicas que permiten la sedimentación de las partículas suspendidas en ella (Zhong *et al.*, 2018). Las hojas de *Azadirachta indica*, han sido estudiadas con fines medicinales y para controlar las plagas en los cultivos (Prakash y Priyab 2015; Zatelli, Fondati y Maroli, 2022); el aceite ha sido utilizado como insecticida, lubricante y para conocer su actividad biológica en varios tipos de enfermedades (Ayinde, Morakinyo y Sridhar, 2020). El árbol de *Hevea brasiliensis* tiene gran importancia industrial, ya que su tronco exuda látex, el cual ha sido estudiado para convertirlo en caucho, (Arumugam, Thulasidharam y Jegadeesan, 2018); también se ha analizado diversas actividades biológicas del aceite de las semillas como; antimicrobiana, antifúngica, antioxidante, entre otras (Oladipo y Betiku, 2020). Del árbol de *Ceiba pentandra* se ha estudiado recientemente el aceite de sus semillas con fines de biocombustibles (Anbarasan, Ponnusami y Arumugam, 2021; Silitonga *et al.*, 2020; Balajii y Niju, 2020).

A pesar de la amplia aplicabilidad que han demostrado estas cuatro especies vegetales: *Moringa oleifera Lam*, *Azadirachta indica*, *Hevea brasiliensis* y *Ceiba pentandra*, se ha restado relevancia al estudio químico del aceite contenido en las semillas respectivas, las cuales dependiendo de su composición química, se pueden proponer posibles aplicaciones potenciales para las diversas industrias como la aceitera, cosmetológica, farmacéutica, alimenticia, automotriz, entre otras, en la búsqueda del mejoramiento económico con bienestar social de los habitantes de la región.

De acuerdo a lo anterior se plantea realizar análisis fisicoquímicos a los aceites de semillas de *Moringa oleifera Lam*, *Azadirachta indica*, *Hevea brasiliensis* y *Ceiba pentandra*, y su composición química través de métodos cromatográficos y químicos con el fin de potenciar su aprovechamiento de manera sostenible en la región cordobesa.

## 2 MARCO TEÓRICO

*Moringa oleifera Lam* (Moringa), es una planta nativa del noroeste de la India, miembro del género Moringaceae, es de rápido crecimiento, tolerante a suelos áridos

y su adaptabilidad a diferentes climas es muy favorable, por tal razón su distribución se ha expandido en el mundo, con predominancia en regiones tropicales y subtropicales, es conocido popularmente como “árbol milagroso” debido a que la gran mayoría de sus partes se pueden utilizar con fines medicinales y terapéuticos, estas propiedades son atribuidas a sus actividades antimicrobianas, antiinflamatorias, anticancerígenas y hepatoprotectoras (Sans *et al.*, 2021).

La composición química del aceite, posee altos valores nutricionales asociados con posibles beneficios para la salud humana, como la reducción del riesgo de enfermedades cardiovasculares y la disminución de los niveles de azúcar en sangre, convirtiendo al aceite de Moringa en un alimento nutracéutico (Silva *et al.*, 2022), las semillas de Moringa son usadas principalmente en el tratamiento de aguas y aguas residuales, estas son secadas, trituradas y cuando se adicionan al agua provocan floculación debido a la presencia de proteínas catiónicas que permiten la sedimentación de partículas (Zhong *et al.*, 2018).

El árbol de *Azadirachta indica* (Neem), tiene hoja perenne, originaria de la India, donde ha sido utilizada durante siglos con fines medicinales y para el control de plagas, la producción por año de aceite de neem en la India es de aproximadamente 30.000 toneladas (Prakash y Priyab 2015). Este aceite ha sido utilizado como insecticida, debido a su actividad larvicida contra vectores de enfermedades importantes para la salud pública, como malaria, filaria, dengue, dengue hemorrágico y fiebre amarilla, también ha sido usado como lubricante y en medicina para el control de varios tipos de enfermedades (Ayinde, Morakinyo y Sridhar, 2020). También se ha utilizado como combustible en lámparas con fines de iluminación en zonas rurales (Sathish *et al.*, 2022).

La especie *Hevea brasiliensis* (Árbol del caucho) es la más conocida del género *Hevea*, debido a su valor comercial, se encuentra abundantemente en el Amazonas, tiene una gran importancia industrial, ya que produce látex, el cual es convertido en caucho, se estima que el 90% del caucho natural se produce a partir de los árboles de *Hevea brasiliensis* (Arumugam, Thulasidharam y Jegadeesan, 2018). El aceite extraído de la semilla es de color marrón negruzco con un olor aromático desagradable, este aceite ha mostrado diversidad de actividades biológicas tales como; antimicrobiana, antifúngica y antioxidante, además de algunas otras actividades como analgésica y antidiarreica, cabe mencionar que, debido al alto contenido de aceite, se ha incrementado el enfoque reciente en el uso de esta materia prima para la producción de biodiesel (Oladipo y Betiku, 2020).

La especie *Ceiba pentandra* (Ceiba), pertenece al orden Malvales de la familia Malvaceae, se encuentra en varias partes del sur de Asia como India e Indonesia, también se encuentra en América Central, México, América del Sur y África Central,

es conocida comúnmente como árbol Kapok o árbol de algodón de seda, es un árbol caducifolio, erecto, se caracteriza por tener un tronco cilíndrico que contiene una corteza gris, crece hasta 15 m de altura, tiene espinas grandes y dispersas (Balajii y Niju, 2020). Se ha encontrado en la bibliografía, que varios investigadores utilizaron aceite de *Ceiba pentandra* como materia prima potencial para la producción de biodiesel. (Anbarasan, Ponnusami y Arumugam, 2021; Silitonga *et al.*, 2020; Balajii y Niju, 2020).

### 3 METODOLOGÍA

El desarrollo experimental de este trabajo inició con la recolección de las semillas de *Moringa oleifera Lam*, *Azadirachta indica*, *Hevea brasiliensis* y *Ceiba pentandra*, luego la extracción de sus aceites, determinación de las propiedades fisicoquímicas e identificación de los ácidos grasos presentes; a continuación, se detalla cada una de estas etapas.

#### **Recolección de las semillas**

Las semillas de *Moringa oleifera Lam*, *Azadirachta indica*, *Hevea brasiliensis* y *Ceiba pentandra* son fueron recolectadas en veredas de los municipios de Chimá, Cereté, Montelíbano y San Carlos respectivamente, estas fueron transportadas en neveras de icopor al laboratorio de investigación en Cinética y Biocombustible adscrito al Departamento de química, de la Facultad de Ciencias Básicas, de la Universidad de Córdoba, este proceso se realizó en cuatro jornadas de recolección.

En este se obtuvo alrededor de 1 kg de semillas; el proceso de pretratamiento consistió en secar las semillas, descascararlas, macerarlas y almacenarlas en bolsas plásticas con cierre hermético para posteriores análisis.

#### **Extracción del aceite**

Para la obtención del aceite; se realizaron dos métodos: 1. Extracción por prensado, para ello la semilla macerada se introdujo en el cartucho de la prensa y se sometió a una fuerza de compresión de 4 kilogramos utilizando un gato hidráulico modelo SKU: TE-098, en la cual se vertió una muestra de 20 g de semilla macerada, en este procedimiento se obtuvo el aceite virgen y la torta residual (Rabadán *et al.*, 2018).

2. Extracción con solvente empleando un equipo de soxhlet con hexano marca Merck con pureza del 99% (método percolación-inmersión). La extracción con disolvente se realizó transfiriendo 50 gramos de las semillas maceradas a un cartucho de papel poroso ubicado en el dispositivo de extracción soxhlet, se le agregó un volumen definido de disolvente hexano en el balón del equipo y se sometió a calentamiento y reflujo durante



tres horas. La mezcla obtenida, fue rotaevaporada para recuperar el solvente y obtener el aceite crudo (Paladines et al., 2017; Jedidi et al., 2020).

### **Propiedades fisicoquímicas**

Las propiedades fisicoquímicas se realizaron a los cuatro aceites extraídos por el método de solvente siguiendo la metodología de la Norma Técnica Colombiana (NTC, 2018), los estándares internacionales de calidad de AOAC (Association of Official Analytical Chemists) y ASTM (American Society for Testing and Materials). Las propiedades determinadas fueron: humedad y materia volátil, corrosión en lámina de cobre, índices de yodo, peróxido y número ácido; cada propiedad se realizó por triplicado, luego se calculó su valor promedio y desviación estándar. A continuación, se describe el procedimiento de cada análisis:

#### **1. Humedad y materia volátil**

Para la realización de este procedimiento se esterilizaron tres capsulas de porcelana, posteriormente se pesó 0,5 gramos de aceite y se agregaron a las capsulas respectivas, estas se colocaron en una mufla a temperatura de 105 °C durante 1 hora, se enfriaron en un desecador y se pesaron. Finalmente, se procedió a calcular el porcentaje de humedad y materia volátil acorde con la ecuación 1. (Lafont, Páez y Espitia, 2019).

$$\% \text{ de humedad y materia volatil} = \frac{P_a - P_f}{PM} * 100 \quad \text{Ec. (1)}$$

Donde:

$P_a$  = (Peso de la capsula + muestra húmeda) - (peso de capsula);

$P_f$  = (Peso de la capsula + muestra seca) - (peso de capsula)

$PM$  = Peso total de la muestra.

#### **2. Corrosión en lámina de cobre**

Se tomó 10 mL de aceite en un erlenmeyer se calentó 50 °C, se les adicionó una lámina de cobre pulida en calentamiento durante 3 horas, luego, se retiró la lámina y se lavó con etanol, se observó si hubo cambio de color y se comparó con el estándar de la ASTM D130-10, para clasificar el nivel de corrosión. La Tabla 1 representa las categorías de corrosión, desde el 1 para el menos corrosivo hasta el 4 con mayor nivel de corrosión (ASTM D130 -10, 2012).

Tabla 1. Categorías de corrosión de la lámina de cobre.

Categoría	1	2	3	4
<b>Designación</b>	Ligera opacidad	Moderada opacidad	Oscura opacidad	Corrosión
<b>Descripción</b>				
<b>a</b>	Naranja Claro, casi igual que naturalmente	Rojo claro	Coloración magenta	Negro transparente, gris oscuro o marrón
<b>b</b>	Naranja oscuro	Lavanda	Multicolores con rojo y verde, mostrando forma de pavo real pero ningún gris	Grafito o negro mate
<b>c</b>	-	Múltiples colores con lavanda, azul, plata o ambos, recubiertos en el rojo	-	Glaseado o azabachado
<b>d</b>	-	Plateado	-	-
<b>e</b>	-	De latón u oro	-	-

Fuente: (ASTM D130 -10, 2012).

### 3. Índice de acidez

Se pesaron 0,5 g de la muestra en un erlenmeyer, luego se adicionó 50 mL de alcohol caliente neutralizado y dos gotas del indicador; se tituló con una solución de hidróxido de sodio, agitando hasta que apareciera en forma permanente el primer color rosado, de la misma intensidad que la del alcohol neutralizado antes de la adición de la muestra, finalmente se procedió a calcular el número ácido de acuerdo a la ecuación 2 (Chukwu *et al.*, 2020; AOAC 940-28, 2012).

$$\text{Índice de acidez} = \frac{V * 56,1 * N}{Pm} \quad \text{Ec. (2)}$$

Donde:

$V$  = Volumen en mL de hidróxido de sodio empleado (muestra y blanco)

$N$  = Normalidad del hidróxido de sodio

$Pm$  = Peso del aceite en gramos

### 4. Índice de peróxido

Se pesó 0,5 g de muestra, se agregó a un erlenmeyer de 250 ml, se adicionó 30 ml de solución ácido acético – cloroformo (3:2), se tapó y agitó hasta disolver la muestra, luego se agregó 0,5 ml de solución saturada de yoduro de potasio. Esta solución se dejó reposar por un minuto, se agitó ocasionalmente, luego se agregó 30 mL de agua destilada y 0,5 mL de la solución de almidón (indicador), se tituló con tiosulfato de sodio 0,01 N

hasta que desapareció el color azul, de igual forma se realizó la determinación con un blanco; después se procedió a calcular el índice de peróxidos según la ecuación 3 (AOCS Cd 8-53, 2003; Chukwu *et al.*, 2020).

### 5. Índice de yodo (Método de Hanus)

Se pesó 0,25 g de aceite en un erlenmeyer, esta muestra se disolvió en 15 mL de cloroformo, después se le agregó 25 mL del reactivo de Wijs y se dejó reposar 30 minutos en la oscuridad agitando ocasionalmente; a esta mezcla se le adicionó 20 mL de solución de KI al 15%, se agitó vigorosamente y se lavó con 150 mL de agua destilada; luego se añadió 1 mL del indicador de almidón y se tituló con tiosulfato de sodio 0,1 N hasta que el color azul formado desapareciera completamente; finalmente se calculó el índice de yodo, acorde a la ecuación 4 (AOCS Cd 1-25, 1997; Chukwu *et al.*, 2020)

$$\text{Índice de yodo} = \frac{(V_B - V_M) * N * 12.67}{P_m} \quad \text{Ec. (4)}$$

Dónde:

$V_B$  = Volumen gastado en la titulación del blanco (mL).

$V_M$  = Volumen gastado en la titulación de la muestra (mL).

$N$  = Normalidad de la solución de tiosulfato.

12.67: Factor de conversión

$P_m$  = Peso de la muestra (g).

### 6. Identificación de compuestos químicos presentes en los aceites

Los compuestos presentes en los aceites *Moringa oleifera* Lam, *Azadirachta indica*, *Hevea brasiliensis* y *Ceiba pentandra* fueron identificados y cuantificados mediante las técnicas de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, siguiendo el protocolo descrito en C: MSDCHEM\METHODS\ACEITES.M; (Hamerly *et al.*, 2015)

## 4 ANÁLISIS DE RESULTADOS

En el proceso de obtención de aceite a partir de las semillas de *Moringa oleifera* Lam, se obtuvo el 25,63% en la extracción por prensado y 42,53% en la extracción por solvente; para el caso de la *Azadirachta indica*, se encontró el 65,38% por prensado y 78,34% por solvente; en la *Hevea brasiliensis* con el prensado se obtuvo 77,47 % y por solvente el 80,52%; en la *Ceiba pentandra*, se encontró con el prensado 19,46 %, mientras que en el método de extracción por solvente el 68,64%. En todos los casos se evidenció mayor porcentaje en la extracción por solventes comparado con la extracción con el

método de prensado, lo cual se debe a que en este último queda retenida una parte de aceite dentro de la semilla por emplear un método físico de presión.

### Propiedades fisicoquímicas

En la tabla 2 se presentan los resultados de los análisis fisicoquímicos realizados a los aceites extraídos por solvente en las especies de estudio como se muestran a continuación.

Tabla 2. Análisis fisicoquímicos de aceites de *Moringa oleifera* Lam, *Azadirachta indica*, *Hevea brasiliensis* y *Ceiba pentandra*.

Materia prima	Humedad %	Corrosión lámina Cu	I. Acidez mg KOH/g	Í. Peróxido meqO <sub>2</sub> /Kg	Í. Yodo cg I/g
<i>Moringa oleifera</i>	1,56 (±0,05)	1B	1,53 (±0,06)	1,82 (±0,03)	68,06 (±0,80)
<i>Azadirachta indica</i>	0,47 (±0,01)	1B	2,13 (±0,01)	4,45 (±0,01)	73,560 (±0,01)
<i>Hevea brasiliensis</i>	0,10 (±0,02)	1B	1,96 (±0,03)	2,72 (±0,04)	110,12 (±0,02)
<i>Ceiba pentandra</i>	1,48 (±0,08)	1B	1,81 (±0,05)	1,99 (±0,09)	101,95 (±0,42)

En la tabla 2 se puede evidenciar que el valor del índice de acidez para los aceites extraídos por solvente en las diferentes semillas fue más bajo para la especie *Moringa oleifera* Lam con un valor de 1,53 mg de KOH/g, le sigue en forma ascendente la *Ceiba pentandra* con 1,81 mg de KOH/g *Hevea brasiliensis* 1,96 mg de KOH/g y *Azadirachta indica* 2,13 mg de KOH/g; este resultado se debe posiblemente a la poca humedad presente en el aceite la cual provoca reacciones de hidrólisis originando ácidos grasos libres, por tal motivo a menor contenido de agua en el aceite, menor será la acidez, lo que brinda mayor estabilidad con el tiempo y más tiempo de almacenamiento en buenas condiciones, destacando por tal motivo a la *Moringa oleifera* Lam con más baja acidez. Al comparar el índice de acidez encontrado para la *Moringa oleifera* Lam con el valor reportado por Gharsallah *et al.*, (2021) de 1,5 mg de KOH/g se constata que son similares, lo cual certifica la validez de estos resultados.

En cuanto al valor de peróxido, este es un indicador del grado de oxidación o descomposición del aceite (rancidez) en el momento de la prueba; los peróxidos se forman cuando los ácidos grasos del aceite reaccionan con el oxígeno del aire, formando grados de enranciamiento, este estado se alcanza cuando los aceites son expuestos ya sea a la luz solar, a altas temperaturas o al aire por largo tiempo. Se considera que los aceites con valores superiores a 2 meq O<sub>2</sub>/Kg de muestra son más propensos a presentar rancidez

(Godson y Bassey, 2015); los resultados encontrados en este trabajo para el aceite extraído por solvente fueron menor para la *Moringa oleifera* Lam con 1,82 meq O<sub>2</sub>/Kg, le sigue la *Ceiba pentandra* con 1,99 meq O<sub>2</sub>/Kg indicando mayor estabilidad y menor tendencia a la oxidación, sin embargo estuvieron levemente por encima la *Hevea brasiliensis* con 2,72 meq O<sub>2</sub>/Kg, a diferencia de la *Azadirachta indica* con valores superiores 4,45 meq O<sub>2</sub>/Kg; esto significa que estos dos últimos aceites para su almacenamiento se sugiere adición de antioxidantes. Estos bajos índices de peróxido, se puede decir que está acorde con los resultados de la prueba de corrosión en lámina presentando un bajo grado de corrosión en categoría (1B), verificado con ligera opacidad en lámina de cobre.

Los resultados del índice de yodo obtenidos de menor a mayor son los siguientes: para la *Moringa oleifera* Lam 68,06 cg I<sub>2</sub>/g; le sigue *Azadirachta indica* con 73,56 cg I<sub>2</sub>/g, *Ceiba pentandra* con 101,95 cg I<sub>2</sub>/g, y *Hevea brasiliensis* 110,12 cg I<sub>2</sub>/g. En la literatura se han reportado índice de yodo para el aceite de semilla de moringa que son similares con los obtenidos en este trabajo como los presentados por Ogunsina *et al.*, (2014) que analizó semillas de Moringa de Pakistán (68,63 cg I<sub>2</sub>/g) e India (67,8 cg I<sub>2</sub>/g); validando estos resultados. También Chouaibi *et al.*, (2012) reportó valores cercanos a los anteriores (65,6 cg I<sub>2</sub>/g), sin embargo, son levemente inferiores, esto puede ser debido a diferencias en la composición química del suelo y condiciones medioambientales donde se desarrolló la planta, lo cual afecta el desarrollo bioquímico de los compuestos bioactivos que ella presenta, propiedades fisicoquímicas y porcentajes de ácidos grasos.

El índice de yodo, es considerada una medida del grado de insaturación del aceite, como los aceites vegetales varían en sus proporciones de insaturación en las cadenas carbonadas de ácidos grasos, esto hace que también aumente o disminuya el índice de yodo, a mayor insaturación mayor índice de yodo esto se debe a que existe mayor posibilidad de que la grasa se enrancie por oxidación. De acuerdo con los resultados obtenidos para los aceites extraídos por solvente de *Moringa Oleifera* Lam y *Azadirachta indica* respecto al índice de yodo, los cuales son menores de 110 cg I<sub>2</sub>/g, indican que puede ser clasificados como no secantes, siendo comparables con los aceites de colza y de ricino, que pueden tener utilidad como humectantes, hidratantes, suavizantes; siendo importantes para la elaboración de productos dermatológicos para la piel seca (cosméticos, cremas, lociones, otros), mientras que este valor para el aceite de *Ceiba Pentandra* fue de (101,95 cg I/100) y *Hevea brasiliensis* (110,12 cg I<sub>2</sub>/100) el valor del índice de yodo obtenido es semejante al de algodón, ajonjolí y maíz, indicando que el aceite se puede clasificar como semisecantes con valores intermedios de índice de yodo entre (100 y 120) cg I<sub>2</sub>/100, estos aceites desecan menos que los aceites secantes y son generalmente usados para la elaboración de pinturas, aerosoles y adhesivos.

## Composição química de los aceites

En la tabla 3 se puede observar la composición química de los aceites de *Moringa oleifera* Lam, *Azadirachta indica*, *Hevea brasiliensis* y *Ceiba pentandra*, destacándose con mayores porcentajes de ácidos grasos insaturados la *Moringa oleifera* Lam con 83,20% en orden descendente la *Hevea brasiliensis* con 80,0 %, *Ceiba pentandra* con 61,0% y *Azadirachta indica* con 56,5%; mientras que los ácidos grasos saturados estuvieron en menores porcentajes 15,20%, 20%, 23,8% y 43,1 % respectivamente.

El ácido graso insaturado con mayor porcentaje que se encontró en *Moringa oleifera* Lam, *Azadirachta indica* fue el oléico con 74,5% y 48,9% respectivamente; siendo este un omega 9 ( $\omega$ -9); mientras que para la *Hevea brasiliensis* y *Ceiba pentandra* fue el linoleico, omega 6 ( $\omega$ -6) con 39,86% y 38,3% respectivamente. De acuerdo con la bibliografía estos ácidos grasos les dan un alto valor agregado a estos aceites dado que los omega 6 y 9 son benéficos para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares (Dorado *et al.*, 2017).

Por otro lado, la *Ceiba pentandra* presentó un bajo porcentaje de ácidos grasos ciclopropanoicos (12,1%) los cuales pueden ser causantes de la formación de epóxidos que generan la descomposición del aceite; esto sugiere que en el almacenamiento de estos aceites se le deben realizar analizar análisis periódicos de enranciamiento.

Tabla 3. Perfil de ácidos grasos de los aceites de *Moringa oleifera* Lam, *Azadirachta indica*, *Hevea brasiliensis* y *Ceiba pentandra*.

Ácidos grasos	#C:doble enlace	<i>Moringa o.</i> %	<i>Azadirachta i.</i> %	<i>Hevea b.</i> %	<i>Ceiba p.</i> %
Laúrico	C12:0	-	-	-	0,1
Mirístico	C14:0	-	-	-	0,2
Oleico ( $\omega$ -9)	C18:1	74,5	48,9	27,06	21,0
Linoleico ( $\omega$ -6)	C18:2	1,0	6,7	39,86	38,3
Linolénico ( $\omega$ -3)	C18:3	0,4	-	13,17	1,4
Palmitico	C16:0	7,5	12,5	12,6	20,8
Esteárico	C18:0	4,7	29,2	7,8	2,7
Araquídico	C20:0	3,0	1,4	1,1	
Behénico	C16:1	5,5	-	0,4	
Palmitoleico	C16:1	1,8	-	-	0,3
Lignocérico	C24:0	-	-	0,3	-
Eicosenoico	C20:1	-	-	0,2	-
Malvático	C18:0	-	-	-	9
Estercúlico	C19:0	-	-	-	3,1

Ácidos grasos	#C:doble enlace	<i>Moringa o.</i> %	<i>Azadirachta i.</i> %	<i>Hevea b.</i> %	<i>Ceiba p.</i> %
Ciclo propenoicos		-	-	-	12,1
Insaturados	-	83,20 %	56,5%	80%	61,0%
Saturados	-	15,20%	43,1%	20%	23,8%

## 5 REFLEXIONES FINALES

De acuerdo con los resultados experimentales, la búsqueda bibliográfica y análisis de los autores se puede concluir lo siguiente:

Para la extracción del aceite del endospermo de las semillas de *Moringa oleifera* Lam, *Azadirachta indica*, *Hevea brasiliensis* y *Ceiba pentandra* el método con mayor rendimiento en todos los aceites de estudio, fue el de solvente utilizando soxhlet con hexano, comparado con los de prensado obteniéndose aceites con características organolépticas aceptables.

Las propiedades fisicoquímicas analizadas en los aceites de *Moringa oleifera* Lam, *Azadirachta indica*, *Hevea brasiliensis* y *Ceiba pentandra* como: porcentajes de humedad, índices de acidez, peróxido y corrosión en lámina de cobre, evidenciaron aceites con poca humedad, bajos valores de acidez, nivel corrosivo y mayor estabilidad a la oxidación.

Los valores de yodo orientan la clasificación de los aceites de *Moringa oleifera* Lam y *Azadirachta*, como no secante por lo que puede ser recomendado para la elaboración de productos humectantes, hidratantes, suavizantes; aprovechable en la industria cosmética, de medicamentos y plásticos; así mismo el aceite de semillas de *Hevea brasiliensis* y *Ceiba pentandra* pueden ser recomendados para la producción industrial de tintas, barnices, aerosoles, adhesivos y biocombustibles, principalmente.

La composición química de los aceites de *Moringa oleifera* Lam y *Azadirachta indica*, presentaron mayores porcentajes de ácido oleico ( $\omega$ -9), haciéndolos atractivos para la industria farmacéutica principalmente, también cosmetológica y de biocombustibles; sin embargo, la composición química de los aceites de *Hevea brasiliensis* y *Ceiba pentandra* son más parecidos con alto linoleico ( $\omega$ -6), útil en la industria para la producción de biodiesel, de tintas, barnices, pinturas, aerosoles y adhesivos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdullahi, M., Panneerselvam, P., Imam, S., Ahmad, L. (2016). Removal of free fatty acids in neem oil using diphenylamine functionalized magnetic mesoporous silica SBA-15 for biodiesel production; *Journal of Petroleum Technology and Alternative Fuels*, 7(4)31-37.



Anbarasan B., Pooja S., y Ponnusami V. A. (2021). Arumugam, Efficient production and optimization of biodiesel from kapok (*Ceiba pentandra*) oil by lipase transesterification process: Addressing positive environmental impact, *Renewable Energy*, 165, Part 1, 619-631, <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.11.053>.

AOAC. Official Methods of Analysis. 16th. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC: AOAC International, 4-30 (1995).

AOCS Cd 3-25. Official Method Saponification Value, Sampling and Analysis of Commercial Fats and Oils. Copyright The American Oils Chemist's Society. Urbana – Illinois. USA (2003).

AOCS Cd 8-53. Official Method Peroxide Value Acetic Acid (Chloroform Method), Sampling and Analysis of Commercial Fats and Oils. Copyright The American Oils Chemist's Society. Urbana – Illinois. USA (2003).

Arumugam, A., Thulasidharan, D., y Gautham, J B. (2018). Process optimization of biodiesel production from *Hevea brasiliensis* oil using lipase immobilized on spherical silica aerogel, *Renewable Energy*, 116, Part A, 755-761. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.10.021>.

ASTM, Standard Specification for Biodiesel Fuel Blendstock (B100) for Middle Distillate Fuels. ASTM, Editor 2012, ASTM.

Ayinde, A.A., Morakinyo, O.M., y Sridhar, M.K. (2020). Repellency and larvicidal activities of *Azadirachta indica* seed oil on *Anopheles gambiae* in Nigeria, *Heliyon*, 6(5),2405-8440. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03920>.

Balajii, M., y Subramaniapillai, Ni. (2020). Banana peduncle – A green and renewable heterogeneous base catalyst for biodiesel production from *Ceiba pentandra* oil, *Renewable Energy*, 146, 2255-2269, <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.08.062>.

Chouaibi, M., Mahfoudhi, N., Rezig, L., Donsi, F., Ferrari, G., y Hamdi, S. (2012). "A Comparative Study on Physicochemical, Rheological and Surface Tension Properties of Tunisian Jujube (*Zizyphus lotus* L.) Seed and Vegetable Oils" *International Journal of Food Engineering*, 8(2), <https://doi.org/10.1515/1556-3758.2759>.

Chukwu, J.K., Omozuwa, P.O., Imanah, O.E. (2020). Effect of heating time on the physicochemical properties of selected vegetable oils. *Arabian Journal of Chemistry*, 32, 2468-2473. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.03.044>.

Dorado, D., Hurtado, A., & Martínez, H. (2017). Extracción supercrítica de aceite de semillas de papaya (*Carica papaya*): composición y propiedades fisicoquímicas. *VITAE, Revista De La Facultad De Ciencias Farmacéuticas Y Alimentarias*. 24(2), 35-45. DOI: [http://dx.doi.org/10.17533/udea.vitae.v24n2\(2\)a05](http://dx.doi.org/10.17533/udea.vitae.v24n2(2)a05).

Gharsallah, K., Rezig,L., Msaada, K., Chalh, A., y Soltani, T. (2021). Chemical composition and profile characterization of *Moringa oleifera* seed oil, *South African Journal of Botany*, 137, 475-482, <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.11.014>.

Godson, A., y Basseyy, U. (2015). Characterization of Oil and Biodiesel Produced from *Thevetia peruviana* (Yellow Oleander) Seeds, *International Journal of Sustainable and Green Energy*, 4 (4), 150-158.

Hamerly, T., Tripet, B., Wurch, L., Hettich, R., Podar, M., Bothner, B., Copié, V. (2015). Characterization of Fatty Acids in *Crenarchaeota* by GC-MS and NMR, *Hindawi*, 1-9.

Jedidi, B., Mokbli, S., Sbihi, H., Nehdi, I., Romdhani, M., Al, S. (2020). Effect of extraction solvents on fatty acid composition and physicochemical properties of *Tecoma stans* seed oils. *Journal of King Saud University - Science*, 32 (4), 2468-2473.

Lafont, J., Páez, M., y Espitia, A. (2019). Estudio Físicoquímico del Aceite y Análisis Proximal de la Torta de Semillas Oleaginosas nativas de Córdoba-Colombia. *Información tecnológica*. 30 (4) 85-92.

Ogunsina, B, S., Indira, T, N., Bhatnagar, A, S., Radha, C., Debnath, S., y Gopala Krishna. (2014). Quality characteristics and stability of *Moringa oleifera* seed oil of Indian origin. *J. Food Sci. Technol.* 51, 503 – 510, 10.1007/si 3197-011-0519-5.

Oladipo, B., y Betiku, E. (2020). Optimization and kinetic studies on conversion of rubber seed (*Hevea brasiliensis*) oil to methyl esters over a green biowaste catalyst, *Journal of Environmental Management*, 268, <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110705>.

Paladines, G., Lourido, L., Burbano, Z., Al-Shaghdari, A., Monsalve, M., Bello, A. (2017). Obtención y caracterización físicoquímica del aceite de las semillas del mate (*Crescentia cujete L.*). *Cumbres*, 3(1), 93–99. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105927>.

Prakash, J.M., y Priya, B. (2015). Modeling of ultrasound assisted intensification of biodiesel production from neem (*Azadirachta indica*) oil using response surface methodology and artificial neural network, *Fuel*, 143, 262-267. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2014.11.058>.

Rabadán, A., Pardo, J., Gómez, R., Álvarez, M. (2018). Influence of temperature in the extraction of nut oils by means of screw pressing. *LWT - Food Science and Technology*, 93, 354-361. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.061>.

Sans, A. C., Ventura, S.V., De Paula, T., Gonçalves, J. P., Soley, B. D., Munhoz, A.B., Michel Fleith, O, M., y Almeida, C.D. (2021). The oil from *Moringa oleifera* seeds accelerates chronic skin wound healing, *Phytomedicine Plus*, 1(3), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2021.100099>.

Sathish, V. T., Mohanavel, M. A., K. Rajan, K, M., Soudagar, E.M., Mujtaba, M.A., Saleh H.S., Sami, A. O., Fayaz, H., y Sivakumar S. (2022). Utilization of *Azadirachta indica* biodiesel, ethanol and diesel blends for diesel engine applications with engine emission profile, *Fuel*, 319., <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.123798>.

Silitonga, A.S., Shamsuddin A.H., Mahlia, T.M., Jassinne M, F., Kusumo, J. S., Dharma, A.H., Sebayang, H.H., Masjuki, H., y Chyuan O. (2020). Biodiesel synthesis from *Ceiba pentandra* oil by microwave irradiation-assisted transesterification: ELM modeling and optimization, *Renewable Energy*, 146, 1278-1291, <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.07.065>.

Silva, F. M., De França, S. A., Barros, L. K., Carvalho, D. L., Dos Santos F, L., Silva, L, A., Tinoco, F, A., Dariva, C., y Faria, C. M. (2022). Influence of seasonality on the physicochemical properties of *Moringa oleifera* Lam. Seed oil and their oleochemical potential, *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 4. 2666-5662. <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2021.100068>.

Zatelli, A., Fondati, A., y Maroli, M, (2022) The knowns and unknowns of the efficacy of neem oil (*Azadirachta indica*) used as a preventative measure against *Leishmania* sand fly vectors (*Phlebotomus* genus), *Preventive Veterinary Medicine*, 202, <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2022.105618>.

Zhong, J., Wang, Y., Yang, R., Liu, X., Yang, Q., y Xiaoli Qin. (2018). The application of ultrasound and microwave to increase oil extraction from *Moringa oleifera* seeds, *Industrial Crops and Products*, 120, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.028>.

# CAPÍTULO 14

## PLAGAS DESENCADENANTES DE EPIFITIAS DEL CULTIVO DE PLATANO & ESTRATEGIAS DE CONTROL

Data de submissão: 03/06/2022

Data de aceite: 20/06/2022

**Luis Pérez Vicente**

Ing. Agrónomo  
Doctor en Micología y Microbiología  
Experto FAO  
Instituto Nacional de  
Investigaciones de Sanidad Vegetal  
La Habana Cuba

**Francisco Angel Simón Ricardo**

Ing. Agrónomo  
Ms. Sanidad Vegetal  
Dr. En Ciencias Naturales y  
Agrícolas Ph.D.  
Universidad Técnica  
Luis Vargas Torres de Esmeraldas  
Facultad Agropecuaria  
Carrera Agronomía  
Catedra Protección Vegetal  
Ciudad de Esmeraldas  
República del Ecuador

**Renso Oswaldo Lozano Gámez**

Ing. Agrónomo  
Universidad Técnica  
Luis Vargas Torres de Esmeraldas  
Facultad Agropecuaria  
Carrera Agronomía  
Ciudad de Esmeraldas  
República del Ecuador

**Cristhian Andrés Méndez Cedeño**

Ing. Agrónomo  
Universidad Técnica  
Luis Vargas Torres de Esmeraldas  
Facultad Agropecuaria  
Carrera Agronomía  
Ciudad de Esmeraldas  
República del Ecuador

**RESUMEN:** El cultivo de musáceas (*Musa* spp.), llámese banano o plátano, no escapan a la voracidad de plagas y enfermedades que detrimentan seriamente sus producciones; entre ellas ácaros, insectos, nematodos y fitopatógenos de origen diverso (bacterias, virus, hongos y nematodos entre otros), produciendo pérdidas considerables en dependencia de la región geográfica de referencia, condiciones edafoclimáticas, cultivares establecidos, técnicas y procedimientos de su cultivo y arraigo cultural. Siguen siendo problemas actuales agentes ya conocidos de décadas pasadas como Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*), Mal de Panamá (*Fusarium oxysporium* var. Cúbense raza 4), Moko bacteriano (*Ralstonia solanacearum* raza 2), Pudrición blanda (*Erwinia* spp.) y los nematodos, principalmente los lesionadores de raíces de los géneros *Radopholus*, *Pratylenchus*, *Tylenchus*, *Helicotylenchus*, hoy considerados como la problemática fitosanitaria cardinal del cultivo de plátano por su asociación debidamente demostrada y argumentada con su principal plaga insectil, el picudo negro, *Cosmopolites sordidus*, (Coleoptera: Curculionidae),

responsables de la diseminación, infestación y deterioro progresivo de las plantaciones plataneras por este complejo biológico fitopatogénico nocivo anteriormente mencionado. Por ello; el interés particular de la presente reseña de contribuir a divulgar y se conozca esta problemática fitosanitaria de las musáceas, expuestas durante la celebración del I Seminario internacional REDUPLATANO Ecuador 2018, que sentó las bases de un nuevo enfoque del manejo del cultivo y sus principales plagas.

**PALABRAS CLAVES:** Epifitias. Picudo negro. Nematodos. Mal de Panamá. Moko bacteriano.

## PESTS THAT TRIGGER EPIPHYTIES IN BANANA CROPS & CONTROL STRATEGIES

**ABSTRACT:** The cultivation of musaceae (*Musa* spp.), call it bananas or plantains, does not escape the voracity of pests and diseases that seriously damage their production; among them mites, insects, nematodes and phytopathogens of diverse origin (bacteria, viruses, fungi and nematodes among others), producing considerable losses depending on the geographical region of reference, edaphoclimatic conditions, established cultivars, techniques and procedures for their cultivation and rooting cultural. Agents already known from past decades continue to be current problems, such as black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis*), Panama disease (*Fusarium oxysporium* var. *Cúbense* race 4), bacterial Moko (*Ralstonia solanacearum* race 2), soft rot (*Erwinia* spp.) and nematodes., mainly the root lesioners of the genera *Radopholus*, *Pratylenchus*, *Tylenchus*, *Helicotylenchus*, today considered the cardinal phytosanitary problem of banana cultivation due to its duly demonstrated and argued association with its main insect pest, the black palm weevil, *Cosmopolites sordidus*, (Coleoptera: Curculionidae), responsible for the dissemination, infestation and progressive deterioration of banana plantations by this previously mentioned harmful phytopathogenic biological complex. Thus; The particular interest of this review is to contribute to the dissemination and knowledge of this phytosanitary problem of Musaceae, exposed during the celebration of the I International Seminar REDUPLATANO Ecuador 2018, which laid the foundations for a new approach to crop management and its main pests.

**KEYWORDS:** Epifitias. Panama disease. Bacterial Moko. Nematodes.

## 1 INTRODUCCIÓN

El cultivo de musaceas (*Musa* spp.), está condicionado por factores bióticos, abióticos y edafoclimáticos, que determinan su crecimiento y desarrollo, y a la vez la incidencia de numerosas plagas y enfermedades, con un amplio rango de organismos, tanto ácaros, insectos, nematodos, como microorganismos fitopatógenos que lo dañan considerablemente, lo que constituyó el objetivo central de investigaciones en función de conocer el comportamiento de su problemática fitosanitaria cardinal y contribuir al manejo del complejo biológico nocivo que lo daña.

Simón (2018<sup>a, b</sup>), postuló y demostró la hipótesis que los verdaderos responsables desencadenantes de las peores epifitias causadas por fitopatógenos de origen diverso,

es la asociación de dos de sus principales plagas, los picudos, en particular *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae) y los nematodos, tanto agalleros o noduladores del género *Meloidogyne*, como lesionadores y barreanadores de raíces de los géneros *Radopholus*, *Pratylenchus*, *Helicotylenchus*, y *Tylenchus*; así como lesionadores del follaje del género *Ditylenchus*.

El tema abordado en la investigación ha representado por mucho tiempo una incógnita basada en las hipótesis y planteamiento desde hace algunos años según refiere Simón (2018<sup>a,b</sup>), que los picudos atraen a los nematodos desde su estadio de pupa convirtiéndose en su principal vehículo de transporte una vez que remontan el vuelo, permitiendo de esta manera su presencia y ataque a los órganos foliares de las plantas, entre ellos la parte superior conocida como cogollo; por ello, esta investigación, dada la trascendental importancia de la presencia abundante y permanente de ambas plagas, centró su interés en confirmar estas aseveraciones.

Según el propio autor, infiere que la asociación de estos curculiónidos, con nematodos, atraídos durante la fase de pupación en el suelo, propician el acercamiento y monta de los nematodos encima del cuerpo de la pupa, luego al emerger el adulto, sobre su cuerpo reposan los nematodos que son trasladados durante el vuelo hacia la planta huésped del insecto donde son depositados, el resto de la acción infectiva corre a cuenta del nematodo (Simón, 2018<sup>a, b</sup>).

Existen otras experiencias al respecto relacionados con los picudos *Rhynchophorus palmarum* y *Metamasius hemipteras* (Coleóptera: Curculionidae) en palma aceitera (***Elaeis guineensis***) que transportan los nematodos del follaje *Bursaphelenchus xylophilus* causantes del síndrome del Anillo rojo y contribuyen con la trasmisión de un complejo nocivo fitopatogénico, la pudrición del cogollo conocida por las siglas PC (De la Torre et. al., 2009).

Todo lo antes expuesto, conduce a un replanteamiento de las estrategias de control y manejo existentes hasta el presente con vista a enfrentar en primer orden esta asociación nociva desencadenantes de las peores epifitias del cultivo de musáceas.

## 2 PICUDOS Y NEMATODOS DESENCADENANTES DE EPIFITIAS DEL PLATANO. ESTRATEGIAS DE MANEJO

### 2.1 PICUDOS DEL PLATANO

Aunque hay reportado más de una especie de picudo que dañan al plátano, sigue siendo el picudo negro del plátano *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae), considerada como la más importante y temida en estos momentos por su implicación en los

daños directos ocasionados en el cultivo de las musáceas; que ha cobrado mayor interés actual su contribución indirecta a daños provocados por un complejo biológico nocivo de fitopatógenos que involucra a bacterias, hongos, nematodos y virus (Simón, 2018<sup>a,b</sup>).

Los cultivos de banano y plátano, son considerados entre los más afectados por esta plaga, alcanzando una distribución en la provincia de Esmeraldas, Ecuador del 100 % e intensidad de daños que supera el 60 %, incluso llegando en algunos casos al 90% de intensidad de daños.

El gorgojo negro del banano, como también se denomina, se encuentra diseminado por todo el mundo, considerado como la principal plaga de las musáceas, incluyendo el banano (*Musa paradisiaca*) y el abacá (*Musa textilis*). Es activo sobre todo por su hábito nocturno, residiendo entre las láminas foliares, en el suelo junto al pseudotallo de su huésped o en los detritos de su producción. Raramente vuela, prefiriendo caminar y diseminándose sobre todo con el traslado de material infectado, puede subsistir sin alimentarse durante varios meses. Su esperanza de vida como el de casi todos los coleópteros es muy larga (más de 2 años en criadero). Las poblaciones se reparten en grupos, así que la infestación de una plantación aparece en general muy heterogénea.



Fuente: Simón (2018). I Seminario internacional REDUPLATANO de Ecuador.

Los picudos transportan los nematodos del follaje *Bursaphelenchus* spp., y *Ditylenchus* sp. contribuyendo con la transmisión del complejo nocivo fitopatógenico, *Fusarium oxysporium* conocido en el banano y plátano como Mal de Panamá, considerada la peor enfermedad de las musáceas.



Estos picudos tienen ciclo de vida de entre 80 a 160 días, las hembras que son aladas trasladan el nematodos en su cuerpo, ponen entre 10 y 48 huevos por día, durante 8 a 11 días, cosa que ocurre dentro de las dos primeras semanas en que ocurre el apareamiento y la puesta, para dar lugar a la emergencia de larvas al cabo de los tres días, completando su estadio larval a través de 9 instares durante los 60 días que dura esta fase, hasta la formación de las pre-pupas y pupas del insecto, para dar lugar a la fase adulta de 3 meses o más.

Hay que destacar, que los adultos de esta especie, como la mayoría de los insectos de la familia, son más activos en horas tempranas de la mañana y en el atardecer, y que son atraídos por compuestos volátiles (terpenos) emanados de restos de plátanos dañados físicamente (Simón 2018<sup>b</sup>).

Un proceso infectivo similar transcurre en las coníferas y las palmáceas con la intervención de picudos, en este caso por las especies *Monochamus* spp. y *Rhynchophorus* spp., los que transportan nematodos del género *Bursaphelenchus* spp., responsables de la transmisión de la terrible enfermedad conocida como PC (pudrición del cogollo), causada por *Fusarium* sp. y *Phytophthora* sp.; en palmas aceiteras y el cocotero; en cítricos pasa igual con el picudo *Pachnaeus litus* y las enfermedades de la podredumbre del cuello y gomosis de los cítricos causadas por *Phytophthora* spp.

El nivel de infestación en campo, puede ser evaluado mediante un descortezamiento. Eso se debe realizar sobre plantas recientemente cosechadas: al menos 50 plantas/ha.

Las recomendaciones existentes para el control de esta plaga incluyen la utilización de medidas culturales y de lucha biológica. Entre las principales medidas de manejo se encuentran:

- Trozado en pequeños pedazos de los residuos de pseudotallos.
- En el caso de la siembra de rizomas se requiere el mondado de las semillas para eliminar las larvas de picudos y su tratamiento con un insecticida químico o biológico (*Beauveria bassiana*).
- Evitar sacar más semillas que las que se vayan a plantar en el día
- El monitoreo con diferentes tipos de trampas (tocón y pseudotallo) para la estimación de las poblaciones de adultos (10 trampas/ha). Estas trampas son embebidas con una suspensión concentrada de *Beauveria bassiana* (10<sup>9</sup> conidias/ml).
- Uso de vitroplantas sanas.
- Selección de rizomas de viveros libres.
- Mondado y desinfección de cormos o rizomas.



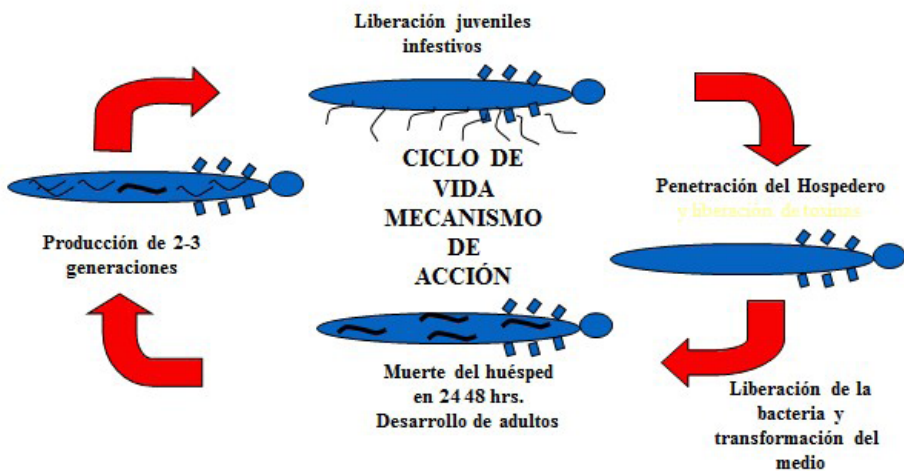
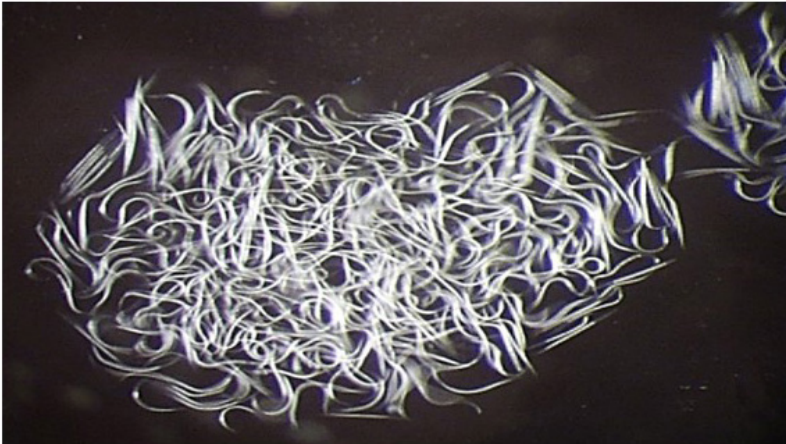
- Limpieza de residuos de plantas alrededor de los plantones y en campo.
- Los tratamientos se realizan cuando exista como promedio entre 1 y 1.5 insectos/planta después de 72 horas de colocadas las trampas de pseudotallos.
- Control biológico con *Metarhizium anisopliae* o *Beauveria bassiana* a razón de 500 ml/planta de suspensiones de  $10^8$  esporas/ml. Se ha obtenido una buena eficacia durante 5 meses con los tratamientos con un formulado sólido de ambos medios biológicos a  $3.8 \times 10^8$  esporas/g a razón de 20g/plantón. Las aplicaciones se realizan a partir de los 6 - 8 meses de edad de las plantaciones nuevas, utilizando formulados en cultivo superficial sólido directamente alrededor del plantón o suspendiendo las esporas en el agua de riego y distribuyéndolas con los microaspersores.

Fuente: Simón (2018).I Seminario internacional REDUPLATANO de Ecuador.

- Establecer reservorios de hormigas depredadoras *Pheidole megacephala*, *Tetramonium guineense* y *Pheidole megacephala* (hormiga leona) en lugares húmedos para disminuir la población de larvas de picudo negro. Para ello, en la época de lluvia se colocan reservorios de hormigas trampas, consistentes en estibas de pseudotallo de plátano. A los cinco o siete días, una parte de la colonia se habrá mudado y así podrán ser trasladadas al campo. Las trampas se colocan junto a los plantones, a una densidad de 20 trampas/ha,
- Control biológico con Nematodos Entomopatógenos: Este grupo de nematodos se caracteriza por poseer bacterias en el esófago, las cuales pueden transmitir a insectos, causándoles la muerte, por ejemplo los

géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis*. Las bacterias involucradas que se han identificado son del género *Xenorhabdus* y *Photorhabdus*.

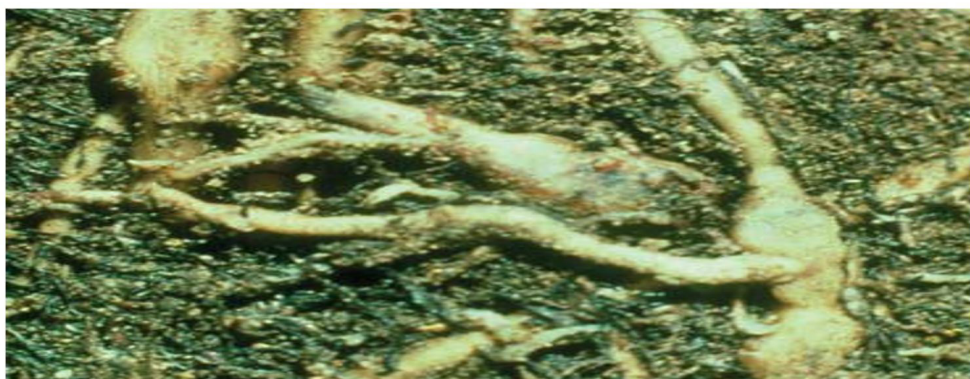
### NEMATODO CONTROLADOR BIOLÓGICO *Heterorhabditis bacteriophora*



Fuente: Simón (2018). I Seminario internacional REDUPLATANO de Ecuador.

### 3 NEMATODOS

Las investigaciones en este particular, tuvo como antecedentes las abundantes poblaciones de nematodos, principalmente de agalleros del género *Meloidogyne* con alto grado de infestación en los suelos de la provincia de Esmeraldas, Ecuador. Los resultados de estas pesquisas arrojaron incidencia notable de nematodos agalleros del género *Meloidogyne* en el 100 % de los sitios muestreados, con gradología oscilantes entre 1 y 5 grados en la escala de Zeck (Steinner, 1991).



**Noduladores del género *Meloidogyne***

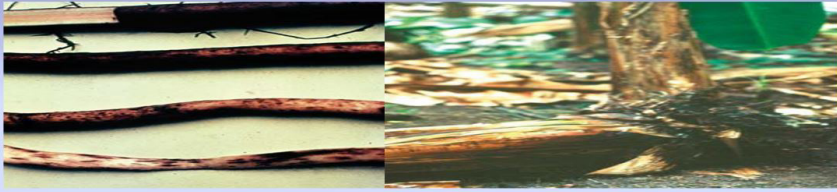
El caso que centró estas investigaciones en las musáceas, incluyendo el abacá (*Musa textilis*), estuvo relacionado con los nematodos lesionadores de raíces. Los resultados obtenidos sobre nematodos asociados al cultivo de plátano (Tabla 1), en muestras de suelo y raíces, arrojaron presencia de 4 géneros, predominando *Radopholus* seguido por *Pratylenchus*, *Helicotylenchus*, y por último *Tylenchus*; coincidiendo con resultados actuales obtenidos.

Tabla 1. Géneros de Fito nematodos parásitos lesionadores presentes en suelos y raíces en cultivos de musáceas.

<b>Géneros identificados</b>	<b>*Índice población Relativo en suelo (%)</b>	<b>*Índice población Relativo en raíces (%)</b>
<i>Radopholus</i>	<b>58</b>	<b>51</b>
<i>Pratylenchus</i>	<b>24</b>	<b>29</b>
<i>Helicotylenchus</i>	<b>11</b>	<b>13</b>
<i>Tylenchus</i>	<b>7</b>	<b>7</b>

\*En 100g de suelo y raíces

## NEMATODOS LESIONADORES DE RAÍCES



*Radopholus similis*



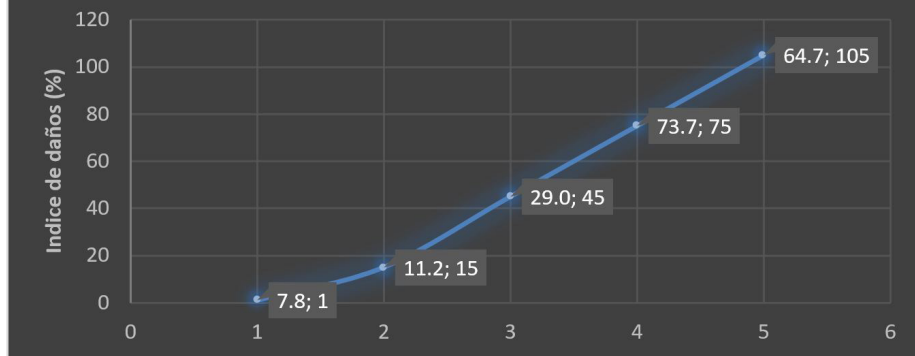
*Pratylenchus coffeae*

El interés particular de esta investigación en relación con los nematodos es precisamente el aspecto relacionado con lo antes expuesto sobre la asociación insecto-nematodo-fitopatógenos en la cadena infectiva del banano y plátano, donde picudo y nematodos asociados constituyen el vehículo diseminador de la infestación provocada por fitopatógenos bacterianos, fúngicos y víricos. El estudio realizado por Méndez y Simón (2021), en este sentido se resume en su representación gráfica en la figura 1.

Los resultados de análisis de correlación entre el grado de infestación de las raíces por nematodos lesionadores respecto a la infestación de fitopatógenos bacterianos y fungos productores de pudriciones húmedas y secas representados fundamentalmente por la bacteria *Erwinia* sp. y el hongo *Fusarium* sp., demuestran correlación directa entre ambas variables con coeficientes de correlación calculados de  $r_c = 0.733$ , comparado con el coeficiente de correlación tabulado al 5% de significación ( $r_t=0.667$ ).



**Figura 1. Índice poblacional de nematodos (larvas juveniles en 100g de suelo) vs Índice de infestación (%) de fitopatógenos por plantas.**



Estos resultados son concluyentes sobre la hipótesis presentada por Simón (2018), del mecanismo que transcurre la asociación plaga insectil (picudos) – nematodos (lesionadores de raíces) con la diseminación y transmisión de infestación por fitopatógenos.

Para corroborar fehacientemente la hipótesis propuesta, se realizó un nuevo experimento, consistente en inocular en pequeñas parcelas por separado mediante trampas dispersoras de insectos, ejemplares de pupas y adultos de picudos (*C. sordidus*), obtenidas de áreas focales severamente infestadas con fitopatógenos bacterianos (*Erwinia* sp.) y fúngicos (*Fusarium* sp), manteniendo una parcela testigo sin inocular e inoculando con ambos inóculos infestivos una variante a la cual se aplicaron diferentes medidas estratégicas de manejo integrado de plagas (MIP).



A todas las variantes con excepción de MIP, solo se realizaron las labores culturales habituales reglamentadas del cultivo sin la aplicación de medidas adicionales fitosanitarias.

En el caso de la variante Testigo, la infestación por picudos ocurrió de forma natural. A la variante MIP, se aplicaron diferentes estrategias fitosanitarias como:

- Aplicar de 1 a 2 Kg/planta de hidróxido cálcico (“cal apagada”) una semana antes de la siembra.
- En el momento de la siembra se inoculo el suelo con cuerpos fructíferos del mico simbiote rizosférico MVA *Glomus intrarradis*, procedentes de un área platanera tratada previa confirmación y verificación de su presencia y grado de micorrización.
- A los 10 días de micorrizadas las plantas, se aplicó 300g/ planta de un biopreparado sólido a base de *Trichoderma harzianum* con título de  $10^9$  conidias/ml.
- A los 7 días a partir de la aplicación de *T. harzianum*, se procedió con la inoculación de picudos.

#### 4 EPIFITIAS DE LOS FITOPATÓGENOS

Una vez inoculadas las parcelas con los diferentes agentes fitopatógenos, en el caso de Fusarium, los primeros síntomas se observaron a partir los 8 meses por el amarillamiento de las hojas y marchitamiento total del follaje en una planta ubicada en el centro de la parcela amenazando con la muerte de la misma, de manera simultánea en el caso Erwinia, se evidencio la pudrición en partes del pseudotallo en varias plantas sin riesgo de muerte de las plantas; en la parcela MIP en la cual se inoculo ambos fitopatógenos los síntomas fueron ligeros o casi nulos, debido al manejo con las diferentes estrategias agronómicas.

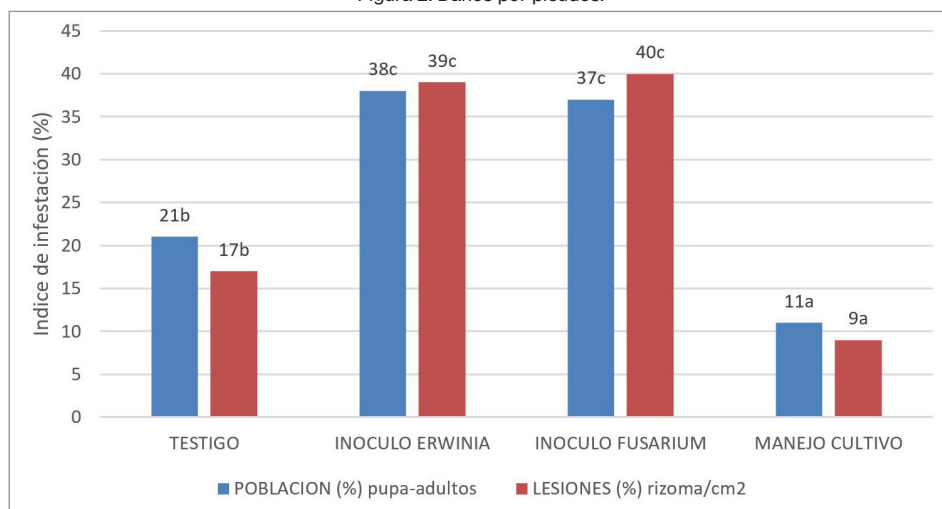
La infestación por picudos en rizomas de cada parcela, de al menos 4 plantas al cierre del experimento, censando las galerías de picudo y el número de larvas encontradas, utilizando el barema de notación del coeficiente de infestación según la metodología del INISAV (2011), arrojó los resultados que se muestran en la tabla 2 y figura 2.

Tabla 2. Índice de daños por picudo en cada variante experimental. Comparación múltiple de media según prueba de Tukey al 5% de significación.

VARIANTES EXPERIMENTAL	Porcentaje de lesiones del rizoma/cm <sup>2</sup>	Población (%) relativa pupa-adulto
<b>V1 TESTIGO</b> (Infección natural)	17 <sup>b</sup>	21 <sup>b</sup>
<b>V2: INOCULADA</b> (Inóculos bacteriano <i>Erwinia</i> sp.)	39 <sup>c</sup>	38 <sup>c</sup>
<b>V3: INOCULADA</b> (Inóculo fúngico <i>Fusarium</i> sp.)	40 <sup>c</sup>	37 <sup>c</sup>

VARIANTES EXPERIMENTAL	Porcentaje de lesiones del rizoma/cm <sup>2</sup>	Población (%) relativa pupa-adulto
<b>V4: MANEJO DE PLANTACION (Ambos inóculos)</b>	9 <sup>a</sup>	11 <sup>a</sup>
<b>Gran Media</b>	26.3	26.8
<b>Desv. Estándar</b>	4.83	5.28
<b>Error típico</b>	2.42	2.64
<b>CV (%)</b>	18.4	19.7

Figura 2. Daños por picudos.



De igual modo al cabo de las 10 semanas post-inoculadas con picudos en estadio de pupa y adulto, se confirmó a partir de raíces de plátano obtenidas de cada una de las parcelas experimental donde fueron inoculados los picudos, la presencia de forma diferenciada de lesiones causadas por nematodos. La tabla 3, muestra el porcentaje de lesiones (grado de cobertura en cm<sup>2</sup>) y de presencia de nematodos identificados sólo hasta género.

Tabla 3. Porcentaje de lesiones de nematodos lesionadores de raíces y conteo de larvas juveniles de nematodos/cm<sup>3</sup> del licuado de 10 g de raíces.

VARIANTES EXPERIMENTAL	Nematodos lesionadores (géneros)	Porcentaje de lesiones/cm <sup>2</sup> de raíz	Población (larvas /cm <sup>3</sup> )
<b>V1: TESTIGO</b>	<i>Radopholus</i>	<b>38</b>	<b>34</b>
	<i>Pratylenchus</i>	<b>34</b>	<b>29</b>
	<i>Helicotylenchus</i>	<b>11</b>	<b>17</b>
<b>V2: INOCULADA (Erwinia sp.)</b>	<i>Radopholus</i>	<b>31</b>	<b>55</b>
	<i>Pratylenchus</i>	<b>24</b>	<b>39</b>
	<i>Helicotylenchus</i>	<b>13</b>	<b>11</b>



VARIANTES EXPERIMENTAL	Nematodos lesionadores (géneros)	Porcentaje de lesiones/cm <sup>2</sup> de raíz	Población (larvas /cm <sup>3</sup> )
<b>V3: INOCULADA</b> ( <i>Fusarium</i> sp.)	<i>Radopholus</i>	34	71
	<i>Pratylenchus</i>	27	12
	<i>Helicotylenchus</i>	17	10
<b>V4: MANEJO DE PLANTACION</b>	<i>Radopholus</i>	15	44
	<i>Pratylenchus</i>	9	29
	<i>Helicotylenchus</i>	0	0
<b>COMPORTAMIENTO PROMEDIO DE LA PARCELA EXPERIMENTAL</b>	<i>Radopholus</i>	30	51
	<i>Pratylenchus</i>	24	21
	<i>Helicotylenchus</i>	10	20

En la investigación, se obtuvo valores que alcanzaron hasta el 40% de lesiones del rizoma/cm<sup>2</sup>, valores considerados por Ploetz *et. al.*, (2009), elevados, sobre todo tratándose de una plantación de menos de un año, independientemente que su infestación fue inducida de forma artificial, en correspondencia con las poblaciones (%) relativa pupa-adulto registradas oscilantes entre 15 y 31%, tal como se muestra en la tabla 2.

En relación con los nematodos lesionadores de raíces del plátano, los resultados registrados en la tabla 3, muestran tanto en muestras de suelo como de raíces, predominio del género *Radopholus* seguido por *Pratylenchus*, y *Helicotylenchus*, coincidiendo con los reportes de los Anales Nematoda del 2014.

Diferentes estrategias con la finalidad de enfrentar esta problemática fueron puestas en prácticas y validadas en la Variante experimental 4 (MIP), concebida al respecto, entre ellas con evidencias fehacientes, los aportes de las diferentes estrategias implementadas desde la desinfección de la semilla agámica para la siembra, que incluyó mondado profundo, inmersión en agua caliente (60° C) y al refrescar en una suspensión de *Beauveria bassiana* con título 10<sup>8</sup> conidios/ml., como la micorrización en el momento de la siembra con el endófito MVA *G. intrarradis*, y la aplicación de *T. harzianum* a los 15 días de la siembra evitando que su efecto antagonista afectara la micorrización tal como refieren Collins, Nancy; & Pflieger (2012) y más reciente Simón y Pérez-Vicente (2021).

La puesta de trampas en diferentes sitios con pedazos de cormos inoculados con *Beauveria bassiana*, revisadas cada 21 días y renovadas una vez en descomposición, recolectando picudos vivos y muertos de la parcela propiciaron además de su registro y cuantificación de su incidencia, reducir paulatinamente las poblaciones de la plaga, acentuado este proceso con la colocación de tramas de feromonas (Simón y Pérez-Vicente 2021).

La parcela bajo principio de MIP, permaneció libre de malezas y se intercalaron cultivos enriquecedores de flora benéfica como lo es la soya, frejol, y maní, que propiciaron la biodiversidad de la fauna benéfica de artrópodos entomófagos.

No obstante, a juicio propio uno de los elementos fundamentales del manejo lo constituyó la micorrización de las plantas con edófitos adaptados, logrando su establecimiento al menos en un 33% del área/cm<sup>2</sup> como promedio de raíces cubiertas por arbusculos micorrizógenos y un 13% de vesículas aisladas por cm<sup>2</sup>, parámetros considerados por Collins, Nancy; & Pflieger (2012) de buenos.

En principio todas las estrategias implementadas, permitieron obtener los resultados presentados en la tabla 4, cuyos índices de infestación por fitopatógenos no rebasaron para el caso de *Erwinia* sp., el 9%, por *Fusarium* sp., el 7% y por nematodos lesionadores el 18%.

Al cierre de la investigación, el índice de infestación causado por fitopatógenos bacterianos (*Erwinia* sp.), fungos (*Fusarium* spp.), y nematodos lesionadores registrados en la tabla 3, corrobora la hipótesis propuesta por Simón (2018<sup>a,b</sup>), de la responsabilidad directa de picudos y nematodos en la diseminación de los fitopatógenos, a su vez, el efecto positivo de la micorrización del cultivo de plátano en el control del complejo biológico nocivo picudos - nematodos - fitopatógenos.

En relación a los nematodos lesionadores de raíces del plátano, los resultados tanto en suelo como en raíces, mostraron predominio del género *Radopholus* seguido por *Pratylenchus*, y *Helicotylenchus*, considerándose como plagas silenciosas, constituyendo hoy día una de las principales problemáticas fitosanitarias del Ecuador, por encontrarse distribuidos por todos los suelos bien por desconocimiento o malas prácticas agrícolas.

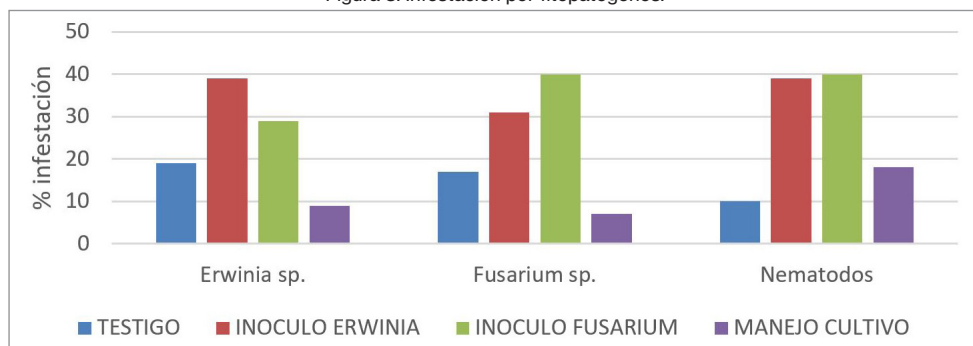
La micorrización de las plantas inoculadas con el edófito adaptado *G. intrarradices*, logró su establecimiento al menos un 33% del área/cm<sup>2</sup> de raíces como promedio cubiertas por arbusculos micorrizógenos con un 13% de vesículas aisladas por cm<sup>2</sup>, constituyendo un elemento importante dentro del manejo y protección del cultivo de plátano.

Tabla 3. Índice de infestación por fitopatógenos en cada variante experimental. Comparación múltiple de media según prueba de Tukey al 5% de significación.

VARIANTES EXPERIMENTAL	Índice de infestación (%) por <i>Erwinia</i> sp.	Índice de infestación (%) por <i>Fusarium</i> sp.	Índice de infestación (%) por nematodos
V1 TESTIGO (Infección natural)	19 <sup>b</sup>	17 <sup>b</sup>	10 <sup>a</sup>
V2: INOCULADA (Inóculo <i>Erwinia</i> )	39 <sup>d</sup>	31 <sup>c</sup>	39 <sup>c</sup>
V3: INOCULADA (Inóculo <i>Fusarium</i> )	29 <sup>bc</sup>	40 <sup>d</sup>	40 <sup>c</sup>
V4: MANEJO DE PLANTACION	9 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>	18 <sup>b</sup>
Gran Media	24.0	23.8	28.2

VARIANTES EXPERIMENTAL	Índice de infestación (%) por <i>Erwinia</i> sp.	Índice de infestación (%) por <i>Fusarium</i> sp.	Índice de infestación (%) por nematodos
Desv. Estándar	4.56	5.71	4.51
Error típico	2.28	2.86	2.26
CV (%)	19.1	24.0	16.0

Figura 3. Infestación por fitopatógenos.



## 5 CONCLUSIONES

- Se corrobora la hipótesis de participación directa de picudos y nematodos en la incidencia, distribución e infestación del complejo fitopatogénico nocivo del plátano, causando daños por picudos al menos de hasta el 40 % de lesiones del rizoma/cm<sup>2</sup>, en correspondencia con la población (%) relativa pupa-adulto oscilantes entre 15 y 31%.
- Al cierre de la investigación, los índices de infestación causados por fitopatógenos en la variante protegida correspondiente al MIP, no rebasaron para el caso de *Erwinia* sp., el 9%, por *Fusarium* sp., el 7% y por nematodos lesionadores el 18%, contrastando con las variantes no protegidas con índices de infestación oscilantes de este complejo fitopatogénicos entre el 29 y 40%.

## FUENTES Y REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Alvarez, C.E. (2018). Guía colombiana del cultivo de plátano. Folleto 221, 107p.
2. Álvarez E; Bolaños M; Asakawa N; Ceballos G; Gañán L; González S. (2011). Opciones eco-eficientes para la sostenibilidad del cultivo de plátano en Colombia. Boletín Musalac 2(3): 2-4.
3. Álvarez E; Ceballos G; Gañán L; Rodríguez D; González S; Pantoja A. (2013). Producción de material de 'siembra' limpio en el manejo de las enfermedades limitantes del plátano. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. 20 p.
4. Annales Nematoda (2014). Crop Protection Nematoda. Taxonomic and Clasification. Annales Science Nature Vol. 98 No. 4, 7-978-959-207-389- 0.

5. Arias E. (2014). Estudio financiero para la producción de banano (*Musa sapientum*), en Pueblo Viejo, Los Ríos, Ecuador.
6. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación) (2018). Obtenido de: <http://www.fao.org/3/y5102s/y5102s00.htm#contents>
7. Hunt. D. J.; M. Luc; R. H. Manzanilla. 2005. Identification, Morphology and Biology of Plant Parasitic Nematodes, Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture, 2.ª ed., sección 11, CABI Publishing, Inglaterra, pp. 11-52.
8. ICA (Instituto Colombiano Agropecuario)-Seccional Caldas. 2000. ¡Alerta! Productores de plátano, banano y heliconias, eviten el Moko o Maduraviche. [folleto]. Manizales, Colombia.
9. INEC (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos). 2013. Datos estadísticos agropecuarios. Visualizador de Estadísticas Agropecuarias del Ecuador ESPAC. Consultado el 9 de Octubre de 2013. Disponible en: <http://200.110.88.44/lcdssamples/testdrive-remoteobject/main.html#app=dbb7&9270-selectedIndex=1>
10. INIAP (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria) (2011). Banano, plátano y otras musáceas. Ecuador Boletín Técnico No. 202 148 p.
11. INISAV (Instituto Nacional de Investigaciones de Sanidad Vegetal) (2011). Compendio metodológico de registro señalización y pronóstico de plagas y enfermedades Volumen II. Editorial Ciencia y Técnica MINAG. La Habana, Cuba 372 p.
12. Ploetz RC. 2001. Black Sigatoka of Banana. The most important disease of a most important fruit. The Plant Health Instructor. <http://dx.doi.org/10.1094/PHI-I-2001-0126-02>
13. Ploetz, R.C., Zentmyer' G.A.'Nishijima,W.T., Rohrbach, K.G., and Ohr' H.D. (eds). 1994. Banana Streak, En: Compendium of Tiropical Fruit Diseases. APS, pp. 19-20.
14. PROMUSA (2020). Morfología de la planta del banano. Obtenido de <https://www.promusa.org/morfolog%c3%ada+de+la+planta+del+banano>
15. Sánchez, G. (2010). Epifitología. Universidad de Colima. Libro de Texto 701p.
16. Seenivasan F. (2013). Management of nematodes in banana through bio-rationale. Obtenido de Management of nematodes in banana through bio-rationale: file:///C:/Users/The%20Secret%20Base/Desktop/TESIS\_MANEJO%20DE%20NEMATODOS%20EN%20MUSACEAS/DE00014\_TRABAJODETITULACION.pdf
17. Simón, F.A. (2017). Sistema innovador de cultivos in vitro inoculado con simbiosis rizosférica MVA y bacterias surfactantes como fitoremediador de suelos contaminados con agrotóxicos. *INNOVA Research Journal*. Vol. 2, No. 8, 17 - 33. <http://www.journaluidegye.com/magazine/index.php/innova/article/view/361>
18. Simón, F.A. (2018a). Agricultura, Avance y Actualidad Editorial Académica Española 313p. is an imprint of: SIA OmniScriptum Publishings Ed. Morebooks ISBN: 978-620-2-14740-8
19. Simón (2018b). I Seminario internacional REDUPLATANO de Ecuador. Contribución al conocimiento de la problemática fitosanitaria cardinal del banano y plátano y Estrategias de Manejo [www.cidecuador.org](http://www.cidecuador.org).
20. Steiner DJ. (1991). Description of Pathogenic Nematode Clave for determination of genus *Meloidogyne* No 831. Commonwealth Phytopathological Institute, Kew Surrey, England. 2 pp.

# CAPÍTULO 15

## EFFECTOS ABIÓTICOS DE LA SALINIDAD EN CULTIVOS DE ARÁNDANO BAJO RIEGO POR GOTEO, EN LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

Data de submissão: 04/06/2022

Data de aceite: 23/06/2022

### Alejandro Pannunzio

Facultad de Agronomía  
Universidad de Buenos Aires  
Av. San Martín 4453  
Ciudad de Buenos Aires  
Argentina C1417DSF  
<https://orcid.org/0000-0002-0738-5092>

### Pamela Texeira

Facultad de Agronomía  
Universidad de Buenos Aires  
Av. San Martín 4453  
Ciudad de Buenos Aires  
Argentina C1417DSF

### Luciana Tozzini

Facultad de Agronomía  
Universidad de Buenos Aires  
Av. San Martín 4453  
Ciudad de Buenos Aires  
Argentina C1417DSF

**RESUMEN:** La salinidad es uno de los principales problemas que pueden limitar la producción de los cultivos bajo riego, la misma generalmente está asociada a un manejo incorrecto. El objetivo del estudio fue monitorear la evolución de la salinidad en suelos

con cultivos de arándanos bajo riego. La zona de estudio comprendió tres establecimientos del norte de la provincia de Buenos Aires. Para el diseño estadístico se tomaron como unidad de análisis los lotes de cada establecimiento, en cada lote se realizaron dos repeticiones. El tamaño de muestra fue diseñado para un error de muestreo del 5% con respecto a la media de la conductividad eléctrica del suelo (CEes). El agua de riego utilizada en la zona, presenta valores de salinidad del orden de 0,7 dS.m<sup>-1</sup> con una desviación estándar de 0,11, el RAS tiene valores de 5,4 con una desviación estándar de 3,1. Según la clasificación de Riverside la calidad de agua de riego de la zona corresponde a las categorías C3-S1, C2-S1, C3-S2 y C2-S2. Se realizaron dos muestreos en diferentes momentos, una antes de que se implantaran los cultivos de arándanos y otra dos años después de implantados. En cada uno de los sitios se extrajeron muestras de suelo a una profundidad de 0-25 cm, en las cuales se determinó la CEes, por el método del extracto de saturación (USDA), corregida a temperatura de 25°C. La CEes del suelo de la zona de estudio ronda valores de 0,38 dS.m<sup>-1</sup> con una desviación estándar de 0,18. Luego de dos años de cultivo la CEes del suelo alcanzó valores de 3,1 dS.m<sup>-1</sup> con una desviación estándar de 2,47. El presente trabajo demuestra que la CEes del suelo aumentó significativamente ( $\alpha < 0,05$ ) en el área de estudio luego de dos años de cultivo bajo riego.

**PALABRAS CLAVE:** Salinidad. Riego. Agua. Arándanos. Productividad.

## EVOLUTION OF SALINITY IN SOILS WITH BLUEBERRY CROPS UNDER DRIP IRRIGATION IN THE NORTH OF THE PROVINCE OF BUENOS AIRES

**ABSTRACT:** Salinity is one of the main problems that can limit the production of crops under irrigation, it is usually associated with incorrect management. The objective of the study was to monitor the evolution of salinity in soils with blueberry crops under irrigation. The study area comprised three establishments in the north of the province of Buenos Aires. For the statistical design, the lots of each establishment were taken as a unit of analysis, in each batch two repetitions were carried out. The sample size was designed for a sampling error of 5% with respect to the mean electrical conductivity of the soil (CEEs). The irrigation water used in the area, presents salinity values of the order of 0.7 dS.m<sup>-1</sup> with a standard deviation of 0.11, the RAS has values of 5.4 with a standard deviation of 3.1. According to the Riverside classification, the irrigation water quality of the area corresponds to categories C3-S1, C2-S1, C3-S2 and C2-S2. Two samples were carried out at different times, one before the blueberry crops were implanted and another two years after they were implanted. At each of the sites, soil samples were extracted at a depth of 0-25 cm, in which the CEes were determined, by the saturation extract method (USDA), corrected to a temperature of 25°C. The CEes of the soil of the study area are around values of 0.38 dS.m<sup>-1</sup> with a standard deviation of 0.18. After two years of cultivation, soil ECs reached values of 3.1 dS.m<sup>-1</sup> with a standard deviation of 2.47. The present work shows that soil EQs increased significantly ( $\alpha < 0.05$ ) in the study area after two years of cultivation under irrigation.

**KEYWORDS:** Salinity. Irrigation. Water. Blueberries. Productivity.

### 1 INTRODUCCIÓN

El riego es el principal consumidor de agua a nivel mundial y constituye una herramienta estratégica para enfrentar la crisis de la alimentación del mundo. La salinidad es una de las principales limitantes de la producción de los cultivos bajo riego, estos problemas generalmente son el resultado del manejo incorrecto. El proceso de salinización de los suelos está dado por las sales solubles que son fácilmente transportadas por el agua y que se acumulan en la zona radical de los cultivos por aporte directo del riego.

En la región pampeana húmeda y sub-húmeda, el riego es complementario a las lluvias, siendo la fuente más común el agua subterránea, en esta región la misma se caracteriza por su elevado contenido de bicarbonato de sodio (Galindo et al., 2007). Los valores de pH rondan valores de 8-8,5 y las conductividades eléctricas van desde 1 a 1,5 dS m<sup>-1</sup>, superando incluso en algunas zonas estos valores (Lang et al., 2013).

Los impactos ambientales del riego vienen estudiándose en la región pampeana húmeda en forma lenta, aislada y desordenada desde principios de la década de 1970. Algunos autores reportaron que el riego incrementó significativamente el pH y el porcentaje de sodio intercambiable, sin generar aumentos significativos en la conductividad eléctrica

(Peinemann et al., 1998; Costa, 1999; Pilatti et al., 2006; Mon, et al., 2007; Torres Duggan et al., 2012). Otros autores encontraron leves aumentos de salinidad en suelos bajo riego en la región húmeda pampeana (Vasquez et al., 2006; Aparicio et al., 2014). El manejo diario preciso de los sistemas de riego en arándanos, siguiendo el potencial agua del suelo, es esencial para el buen uso del recurso y la mayor productividad del cultivo (Pannunzio et al, 2022; Pannunzio, 2019). Los principales efectos de la salinidad del suelo en una plantación de arándanos son la reducción de biomasa de raíces, tallo, hojas, área foliar, altura de la planta (Erb et al, 1993), disminución de la biomasa radical (Hsiao, 1973) y del crecimiento de sus hojas (Matsuda y Riazi, 1981) pérdida de turgencia (Leidi y Pardo, 2002), disminución del contenido de clorofila (Wright, 1993), disminución del peso y tamaño en frutos (Mingeau, 2001), concentración de azúcares (Ehret, 2012), y el peso de la materia fresca y seca de raíz, tallo y hoja (Balaguera, 2008; Bryla y Machado, 2011) y en casos extremos si la transpiración excede la cantidad de agua absorbida por las raíces puede causar la muerte de la planta (Luna *et al.*, 2012). El arándano ocupa el tercer lugar entre las frutas de exportación de la Argentina y abastece al mercado interno durante ocho meses al año, de junio a enero. Este cultivo originario del hemisferio norte, fue introducido en la Argentina a finales de la década del '90. Actualmente, la producción se divide en tres regiones principales: NOA, con las provincias de Salta, Tucumán y Catamarca (1.308 hectáreas); NEA, en Corrientes y Entre Ríos (1.040 hectáreas) y la región central con Buenos Aires (402 hectáreas).

El arándano tiene un sistema radical superficial y de poca extensión, debido a estas características su capacidad de absorción de agua y nutrientes es limitada. Se trata de un cultivo frutícola intensivo, que requiere un adecuado plan de fertilización y riego. Por este motivo un inadecuado manejo incrementa el riesgo de salinización del suelo.

El manejo de las sales en el suelo puede controlarse con distintos métodos de riego localizado, dependiendo de los caudales, tipo de emisores, diámetros de mojado, solapamiento y profundidad del suelo, siendo el factor limitante el contenido salino del agua de riego utilizada (Osorio y Cespced, 2000). El estrés osmótico o lo que es consecuencia del mismo, el estrés hídrico y salino, es uno de los principales factores de estrés abiótico con efecto negativo en la producción de plantas cultivadas en el mundo (Lamz y González, 2014). El estrés hídrico ejerce un mayor impacto en el crecimiento y producción de las plantas de arándano a diferencia del estrés salino, el cual puede aumentar el tamaño del fruto cuando se aplica un potencial osmótico igual a  $-0.41$  MPa. (Salgado et al, 2018)

El objetivo de esta investigación fue monitorear la evolución de la salinidad del suelo con cultivo de arándanos bajo riego por goteo.



## 2 MATERIALES Y MÉTODOS

La zona de estudio comprende las localidades de Solís y Zárate, ubicadas al norte de la provincia de Buenos Aires. Esta región corresponde a un clima templado húmedo, con precipitaciones anuales promedio del orden de los 1.000 mm. Para la investigación se seleccionaron tres establecimientos, el criterio de selección fue incluir distintos manejos del riego y la fertilización.

Para el diseño estadístico se tomaron como unidad de análisis los cinco lotes de cada establecimiento, en cada lote se realizaron dos repeticiones. El tamaño de muestra fue diseñado para un error de muestreo del 5% con respecto a la media de la conductividad eléctrica del suelo (CEes). Como valor de referencia de CEes del suelo se tomaron tres valores de cada establecimiento antes de que se implantaré el cultivo.

Se realizó un análisis textural y químico de los suelos a una profundidad de 0-25 cm. Para determinar la calidad de la fuente de agua se efectuó un análisis del agua subterránea con la clasificación Riverside, en dieciséis perforaciones de la zona, incluyendo las perforaciones de los establecimientos seleccionados.

En cada uno de las unidades de análisis se extrajo muestras de suelo a una profundidad de 0-25 cm, en las cuales se determinó la CEes, por el método del extracto de saturación (USDA), corregida a temperatura de 25°C. El monitoreo se realizó en dos momentos, el primero fue anterior a la implantación del cultivo en el año 2005 (CEes año 0) y el siguiente con dos años de implantado en el año 2007 (CEes año 2). La normalidad de la variable CEes del suelo se analizó con el test de Kolmogorov. Dentro de cada momento de muestreo se calcularon medidas de posición y dispersión de las muestras. A partir del test de Wilcoxon se compararon las medianas a fin de identificar diferencias significativas ( $\alpha \leq 0,05$ ) entre ellas.

## 3 RESULTADOS

El análisis textural y químico muestra que los suelos del estudio tienen una textura limo arcillosa y una CEes que ronda valores de 0,38 dS.m<sup>-1</sup> con una desviación estándar de 0,18 (tabla 1). El agua de riego presenta valores de salinidad del orden de 0,7 dS.m<sup>-1</sup> con una desviación estándar de 0,11, el RAS tiene valores de 5,4 con una desviación estándar de 3,1 (tabla 2). Con respecto a la calidad del agua para riego según la clasificación de Riverside corresponde a las categorías C3-S1, C2-S1, C3-S2 y C2-S2, resultando algunas fuentes aptas para riego y otras utilizables con precauciones de uso.

Tabla 1. Textura y parámetros químicos de los suelos de la zona de estudio sin cultivo.

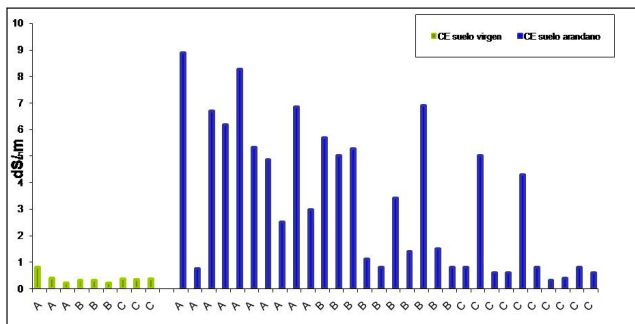
Profundidad (cm)	% arena	% limo	% arcilla	pH	CE (mmhos/cm)	CEC (meq/100g)
0-25	10,00	68,50	21,50	7,40	0,30	17,00
25-50	8,50	74,00	17,50	7,30	0,40	21,00

Tabla 2. Salinidad y RAS de las perforaciones de la zona de estudio.

Perforación	CE (dS.m <sup>-1</sup> )	RAS
1	0,798	2,9
2	0,67	0,8
3	0,66	5,7
4	0,79	8,6
5	0,458	8,6
6	0,67	9,5
7	0,78	2,6
8	0,74	3,6
9	0,69	10,1
10	0,78	1,8
11	0,45	1,2
12	0,75	2,8
13	0,68	7,2
14	0,77	7,5
15	0,68	7,2
16	0,72	7,3

En el gráfico 1 se observan los valores de CEes del suelo para los tres establecimiento (A, B y C), para suelo sin cultivo (suelo virgen) y para suelo con dos años de cultivo de arándanos. Hay una diferencia entre los valores de CEes de los distintos establecimientos, las mismas pueden deberse a los diferentes manejos de los planes de riego y fertilización o a la diferente calidad de las fuentes de agua. Sería necesario un análisis de estos factores para ver la incidencia en el aumento de la salinidad de los suelos.

Gráfico 1. Valores de CEes del suelo para los distintos establecimientos para los dos momentos de muestreo. Suelo virgen (año 0), suelo arándano (año 2).



La aplicación del Test de Kolmogorov para la variable CEes permitió rechazar la hipótesis de normalidad de las muestras en ambos momentos de muestreo. En la tabla 3 se muestran las medidas de posición y dispersión de ambos muestreos. En la figura 1 se observan los diagramas de caja, hay un incremento de la variable CEes en el tiempo y una mayor dispersión de los datos, está mayor dispersión de los datos puede deberse a distintos manejos de los establecimiento o a distintas calidades de agua, como se mencionó anteriormente. En el año 2 el 50% de los valores supera los 3,50 dS.m-1, mientras que en año 0 el 50% superó sólo los 0,30 dS.m-1. En el año 2 se observa la mayor dispersión de los valores de la CEes entre el 0 y 50% de la población. El test de Wilcoxon mostró una diferencia significativa ( $\alpha \leq 0,05$ ), dejando en evidencia un aumento de la salinidad del suelo luego de dos años de cultivo.

Esta tendencia al incremento de la salinidad puede deberse a varios factores, la calidad de agua para riego en algunas perforaciones según la clasificación de Riverside fue utilizable con precauciones de uso. Sería necesario analizar el manejo realizado en cada establecimiento con el fin de encontrar una asociación entre el manejo del riego y la evolución de la salinidad del suelo. En los gráficos 3 y 4 pueden observarse los valores de precipitación y evapotranspiración de la estación meteorológica del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) de San Pedro para el periodo 2005-2007. Se observa que tanto la tendencia de la evapotranspiración de referencia como de las precipitaciones en el periodo de estudio son similares, sólo hay un valor extremo de precipitación en marzo de 2007.

Tabla 3. Salinidad del extracto de saturación del suelo (CEes). Medidas de posición y dispersión (campañas 1 y 2).

	Media	N	Desv. típ.	Mediana	Máximo	Mínimo	Varianza
CEes año 0	0,37	9,00	0,18	0,30	0,80	0,20	0,03
CEes año 2	3,21	30,00	2,70	2,00	8,90	0,30	7,31

Figura 1. Diagrama de caja y bigotes para las campañas 0 y 2.

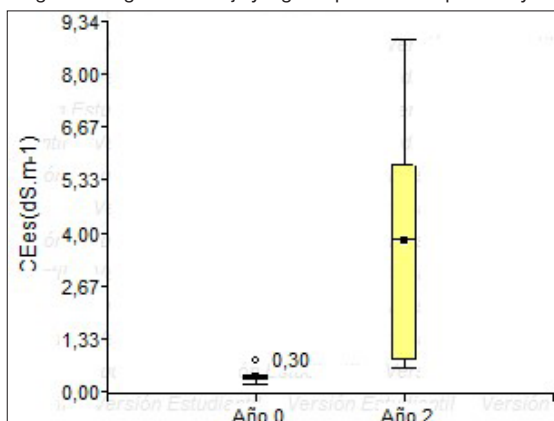


Gráfico 2. Precipitación mensual 2005, 2006 y 2007 para la Estación Meteorológica INTA San Pedro.

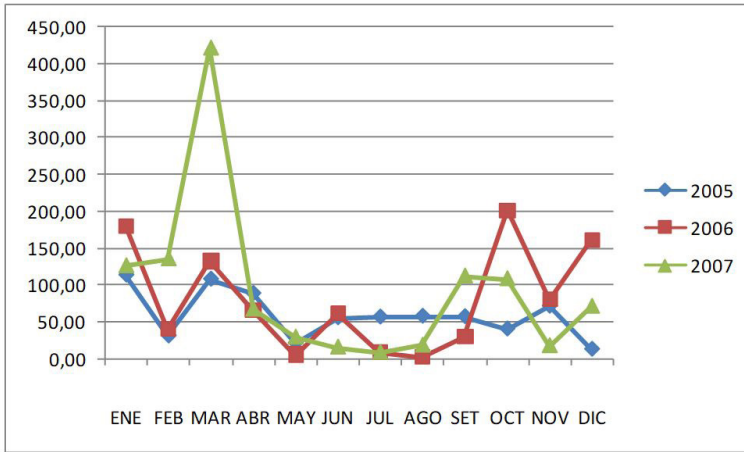
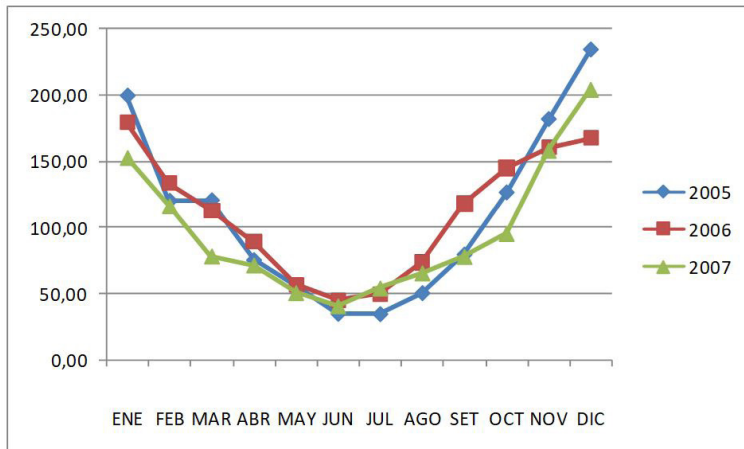


Gráfico 3. Evapotranspiración de referencia con Tanque Tipo A 2005, 2006 y 2007 para la Estación Meteorológica INTA San Pedro.



## 4 CONCLUSIÓN

Del siguiente trabajo se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- 1) La CEEs en el suelo aumentó significativamente ( $\alpha < 0,05$ ) en el área de estudio entre los años 0 y 2.
- 2) La calidad del agua de riego de la zona de estudio es apta y utilizable con precauciones de uso.
- 3) Sería necesario ampliar el presente estudio y evaluar el efecto del manejo del riego y la fertilización de cada establecimiento sobre la salinidad.
- 4) Esta información contribuye a la gestión del recurso hídrico para el riego.

## BIBLIOGRAFÍA

Aparicio V; A Barbacone y JL Costa. 2014. Efecto de la calidad de agua para riego complementario sobre algunas propiedades químicas edáficas. *Cienc. suelo* vol.32 no.1 Ciudad Autónoma de Buenos Aires jun. 2014. versión On-line ISSN 1850-2067.

Costa JL. 1999. Effect of irrigation water quality under supplementary irrigation on soil chemical and physical properties in the «southern humid pampas» In: MB Kirkham Water use in crop production Food Products Press, The Haworth press, Inc, ISBN 1-56022-068-6 NY. Pp 85-99.

Erb, W. A., A. D. Draper, and H. J. Swartz 1993. Relation between moisture stress and mineral soil tolerance in blueberries. *J. Am. Soc. HortScience* 118: 130-134.

Galindo G; C Sainato; C Dapeña; JL Fernández-Turiel; D Gimeno; MC Pomposiello and HO Panarello. 2007. Surface and groundwater quality in the northeastern region of Buenos Aires Province, Argentina. *J. South American Earth Sci.* 23: 336-345.

Hsiao, T. 1973. Plant responses to water stress. *Annu. Rev. Plant. Physiol.* 24: 519-570.

Lamz, P. A., y M. C. González. 2013. La salinidad como problema en la agricultura: la mejora vegetal una solución inmediata. *Cultivos Trop.* 34: 31-42.

Lang, M.; Lipinski, V. y Balcaza, L. (2013). Efecto de la aplicación de enmienda y manejo del riego sobre el rendimiento y la calidad de lechuga bajo invernadero. *Horticultura Argentina* 32 (79):32-42.

Leidi, E. O., y J. M. Pardo. 2002. Tolerancia de los cultivos al estrés salino. *Rev. Investig. Facultad de Ciencias Agrarias* 2:2-10.

Luna, F. W., H Estrada Medina, J. J. Jiménez Osornio, y L. L. Pinzón López. 2012. Efecto del stress hídrico sobre el crecimiento y eficiencia del uso del agua en plátulas de tres especies arbóreas caducifolias.

Matsuda, K., and A. Riazi. 1981. Stress induced osmotic adjustment in growing regions of barley leaves. *Plant Physiol.* 68: 571-576.

Mon R; C Iruetia; FG Botta; O Pozzolo; F Bellora Melcón; D Rivero & M Bomben. 2007. Effects of supplementary irrigation on chemical and physical soil properties in the Rolling Pampa region of Argentina. *Ciencia e Investigación Agraria* 34: 143-150.

Osorio A y R Céspedes. 2000. Efecto de métodos de riego localizado en la salinidad del perfil de suelo en vid de mesa. Conductividad eléctrica, Sodio, cloro y boro en distintos puntos del perfil. *Agríc. Téc.* v.60 n.2 Chillán abr. 2000. versión impresa ISSN 0365-2807.

Pannunzio, A. (2019) Criterios de diseño, operación y manejo de sistemas de riego por goteo en arándanos y el impacto en su huella hídrica. Tesis de doctorado. Universidad de Buenos Aires, Argentina, 225 p.

Pannunzio, A, E. A. Holzapfel, P. Texeira. 2022. Assessment of the Recession Phase in a Drip Irrigated Blueberry (Hybrid Cross of *Vaccinium* sp.) Crop under Different Irrigation Design Criteria and Irrigation Scheduling in Concordia, Entre Ríos, Argentina *Current Topics in Agricultural Sciences* Vol. 6, 12 March 2022 , Page 90-101 <https://doi.org/10.9734/bpi/ctas/v6/1988A>.

Peinemann N; M Diaz Zorita; MB Villamil; H Lusarreta.& D Grunewald. 1998. Consecuencias del riego complementario sobre propiedades edáficas en la llanura Pampeana. *Actas XVI Congreso Arg. Ciencia del Suelo, Villa Carlos Paz, mayo de 1998: 7-8.*

Pilatti MA; S Imhoff; P Ghiberto & RP Marano. 2006. Changes in some physical properties of Mollisols induced by supplemental irrigation. *Geoderma* 133: 431:433.

Torres Duggan M; CR Alvarez; MA Taboada; T Celesti; F Vignarolli & D D´Ambrosio. 2012. Riego complementario en un argiudol típico de la pampa ondulada argentina bajo siembra directa: efectos sobre algunas propiedades químicas y físicas del suelo. *Ci. Suelo* 30: 201-207.

Salgado Vargas, C., p. Sánchez-García, M. T. B. Colinas Leon2018. Respuesta agronómica de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) al estrés osmótico. *Agrociencia* [online]. 2018, vol.52, n.2, pp.231-239. ISSN 2521-9766.

Vázquez M; G Millán y P Gelati. 2006. Efecto del riego complementario sobre la salinidad y sodicidad de diferentes suelos del NO y Centro-E de la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Revista de la Facultad de Agronomía Universidad de La Plata*. Volumen 106. Número 01.

# CAPÍTULO 16

## EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO DEL GRANO CON LOS TRES HÍBRIDOS ASOCIADOS CON TRES NIVELES DE LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA EN EL CULTIVO DE MAÍZ ENTRE LA ASPERSIÓN Y GOTEO POR FERTIRIEGO DURANTE LA ESTACIÓN SECA EN UN SUELO VERTISOL

Data de submissão: 30/05/2022

Data de aceite: 17/06/2022

### Dr. Kentaro Tomita

Ph. D.

Facultad de Ciencias de la Vida  
Escuela Superior Politécnica del Litoral  
(ESPOL)

Campus Gustavo Galindo V. km 30.5  
vía Perimetral, Guayaquil, Ecuador  
y Voluntario Senior de  
Agencia de Cooperación  
Internacional del Japón: JICA  
ORCID: 0000-0001-9000-4758

### Ing. MSc. Jaime Proaño

Facultad de Ciencias de la Vida  
Escuela Superior Politécnica del Litoral  
(ESPOL)

Campus Gustavo Galindo V. km 30.5  
vía Perimetral, Guayaquil, Ecuador  
ORCID: 0000-0003-2980-5796

**RESUMEN:** Se evaluaron tres híbridos de maíz bajo tres niveles de fertilización nitrogenada (50, 100 y 150 kg de N/ha) entre la aspersión y goteo por fertiriego durante la estación seca en la Granja Experimental Agrícola de la ESPOL (Escuela Superior Politécnica del Litoral), Guayaquil, Guayas, Ecuador. El suelo donde se implementó el experimento se clasifica como Vertisol y es conocido como de alta fertilidad, teniendo en

cuenta su alto contenido de mineral arcilloso tipo 2:1 tal como montmorillonita y/o ilita. Para el valor promedio de la CIC y la saturación de bases en la superficie, 41,9meq/100g y 99,4%, respectivamente). Los híbridos que se experimentaron son: Pioneer 4039 (P4039), Advanta 9313 (AV9313) y Advanta 9139 (AV9139), respectivamente. En el área experimental, se aplicaron 50 kg de  $P_2O_5$  y 50 kg de  $K_2O$ /ha, respectivamente. Sobre el rendimiento del grano con 14% de la humedad, se observó la diferencia significativa al 1% para el sistema del riego y al 5% para el Híbrido, respectivamente. Aunque fue el más alto rendimiento para el AV9139, se observó una tendencia negativa de acuerdo con la mayor dosis de nitrógeno. Recomendándose el híbrido AV 9139 con la fertilización de 50kgN/ha en el goteo por fertiriego de acuerdo con los resultados obtenidos.

**PALABRAS CLAVE:** Aspersión. Beneficio neto. Fertilización nitrogenada. Goteo por fertiriego. Vertisol.

EVALUATION OF THE GRAIN YIELD WITH THREE HYBRIDS ASSOCIATED WITH THREE LEVELS OF THE NITROGEN FERTILIZATION ON CORN CULTURE BETWEEN SPRINKLER AND DRIP IRRIGATION BY LIQUID FERTILIZERS DURING DRY SEASON AT THE SOIL VERTISOL

**ABSTRACT:** It was evaluated three hybrids of corn under the three levels of the nitrogen



application (50, 100 and 500kgN/ha) during the rainy season at the Experimental Field in the ESPOL (Politechnique Superior School of Litoral), Guayaquil, Guayas, Ecuador. The soil where the experiment was implemented is classified as Vertisol and it is known as high fertility, taking into account for its high content of type 2: 1 clay mineral such as montmorillonite and / or illite. It was 41,9 meq/100g for CEC and 99,4% for the base saturation, respectively. These hybrids which were experimented are: Pioneer 4039 (P4039), Advanta 9313 (AV9313) and Advanta 9139 (AV9139), respectively. On the experimental area, it was applied 50kgP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> and 50kgK<sub>2</sub>O/ha, respectively. About the grain yield with 14% moisture, it was observed the significant difference at 1% for the irrigation system and at 5% for hybrid, respectively. Although it was the highest performance for the AV9139, it was observed the negative trend in accordance with the higher nitrogen amounts. Recommending the hybrid AV 9139 with the application of 50kgN/ha on the drip irrigation by liquid fertilizers according to the obtained results.

**KEYWORDS:** Drip irrigation by liquid fertilizers. Net profit. Nitrogen fertilization. Sprinkler. Vertisol.

## AVALIAÇÃO DO RENDIMENTO DO GRÃO COM OS TRÊS HÍBRIDOS ASSOCIADOS COM TRÊS NÍVEIS DA FERTILIZAÇÃO NITROGENADA NA CULTURA DE MILHO ENTRE A ASPERSÃO E GOTEJO POR FERTIRIEGO DURANTE A ESTAÇÃO SECA EM UM SOLO VERTISSOLO

**RESUMO:** Avaliaram-se três híbridos de milho sob três níveis de fertilização com nitrogênio (50, 100 e 150kgN/kg) entre aspersão e gotejamento por fertirrigação durante a estação seca na Fazenda Experimental Agrícola ESPOL (Escola Superior Politécnica do Litoral), Guayaquil, Guayas, Equador. O solo onde foi realizado o experimento é classificado como Vertissolo e é conhecido como de alta fertilidade, devido ao seu alto teor de mineral argiloso tipo 2:1, como montmorilonita e/ou illita. Para o valor médio de CTC e saturação de bases na superfície, 41,9 meq/100g e 99,4%, respectivamente). Os híbridos testados são: Pioneer 4039 (P 4039), Advanta 9313 (AV9313) e Advanta (9139), respectivamente. Na, área experimental, foram aplicados 50kgP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 50kg de K<sub>2</sub>O/ha, respectivamente. Sobre o rendimento de grãos com 14% de umidade, observou-se a diferença significativa a 1% para o sistema da irrigação e a 5% para o Híbrido, respectivamente. Embora foi o mais alto rendimento para o AV9139, observou-se uma tendência negativa de acordo com a maior dose de nitrogênio. Recomenda-se o híbrido AV 9139 com a aplicação de 50kgN/ha no gotejamento por fertirrigação de acordo com os resultados obtidos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Aspersão. Benefício neto. Fertilização com nitrogênio. Gotejo por fertiriego. Vertissolo.

## 1 INTRODUCCIÓN

El Maíz es una planta de fácil desarrollo y de producción anual, pertenece al género de las Zeas, de nombre científico *Zea mays*, familia de las gramíneas. El maíz amarillo duro (tipo cristalino) que se produce en Ecuador, es de excelente calidad tanto

para la elaboración de alimentos balanceados como para las industrias de consumo humano; debido a su elevado contenido de fibra, carbohidratos, caroteno y el alto nivel de rendimiento en la molienda, así como por sus precios, nuestro maíz es de gran aceptación en países fronterizos. De la producción nacional de maíz, la avicultura consume el 57%, alimentos balanceados para otros animales 6%, exportación a Colombia 25%, industrias de consumo humano 4%, el resto sirve para el autoconsumo y semilla.

Además, Ecuador tiene la capacidad de exportar subproductos del maíz, tales como la sémola. Estos productos son utilizados para elaborar polenta, arepas y snacks. Es muy importante que se realice el cultivo y se produce el grano de maíz como cultivo múltiple en el país, y se planificó el cultivo en la provincia de Guayas.

## 2 MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 FERTILIZACIÓN DEL N, HÍBRIDO Y SIEMBRA

Se sembró los tres híbridos maíz asociados con los tres niveles de la fertilización nitrogenada (50, 100 y 150kgN/ha) durante **la estación seca (del mayo al diciembre), comparando con la aspersión y goteo por fertiriego** como sistema del riego en la granja experimental de la ESPOL (Escuela Superior Politécnica del Litoral), Guayaquil, Guayas, Ecuador.

Para el suelo, se clasifica Vertisol y es conocido como muy alta fertilidad, teniendo en cuenta alto contenido de mineral arcilloso tipo 2:1 tal como montmorillonita y/o illita. Como híbrido, se utilizó Pioneer 4039 (P4039), Advanta 9313 (AV9313) y Advanta 9139 (AV9139), respectivamente.

En cada suelo, se preparó 734,4 m<sup>2</sup> y se separó las 9 subparcelas (81,6m<sup>2</sup>=10m x 8,16m), y se destinó los tres híbridos al azar con tres repeticiones. Además, en cada subparcela, se separó las 3 sub sub parcelas (2,72m<sup>2</sup>=8,16/3), y se destinó los tres niveles de la fertilización nitrogenada (50, 100 y 150kgN/ha) al azar.

La siembra del maíz se realizó en hileras a una distancia de 80 cm entre hileras y 20 cm entre plantas, dejando 1 planta por hoyo, totalmente, 62500 plantas/ha.

### 2.2 FERTILIZACIÓN TOTAL POR LA ASPERSIÓN

En cada subparcela se separaron tres subparcelas de 27,2m<sup>2</sup>, con los tres niveles de fertilización nitrogenada (50, 100 y 150kgN/ha) al azar (31 y 81 y 139kgN/ha, usando Bonaza nitro cuyo contenido de 38%N).

Para la fertilización fosfatada, se utilizó el fertilizante comercial DAP (18%N-46%P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-0%K<sub>2</sub>O) aplicándose 50kgP<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ha en cada tratamiento. Al mismo tiempo, se aplicó 19kgN/ha en todos los tratamientos por el DAP, totalmente, fue de 50, 100 y 150kgN/ha en cada tratamiento nitrogenado. Para la fertilización potásica se aplicaron 50 kgK<sub>2</sub>O/ha, usando el KCl (0-0-60%K<sub>2</sub>O), al igual que el caso del Bonanza nitro, se lo aplicó, separando las tres épocas. Para la fertilización nitrogenada, se separó las tres épocas como 7, 30 y 60 días después de la siembra. Además, la potásica, se aplicó 50kgK<sub>2</sub>O/ha, usando el KCl (0-0-60%K<sub>2</sub>O), al igual que el caso del Bonanza nitro, se lo aplicó, separando las tres épocas (28kg/ha del KCl en cada época) con la Bonanza Nitro.

## 2.3 FERTILIZACIÓN TOTAL POR EL GOTEO POR FERTIRIEGO

A diferencia del caso de la aspersión (fertilización manual en banda), se realizó el cálculo de la cantidad de cada fertilizante para el goteo por fertiriego. Normalmente es necesario cultivar el maíz durante 120 días desde la siembra hasta la cosecha. Al llegar a la floración, es alrededor de 100 días. Luego, al cambiar de escenario vegetativo al reproductivo, la planta no absorbe los nutrientes y se mueve del tallo y hoja al grano en el cuerpo vegetal para los nutrientes tales como N y P.

Para los fertilizantes usados, se dividió 28 veces (para 100 días, las 14 semanas, simplemente, y se aplicó dos veces a la semana a través del goteo por fertiriego, totalmente 28 veces). Por lo eso, para el Bonanza nitro cuyo contenido de 38%N, se aplicaron 132kg (50kgN/ha), 263kg (100kgN/ha) y 395kg (150kgN/ha), fue de 4.7, 9.4 y 14.1kg/ha por una vez del Bonanza nitro, respectivamente. Para fósforo, se utilizó Mono Fosfato de Potasio (MFP) (0-52-34) y se aplicó 96kg/ha del MFK (50kgP<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ha). Por eso, por dividido por 28, fue de 3.4kg/ha/vez del MFK a través del goteo por fertiriego por una vez en cada tratamiento. Para el potasio, al aplicar 96kg/ha del MFK, se incluyó 33kgK<sub>2</sub>O/ha. Por eso, es necesario que compense 19kgK<sub>2</sub>O/ha como el KCl para que controle 50kgK<sub>2</sub>O/ha en cada tratamiento. Por lo tanto, se utilizó KCl (0-0-60) y se aplicó 29kgK<sub>2</sub>O/ha [(50-33) x 100/60 = 29]. Para todos los fertilizantes usados, se puede disolver por el agua irrigada y se los puede utilizar en el goteo por fertiriego. Como ventaja, se puede eliminar el mano de obra para la fertilización manual en el tratamiento con la aspersión durante la estación seca.

La Foto N°1 muestra dos tipos de la irrigación (Aspersión y Goteo por fertiriego) en el cultivo de maíz en la granja experimental.

Foto N°1. Cultivo de maíz bajo condición de la aspersión y del goteo por fertirriego en la granja experimental, ESPOL, 2019.

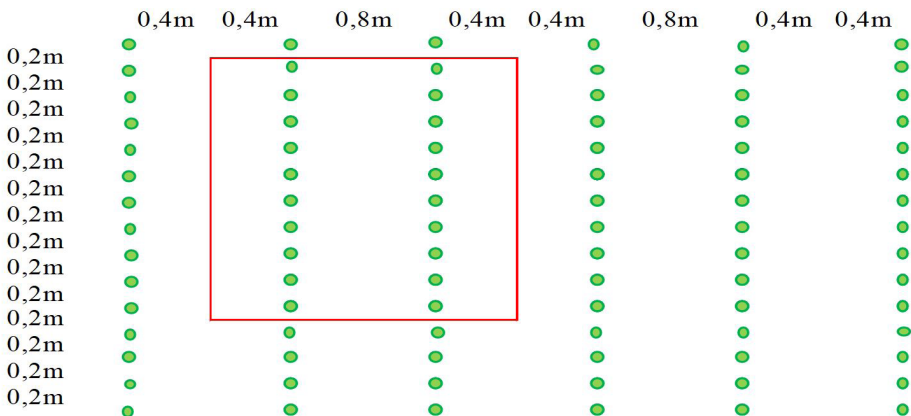


## 2.4 HERBICIDA Y COSECHA EN LOS DOS SISTEMAS DEL RIEGO

Para el control de arvenses se aplicó 150 ml del herbicida paraquat por 20L de agua. Antes de la cosecha, se realizó la evaluación de las características agronómicas, tales como: altura de planta y longitud de hoja, al azar con 10 plantas cada dos hileras.

Se realizó la cosecha en el área útil ( $2,0\text{m} \times 1,6\text{m} = 3,2 \text{m}^2$ ). Una vez obtenida una humedad del grano del 14%, se pesaron los tratamientos convirtiéndolos a kg/ha, usando los rendimientos obtenidos en el área útil. Luego, se realizó el tratamiento estadístico (Arreglo en parcelas divididas sobre Trifactoriales), para el rendimiento del grano (kg/ha), respectivamente.

Figura N°1. Área útil en cada tratamiento.



## 2.5 ÁREA ÚTIL PARA CADA TRATAMIENTO DEL MAÍZ

La Figura N°1 muestra área útil para la evaluación del rendimiento del grano. Para el maíz se sembró 0,8m entre hileras por 0,2m entre plantas. Como el área útil,  $0,4m + 0,8m + 0,4m = 1,6m$  como hilera,  $0,1m + 0,2 \times 9$  plantas +  $0,1m = 2,0m$  como plantas. Por eso,  $1,6m \times 2,0m = 3,2 m^2$  como el área útil.

## 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 CARACTERÍSTICA QUÍMICA DEL SUELO ANTES DE LA SIEMBRA Y FERTILIZACIÓN

Se clasifica como Vertisol (Taxonomía del suelo por EUA) en la granja experimental en la ESPOL. La Tabla N°1 muestra la propiedad química del suelo en los tratamientos de aspersión y de goteo por fertiriego, respectivamente. Se realizó el análisis en el noviembre del 2018 antes de realizar el experimento.

Tabla N°1. Propiedad química del suelo en la aspersión y goteo por fertiriego.

Muestra del suelo	pH	EC	Disponible	Intercambiable				CIC	Sat. Bases	MO
				P	K	Ca	Mg			
Superficie (0-15cm)	H <sub>2</sub> O 1;1	1;1 (uS/cm)	(mg/L)	cmol <sub>c</sub> /kg				(%)	(%)	
Aspersión	6.9	82.3	0.50	0.72	24.7	14.1	0.12	39.9	99.2	5.36
Goteo por fertiriego	6.9	98.0	0.99	0.89	28.6	14.1	0.18	43.9	99.7	6.55

Básicamente, para el pH, fue de 6,9 y la condición nuestra en el suelo. Teniendo en cuenta ser suelo Vertisol con alto contenido de mineral arcilloso tipo 2:1, se observó alto valor para la CIC (Capacidad de Intercambio Catiónico) en los sitios, por lo que fue de alrededor de 100% para la saturación de bases. Por otro lado, para la MO (materia orgánica), fue de más de 5% y alto en los dos sitios. Por el contrario, para el P fue muy bajo, por lo que es necesario aplicar la cantidad adecuada para aumentar la fertilidad fosfatada del suelo.

### 3.2 RENDIMIENTO DEL GRANO DEL MAÍZ

Sobre el rendimiento del grano, se pudo esperar muy alto rendimiento en todos los rendimientos, teniendo en cuenta muy alta fertilidad del suelo con evaluación del área útil pequeño ( $1,6m \times 2,0m = 3,2 m^2$ ). A continuación, explica los resultados obtenidos.

#### 3.2.1 Rendimiento en cada híbrido

De los resultados de análisis de varianza, se observó la diferencia significativa al 1% para la Estación y para 5% para el Híbrido, respectivamente.

La Figura N°2 muestra la comparación del rendimiento del grano en cada tratamiento de acuerdo con la fertilización nitrogenada en el P 4039. Relativamente, se observó el más alto rendimiento para el goteo por fertiriego.

Figura N°2. Comparación del rendimiento del grano en cada tratamiento de acuerdo con la fertilización nitrogenada en el P 4039.

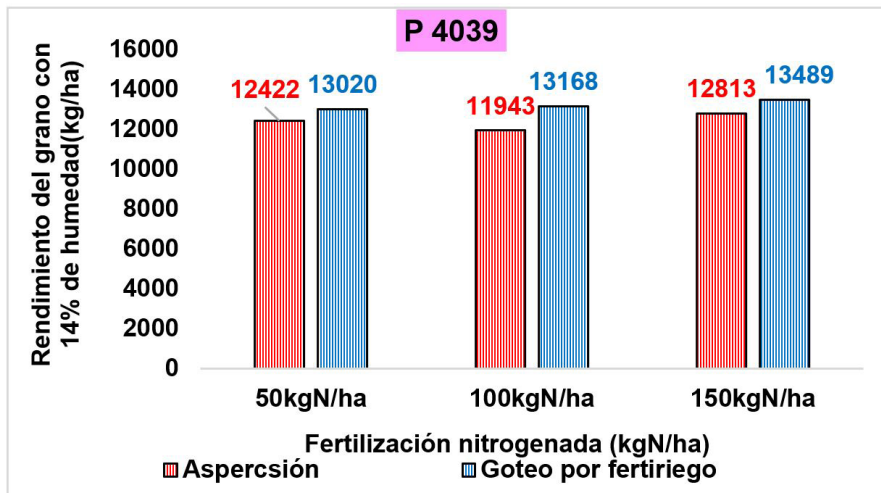
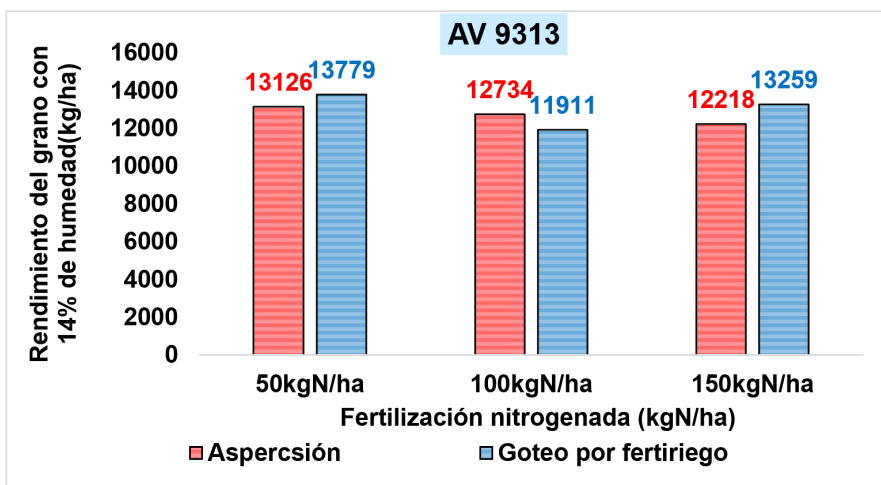


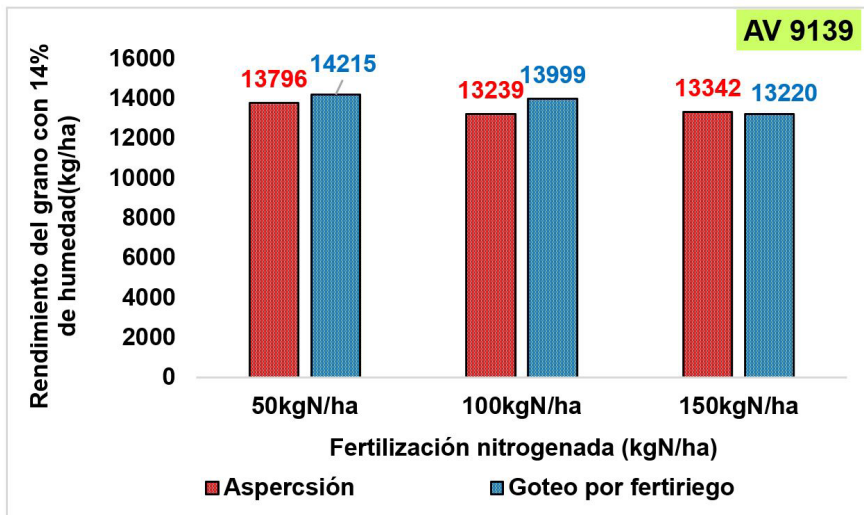
Figura N°3. Comparación del rendimiento del grano en cada tratamiento de acuerdo con la fertilización nitrogenada en la AV9313.



La Figura N°3 muestra la comparación del rendimiento del grano en cada tratamiento de acuerdo con la fertilización nitrogenada en la AV9313. Se observó el más alto rendimiento para el tratamiento, dependiendo lluvia con 150kgN/ha. Actualmente, no se observó la gran diferencia entre los rendimientos. Además, la Figura N°4 muestra la comparación del rendimiento del grano en cada tratamiento de acuerdo con la

fertilización nitrogenada en la AV9139. Se observó bajando el rendimiento de acuerdo con la fertilización nitrogenada. Actualmente, se observó más alto rendimiento en el tratamiento, dependiendo la lluvia al igual que el caso anterior de la AV 9313.

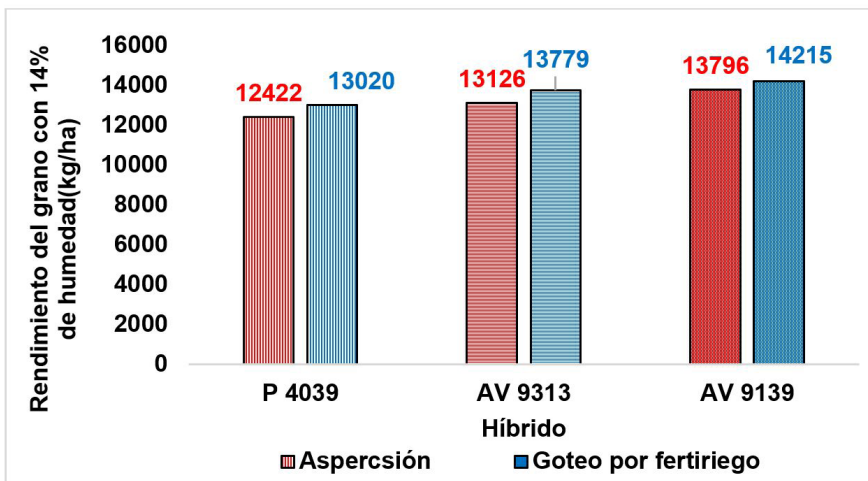
Figura N°4. Comparación del rendimiento del grano en cada tratamiento de acuerdo con la fertilización nitrogenada en la AV9139.



### 3.2.2 Comparación del rendimiento en cada híbrido

La Figura N°5 muestra la comparación del rendimiento del grano en cada híbrido con 50kg/ha. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos para el grano sin la gran diferencia entre todos los tratamientos, se consideró 50kgN/ha como la fertilización económica. Por lo tanto, mostró la comparación del rendimiento con 50kgN/ha.

Figura N°5. Comparación del rendimiento del grano en cada híbrido con 50kg/ha.





De los resultados obtenidos, se observó los rendimientos esperados en la AV 9139 en la estación seca por el goteo por fertiriego, teniendo en cuenta prevenirse alta volatilización nitrogenada y lixiviación potásica y absorberse los nutrientes, efectivamente.

#### 4 CONCLUSIONES

1. Sobre el rendimiento del grano, se pudo esperar muy alto rendimiento en todos los rendimientos, teniendo en cuenta muy alta fertilidad del suelo con evaluación del área útil pequeño (1,6m x 2,0m = 3,2 m<sup>2</sup>).
2. Se pudo recomendar el AV 9139 con la fertilización del 50kgN/ha además de 50kgP<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y 50kgK<sub>2</sub>O/ha en el tratamiento del goteo por fertiriego, teniendo en cuenta ahorro del agua irrigada sin la fertilización en banda para los fertilizantes.
3. Actualmente, se observó más alto rendimiento en el goteo por fertiriego que los en la aspersión, teniendo en cuenta eliminando el mano de obra para la fertilización manual.
4. Para el goteo por fertiriego, se pudo ofrecer los nutrientes disueltos con agua irrigada, efectivamente, para el cultivo de maíz sin alta volatilización nitrogenada y lixiviación potásica...etc., por lo que el cultivo los podría absorber a diferencia del caso de la aspersión.

#### REFERENCIAS CITADAS

1. Galeano. L. M. L. 2012. Evaluación del rendimiento del cultivo de maíz (*Zea mays*) variedad híbrida TNH 0032100 y TNH 0033100, con diferentes niveles de aplicación de Nitrógeno. 62 p. (Tesis de Facultad de Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural, Universidad Nacional de Pilar, Paraguay).
2. Nuestras semillas: maíz <http://www.sancamilo.com.ec/maiz.html>
3. Proaño. J. y K. Tomita. 2021. Evaluación de tres híbridos de maíz con niveles nitrogenados durante la estación lluviosa, Guayaquil, Ecuador. ALFA, Revista de Investigación en Ciencias Agronómicas y Veterinarias enero-abril Vol. (5) (13): 53-64.

## APLICAÇÃO DE TÉCNICAS DE MACHINE LEARNING PARA CLASSIFICAÇÃO DA APTIDÃO DOS SOLOS PARA O REGADIO

Data de submissão: 19/07/2022

Data de aceite: 25/07/2022

### **Pedro Torres**

Instituto Politécnico de  
Castelo Branco  
Escola Superior de Tecnologia  
Castelo Branco – Portugal  
SYSTEC - Research Center for  
Systems & Technologies  
4200-465  
Porto, Portugal

<https://orcid.org/0000-0003-4835-5022>

### **António Canatário Duarte**

Instituto Politécnico de  
Castelo Branco  
Escola Superior Agrária  
Castelo Branco – Portugal  
Centro de Estudos CERNAS-IPCB  
Castelo Branco – Portugal

<https://orcid.org/0000-0002-0319-378X>

### **João Geraledes**

Instituto Politécnico de  
Castelo Branco  
Escola Superior de Tecnologia  
Castelo Branco – Portugal

### **Sílvia Marques**

Instituto Politécnico de  
Castelo Branco  
Escola Superior Agrária  
Castelo Branco – Portugal

**RESUMO:** Este trabalho consiste no desenvolvimento e validação de modelos de *Machine Learning* para a otimização de um sistema de rega de precisão utilizando algoritmos de classificação. A finalidade é atribuir a cada solo, localizado a sul do concelho do Fundão, Portugal, uma classe de aptidão para o regadio, classes essas que identificam as zonas regáveis, não regáveis bem como as que precisam de intervenção para serem regadas. Os dados dos casos de estudo foram anteriormente recolhidos por uma aluna de Mestrado da Escola Superior Agrária do IPCB (Portugal), onde incluíam vários condicionalismos (características dos solos que podem condicionar a aptidão para o regadio). A análise exploratória dos dados permitiu utilizar apenas os valores dos resultados relativamente às características dos solos que podem condicionar a aptidão para o regadio rejeitando assim todo o cálculo efetuado para a obtenção dos mesmos. Desta forma os dados do caso de estudo foram enriquecidos com esta informação para a aplicação nos algoritmos de *Machine Learning*. Em geral, o facto de retirar estas características que não revelavam impacto no estudo ajudaram a melhorar os modelos de classificação bem como a sua precisão. Diferentes algoritmos de *Machine Learning* foram desenvolvidos, testados e validados, tais como, *Support Vector Machine*, *kNN*, *Árvore de Decisão*, *Naive Bayes* e *Regressão Logística*, para otimizar um sistema de rega de precisão de modo a atribuir uma a classe

de aptidão de rega a novos solos introduzidos. A comparação dos modelos demonstrou que o método *Naive Bayes* é o que apresenta uma melhor precisão na altura de gerar uma classe de previsão.

**PALAVRAS-CHAVE:** Aptidão solos regadio. Machine Learning. Scikit-Learn. Aprendizagem Supervisionada.

## APPLICATION OF MACHINE LEARNING TECHNIQS FOR EVALUATION OF THE SOILS CAPABILITY TO IRRIGATION

**ABSTRACT:** This work consists of the development and validation of Machine Learning models for the optimization of a precision irrigation system using classification algorithms. The purpose is to assign to each soil, located in the south of the municipality of Fundão, Portugal, an class of capability to irrigation, classes that identify the irrigable and non-irrigated areas as well as those that need intervention to be irrigated. Data from the case studies were previously collected by a Master's student at the Escola Superior Agrária – IPCB (Portugal), which included several constraints (characteristics of soils that may affect the suitability for irrigation). The exploratory analysis of the data allowed us to use only the values of the results regarding the characteristics of the soils that may affect the suitability for irrigation, thus rejecting all the calculation made to obtain them. In this way, the case study data were enriched with this information for application in Machine Learning algorithms. In general, removing these features that had no impact on the study helped to improve the classification models as well as their accuracy. Different Machine Learning algorithms were developed, tested, and validated, such as Support Vector Machine, kNN, Decision Tree, Naive Bayes and Logistic Regression, to optimize a precision irrigation system in order to assign an irrigation suitability class to new introduced soils. The comparison of the models showed that the Naive Bayes method is the one that presents the best precision when generating a prediction class.

**KEYWORDS:** Soils capability irrigation. Machine Learning. Scikit-Learn. Supervised Learning.

### 1 INTRODUÇÃO

Nos dias de hoje o conceito de Agricultura Inteligente ou de Precisão tem se destacado e é fortemente enriquecido com a aplicação de sensores que possibilitam a avaliação e monitorização das condições ambientais, bem como a análise inteligente dos dados produzidos por estes sensores. Este conceito está associado à utilização de equipamentos de alta tecnologia com algoritmos de precisão que tornaram mais eficiente e eficaz este conceito. A agricultura de precisão possibilita que o agricultor “olhe” para uma parcela de solo e perceba que a deve tratar de forma diferenciada, esta nova mentalidade veio revolucionar a forma de ser agricultor. Duas máximas estão associadas a esta mentalidade, o aumento do rendimento da economia dos agricultores e a redução do impacto ambiental causado pelo setor agrícola. Um dos mecanismos impulsionadores deste conceito é o *Machine Learning (ML)* [1], que consiste em fazer com que as máquinas

aprendam através de experiências que lhes são fornecidas sem ser propriamente necessário programá-las. Acoplado a este conceito outras tecnologias como Big Data e computação de alto desempenho, novas oportunidades foram desenvolvidas para quantificar e compreender processos intensivos de dados em ambiente agrícola.

O ML aplicado ao setor agrícola utiliza um conjunto de modelos de aprendizagem bem definidos que recolhem dados específicos bem como aplicam algoritmos para obter resultados esperados. Os modelos de ML podem ser usados para prever a qualidade do solo, a quantidade de água necessária para regar, entre outros.

## 1.1 ENQUADRAMENTO

Neste trabalho, aplica-se, avalia-se, prevê-se, classificam-se e validam-se a aptidão dos solos para rega, através de modelos de precisão com o auxílio a técnicas de ML (*Machine Learning*). Os diferentes modelos aplicados visam estabelecer uma comparação entre diferentes métodos de classificação e avaliar a sua precisão. O objetivo passa por avaliar a aptidão para o regadio dos solos existentes a sul do concelho do Fundão, Portugal, com a intenção de expandir o regadio da Cova da Beira a zonas onde não existe regadio.

O trabalho tem uma aplicabilidade prática no qual o torna motivante para o seu desenvolvimento visto que a importância do regadio é essencial para sustentar as atividades agrícolas e pela qual dependem muitas famílias de agricultores. O regadio da Cova da Beira não é extenso o suficiente para que outras zonas menos beneficiadas e com grande potencial agrícola se possam servir dele. O estudo da aptidão dos solos para o regadio pode determinar quais as áreas com capacidade para serem regadas, ou não.

Com o aumento da quantidade de dados recolhidos sobre as características do solo estão reunidas as condições para aplicar técnicas de *Machine Learning* no setor agrícola. O grande desafio passa por encontrar o algoritmo que melhor se aplica ao objetivo do projeto. Os diferentes algoritmos de ML que consigam modelar e prever uma classe de aptidão de rega podem ser importantes para ajudar a perceber quais as áreas que podem ser regadas, com o objetivo de estender o regadio a zonas menos beneficiadas e com forte potencial agrícola. Os algoritmos de ML como também a sua aplicabilidade estão em constante expansão. Estes algoritmos categorizam-se em diferentes tipos de aprendizagem (supervisionada, não supervisionada e de reforço) bem como também por técnicas de formulação (classificação e regressão). A seleção de um algoritmo depende muito do tipo de problema que se vai abordar. Na rega de precisão a técnica de classificação é bastante utilizada para prever uma dotação correta de quando

regar ou não regar, devido ao facto de as características dos solos serem apresentadas em forma de dados, onde fica presente a informação sobre as características dos solos bem como a avaliação de cada solo.

## 1.2 INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL E *MACHINE LEARNING*

Atualmente Inteligência Artificial (I.A.) é um conceito com bastante aplicabilidade, caracteriza-se como uma ciência ou ramo da engenharia, que procura estudar e compreender o fenómeno da inteligência e por outro lado compreender o modo como os seres humanos pensam, a fim de modelar o pensamento em processos computacionais e consequentemente construir um corpo de explicações algorítmicas dos processos mentais humanos.

*Machine Learning* é um sub ramo da IA, onde se usam algoritmos para adquirir dados, inferir com eles, e fazer uma determinação ou previsão sobre algo. A máquina é “treinada” através de uma grande quantidade de dados e implementa algoritmos que lhe dão a habilidade de aprender como executar a tarefa [2]. O *Machine Learning* ensina os computadores a fazer o que os humanos e os animais naturalmente fazem, aprender através de experiências. Os algoritmos de *Machine Learning* utilizam métodos de aprendizagem computacional para “aprender” a informação através de dados sem depender de equações predeterminadas como modelos. Os algoritmos melhoram de forma adaptativa a sua performance à medida que o número de amostras disponíveis aumenta.

## 1.3 APRENDIZAGEM SUPERVISIONADA E NÃO SUPERVISIONADA

Quando se fala em algoritmos de ML conduz, normalmente, à referência de dois paradigmas: aprendizagem supervisionada e não supervisionada[3]. Na aprendizagem supervisionada são usados dois conjuntos de dados, o de input e output esperado. Na aprendizagem não supervisionada apenas é apresentado um conjunto de dados, input.

A aprendizagem supervisionada está diretamente relacionada com a previsão enquanto a aprendizagem não supervisionada relaciona padrões num conjunto de dados de modo a agrupá-los [3]. O objetivo da aprendizagem supervisionada é construir um modelo que faça previsões baseadas em evidências na presença de incertezas. O algoritmo de aprendizagem supervisionada usa um conjunto de dados de entrada (inputs) e respostas (outputs) conhecidos e treina o modelo para gerar previsões razoáveis para a resposta de novos dados. Todas as técnicas de aprendizagem supervisionada são sob a forma de classificação que preveem respostas discretas ou regressão para previsão de respostas contínuas.

A regressão é habitualmente utilizada para a previsão de valores de variáveis dependentes (variáveis que se pretende prever) a partir de uma ou mais variáveis independentes (atributos conhecidos) e nos casos em que essas mesmas variáveis são contínuas. Trata-se de uma tarefa utilizada na aproximação dos dados recebidos.

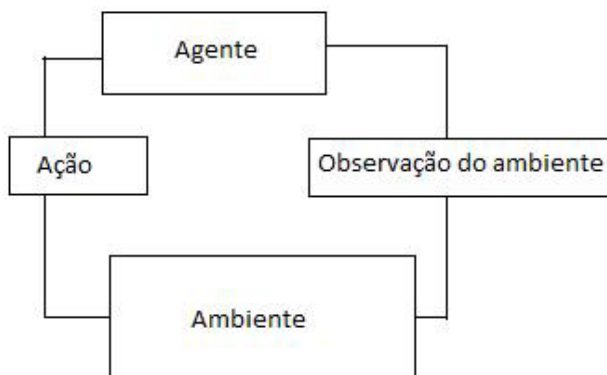
- A classificação consiste no processo de encontrar um modelo que descreva e distinga classes de dados ou conceitos. Depois de encontrado esse modelo, é possível aplicá-lo de forma a prever a classe de um novo objeto. O modelo gerado é baseado na análise de um conjunto de dados, designado por conjunto de treino.

Para a execução da tarefa de classificação é possível aplicar uma série de métodos de aprendizagem automática nomeadamente: árvores de decisão, regras de classificação (regras if-then), programação lógica indutiva, SVM, redes bayesianas, entre outros.

- A aprendizagem não supervisionada procura encontrar padrões similares entre as várias características dos dados. O *Clustering* é a técnica mais comum de aprendizagem não supervisionada, é usada para análise exploratória de dados para encontrar padrões e agrupar os dados em grupos, clusters.

A Aprendizagem por reforço [4] foca-se no objetivo de maximizar a recompensa final, ou seja, atingir o objetivo definido com o máximo número de recompensas acumuladas em cada passo e ação, evitando dessa forma as ações com resultados negativos e obtendo a solução ótima para todo o problema, sem qualquer ajuda. A **Figura 1** esquematiza o modelo de aprendizagem por reforço.

Figura 1 - Modelo de aprendizagem por reforço.



#### 1.4 ALGORITMOS DE CLASSIFICAÇÃO (ABORDADOS NESTE TRABALHO)

No estado da arte existem diversos algoritmos de classificação e cada algoritmo tem abordagens diferentes de aprendizagem.

O melhor método ou o método único não existe. Encontrar o algoritmo certo, em parte, é ir por tentativa erro – os cientistas altamente experientes não conseguem provar se o método irá funcionar sem o experimentarem. Mas a seleção dos algoritmos também depende do tamanho e tipo de dados com os quais estamos a trabalhar.

#### 1.4.1 Método 1, kNN (K-nearest neighbors)

OkNN[5] categoriza objetos baseando-se na proximidade das observações, assume que objetos próximos são semelhantes, logo pertencem à mesma classe. Usa métricas como a distância Euclidiana, distância de Hamming, distância de Manhattan e Distância de Markowski para encontrar o vizinho mais próximo.

#### 1.4.2 Método 2, SVM (Support-vector machine)

O Support Vector Machine (SVM) [6] é um método de aprendizagem supervisionada, utilizado quer para classificação como para regressão.

Em tarefas que requerem a aprendizagem de duas classes, o objetivo do SVM é encontrar a melhor função de classificação que permita a distinção entre membros de duas classes num conjunto de treino . As SVM's classificam os dados de modo a encontrar uma função de classificação linear que separa os dados por um hiperplano que atravessa as duas classes. O melhor hiperplano para uma SVM tem de apresentar uma margem larga entre as duas classes, quando os dados estão linearmente separados. Se os dados não estiverem separados linearmente, uma função de perda é utilizada.

#### 1.4.3 Método 3, Regressão Logística

O método de Regressão Linear [7] pode ser utilizado para estudar a relação entre duas variáveis . Por ser um método simples, a regressão logística é usada como um ponto de partida para problemas de classificação binária (MathWork em *Introducing Machine Learning*). A expressão linear que explica a relação binária é dada por:

$$y = B_0 + B_1x + u$$

Onde,

y, consiste na variável dependente;

x, diz respeito á variável independente;

u, ou erro, fatores que influenciam y para além de x;

B<sub>0</sub>, parâmetro de interceção, conhecido por constante;

B<sub>1</sub>, representa o declive na relação entre x e y.

Para estimar B<sub>0</sub> e B<sub>1</sub> é necessário recorrer ao método dos mínimos quadrados.



#### 1.4.4 Método 4, Naive Bayes

O classificador Naive Bayes [8] baseia-se na aplicação do teorema Bayes, expressão matemática usada para o cálculo da probabilidade de um dado evento acontecer visto que outro ocorreu, e assume que a presença de características particulares numa classe não está relacionada com as características de outra classe. O desempenho deste método pode ser comparado ao método de Árvores de Decisão . O método classifica novos dados baseados na probabilidade de pertencerem a uma determinada classe . O Teorema de Bayes é expresso matematicamente pela seguinte equação:

$$P(A, B) = \frac{P(B, A)P(A)}{P(B)}$$

Onde,

$P(A)$  e  $P(B)$ , são as probabilidades de A ocorrer e B ocorrer;

$P(A, B)$  é a probabilidade de A acontecer dado que B ocorreu;

$P(B, A)$  é a probabilidade de B acontecer dado que A ocorreu.

#### 1.4.5 Método 5, Árvores de Decisão

As Árvores de Decisão [9] têm por base algoritmos que dividem o conjunto inicial de dados em subconjuntos mais homogêneos que por sua vez se podem dividir em subconjuntos ainda mais homogêneos . Uma árvore de decisão é formada por um conjunto de nós de decisão, perguntas, que permitem a classificação de cada caso. A árvore de decisão permite prever as respostas dos dados seguindo uma rota desde o início ao fim do último nó. A árvore consiste em condições de ramificação em que o valor da previsão é comparado a um peso de treino. O número de ramificações e os valores dos pesos são determinados no processo de treino. Modificações adicionais podem ser usadas para simplificar o modelo.

As árvores de decisão caracterizam-se por utilizarem a estratégia de divisão e conquista. Sendo assim, focam-se num problema considerado complexo, dividindo-o em problemas mais simples e recursivamente aplicando a mesma estratégia a sub-problemas. No final, as soluções dos sub-problemas podem ser combinadas para gerar a solução do problema inicial.

## 2 CASO DE ESTUDO – CLASSIFICAÇÃO DA APTIDÃO DOS SOLOS PARA O REGADIO NA REGIÃO DA COVA DA BEIRA

A agricultura é afetada pelos problemas de seca e escassez de água em algumas regiões do País, imediatamente se percebe a importância da estratégia de implementar

um regadio para sustentar níveis de produtividade e redução de custos nos processos agrícolas de maneira a não comprometer as gerações futuras.

Segundo a Direção Geral de Agricultura (DGA), Portugal apresenta níveis de precipitação média anual da ordem dos 700mm, contudo o desequilíbrio da precipitação pelo país gera problemas de escassez principalmente nos meses de abril a setembro. Posto isto o desenvolvimento da cultura vegetativa no período primavera-verão torna-se difícil.

O regadio surge então com um papel preponderante no que diz respeito à sustentabilidade da agricultura como também para o desenvolvimento socioeconómico das zonas rurais. É importante realçar que o uso de regadio não implica que os utilizadores tomem medidas eficientes para assegurar a quantidade de água que cada um necessita, dado que este recurso (água) em questões económicas, sociais e ambientais é deveras importante.

Na região da Cova da Beira, o regadio abrange vários concelhos: Sabugal, Belmonte, Penamacor, Covilhã e Fundão, com uma área de 12360ha, [10]. Atualmente está em estudo o alargamento do regadio, concretamente a sul da Serra da Gardunha, para zonas com forte potencial na atividade frutícola onde se verificou um aumento das áreas de pomar.

Dada a importância do regadio no que diz respeito ao setor agrícola, a análise e avaliação da aptidão que os solos têm para receber água é crucial para a construção do mesmo. A aptidão dos solos para a atividade agrícola permite avaliar a capacidade de cada parcela de solo para uma determinada cultura com o objetivo de tornar rentável os recursos bem como aumentar a produtividade.

## 2.1 ANÁLISE DOS DADOS

Nesta secção são descritos os condicionantes dos solos, estes apresentam as características dos solos utilizadas para efeitos de estudo que irão permitir identificar uma classe de aptidão de rega. Cada parcela de solo foi classificada relativamente a diversas características tais como, a natureza do solo (NR), como sendo boa, regular, sofríveis, medíocres e maus.

A espessura efetiva do solo (E), para espessura superior a 100 cm, classe E1, classe E2 para espessuras entre 60 cm e 100 cm, E3 para espessuras entre os 40 cm e 60 cm, classe E4 para espessuras entre os 25 cm e 40 cm e classe E5 para espessuras de solo inferiores a 25 cm.

A capacidade de água utilizável (CA), por uma camada de solo, corresponde a mais um critério da classificação para a aptidão de rega e estabelece 5 classes. A capacidade

de água utilizável pelas plantas mais elevadas, requerem regas mais alargadas e por consequência menos mão-de-obra.

Condições de drenagem (HD), muitas culturas precisam de boas condições de drenagem dos solos para que consigam produzir com maior eficiência e eficácia. Um solo com fraca capacidade de escoar e eliminar o excesso de água pode alagar-se. Esta característica compreende 5 classes. Solos com boa capacidade de drenagem (HD1) até uma fraca capacidade de drenagem (HD5).

Outra característica é o risco de erosão (RE), as práticas agrícolas e a forma inadequada como se utiliza o solo são os principais fatores responsáveis pelo processo de erosão, como consequência perdem-se camadas superficiais reduzindo assim a sua produtividade.

O risco de inundação (HI), esta característica é importante no sentido em que zonas com elevado risco de inundação não necessitem de ser regadas, este condicionalismo apresenta 5 classes, (HI1) para solos com riscos nulos de inundação e (HI5) até riscos elevados.

A perigosidade (P), é simplesmente a característica, que afeta o uso de máquinas agrícolas. Define-se em 5 classes, (P1) para solos sem pedregosidade até (P5) que impossibilitam o uso de máquinas agrícolas.

Por último a salinidade (S) dos solos, que permite identificar o grau de afetação dos solos nas culturas. Esse impacto é definido em 5 classes, na classe (S1) são incluídos os solos que não afetam qualquer tipo de cultura, contudo a classe (S5) estão incluídos os solos que impedem o desenvolvimento das culturas.

Com base nestes condicionalismos a tabela seguinte faz corresponder as características de cada parcela de solo a uma classe de aptidão de rega.

Tabela 1 – Condicionalismos e classe de aptidão do solo para o regadio.

<b>CONDICIONALISMOS</b> (Características dos solos que podem condicionar a sua aptidão para o regadio)	<b>CLASSES DE APTIDÃO DO SOLO PARA O REGADIO</b>						
	CLASSE I	CLASSE II	CLASSE III	CLASSE IV	CLASSE V	CLASSE VI	CLASSE VII
<b>NATUREZA DO SOLO (NR)</b>	NR1	NR2	NR3	NR4	NR5	NR5	NR5
<b>ESPESSURA EFECTIVA (E)</b>	E1	E2	E3	E4	E5	E5	E5
<b>RISCOS DE EROSIÃO (RE)</b>	RE1	RE2	RE3	RE4	RE5	RE5	RE5
<b>CAPACIDADE DE ÁGUA UTILIZÁVEL (CA)</b>	CA1	CA2	CA3	CA4	CA5	CA5	CA5

DRENAGEM (HD)	HD1	HD2	HD3	HD4	HD5	HD5	HD5
RISCOS DE INUNDAÇÃO (HI)	HI1	HI2	HI3	HI4	HI5	HI5	HI5
PEDREGOSIDADE E AFLORAMENTOS ROCHOSOS (P – R)	P1 – R1	P1 – R1	P2 – R2	P3 – R3	P4 – R4	P4 – R4	P5 – R5
SALINIDADE E/OU ALCALINIDADE (S)	S1	S2	S3	S4	S5	S5	S5

## 2.2 RESULTADOS DE CLASSIFICAÇÃO

Os dados são estruturados da seguinte maneira: o ficheiro Excel contém 696 linhas de dados. Para efeitos de programação dos métodos, 75% dos mesmos são utilizados para treinar o modelo enquanto os restantes 25% são utilizados para testar o modelo de previsão. Para gerar uma classe de previsão baseada no histórico os algoritmos obrigatoriamente precisam de uma nova entrada, para tal utilizaram-se os mesmos dados em todos os modelos para avaliar a precisão dos modelos, [3,5,4,5,2,3,1]. Recorreu-se à Matriz de Confusão para avaliar os modelos de classificação, ou seja, se o mesmo previu de forma correta a classe desejada. De uma forma muito simples a Matriz de Confusão é uma tabela que mostra as frequências de classificação para cada classe do modelo. Os valores registados da precisão estão de acordo com a nova entrada.

A fórmula seguinte permitiu validar a precisão dos modelos.

$$Precisão = \frac{TP}{(TP+FP)} \quad (1)$$

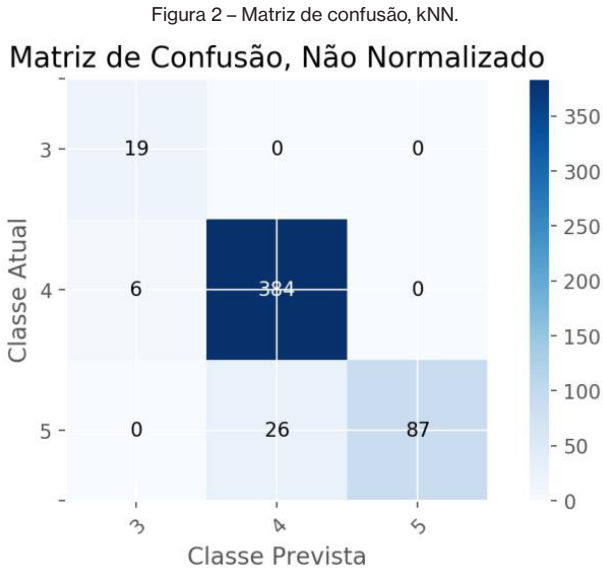
TP: True Positives, FP: False Positives

Tabela 2 – Comparação de métodos.

Método	Métrica de precisão
kNN	93.86 %
SVM	92.91 %
RL	90.80 %
NB	94.63 %
AD	94.44 %

## 2.2.1 Método kNN

O Método kNN, apresentou uma precisão de 93.8% e atribuiu ao novo dado introduzido a classe de previsão, 5. Segundo a matriz de confusão da Figura 9, as 19 amostras de classe 3, foram corretamente classificadas em classe 3, das 390 amostras de classe 4, 384 foram corretamente classificadas como 4 e 6 foram classificadas em classe 3. Das 113 amostras de classe 5, 87 foram corretamente classificadas, 26 amostras foram identificadas como classe 4.



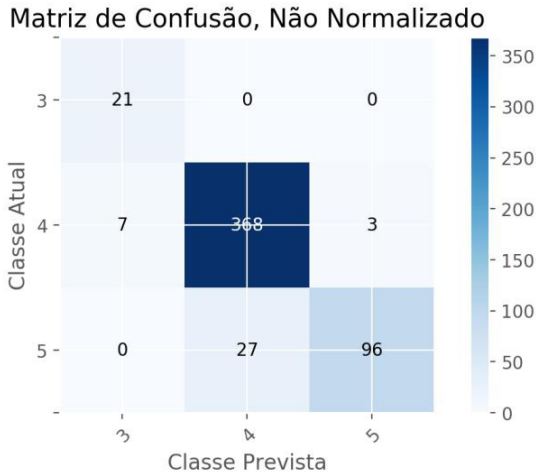
Validação da Precisão

$$Precisão = \frac{TP}{(TP + FP)} = \frac{19 + 384 + 87}{(19 + 384 + 87) + (6 + 26)} = 0.938$$

## 2.2.2 Método SVM

O Método SVM, apresentou uma precisão de 92.9% e atribuiu ao novo dado introduzido a classe de previsão, 5. Segundo a matriz de confusão da Figura 10, as 21 amostras de classe 3, foram corretamente classificadas em classe 3, das 378 amostras de classe 4, 368 foram corretamente classificadas como 4, 7 classificadas em classe 3 e 3 foram classificadas na classe 5. Das 123 amostras de classe 5, 96 foram corretamente classificadas, 27 amostras foram identificadas como classe 4.

Figura 3 – Matriz de confusão, SVM.



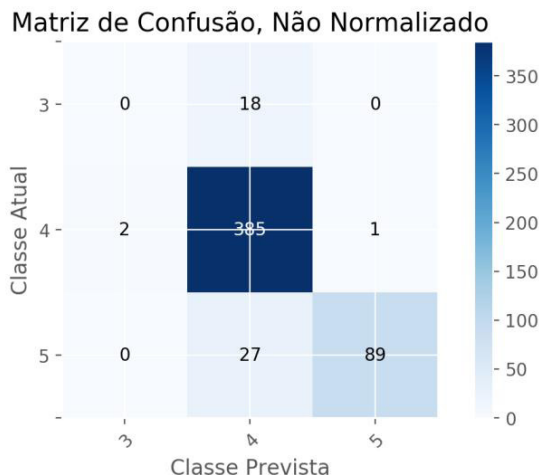
Validação da Precisão

$$Precisão = \frac{TP}{(TP + FP)} = \frac{21 + 368 + 96}{(21 + 368 + 96) + (7 + 3 + 27)} = 0,929$$

### 2.2.3 Método RL

O Método Regressão Logística, apresentou uma precisão de 90.8% e atribuiu ao novo dado introduzido a classe de previsão, 5. De acordo com a matriz de confusão da Figura 11, as 18 amostras de classe 3, foram classificadas em classe 4, das 388 amostras de classe 4, 385 foram corretamente classificadas como 4, 2 foram classificadas em classe 3 e 1 em classe 5. Das 116 amostras de classe 5, 89 foram corretamente classificadas, 27 amostras foram identificadas como classe 4.

Figura 4 – Matriz de confusão, RL.

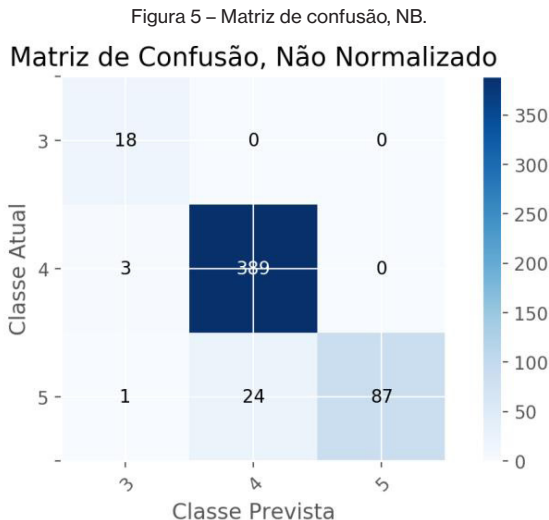


## Validação da Precisão

$$Precisão = \frac{TP}{(TP + FP)} = \frac{385 + 89}{(385 + 89) + (18 + 3 + 27)} = 0.908$$

### 2.2.4 Método NB

O Método probabilístico Naive Bayes, apresentou uma precisão de 94.6% e atribuiu ao novo dado introduzido a classe de previsão, 5. Segundo a matriz de confusão da Figura 12, as 18 amostras de classe 3, foram corretamente classificadas em classe 3, das 392 amostras de classe 4, 389 foram corretamente classificadas como 4 e 3 foram classificadas em classe 3. Das 112 amostras de classe 5, 87 foram corretamente classificadas, 24 amostras foram identificadas como classe 4 e 1 na classe 3.



## Validação da Precisão

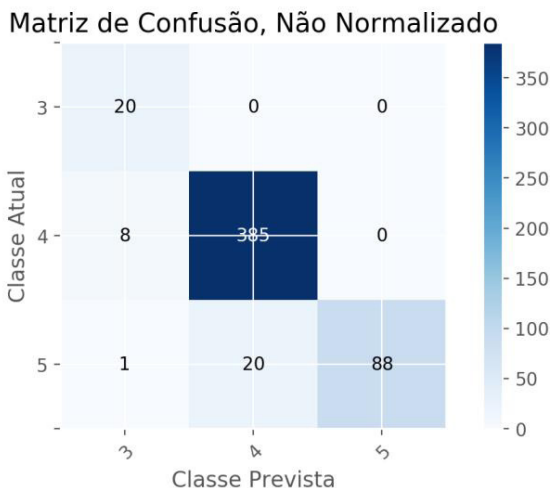
$$Precisão = \frac{TP}{(TP + FP)} = \frac{18 + 389 + 87}{(18 + 389 + 87) + (3 + 1 + 24)} = 0.946$$

### 2.2.5 Método NB

O Método probabilístico Árvore de Decisão, foi avaliado com uma precisão de 94.4% e atribuiu ao novo dado introduzido a classe de previsão, 3. Segundo a matriz de confusão da Figura 13, as 20 amostras de classe 3, foram corretamente classificadas em classe 3, das 393 amostras de classe 4, 385 foram corretamente classificadas como 4 e 8 foram classificadas em classe 3. Das 109 amostras de classe 5, 88 foram corretamente classificadas, 20 amostras foram identificadas como classe 4 e 1 em classe 3.



Figura 6 – Matriz de confusão, AD.



Validação da Precisão

$$Precisão = \frac{TP}{(TP + FP)} = \frac{20 + 385 + 88}{(20 + 385 + 88) + (8 + 1 + 20)} = 0.944$$

## 2.3 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Neste capítulo faz-se a comparação dos resultados obtidos dos diferentes métodos de classificação, avaliar o comportamento dos classificadores após introduzir uma nova entrada (valores que correspondem a cada característica da parcela de solo) como também identificar quais as características das parcelas de solo que influenciam mais os resultados obtidos dos classificadores.

Segundo a literatura, o método SVM é o que melhor se aplica tendo em conta a quantidade de dados presente e o facto de ser um estudo que utilizou métodos de classificação para prever classes de aptidão. Após a análise dos resultados e a validação dos mesmos este estudo mostra que o método que prevê uma melhor classe de aptidão é o método NB (*Naive Bayes*).

A comparação dos métodos de classificação permitiu avaliar o método que gerou da melhor forma a classe após introduzir uma nova entrada. De acordo com a tabela 2 podemos analisar que o método RL apresenta uma métrica de precisão inferior comparada com os restantes métodos. Em relação ao método AD, atribuiu à nova entrada classe 3, contudo apresenta uma métrica superior à da maioria dos métodos, seguindo esta análise os métodos RL e SVM com métricas de precisão inferiores atribuíram à nova entrada, classe 5, a mesma previsão gerada pelo método NB.

Em relação às características que influenciam mais os resultados gerados pelos métodos de classificação, posso afirmar que as características físicas/químicas e biológicas a espessura efetiva como também o risco de inundação são as que influenciam mais os resultados, de modo que, alterando um valor das mesmas o classificador gera outra classe. Para tal, os classificadores que utilizei para comprovar a afirmação acima revelada foi o método de classificação SVM e o método AD.

Os resultados encontrados no presente estudo sugerem que, para uma melhor classificação, previsão e precisão dos métodos, a quantidade de dados recolhidos é bastante importante, quer isto dizer que, como os métodos de previsão utilizam parâmetros de percentagem de dados de teste e treino, quanto mais dados existirem melhor estes métodos classificam as novas entradas introduzidas gerando assim resultados mais fidedignos. Os métodos introduzidos geraram previsões na ordem dos 90 e 95 por cento, o que significa que os mesmos estão bastante otimizados e preveem classes de aptidão para novas entradas de uma forma fidedigna.

### 3 CONCLUSÕES

Este trabalho vem na sequência de outros projetos anteriormente desenvolvidos com objetivo de implementar, avaliar e validar os diferentes modelos de classificação para prever uma classe de aptidão de solos de modo a otimizar um sistema de rega de precisão com uma contribuição importante para a qual se pretende alargar o regadio da Cova da Beira.

Este estudo é baseado na informação das características dos solos, projeto que foi desenvolvido em 2016 em uma tese de dissertação de mestrado apresentada Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco [11].

Numa fase inicial o principal desafio foi interpretar e analisar os dados com recurso à linguagem de programação *Python*, posteriormente ultrapassei diversas dificuldades na implementação dos classificadores bem como as respetivas análises de resultados através de matrizes de confusão.

Na sequência deste trabalho, podem ser desenvolvidos projetos na qual o objetivo é construir uma base de dados digital com a informação das características dos solos e introduzir novos dados, de forma a gerar automaticamente classes de previsão para os mesmos com recurso a modelos de classificação com o intuito de fornecer uma resposta mais eficaz na altura de gerar uma previsão.

Como nota final, foi um trabalho realmente desafiante pelo facto de contribuir ou não na decisão de implementar um regadio a sul do concelho do Fundão, como também pelo facto de abordar este capítulo da Inteligência Artificial que é o *Machine Learning*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] LIAKOS, K.G., P. BUSATO, D. MOSHOV, S. PEARSON, D. BOCHTIS. 2018. **Machine Learning in Agriculture: A Review**. *Sensors*, 18, 2674. <https://doi.org/10.3390/s18082674>.
- [2] COPELAND, M. 2016. **A Diferença Entre Inteligência Artificial, Machine Learning e Deep Learning, Dara Science Brigade**. Disponível online em: <https://medium.com/data-science-brigade/a-diferen%C3%A7a-entre-intelig%C3%Aancia-artificial-machine-learning-e-deep-learning-930b5cc2aa42>, consultado em julho de 2022.
- [3] STIMPSON, A. J., M. L. CUMMINGS. 2014. **Assessing intervention timing in computer-based education using machine learning algorithms**. *IEEE Access* 2: 78-87.
- [4] ARULKUMARAN, K., M. P. DEISENROTH, M. BRUNDAGE, A. A. BHARATH. 2017. **Deep Reinforcement Learning: A Brief Survey**, in *IEEE Signal Processing Magazine*, vol. 34, no. 6, pp. 26-38, , doi: 10.1109/MSP.2017.2743240.
- [5] ZHANG, Z. 2016. **Introduction to machine learning: k-nearest neighbors**. *Ann Transl Med.*, 4(11):218. doi: 10.21037/atm.2016.03.37. PMID: 27386492; PMCID: PMC4916348.
- [6] CERVANTES, J., F. GARCIA-LAMONT, L. RODRÍGUEZ-MAZAHUA, A. LOPEZ. 2020. **A comprehensive survey on support vector machine classification: Applications, challenges and trends**, *Neurocomputing*, Volume 408, Pages 189-215, ISSN 0925-2312, <https://doi.org/10.1016/j.neucom.2019.10.118>.
- [7] SPERANDEI, S. 2014. **Understanding logistic regression analysis**. *Biochem Med (Zagreb)*. 15;24(1):12-8. doi: 10.11613/BM.2014.003. PMID: 24627710; PMCID: PMC3936971.
- [8] MURPHY, K. P. 2006. **Naive bayes classifiers**.” University of British Columbia 18.60: 1-8.
- [9] SONG, Y. Y., Y. LU. 2015. **Decision tree methods: applications for classification and prediction**. *Shanghai Arch Psychiatry*. 27(2):130-5. doi: 10.11919/j.issn.1002-0829.215044. PMID: 26120265; PMCID: PMC4466856.
- [10] DGADR. 2015. **Sistema de informação do regadio**. Direção Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural. Disponível em: [http://sir.dgadr.pt/expl\\_centro](http://sir.dgadr.pt/expl_centro).
- [11] MARQUES, S. G. 2016., **Avaliação da Aptidão dos Solos a Sul do Concelho do Fundão com vista à sua beneficiação pelo regadio, com o uso de ferramentas SIG**. Dissertação para a obtenção de grau mestre na Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco. Disponível em: <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:j5rCGodffCsJ:https://repositorio.ipcb.pt/bitstream/10400.11/5333/1/Thesis.pdf+&cd=13&hl=pt-PT&ct=clnk&gl=pt>

# CAPÍTULO 18

## INFLUENCIA DE LAS VARIABLES MORFOLOGICAS Y POBLACIONALES DE *Eichornia crassipes* Y *Pistia stratiotes* SOBRE LA COMUNIDAD DE MACROINVERTEBRADOS ACUATICOS EN UNA MADRE VIEJA DEL VALLE DEL CAUCA

Data de submissão: 20/05/2022

Data de aceite: 08/06/2022

### Daniel Feriz Garcia

Grupo de estudios Unidad de Investigación en Ecosistemas Tropicales UNIET

Departamento de Ecología  
Fundación Universitaria de Popayán  
Cauca, Colombia

<https://orcid.org/0000-0002-6290-9688>

### Jency Nathaly Palacio Bayer

Semillero de Investigación SERENDIPIAS  
Ecología  
Fundación Universitaria de Popayán  
Cauca, Colombia

### Laura Melissa Muñoz Burbano

Semillero de Investigación SERENDIPIAS  
Ecología  
Fundación Universitaria de Popayán  
Cauca, Colombia

**RESUMEN:** El humedal Cucho de Yegua se ubica en el Departamento del Valle del Cauca y se clasifica como un sistema palustre permanente en estado de sucesión ecológica, colonizado por macrófitas acuáticas flotantes, la composición de plantas acuáticas está dada principalmente por las especies *Eichornia crassipes* y *Pistia stratiotes* las cuales cubren

la totalidad del espejo de agua. El objetivo de este estudio fue identificar diferencias en la composición y estructura de la comunidad de macroinvertebrados acuáticos epicontinentales asociados a las dos especies de macrófitas dominantes e identificar las variables morfológicas en cada una de ellas que podrían influenciar la distribución de los macroinvertebrados. Se realizaron seis repeticiones, cada una en las zonas dominadas por *E. crassipes* y *P. stratiotes* durante tres meses seguidos. Semidieron múltiples variables como el número de plantas, longitud máxima de raíces, número de hojas, biomasa húmeda y seca y se colectaron los macroinvertebrados acuáticos para su identificación. La relación entre los Macroinvertebrados y las macrófitas se realizó mediante un análisis de redundancia (ADR), empleando el programa CANOCO y un análisis discriminante utilizando Rwizard. Se colectaron 40 géneros, 26 familias, 12 órdenes y seis clases dentro de los Phylum Artrópoda, Mollusca y Annelida. La similitud entre las comunidades de macroinvertebrados encontradas zonas las dos especies de macrófitas fue del 41%, compartiendo un total de 17 géneros entre los cuales están *Odontomia* sp, *Tabanus*, *Chrysops* sp, las subfamilias Tanypodinae, Orthoclaadiinae, Psychodidae, los géneros *Alluadomyia*, *Probezzia* y *Stilobezzia*. De acuerdo al ADR las variables número de hojas y peso fresco de raíces fueron las que influyeron la distribución de géneros como *Probezzia*, *Alluadomyia* y *Psychodidae* (NN); se observó una relación entre *Neochaetina* con *E.*

*crassipes* y su biomasa, y *Pomacea* y *Odontomia* con *P. stratiotes*; al igual que una relación positiva entre el número de plantas y la familia Hyridae.

**PALABRAS CLAVE:** Macrófitas acuáticas. Macroinvertebrados acuáticos. Madre vieja. Humedal. Influencia. Morfología.

## 1 INTRODUCCIÓN

El Complejo Hidrológico del Valle Geográfico del Cauca ubicado en el suroccidente de Colombia, forma varios tipos de humedales como son las madre viejas, lagunas y ciénagas; entre los que se encuentra el humedal Cucho de Yegua (CVC, 2008). Estos humedales son de gran importancia como reservorio de agua, sumidero de carbono, fuentes de alimento, refugio y zona de alimentación para una gran variedad de animales (Ramos., 2006; Zambrano et al., 2015). Especialmente macroinvertebrados acuáticos, los cuales hacen parte primordial dentro de las cadenas tróficas de los humedales como consumidores secundarios, las que a su vez son consumidos por un gran número de peces los cuales llegan a ser de interés alimenticio para las familias (Thi Nguyen et al, 2015; Kouamé et al, 2010).

La composición y estructura e influencia de factores abióticos en los macroinvertebrados asociados a plantas acuáticas, han sido estudiados en lagos de inundación de grandes ríos como el Orinoco, Cauca y Magdalena en Colombia, la cuenca del río Paraná en Argentina y lagos en África (Bailey y Litterick, 1993; Rivera et al, 2010; Rivera Usme, 2011; Brendonck et al, 2003; Rosado et al, 2009); sin embargo, existen pocos trabajos en los que se comparan los invertebrados fitófilos en diferentes especies de plantas acuáticas y la influencia de sus variables morfológicas y morfométricas sobre las comunidades, esto se debe al tiempo que consume la separación de los invertebrados y a las dificultades que plantea la identificación de los taxa presentes en estadio de larva (Cyr y Downing, 1988; Neiff y Neiff, 2006). El conocimiento de la relación de las comunidades de macroinvertebrados acuáticos con el medio físico y químico aporta bases para desarrollar criterios de calidad y bioindicación aplicables a los sistemas de humedales (Rivera et al, 2010; Rocha et al, 2015).

Las especies de macroinvertebrados que habitan los ecosistemas de humedales difieren en atributos fisiológicos, morfológicos, conductuales y de historia de vida de los de cuerpos lóticos (Roldan y Ramírez, 2008); estudios de los roles tróficos brindan una imagen de cómo se estructuran las comunidades de macroinvertebrados acuáticos de acuerdo a los mecanismos de alimentación y puede dar una visión general de la importancia de las macrófitas acuáticas como sustrato, ya sea para dar abrigo, como retenedoras de alimento, sitios de anidación y predación o como alimento directamente (Kouamé et al, 2011; Schmidt et al, 2015).

En este estudio se compara la composición y estructura de los generos de macroinvertebrados acuáticos asociados a *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms y *Pistia stratiotes* L. en relación con las variables morfológicas de cada especie de planta.

## 2 MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

La madre vieja Cucho e Yegua se encuentra ubicada en el municipio de Jamundí, corregimiento de Quinamayó bajo las coordenadas N: 03° 50 16,0 W: 076° 23 17,0. Este ecosistema se localiza en una zona de vida de bosque seco tropical (bs-T), a una altura de 965,2 msnm. Se puede clasificar como un sistema palustre permanente en estado de sucesión terminal; las tierras están dedicadas a la agricultura mecanizada (caña de azúcar, arroz, maíz) y agricultura con el sistema de producción denominado Finca Tradicional (cítricos, papaya y cacao, entre otros) y la ganadería extensiva usando pastos naturales y mejorados (CVC, 2005 y 2008). Éstas condiciones han generado la colonización excesiva de *E. crassipes*, *P. stratiotes*, las cuales han invadido gran parte del humedal alcanzando cobertura de la totalidad del espejo de agua en el área de muestreo (Figura 1).

Figura 1. Ubicación de la madre vieja Cucho é Yegua en el municipio de Jamundí, Valle del Cauca-Colombia.



## 2.2 CONDICIONES FÍSICO-QUÍMICAS HÍDRICAS DEL HUMEDAL

No se registró diferencia en los valores de los parámetros físicos y químicos en el agua ni entre macrófitas ni entre meses ( $p \geq 0,05$ ), sin embargo, hubo cambios en los valores entre los diferentes meses de muestreo, evidenciando la influencia de las temporadas de lluvia y sequía sobre las condiciones físicas y químicas bajo las cuales se desarrollan, siendo las aguas características de ecosistemas acuáticos con un elevado nivel de alteración y eutrofización, con valores muy bajos de oxígeno ( $< 2 \text{ mg/l}$ ) (Tabla 1) lo cual se considera un factor limitante para los macroinvertebrados acuáticos, problema que se incrementa por la temperatura cálida del agua ( $> 25^\circ \text{ C}$ ) (Roldan y Ramírez, 2008).

La madre vieja presenta valores bajos de carbonatos lo que sumado al dióxido de carbono libre sugieren problemas en la capacidad buffer del sistema. De acuerdo al pH registrado se puede considerar el agua en la zona de muestreo como levemente ácida producto del  $\text{CO}_2$  libre. Los niveles de nutrientes registrados en el sistema acuático (Amonio y Nitratos) son típicos de ecosistemas contaminados lo cual limita el desarrollo de comunidades complejas de macroinvertebrados acuáticos.

Tabla 1. Parámetros físico-químicos analizados dentro de cada cobertura vegetal en los diferentes meses de muestreo.

Parámetro	Unidades	<i>P. stratiotes</i>				<i>E. crassipes</i>			
		Sep	Oct	Nov	Ā	Sep	Oct	Nov	Ā
Temperatura Ambiental	$^\circ \text{ C}$	28	30	28	28,7	28	30	28	28,7
Temperatura del Agua	$^\circ \text{ C}$	26	27	27	27,0	27	26	28	27
Oxígeno Disuelto O <sub>2</sub>	mg OD/L	0,5	2,1	0,7	1,1	0,5	0,3	0	0,2
Saturación O <sub>2</sub> Disuelto (%)	%	6	28	8	14	6	5	0	3,6
Dióxido de Carbono (CO <sub>2</sub> )	mg CO <sub>2</sub> /L	10	5	8	7,7	12	10	12	11,3
pH	Unidades	6	6,2	6,5	6,2	6	5,5	6,4	6,0
Alcalinidad Total	mg CaCO <sub>3</sub> /L	1	0,5	1	0,8	0,6	0,7	1	0,8
Dureza Total	mg CaCO <sub>3</sub> /L	36	25	90	50,3	31	34	80	48,3
Dureza Carbonácea	mg CaCO <sub>3</sub> /L	1,1	0,8	0,9	0,9	1,6	0,9	1	1,2
Amonio	mg (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )/L	0,2	0,2	1	0,5	0,4	0,6	2	1,0
Nitratos	mg (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )/L	50	30	25	35,0	75	50	50	58,3
Variable de agrupación	Prueba estadística	sig							
Meses	Kruskal-Wallis	1.00							
Macrófitas	U de Mann Withney	1.00							



## 2.3 MUESTREO DE LAS MACRÓFITAS ACUÁTICAS FLOTANTES Y DE MACROINVERTEBRADOS ACUÁTICOS EPICONTINENTALES (MAE)

Los muestreos se llevaron a cabo durante los meses de septiembre, octubre y noviembre de 2011 lo que corresponde a la época de transición de sequía a lluvias respectivamente.

- **Fase de campo:** comprendió la colecta de las especies de macrófitas flotantes *E. crassipes* y *P. stratiotes*; éstas fueron colectadas con un tamiz de marco de madera de 50 cm x 50 cm con una maya de abertura de poro de 376  $\mu\text{m}$ . Esta metodología fue tomada y modificada de la aplicada por Alba-Tercedor et al, (2005) e investigaciones como Darrigran et al, (2007), Saccò et al, (2020) y Pinna et al, (2014). Se tomaron 5 muestras por cada cobertura de macrófita por mes. A cada muestra se le determinó el número de plantas (NP), el número de hojas (Nh) y la longitud máxima de las raíces (Lr).
- **Fase de laboratorio:** Las plantas fueron lavados en un balde agitando vigorosamente sus partes para desprender los MAE; el residuo del balde fue cernido con un tamiz de poro de 376  $\mu\text{m}$  para la recolección de los organismos atrapados en ellas Pinna et al (2014). Las muestras de MAE fueron identificadas hasta el menor nivel taxonómico posible; a cada organismo se le determinó el grupo funcional teniendo en cuenta las categorías propuestas por Merritt y Cummins (2008): a) trituradores, b) colectores-recolectores, c) colectores- filtradores d) raspadores y e) depredadores. Adicionalmente se estimó la abundancia relativa y porcentual de los individuos, la densidad (ind/ $\text{m}^2$ ), la riqueza, diversidad de Shannon, la dominancia de Simpson y la similitud de Jaccard. Adicionalmente se midió la biomasa de los plantas por medio del peso fresco y seco tanto de raíces como de hojas de acuerdo a lo propuesto por Elosegi y Sabater (2009).

## 2.4 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Los valores de los parámetros fisicoquímicos, Morfológicos y ecológicos se compararon por medio de la prueba estadística de Kruskal-Wallis para meses y U de Mann-Withney para macrófitas. Para verificar la existencia de relaciones entre las variables morfológicas vegetales y la distribución de los géneros de MAE, se aplicó el análisis de redundancia canónica (ADR), empleando el programa CANOCO 3,12 (TerBraak y Šmilauer, 2002) Todas las variables fueron transformados por la función  $\log(x+1)$  antes

del análisis. Los análisis de aplicaron a los géneros cuyas abundancias representaron el 95% de la densidad total.

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LOS MACRÓFITOS ACUÁTICOS COLECTADOS

Se registraron diferencias significativas entre el número de plantas promedio por unidad de muestreo (U Mann-Withney,  $p < 0,05$ ) presentando *E. crassipes* el mayor número de plantas por unidad de área (10,8 ind/50 cm) con un valor máximo de 15 plantas y mínimo de 6; mientras que *P. stratiotes* presentó 8,1 ind/0,5m<sup>2</sup> en promedio con un máximo de 11 ind/0,5m<sup>2</sup> y un mínimo de 5 ind/0,5m<sup>2</sup> (Tabla 2). El promedio de biomasa total de *E. crassipes* fue significativamente mayor que el de *P. stratiotes* (U Mann-Withney,  $p < 0,05$ ) aportada principalmente por las diferencias en peso de la raíz. Las demás variables morfológicas no mostraron diferencias significativas entre plantas (U Mann-Withney,  $p > 0,05$ ).

Todas las variables morfológicas mostraron diferencias significativas entre ellas al pasar los meses de muestreo, incrementando sus valores hacia el final del muestreo (Kruskall-wallis,  $p > 0,05$ ) a excepción del número de hojas, quien aumenta en el mes de octubre y decae en el mes de noviembre. El aumento del tamaño de las plantas se atribuye al incremento de la pluviosidad lo que genera una reacción de la planta preparándose para el incremento de la profundidad de la columna de agua y el aumento de nutrientes (Fernández et al, 2005).

Tabla 2. Variables morfológicas medidas en los muestreos de macrófitos acuáticos; Ps= *Pistia stratiotes*, Ec= *Eichhorna crassipes*, Sep= Septiembre, Oct= octubre, Nov= Noviembre.

Variables Morfológicas	Ps		Ec		Sep		Oct		Nov	
	N°	Rango	N°	Rango	N°	Rango	N°	Rango	N°	Rango
N° plantas	8	(5-11)	11	(6-15)	9	(5-14)	8	(6-15)	11	(8-15)
N° hojas por planta	18	(15-23)	19	(11-28)	18	(12-25)	21	(16-28)	17	(11-20)
Longitud raíz (cm)	22	(12-26)	21	(12-28)	21	(12-25)	19	(12-25)	24	(20-28)
Biomasa hojas (g)	62	(30-100)	81	(26-134)	48	(26-80)	70	(30-100)	92	(64-124)
Biomasa raíz (g)	28	(17-48)	53	(20-95)	25	(17-40)	38	(20-75)	56	(30-95)
Biomasa total (g)	90	(50-125)	133	(46-229)	70	(46-120)	108	(55-175)	149	(99-129)

\* Los valores dentro de paréntesis representan los valores máximos y mínimos registrados tanto para las coberturas como para los meses de muestreo.

### 3.2 COMPOSICIÓN DE MAE

La comunidad de macroinvertebrados colectados en el humedal reportó 40 taxa distribuidos en 26 familias, 12 órdenes y 6 clases, dentro de las cuales Insecta fue la más rica (77,5%) y abundante (95,4%). En las plantas de *P. stratiotes* se registraron 28 géneros en 18 familias y 9 órdenes, dentro de los cuales *Probezzia*, *Alluadomyia*, *Psychodidae*, *Odontomia*, las subfamilias Orthoclaadiinae y Tanypodinae (Familia Chironomidae), los generos *Tabanus sp*, *Chrysops sp.* y *Pomacea sp.*, contribuyen con las mayores densidades registradas. En *E. crassipes* se registraron 29 géneros, 15 familias y 8 ordenes; los géneros dominantes fueron de mayor a menor *Neochetina sp.*, *Probezzia*, *Alluadomyia*, *Psychodidae*, *Tabanus*, Tanypodinae, la familia Hyriidae, Orthoclaadiinae, *Pomacea*, *Histrycosoma*, *Chrysops* (Tabla 3). Algunos macroinvertebrados colectados fueron identificados apenas a nivel de familia

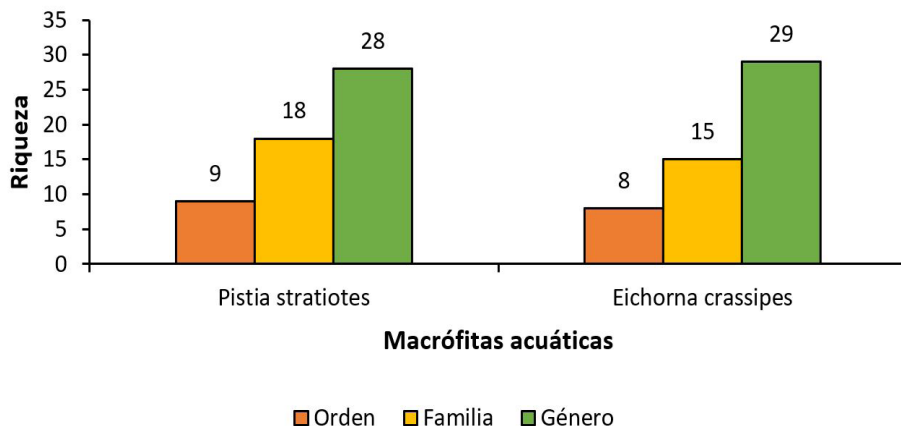
Con respecto a las variables comparadas, estas no mostraron diferencias significativas de composición de macroinvertebrados entre especies de macrófitas (Kruskall-wallis,  $p>0,05$ ) pero si entre los meses colectados (U Mann-Withney,  $p<0,05$ ), aumentando la abundancia, la dominancia y la diversidad hacia el mes de octubre debido al aumento en la cantidad de agua en el sistema y al incremento progresivo en el número de plantas flotantes y sus biomاسas (Rivera et al, 2010; Rivera-Usme, 2011), sin embargo no se registraron cambios en el número de géneros colectados (U Mann-Withney,  $p>0,05$ ) (Figura 3).

Tabla 3. Composición y abundancia de macroinvertebrados colectados en el Humedal Cuche de Yegua. Ps: *Pistia stratiotes*; Ec: *Eichornia crassipes*; n= abundancia total.

TAXA			Abundancia de macroinvertebrados en las diferentes coberturas				
Orden	Familia	Taxa	Ps	Ec	n	%	
Diptera	Stratiomyiidae	<i>Odontomia</i>	259	11	270	7,5	
		<i>Tabanus</i>	67	38	105	2,9	
	Chironomidae	<i>Chrysops</i>	53	13	66	1,8	
		Tanypodinae	101	22	123	3,4	
		Orthoclaadiinae	145	35	180	5,0	
	Psychodidae	Psychodidae NN	284	53	337	9,4	
	Ceratopogonidae	<i>Alluadomyia</i>	402	66	468	13,0	
		<i>Probezzia</i>	1151	184	1335	37,2	
		<i>Stilobezzia</i>	16	7	23	0,6	
		Muscidae	<i>Lispe</i>	0	2	2	0,1
			<i>Hemerodromia</i>	0	4	4	0,1

TAXA			Abundancia de macroinvertebrados en las diferentes coberturas				
Orden	Familia	Taxa	Ps	Ec	n	%	
	Syrphidae	<i>Eristalis</i>	0	4	4	0,1	
	Culiciidae	<i>Culex</i>	0	2	2	0,1	
	Tipulidae	<i>Tipula</i>	0	7	7	0,2	
		<i>Molophilus</i>	1	0	1	0,0	
	Sciomyzidae	<i>Sepedon</i>	4	0	4	0,1	
Lepidóptera	Pyralidae	<i>Nymphula</i>	2	0	2	0,1	
		<i>NN</i>	1	1	2	0,1	
Coleóptera	Hydrophilidae	<i>Berosus</i>	2	4	6	0,2	
		<i>Tropisternus</i>	0	1	1	0,0	
		<i>Helophorus</i>	1	0	1	0,0	
		<i>Sphaeridium</i>	0	4	4	0,1	
		Dytiscidae	<i>Laccophilus</i>	0	5	5	0,1
			<i>Agabus</i>	0	4	4	0,1
		Curculioniidae	<i>Neochetina</i>	1	459	460	12,8
		Scirtidae	<i>Cyphon</i>	0	1	1	0,0
			<i>Elodes</i>	1	0	1	0,0
		Noteridae	<i>Hydrocanthus</i>	2	0	2	0,1
Hemíptera	Belostomatidae	<i>Lethocerus</i>	0	2	2	0,1	
Odonata	Coenagrionidae	<i>Acanthagrion</i>	1	0	1	0,0	
		<i>Telebasis</i>	2	0	2	0,1	
Acari	Hydrachnidae	<i>Hydracarina</i>	3	0	3	0,1	
Mesogastrópoda	Ampullariidae	<i>Pomacea</i>	44	24	68	1,9	
	Thiaridae	<i>Melanoides</i>	8	4	12	0,3	
Basommatóphora	Ancylidae	<i>Ferrissia</i>	2	3	5	0,1	
	Planorbidae	<i>Gyalus</i>	10	0	10	0,3	
Unionoidea	Hyriidae	<i>NN</i>	5	29	34	0,9	
Glossiphoniiphórmes	Glossiphoniidae	<i>NN</i>	0	10	10	0,3	
Haplotáxida	Aelosomatidae	<i>Histrycosoma</i>	2	20	22	0,6	
		<i>Aelosoma</i>	3	0	3	0,1	
<b>Abundancia total</b>			2573	1019	3592	100	
<b>Riqueza</b>			28	29	40		

Figura 3. Distribución de la riqueza de grupos taxonómicos entre macrófitas y meses muestreados.



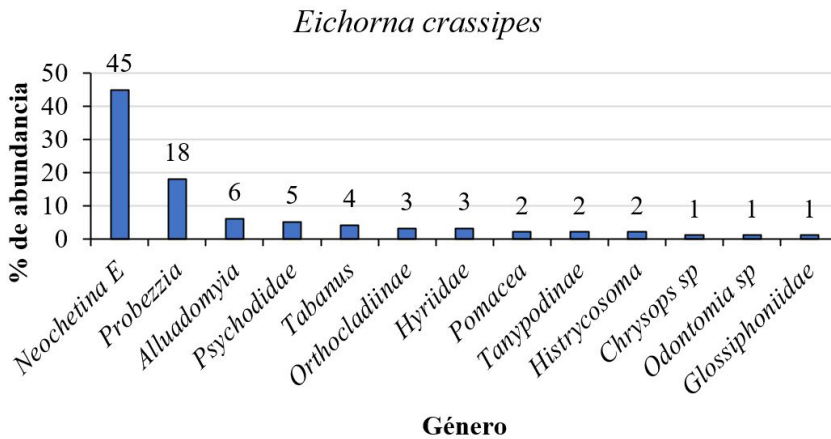
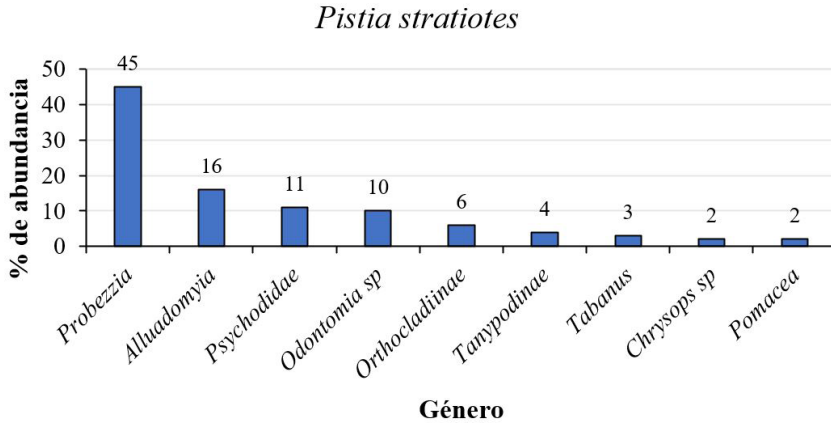
### 3.3 ABUNDANCIA

En total se colectaron 3 593 individuos de los cuales el 97% pertenecen a 14 géneros (Tabla 3, Figura 4) siendo el orden Díptera el más representativo con el 76% de la abundancia total, distribuida en los géneros *Probezzia* sp., *Alluadomia* sp., la familia Psychodidae, el género *Odontomia* sp. y la familia Chironomidae. Dentro del orden Coleóptera la familia Curculionidae con el género *Neochaetina* sp representa el 12% del total de la densidad colectada (Figura 4).

Los resultados indican que hay una diferencia significativa entre las abundancias colectadas en los tres meses de muestreo, pero no entre las coberturas de macrófitas,

(U Mann Withney,  $p > 0,05$ ) por lo que las diferencias morfológicas (Biomasa, número de hojas y longitud máxima de raíz) que presentaron las macrófitas proporcionan las mismas condiciones para el establecimiento de un número alto de individuos.

Figura 4. Abundancias porcentuales de los géneros más representativos en las poblaciones de Ps y Ec muestreadas.



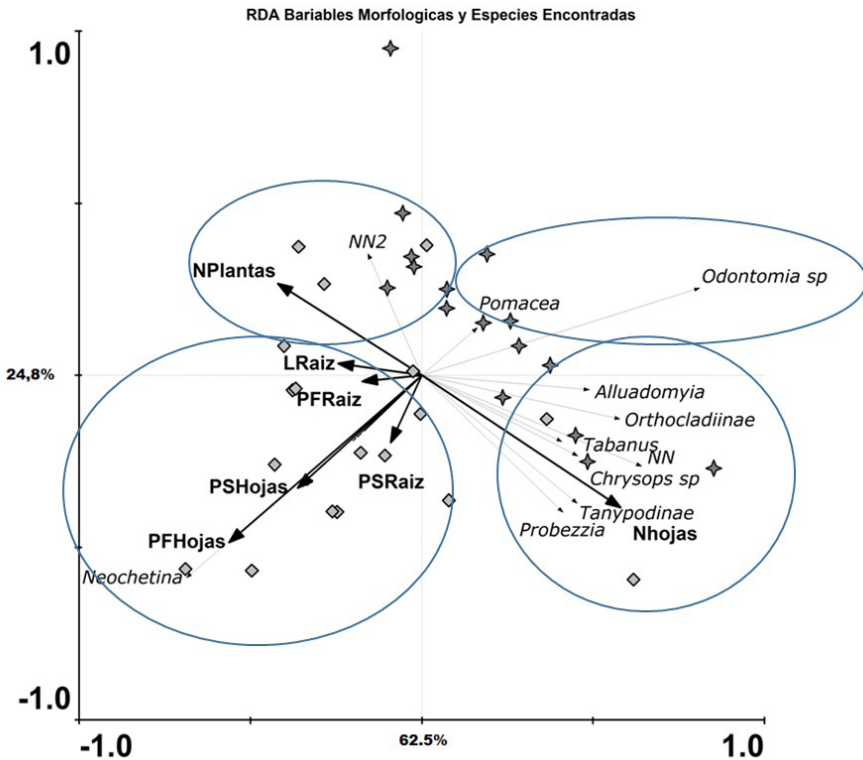
### 3.4 INFLUENCIA DE LAS VARIABLES MORFOLÓGICAS VEGETALES

El análisis de redundancia canónica (ADR) explicó 87% de la varianza total con los dos primeros ejes, al relacionar las variables morfológicas de las plantas, con la abundancia de los géneros de MAE encontrados (Figura 5).

Se pudo determinar que el número de hojas es la variable vegetal que más influye en la presencia y abundancia de 7 géneros entre los cuales se encuentran tres de los más abundantes del muestreo. A su vez los cambios en los valores de biomasa se correlacionaron con la macrofita *E. crassipes* lo cual a su vez influencia los cambios

en la abundancia del coleóptero *Neochetina*. De los géneros colectados tres mostraron preferencia por una especie de macrofita; *Odontomyia* y *Pomacea* se asociaron con la especie *Pistia stratiotes*, mientras que el género *Neochaetina* parece ser casi exclusivo de *Eichhorna crassipes*. El Bivalvo Hyriide no se relacionó con un tipo en especial de planta, sino por el número de plantas por unidad de área, independientemente de la especie, es una característica que influencia la abundancia de este molusco.

Figura 5. Análisis de redundancia canónica calculada entre los géneros de MAE colectados y las variables Morfológicas registradas en las macrofitas flotantes. Las estrellas son *P. stratiotes* y los rombos son *E. Crassipes*, NN= Psychodidae; NN2= Hyriidae.



#### 4 CONCLUSIONES

La comunidad de macroinvertebrados colectada en las dos especies de macrofitas acuáticas flotantes estuvo compuesta por 40 géneros distribuidos en 26 familias, 12 órdenes y 6 clases, dentro de los cuales la clase Insecta fue la más rica (77,5%) y abundante (95,4%). Dentro de *Pistia stratiotes* se registraron 28 géneros en 18 familias y 9 órdenes, dentro de los cuales *Probezzia*, *Alluadomyia*, *Psychodidae*, *Odontomia*, las subfamilias *Orthoclaadiinae* y *Tanypodinae* (Familia *Chironomidae*), los generos *Tabanus*



*sp*, *Chrysops sp* y *Pomacea sp*, contribuyen con las mayores densidades registradas. En *Eichhorna crassipes* se registraron 29 géneros, 15 familias y 8 ordenes; los géneros más importantes colectados dentro del buchón de agua (*Eichhorna crassipes*) fueron de mayor a menor *Neochetina sp*, *Probezzia*, *Alluadomyia*, *Psychodidae*, *Tabanus*, Tanypodinae, la familia Hyriidae, Orthoclaadiinae, *Pomacea*, Histricosoma, *Chrysops*.

Se encontraron diferencias en la composición de macroinvertebrados colectados en las macrófitas; de los 40 géneros reportados en el trabajo, las macrófitas acuáticas compartieron un 41% (17 géneros) dentro de los cuales el 60% fueron dípteros. Sin embargo se presentaron 12 géneros exclusivos de *Eichhorna crassipes* y 11 géneros de *Pistia stratiotes*. Aunque el número de géneros compartidos es alto, la estructura de las poblaciones dentro de cada planta es similar dominando en ambas plantas los Dípteros y Coleópteros.

Se pudo determinar que el número de hojas es la variable vegetal que más influye en la presencia y abundancia de 7 géneros entre los cuales se encuentran tres de los más abundantes del muestreo. A su vez los cambios en los valores de biomasa se correlacionaron con la macrofita *E. crassipes* lo cual a su vez influencia los cambios en la abundancia del coleóptero *Neochetina*. De los géneros colectados tres mostraron preferencia por una especie de macrofita; *Odontomyia* y *Pomacea* se asociaron con la especie *Pistia stratiotes*, mientras que el género *Neochaetina* parece ser casi exclusivo de *Eichhorna crassipes*. El Bivalvo Hyriide no se relacionó con un tipo en especial de planta, pero si el número de plantas por unidad de área, que se constituye en una característica que influencia la abundancia de este molusco.

## REFERENCIAS

1. Alba-Tercedor, J; Pardo, I; Prat, N; Pujante, A, (2005). Protocolo de muestreo y análisis de Invertebrados acuáticos, en: Metodología para el establecimiento del estado ecológico. Directiva marco del agua. Ministerio del medio ambiente.
2. Elosegi, A y Sabater, S., (2009). Conceptos y técnicas en ecología fluvial, capítulo 13 La biota de los ríos: Los Macrófitos. Fundación BBVA. Pp 243-250. ISBN 978-84-96515-87-1. [https://www.fbbva.es/wp-content/uploads/2017/05/dat/DE\\_2009\\_conceptos\\_ecologia\\_fluvial.pdf](https://www.fbbva.es/wp-content/uploads/2017/05/dat/DE_2009_conceptos_ecologia_fluvial.pdf).
3. Bailey, R.G., Litterick, M.R. The macroinvertebrate fauna of water hyacinth fringes in the Sudd swamps (River Nile, southern Sudan) (1993) Hydrobiologia, 250 (2), pp. 97-103. Cited 24 times. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0027803493&doi=10.1007%2fBF00008231&partnerID=40&md5=aad2b26188de005a25b75fa8338c578d>. DOI: 10.1007/BF00008231.
4. Brendonck, L., Maes, J., Rommens, W., Dekeza, N., Nhiwatiwa, T., Barson, M., Callebaut, V., Phiri, C., Moreau, K., Gratwicke, B., Stevens, M., Alyn, N., Holsters, E., Ollevier, F., Marshall, B. The impact of water hyacinth (*Eichhorna crassipes*) in a eutrophic subtropical impoundment (Lake Chivero, Zimbabwe). II. Species diversity (2003) Archiv fur Hydrobiologie, 158 (3), pp. 389-405. Cited 87 times. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0347495347&doi=10.1127%2f0003-9136%2f2003%2f0158-0389&partnerID=40&md5=992c830b5c94203bd00202918e41b131>. DOI: 10.1127/0003-9136/2003/0158-0389.

5. Cajo ter Braak, C, J; P. Smilauer, (2002). CANOCO Manual de referencia y Guía del usuario de CanoDraw para Windows: Software para la ordenación comunitaria canónica (versión 4.5).
6. Corporación Autónoma Regional Del Valle Del Cauca (CVC), (2008). Caracterización geológica y biológica y ordenamiento de los humedales del valle alto del río Cauca y diagnóstico del estado de la franja forestal protectora. Estudio de la dinámica del complejo de humedales en el valle alto del río Cauca, Convenio Interadministrativo 0144. Universidad del Valle. Vol 4.
7. Corporación Autónoma del valle del Cauca, CVC. (2005). Formulación del plan de manejo ambiental del humedal El Avispal o Carabalo corregimiento de Quinamayó, municipio de Jamundí. Orden de trabajo 1297.
8. Cyr, Downing, (1988) The abundance of phytophilus invertebrates on different species of submerged macrophytes. *Freshwat. Biol.* vol. 20: 365-374.
9. Darrigran, Vilches, Legarralde & Damborenea, (2007). Guía para el estudio de macroinvertebrados- Métodos de colecta y técnicas de fijación. Argentina, ProBiota. Serie técnica didáctica No 10.
10. Fernández, García, & Villarroya, (2005). Propuesta de una clasificación de humedales para ser restaurados mediante operaciones de recarga artificial de acuíferos: aplicación al complejo de humedales de Coca-Olmedo (Segovia). *Revista de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente*, vol 3. [http://www.uax.es/publicaciones/archivos/TECEOC05\\_002.pdf](http://www.uax.es/publicaciones/archivos/TECEOC05_002.pdf).
11. Kouamé, M.K., Diétoa, M.Y., Da Costa, S.K., Edia, E.O., Ouattara, A., Gourene, G. Aquatic macroinvertebrate assemblages associated with root masses of water hyacinths, *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms-Laubach, 1883 (Commelinales: Pontederiaceae) in Taabo Lake, Ivory Coast (2010) *Journal of Natural History*, 44 (5-6), pp. 257-278. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-34250830872&doi=10.3923%2fjbs.2007.309.314&partnerID=40&md5=986c32e858d9bd7eb4ef00bcb9c9863e>. DOI: 10.3923/jbs.2007.309.314.
12. Merritt, & Cummins, (2008). An introduction to the aquatic insect of North America. Kendall/Hunt. 4ta edición.
13. Muñoz Solarte D. M. Alejandra Ante L. Estandarización de un protocolo in vitro para el control biológico de *Eichhornia crassipes* con *Neochetina* (Coleoptera: Curculionidae). *Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* (2017) Edición Especial(1) 40. DOI: 10.18684/bsaa(15)40-48.
14. Pinna, M., Marini, G., Mancinelli, G., Basset, A. Influence of sampling effort on ecological descriptors and indicators in perturbed and unperturbed conditions: A study case using benthic macroinvertebrates in Mediterranean transitional waters (2014) *Ecological Indicators*, 37 (PART A), pp. 27-39. Cited 13 times. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84887264310&doi=10.1016%2fj.ecolind.2013.09.038&partnerID=40&md5=41629e2c92c882f1cd55f9fe7cb57900>. DOI: 10.1016/j.ecolind.2013.09.038.
15. Poi De Neiff, A., Neiff, J.J. Species richness and similarity of the invertebrates which live in floating plants on the floodplain of the River Parana Argentina [Article@Riqueza de especies y similaridad de los invertebrados que viven en plantas flotantes de la planicie de inundación del Río Paraná Argentina] (2006) *Interciencia*, 31 (3), pp. 220-225. Cited 54 times. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-33749052091&partnerID=40&md5=f48a260081dc6eac08e7a82fd16e9f7>.
16. Ramos Ortega, L., Fontalvo, E., & López-Forment, W. (2006). Aproximación a las condiciones limnológicas de un plano de inundación del bajo río Magdalena durante un ciclo diario. *Intropica*, 3(1), 87-100. <https://doi.org/10.21676/23897864.130>.

17. Rivera, Zapata, Pérez, Morales, Ovalle & Alvarez, (2010). Caracterización Limnológica de humedales de la planicie de inundación del Río Orinoco (Orinoquía, Colombia). *Acta biol. Colomb.*, Vol. 15 (1): 145 – 166.
18. Rivera Usme, (2011). Relación entre la composición y biomasa de la comunidad de macroinvertebrados acuáticos y las variables físicas y químicas en el humedal Jaboque Bogotá-Colombia. Tesis Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, 110p.
19. Roldan, P; Ramirez, J, (2008). Fundamentos de limnología Neotropical. Editorial universidad de Antioquia. Vol 2. Pp 231.
20. Rosado, Moura, Werneck, Colpas, Rodrigues, & Carballido, (2009). influência da complexidade estrutural da vegetação flutuante na fauna de invertebrados aquáticos predadores no lago camaleão, ilha da Marchantaria. Brasil.
21. Rocha, F.C., Andrade, E.M., Lopes, F.B. Water quality index calculated from biological, physical and chemical attributes (2015) *Environmental Monitoring and Assessment*, 187 (1), art. no. 4163, 15 p. Cited 17 times. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84957411611&doi=10.1007%2fs10661-014-4163-1&partnerID=40&md5=b770f4dce2560c603036f2b718ac535f>. DOI: 10.1007/s10661-014-4163-1
22. Saccò, M., Gómez, V.G., Sevilla, J.R., Fortunato, R.C., Eugenia Rodrigo Santamalia, M., Durà, V.B. Exploratory study on the optimisation of sampling effort in a non-vegetated lagoon within a Mediterranean wetland (Albufera Natural Park, Valencia, Spain)
23. (2020) *Ecological Indicators*, 117, art. no. 106538,. Cited 1 time. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85085735354&doi=10.1016%2fj.ecolind.2020.106538&partnerID=40&md5=886ed321dda4fcc245156f588a553d50>. DOI: 10.1016/j.ecolind.2020.106538.
24. Schmidt-Kloiber, A., Hering, D. *Www.freshwaterecology.info* - An online tool that unifies, standardises and codifies more than 20,000 European freshwater organisms and their ecological preferences (2015) *Ecological Indicators*, 53, pp. 271-282. Cited 182 times. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84923812255&doi=10.1016%2fj.ecolind.2015.02.007&partnerID=40&md5=5993e24609fed50b3f652b73292142a2>. DOI: 10.1016/j.ecolind.2015.02.007.
25. Thi Nguyen, T.H., Boets, P., Lock, K., Damanik Ambarita, M.N., Forio, M.A.E., Sasha, P., Dominguez-Granda, L.E., Thi Hoang, T.H., Everaert, G., Goethals, P.L.M. (2015). Habitat suitability of the invasive water hyacinth and its relation to water quality and macroinvertebrate diversity in a tropical reservoir (2015) *Limnologica*, 52, pp. 67-74. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84930043147&doi=10.1016%2fj.limno.2015.03.006&partnerID=40&md5=>. DOI: 10.1016/j.limno.2015.03.006.
26. Zambrano Polanco, Leonidas., Zamora González, Hilldier. Vásquez Zapata, Guillermo León., López Anaya, Alejandro (2015). Determinación del estado sucesional de humedales en la cuenca alta del río Cauca, departamentos del Cauca y Valle del Cauca, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencia Animal – RECIA*. Vol 7.

# CAPÍTULO 19

## AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE ACHIGÃS PRODUZIDOS EM AQUACULTURA

Data de submissão: 12/05/2022

Data de aceite: 27/05/2022

### António Moitinho Rodrigues

Escola Superior Agrária  
Instituto Politécnico de Castelo Branco  
Portugal  
CERNAS-IPCB  
Instituto Politécnico de Castelo Branco  
Castelo Branco, Portugal  
<https://orcid.org/0000-0002-5862-3898>

### António Vasco de Mello

Sociedade Agrícola Vale de Inguinhos S.A.  
Parreira, Chamusca, Portugal

### Miguel de Mello

Sociedade Agrícola Vale de Inguinhos S.A.  
Parreira, Chamusca, Portugal

### Filipa Inês Pitacas

Escola Superior Agrária  
Instituto Politécnico de Castelo Branco  
Portugal  
<https://orcid.org/0000-0002-0581-9977>

**RESUMO:** O achigã (*Micropterus salmoides* Lacépède, 1802) é uma espécie piscícola introduzida em Portugal no final do século XIX. É um peixe muito popular na cozinha regional do Ribatejo, Beira Baixa e Alentejo. Como não

há no mercado português alimento composto comercial específico para achigãs, a primeira empresa portuguesa com licença para produzir esta espécie piscícola, considerou necessário avaliar o crescimento de achigãs utilizando um alimento composto formulado para douradas e robalos (proteína 52%; gordura 18%). Para realizar este estudo foram capturados 358 juvenis de achigãs selvagens com 0+ anos. Os peixes foram colocados num tanque circular para habituação ao alimento composto comercial e para avaliação de diferentes parâmetros de crescimento. A taxa de sobrevivência durante os 35 dias de habituação ao alimento granulado foi de 90,2%. O ensaio de crescimento que se seguiu teve a duração de 129 dias, período em que a temperatura da água variou entre 24,6°C e 10,0°C. No primeiro dia de ensaio (dia0) foram amostrados 67 peixes que apresentaram os seguintes resultados: peso 15,31 g ( $\pm 2,681$ ); comprimento 11,48 cm ( $\pm 0,708$ ); Fator K 1,007 ( $\pm 0,112$ ). No último dia do ensaio (dia129) foram amostrados 60 peixes que apresentaram os seguintes resultados: peso 24,00 g ( $\pm 4,194$ ); comprimento 12,73 cm ( $\pm 0,658$ ); Fator K 1,162 ( $\pm 0,139$ ). Os resultados obtidos evidenciam aumento significativo do peso (+56,8%), do comprimento (+10,9%) e do Fator K dos peixes (+15,4%) ( $p < 0,05$ ), o que nos permite concluir que o alimento composto comercial utilizado parece ser adequado à alimentação de juvenis da espécie *M. salmoides*.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Micropterus salmoides*. Alimento composto. Peso. Comprimento. Fator K.

## GROWTH EVALUATION OF LARGEMOUTH BASS RAISED IN AQUACULTURE

**ABSTRACT:** Largemouth bass (*Micropterus salmoides* Lacépède, 1802) (LB) is a freshwater fish introduced in Portugal in the end of XIX Century. It is a very important fish in regional cuisine especially in Ribatejo, Beira Baixa and Alentejo regions. Since in Portugal there are no specific LB commercial feed compound, the first fish farm with permission for LB production wanted to evaluate the potential growth capacity of a commercial feed formulated for seabream and European seabass (protein 52%, fat 18%). At the beginning of this study, 358 juvenile LB (0+ years) were caught from small dams close to the fish farm. The survival rate during the 35 days of compound feeding training was 90.2%. The water temperature during the 129 days of the growth test varied between 24.6°C and 10.0°C. On the first day of the growth test (day0) 67 fish were sampled and showed the following results: weight 15.31 g ( $\pm 2.681$ ); length 11.48 cm ( $\pm 0.708$ ); K-factor 1.007 ( $\pm 0.112$ ). On the last day of the trial (day 129), 60 fish were sampled and showed the following results: weight 24.00 g ( $\pm 4.194$ ); length 12.73 cm ( $\pm 0.658$ ); K-factor 1.162 ( $\pm 0.139$ ). The final results show a significant increase in fish weight (+56.8%), length (+10.9%) and K-Factor (+15.4%) ( $p < 0.05$ ), which allows us to conclude that the commercial feed compound is suitable for feeding juveniles of the species *M. salmoides*.

**KEYWORDS:** *Micropterus salmoides*. Commercial feed compound. Weight. Length. K condition factor.

### 1 INTRODUÇÃO

O achigã (*Micropterus salmoides*, Lacépède, 1802) é um peixe com elevado interesse gastronómico e desportivo. Está muito bem adaptado aos sistemas lênticos da Península Ibérica. Foi introduzido em Portugal em 1898 na Lagoa das Sete Cidades, Ilha de São Miguel - Açores, através de exemplares vindos dos Estados Unidos da América (EUA) (Silva, 1992). Mais tarde, em meados do século XX, foi introduzido no continente português para controlar a população de *Gambusia holbroki* (Girard, 1859), espécie piscícola que havia sido introduzida em 1921 para ajudar a combater a malária na bacia mediterrânica (Almaça, 1996).

Nos EUA, a produção em cativeiro de alevins para repovoamento data de 1930, altura em que foram realizados vários trabalhos sobre reprodução de achigãs. Na década de 80, várias pisciculturas americanas, particulares e estatais, aperfeiçoam técnicas de treino de alimentação para maximizar a produção de achigãs em cativeiro. A procura de achigãs de grandes dimensões como troféus de pesca tem aumentado nos EUA e tem desencadeado o interesse dos piscicultores para a produção destes peixes com vista ao repovoamento de locais utilizados para pesca desportiva. Os peixes produzidos também têm escoamento garantido junto das comunidades asiáticas apreciadoras de filete de achigã (Heidinger, 2000; Tidwell *et al.*, 2000; Quinn e Paukert, 2009). Estima-se que

mais de 500.000 kg de achigãs com 400 - 700g (peso de mercado) sejam produzidos anualmente nos EUA para venda como alimento (Tidwell *et al.*, 2002).

Em França também se produzem achigãs para repovoamento e para consumo humano (Arrignon, 1984) e em Portugal, entre 1958 e 2000, foram produzidos em cativeiro mais de 270.000 juvenis de achigã, utilizados para repovoamento de várias massas de água de Norte a Sul (Lourenço, 2004). De acordo com Maia (2008) citado por Gomes (2009), os postos aquícolas nacionais atualmente em funcionamento trabalham apenas com duas espécies piscícolas, a truta comum (*Salmo trutta fario* Linnaeus, 1758) e a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). O posto aquícola de Mira, que se destinava à produção de achigãs e carpas (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758), e o posto aquícola da Azambuja, que produzia achigãs, carpas e tencas (*Tinca tinca* Linnaeus, 1758), estão atualmente desativados.

Em Portugal, o achigã apresenta elevado interesse gastronómico com preços de venda ao público variando entre os 5 e 8 €/kg, podendo atingir os 12 €/kg em locais onde a procura para consumo doméstico ou para a restauração é muito elevada. Em algumas localidades, esta espécie é motivo de reuniões gastronómicas sendo o achigã um dos *ex-libris* da gastronomia do Ribatejo, da Beira Baixa e do Alentejo. Destaca-se o conhecido Festival Gastronómico do Achigã de Vila de Rei, cuja 14.<sup>a</sup> edição decorreu em 2021 (<https://turismodocentro.pt/evento/14o-festival-gastronomico-do-achiga-em-vila-de-rei/>).

Devido ao elevado interesse gastronómico que esta espécie piscícola tem em Portugal, têm sido realizados vários trabalhos para conhecer o valor nutricional e a quantidade de metais pesados presentes na parte edível de achigãs selvagens capturados em sistemas lênticos (Belo *et al.*, 2007; Rodrigues, 2017; Rodrigues *et al.*, 2018; Rodrigues e Veloso, 2018).

Através do Despacho 11246/2010 de 9 de julho, foi licenciada a primeira empresa portuguesa para a produção comercial de achigãs. Não havendo no mercado nacional alimento granulado específico para achigãs, a empresa considerou necessário avaliar o crescimento de achigãs utilizando um alimento granulado formulado para outras espécies piscícolas. O objetivo deste trabalho foi avaliar os parâmetros de crescimento de juvenis selvagens da espécie *M. salmoides* alimentados com granulado comercial formulado para douradas (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758) e robalos (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho foram capturados 358 juvenis selvagens de achigãs com 0+ anos no dia 20 de setembro, final do verão. As capturas foram feitas com

rede de alar (1 cm<sup>2</sup> de malha) em quatro pequenas barragens de rega de que a empresa é proprietária. Com o objetivo de aumentar o número de capturas e com auxílio de um bote de borracha, foram efetuadas duas ações de pesca por barragem, com alagem da rede (arte xávega) para dois locais diferentes.

Os 358 peixes capturados foram colocados num tanque circular de fibra de vidro com 3.000 L de água e fluxo constante de 4 L/hora de água não reutilizada no sistema. A biomassa inicial foi de 2,32 kg de peixe por m<sup>3</sup>. O mesmo tanque foi utilizado durante o período de habituação ao alimento granulado comercial e durante o ensaio de crescimento.

Não havendo no mercado português alimento específico para achigãs, a fase de habituação ao alimento sólido foi feita com recurso a um granulado comercial desenvolvido para douradas e robalos (Tabela 1). O alimento granulado foi distribuído duas vezes durante o dia, ao início da manhã e ao fim da tarde. A quantidade de granulado distribuída diariamente correspondeu a 1,5% da biomassa do tanque.

Tabela 1. Tamanho da partícula, densidade e composição nutricional do alimento granulado comercial utilizado durante na fase de habituação dos achigãs (informação do fabricante). O granulado utilizado foi formulado para alimentar douradas e robalos entre 5 e 15 g de peso vivo.

Tamanho partícula (mm)	Densidade (g/litro)	PB (%)	GB (%)	Cinzas (%)	FB (%)	Ca (%)	P (%)	Lisina (%)	Metionina (%)
1,6-1,8	>600	52,0	18,0	11,0	1,0	2,4	1,0	0,16	0,06

De acordo com informação do fabricante, o granulado utilizado no ensaio de alimentação de achigãs continha farinha de peixe, farinha hidrolisada de sangue e penas, farinha de glúten de milho, óleo de peixe, amido de ervilha, proteína solúvel de peixe, farinha de lulas, levedura de cerveja e farinha hidrolisada de concentrado de krill.

No dia da captura foram pesados e medidos aleatoriamente 57 achigãs. O período de habituação ao alimento granulado comercial teve a duração de 35 dias e no final da fase de habituação, uma amostra aleatória de achigãs presentes no tanque (n=67) foi de novo pesada e medida. Este momento correspondeu ao dia 0 do período de ensaio (dia 0).

Amostras aleatórias dos achigãs do tanque voltaram a ser pesadas e medidas nos dias 35 (dia 35), 67 (dia 67), 94 (dia 94) e 129 dias (dia 129). Nos mesmos dias foi registada a temperatura da água. Durante o ensaio, foi quantificada a mortalidade dos peixes e controlada a concentração de O<sub>2</sub> que foi sempre superior a 8 mg/L.

O ensaio de alimentação decorreu entre o dia 25 de outubro e o dia 03 de março do ano seguinte.

O fator de condição corporal de Fulton (Fator K) dos peixes amostrado foi determinado através da equação (1) (Tidwell et al., 2003),



$$\text{Fator K} = 100 \times P \times C^{-3} \text{ (1),}$$

em que P corresponde ao peso do peixe em gramas e C corresponde ao comprimento em centímetros.

Para o cálculo da taxa de crescimento específico (TCE), utilizou-se a equação (2) (Tidwell *et al.*, 2003),

$$\text{TCE (\%)} = 100 \times [(\ln \text{ peso final médio} - \ln \text{ peso inicial médio}) / \text{tempo}] \text{ (2).}$$

No final do período de habituação ao granulado comercial e no final do período de ensaio foram determinadas as Taxas de Sobrevivência (TS) utilizando a equação (3)

$$\text{TS (\%)} = [(\text{número inicial de peixes} - \text{número final de peixes}) / \text{número inicial de peixes}] \text{ (3).}$$

No final do período de ensaio foi determinado o Ganho de Peso (GP) através da equação (4)

$$\text{GP (g)} = \text{peso final} - \text{peso inicial} \text{ (4).}$$

A biomassa no final do período de ensaio foi de 2,27 kg de peixe por m<sup>3</sup>.

Os resultados foram analisados com recurso ao programa informático IBM SPSS. Para cada momento de amostragem calculou-se a média e o desvio padrão ( $\pm dp$ ). Para comparação de médias dos resultados obtidos utilizou-se a ANOVA e o teste de Tukey a 5% de probabilidade foi utilizado como teste de comparações múltiplas.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As matérias-primas utilizadas no fabrico de alimentos compostos para peixes deverão fornecer quantidades suficientes de ácidos gordos polinsaturados e de proteínas de elevado valor biológico.

A fonte lipídica deve ser maioritariamente óleo de peixe ou então misturas de óleo de peixe com gorduras vegetais. Segundo Tidwell *et al.* (2007), sendo o achigã um peixe de águas quentes parece não ter grande necessidade de consumir ácidos gordos polinsaturados das famílias n-3 e n-6.

A farinha de peixe é outra das matérias-primas que deve estar presente em alimentos granulados para peixes. É particularmente interessante devido à elevada digestibilidade da sua proteína, ao perfil de aminoácidos e ao seu conteúdo em taurina, selénio e ácidos gordos insaturados (NRC, 2011). No entanto, como a farinha de peixe produzida a nível mundial não consegue satisfazer as necessidades crescentes da aquacultura, vários estudos têm vindo a indicar que na formulação de alimentos granulados

para achigãs, a farinha de peixe pode ser parcialmente substituída por outras fontes proteicas, como aconteceu no alimento granulado utilizado neste ensaio. São exemplos de fontes proteicas alternativas a farinha hidrolisada de sangue e penas, a farinha de soja, a farinha de soja fermentada, a farinha de glúten de milho e a farinha de sementes de algodão (Han *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2021).

As matérias primas utilizadas no fabrico do granulado comercial e os teores em proteína (52%) e lípidos (18%) (Tabela 1) estão de acordo com o que é referido por vários autores como ideal para um alimento composto granulado utilizado na produção de achigãs (Anderson *et al.*, 1981 e Tidwell *et al.*, 1996 citados por Han *et al.*, 2018; Tidwell *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2021).

No dia da captura, os 57 achigãs juvenis amostrados apresentaram valores médios de peso, comprimento e Fator K de 19,49 g ( $\pm 1,882$ ), 11,85 cm ( $\pm 0,275$ ) e 1,170 ( $\pm 0,081$ ), respetivamente (Tabela 2). A água do tanque onde foram colocados os peixes estava a 26,2°C.

Tabela 2. Peso, comprimento e Fator K dos achigãs no dia da captura / início do período de habituação (35 dias) ao alimento composto comercial.

Data	n	Temperatura	Peso (g)	Comprimento (cm)	Fator K
		(°C)	Média $\pm$ dp	Média $\pm$ dp	Média $\pm$ dp
20 setembro	57	26,2	19,49 $\pm$ 1,882	11,85 $\pm$ 0,275	1,170 $\pm$ 0,081

n – número de peixes amostrados;  $\pm$ dp – desvio padrão.

Comparando os valores médios de peso, comprimento e Fator K obtidos no dia de captura com os mesmos valores obtidos no dia em que se iniciou o ensaio de crescimento de achigãs (dia0) (Tabela 3), verifica-se que o peso médio dos peixes amostrados diminuiu 21,4%, o comprimento diminuiu 8,7% e o Fator K diminuiu 13,9%. (Tabelas 2 e 3). No entanto, embora a fase de transição do alimento vivo para o alimento composto comercial tenha afetado negativamente os parâmetros de crescimento dos juvenis de achigãs, a taxa de sobrevivência foi de 90,2%, o que se considera aceitável. Heidinger (2000), Tidwell *et al.* (2000) e Tidwell *et al.* (2002) consideram adequadas taxas de sobrevivência que variem entre 80% e 90% podendo mesmo baixar para 75% a 60% em algumas pisciculturas comerciais Csargo (2011). De acordo com os mesmos autores, o aumento da taxa de sobrevivência durante a fase de habituação ao alimento granulado contribui para reduzir substancial os custos associados à produção comercial de achigãs.

O controlos do peso e do comprimento no último dia de ensaio permitiu verificar que o peso, o comprimento e o Fator K foram significativamente mais elevados no

dia129 ( $p < 0,05$ ) ( $24,00 \text{ g} \pm 4,194$ ;  $12,73 \text{ cm} \pm 0,658$ ;  $1,162 \pm 0,139$ ), quando comparados com os valores obtidos no dia0 do ensaio ( $15,31 \text{ g} \pm 2,681$ ;  $11,48 \text{ cm} \pm 0,708$ ;  $1,007 \pm 0,112$ ) (Tabela 3).

Considera-se importante referir que o peso médio dos peixes selvagens no dia da captura (Tabela 2) foi ultrapassado entre os dia35 e dia67 do ensaio de alimentação, enquanto que o comprimento médio de captura ( $11,85 \text{ cm}$ ) foi ultrapassado entre os dia0 e dia35. No entanto, o Fator K dos peixes no dia de captura nunca foi ultrapassado durante os 129 dias de ensaio. Os achigãs foram pescados no início do outono, quando estava a terminar o período de crescimento rápido de verão. Quando os achigãs foram colocados no tanque para treino ao alimento granulado comercial, estava a iniciar-se a época do ano com temperaturas ambientes mais baixas e, conseqüentemente, com águas mais frias. Considera-se que esta situação terá afetado negativamente o consumo de alimentos e, conseqüentemente, a evolução do fator de condição corporal, o Fator K.

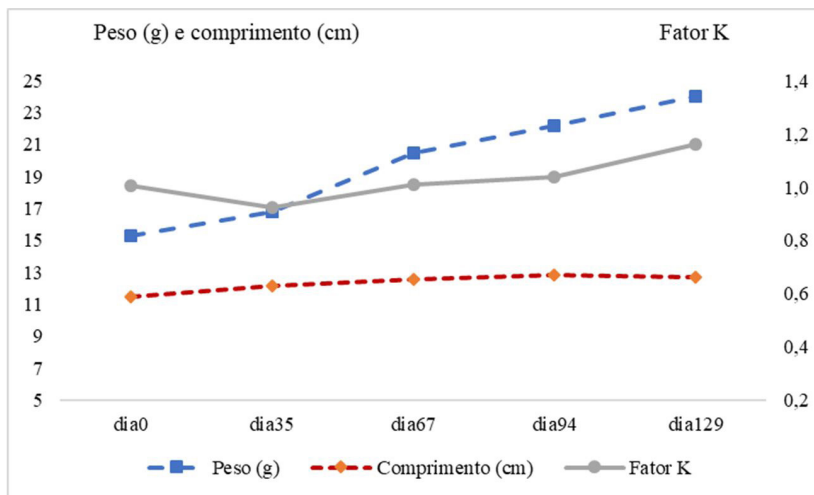
Tabela 3. Evolução do peso, do comprimento e do Fator K dos achigãs, de 25 de outubro (início do ensaio) até 03 de março (129 dias após o fim do período de habituação ao alimento composto comercial).

Data / dia	n	Temperatura (°C)	Peso (g) ( $\pm dp$ )	Comprimento (cm) ( $\pm dp$ )	Fator K ( $\pm dp$ )
25 outubro/dia <b>0</b>	67	24,6	$15,31^c \pm 2,681$	$11,48^c \pm 0,708$	$1,007^b \pm 0,112$
29 novembro/dia <b>35</b>	60	20,0	$16,78^c \pm 5,126$	$12,13^b \pm 0,778$	$0,923^c \pm 0,189$
31 dezembro/dia <b>67</b>	80	10,0	$20,46^b \pm 5,363$	$12,59^a \pm 0,771$	$1,010^b \pm 0,164$
27 janeiro/dia <b>94</b>	60	14,2	$22,15^{ab} \pm 5,171$	$12,86^a \pm 0,649$	$1,038^b \pm 0,194$
03 março/dia <b>129</b>	60	19,1	$24,00^{a+} \pm 4,194$	$12,73^a \pm 0,658$	$1,162^a \pm 0,139$

n – número de peixes amostrados;  $\pm dp$  – desvio padrão; notações diferentes na mesma coluna indicam  $p < 0,05$ .

Os resultados constantes da tabela 3 também podem ser visualizados na representação gráfica da Figura 1. Verifica-se que durante o período de 129 dias, o peso dos peixes aumentou 56,8%, o comprimento aumentou 10,9% e o Fator K aumentou 15,4%. Verifica-se também que o aumento de peso foi contínuo do dia0 ao dia129, correspondendo a uma taxa de crescimento específico (TCE) de 0,35%/dia. Num estudo realizado com juvenis de achigãs submetidos a temperaturas de água constantes durante o período de crescimento de 107 dias, Tidwell et al. (2003) observaram TCE que variaram de 1,3%/dia, quando a temperatura da água foi de 20°C, e 2,0%/dia, quando a temperatura da água foi de 26°C. Durante a realização deste trabalho, a temperatura média ponderada da água foi de 16,8°C, fator que terá contribuído para uma menor TCE. A temperatura da água variou entre 24,6°C em outubro, 10,0°C em dezembro, subindo depois para 19,1°C em março (Tabela 3).

Figura 1. Representação gráfica da evolução do peso, do comprimento e do Fator K dos achigãs desde o início do ensaio de crescimento (dia0) até aos 129 dias (dia129).



Analisando a figura 1 verifica-se que o Fator K diminuiu do dia0 até o dia35, aumentando depois progressivamente até ao dia129. Nesta altura atingiu o valor significativamente mais elevado de todo o período de ensaio ( $1,162 \pm 0,139$ ) ( $p < 0,05$ ). Utilizando a escala de avaliação de condição corporal de Fulton definida por Barnham e Baxter (1998) como, Fator K  $\geq 1,60$  excelente condição corporal, Fator K = 1,40 boa condição corporal, Fator K = 1,20 aceitável condição corporal, Fator K = 1,00 pobre condição corporal e Fator K  $\leq 0,80$  extremamente pobre condição corporal, pode-se considerar que os achigãs utilizados neste trabalho apresentaram ao fim de 129 dias de ensaio um Fator K aceitável. Tidwell et al. (2003) encontraram valores de Fator K para a mesma espécie piscícola variando entre 1,3 e 1,4 quando a temperatura da água foi de 20°C e 26°C, respetivamente.

Considera-se que a temperatura da água mais baixa, habitual na época do ano em que decorreu o estudo, terá condicionado os indicadores de crescimentos dos achigãs. Tidwell et al. (2003) referem que a temperatura da água é o fator ambiental mais importante em animais poiquilotérmicos podendo afetar diretamente o crescimento dos achigãs. Ao influenciar a atividade metabólica, a temperatura da água influencia as necessidades nutricionais, o trânsito digestivo e o consumo de alimentos.

A temperatura da água também influencia a quantidade de lípidos depositados e o seu perfil de ácidos gordos (Tidwell et al., 2003; Fantini et al., 2021), devido ao papel que os ácidos gordos insaturados desempenham na manutenção da fluidez das bio membranas a diferentes temperaturas ambientes. No entanto, não influencia a quantidade de aminoácidos presentes na parte edível dos achigãs (Tidwell et al., 2003).

A taxa de sobrevivência entre o dia0 e o dia129 do ensaio foi de 87,9%, valor que está de acordo com os valores referidos por outros autores para a mortalidade de achigãs durante o período de crescimento após a fase de adaptação ao alimento granulado comercial. Tidwell *et al.* (2002) referem taxas de sobrevivência que podem variar entre 97,7% e 86,5%.

## 4 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos indicam que durante o período de habituação ao alimento granulado houve uma redução acentuada do peso e do Fator K dos peixes amostrados. A taxa de sobrevivência pode ser considerada normal para esta fase.

No período de ensaio, entre o dia0 e o dia129, o peso, o comprimento e o Fator K dos achigãs aumentou significativamente, embora a baixa temperatura da água possa ter afetado o crescimento dos peixes. A taxa de sobrevivência verificada durante o período de crescimento pode ser considerada aceitável.

Conclui-se que o granulado comercial utilizado é adequado para a alimentação de juvenis da espécie *Micropterus salmoides*.

## 5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro à publicação concedido pelo CERNAS-IPCB [projeto UIDB/00681/2020] financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT).

## BIBLIOGRAFIA

Almaça, C. 1996. **Peixes dos rios de Portugal**. Edições INAPA, Lisboa, Portugal.

Arrignon, J. 1984. **Ecología y Psicicultura de Aguas Dulces** (tercera edición). Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, Spain.

Barnham, C., A. Baxter. 1998. Condition factor K for salmonid fish. Fisheries Notes, State of Victoria, Department of Primary Industries, pp 1-3.

Belo, A. P. B., V. R. O. Castro, A. M. Rodrigues. 2007. **Determination of some metal-ions in the bodies of black-bass (*Micropterus salmoides*) and Tench (*Tinca tinca*), and from water reservoirs close to border of Portugal/Spain**. International Journal of Agriculture and Biology 9 (3) (2007): 408-411.

Csargo, I. J. 2011. **Advanced largemouth bass production and stock contribution to small south Dakota - impoundment fisheries**. Master of Science in Wildlife and Fisheries Sciences Thesis, South Dakota State University, USA.

Fantini, L. E., M. A. Smith, M.J ones, L. A. Roy, R. Lochmann, A. M. Kelly. 2021. **Growth parameters in northern largemouth bass *Micropterus salmoides* raised near their upper thermal tolerance for 28 days**. Aquaculture Reports 21 (2021) 100845.

Gomes, J. M. P. 2009. **Efeito da inclusão de alimento vivo no desenvolvimento do estímulo predatório e na performance de crescimento de juvenis de truta comum (*Salmo trutta*)**. Dissertação de Mestrado em Ciências do Mar – Recursos Marinhos, Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar da Universidade do Porto, Portugal.

Han, D., X. Shan, W. Zhang, Y. Chen, Q. Wang, Z. Li, S.S. De Silva. 2018. **A revisit to fishmeal usage and associated consequences in Chinese aquaculture**. *Reviews in Aquaculture* 10: 493-507.

Heidinger, R. C. 2000. **A white paper on the status and needs of largemouth bass culture in the North Central Region**. Largemouth Bass White Paper, March, pp 1-10.

Li, S.L., M. Dai, H.J. Qiu, N.S. Chen. 2021. **Effects of fishmeal replacement with composite mixture of shrimp hydrolysate and plant proteins on growth performance, feed utilization, and target of rapamycin pathway in largemouth bass, *Micropterus salmoides***. *Aquaculture*, 533 (2021): 1-8.

Lourenço, R. M. V. 2004. **Repovoamentos piscícolas em Portugal Continental desde o século XIX**. Relatório Trabalho de Fim de Curso em Engenharia Florestal, ISA – UTL, Lisboa, Portugal.

NRC, 2011. **Nutrient Requirements of Fish**. National Academy Press, Washington, DC, USA.

Quinn, S., C. Paukert. 2009. **Centrarchid fisheries**. In: Centrarchid fishes, diversity, biology and conservation, Edited by Steven J. Cooke and David P. Philipp. Blackwell Publishing, United Kingdom, pp 312-338.

Rodrigues, A. M. 2017. **Recent research on largemouth bass production and fillet nutritional characterization of freshwater fish species in Portugal**. *Journal of Aquaculture Research and Development* 8 (2) (2017): 42.

Rodrigues, A. M., J. C. Sanches. 2012. **A produção comercial de achigãs (*Micropterus salmoides*)**. *Agroforum*, 28: 45-53.

Rodrigues, A. M., P. Antunes, L. Paulo, M. E. Pereira, L. Pinto-de-Andrade. 2018. **Metal contaminants in largemouth bass (*Micropterus salmoides* Lacépède, 1802) from different origins**. *International Journal of Research in Agriculture and Forestry* 5 (1) (2018): 8-14.

Rodrigues, A.M., A. Veloso. 2018. **Heavy metal levels on largemouth bass (*Micropterus salmoides* Lacépède, 1802) from Tagus River Basin**. *Oceanography & Fisheries Open Access Journal* 6(4), (2018):555691.

Silva, A. M. M. 1992. **Introdução de peixes dulciaquícolas na Ilha de S. Miguel: subsídios para a sua história**. Direcção Regional dos Recursos Florestais, Ponta Delgada, Açores, pp 77-83.

Tidwell, J. H., S. D. Coyle, C. D. Webster. 2002. **Centrarchids: largemouth bass, *Micropterus salmoides***. In *Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture*, Ed. C. D. Webster e C. Lim. CABI Publishing, USA, pp 374-380.

Tidwell, J. H., S. D. Coyle, L. A. Bright, A. VanArnum, D. Yasharian. 2003. **Effect of water temperature on growth, survival, and biochemical composition of largemouth bass *Micropterus salmoides***. *Journal of the World Aquaculture Society*, 34: 175-183.

Tidwell, J. H., S. D. Coyle, L. A. Bright. 2007. **Effects of different types of dietary lipids on growth and fatty acid composition of largemouth bass**. *North American Journal of Aquaculture* 69: 257-264.

Tidwell, J. H., S. D. Coyle, T. A. Woods. 2000. **Species profile: largemouth bass**. Southern Regional Aquaculture Center, 722.

Wang, L., Z. Cui, X. Ren, P. Li, Y. Wang. 2021. **Growth performance, feed cost and environmental impact of largemouth bass *Micropterus salmoides* fed low fish meal diets.** Aquaculture Reports, 20 (2021): 100757.

Wu, Y., Y. Wang, X. Ren, D. Huang, G. Si, J. Chen. 2021. **Replacement of fish meal with gamma-ray irradiated soybean meal in the diets of largemouth bass *Micropterus salmoides*.** Aquaculture Nutrition 27: 977-985.



# CAPÍTULO 20

## EFICÁCIA DO TRATAMENTO COMBINADO DE AMITRAZ E FLUMETRINA NO CONTROLO DA VARROOSE<sup>1</sup>

Data de submissão: 16/06/2022

Data de aceite: 01/07/2022

### Maria Alice Carvalho Hipólito

Escola Superior Agrária  
Instituto Politécnico de Viseu  
Quinta da Alagoa  
Estrada de Nelas  
Ranhados, 3500-606  
Viseu, Portugal

### Catarina Manuela Almeida Coelho

Escola Superior Agrária  
Instituto Politécnico de Viseu  
Quinta da Alagoa  
Estrada de Nelas  
Ranhados, 3500-606  
Viseu, Portugal  
Centro de Investigação  
CERNAS-IPV  
Instituto Politécnico de Viseu  
Campus Politécnico  
Repeses, 3504-510  
Viseu, Portugal  
ORCID: 0000-0002-5272-7303

### Sância Maria Afonso Pires

Instituto Politécnico de Bragança  
Escola Superior Agrária  
Campus Sta. Apolónia  
Apartado 1172, 5301-855  
Bragança, Portugal  
Centro de Investigação de  
Montanha (CIMO)  
Instituto Politécnico de Bragança  
Campus Sta. Apolónia, 5300-253  
Bragança, Portugal  
ORCID: 0000-0001-8427-0179

### Jorge Belarmino Ferreira de Oliveira

Escola Superior Agrária  
Instituto Politécnico de Viseu  
Quinta da Alagoa  
Estrada de Nelas  
Ranhados, 3500-606  
Viseu, Portugal  
Centro de Investigação  
CERNAS-IPV  
Instituto Politécnico de Viseu  
Campus Politécnico  
Repeses, 3504-510  
Viseu, Portugal  
ORCID: 0000-0002-9391-5191

<sup>1</sup> Este trabalho é financiado por Fundos Nacionais através da FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia, I.P., no âmbito do projeto Ref<sup>a</sup> UIDB/00681/2020. Agradecemos adicionalmente ao Centro de Investigação CERNAS, ao Instituto Politécnico de Viseu e ao Instituto Politécnico de Bragança, pelo apoio concedido.

**RESUMO:** Os ácaros da espécie *Varroa destructor* são apontados como um dos principais factores envolvidos na morte e desaparecimento de colónias de abelhas melíferas. Porém, o crescente aparecimento de resistência aos acaricidas, devido à utilização

sucessiva da mesma molécula ou má aplicação das existentes, criou a necessidade de desenvolver novas moléculas e novos métodos de controlo. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia da utilização de amitraz e flumetrina, utilizando fármacos homologados em Portugal, para o controlo da varroose. Foram utilizadas 38 colmeias, de dois apiários localizados no Nordeste de Portugal. A seleção de colónias foi efetuada com recurso a estrados sanitários e definindo como nível de infestação mínimo aquelas que apresentaram um número superior a 50 varroas por estrado, monitorizadas num período de 24 horas. De cada apiário, 19 colónias foram divididas em três grupos: um controlo, com 5 colónias (tratadas com amitraz) e dois grupos teste, com 14 colónias (7+7) tratadas alternadamente com amitraz e flumetrina. Foram realizadas duas aplicações de cada tratamento por períodos de 42 dias cada, com monitorização da queda de ácaros. No tratamento final foi utilizado o timol e outros óleos essenciais. Foi avaliada a eficácia dos tratamentos através de análise de variância, usando o SPSS, 28 ( $p < 0,05$ ). O tratamento exclusivo com amitraz apresentou melhores resultados com uma taxa de eficácia de 98,1%. O tratamento com amitraz+flumetrina apresentou uma eficácia de 96,9%. Ambos os tratamentos combinados apresentaram resultados inferiores ao controlo, apesar de apenas o flumetrina+amitraz (94,7%) apresentar diferenças significativas com os restantes ( $p < 0,05$ ). Os acaricidas estudados apresentaram uma eficácia de cerca de 95% (flumetrina) ou superior a 95% (amitraz). Além disso, como os seus princípios activos não pertencem à mesma classe química, estes medicamentos são adequados para a rotação entre si, permitindo diminuir o desenvolvimento de resistência destes ácaros aos acaricidas.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Apis mellifera*. *Varroa destructor*. Eficácia. Amitraz. Flumetrina.

## EFFICACY OF THE COMBINED TREATMENT OF AMITRAZ AND FLUMETHRIN IN THE CONTROL OF VARROASIS

**ABSTRACT:** Mites of the species *Varroa destructor* are pointed out as one of the main factors involved in the death and disappearance of honeybee colonies. However, the increasing appearance of resistance to acaricides, due to successive use of the same molecule or misapplication of existing ones, has created the need to develop new molecules and new control methods. The objective of this study was to evaluate the efficacy of amitraz and flumethrin, using drugs approved in Portugal, for varroasis control. Thirty-eight hives from two apiaries located in Northeast of Portugal were used. The selection of colonies was made using health stalls and defining as minimum infestation level those with more than 50 varroa per stall, monitored over a 24 hour period. From each apiary, 19 colonies were divided into three groups: one control, with 5 colonies (treated with amitraz) and two test groups, with 14 colonies (7+7) treated alternately with amitraz and flumethrin. Two applications of each treatment were made for periods of 42 days each, with monitoring of mite shedding. Thymol and other essential oils were used in the final treatment. The effectiveness of the treatments was evaluated by analysis of variance using SPSS, 28 ( $p < 0.05$ ). The exclusive treatment with amitraz showed better results with an efficacy rate of 98.1%. The amitraz+flumethrin treatment showed an efficacy of 96.9%. Both combined treatments showed lower results than the control, although only flumethrin+amitraz (94.7%) showed significant differences with the others ( $p < 0.05$ ). The studied acaricides showed an efficacy of about 95% (flumethrin) or higher than 95% (amitraz). Moreover, since their active ingredients do not belong to the same chemical

class, these drugs are suitable for rotation with each other, allowing to decrease the development of resistance of these mites to acaricides.

**KEYWORDS:** *Apis mellifera*. *Varroa destructor*. Combined treatment. Amitraz. Flumethrin.

## 1 INTRODUÇÃO

A varroose é uma doença parasitária das abelhas causada pelo ácaro *Varroa destructor* (Anderson & Trueman, 2000). Este ácaro foi observado pela primeira vez nas abelhas da espécie *Apis cerana*. Nesta espécie, as varroas causam danos ligeiros, pois o seu crescimento populacional era limitado, pois só se reproduzem nos alvéolos de zangão (Hernández-Rodríguez *et al.*, 2022). Em meados do século XX, este ácaro passou a infestar colónias de *Apis mellifera*, evidenciando uma maior eficiência reprodutiva nesta espécie de abelhas, pois conseguem reproduzir-se tanto nos alvéolos de zangão como nos de obreiras (Beaurepaire *et al.*, 2015). Os danos que a varroa causa no hospedeiro *Apis mellifera* são severos, uma vez que se alimenta dos corpos adiposos da criação e das abelhas adultas (Ramsey *et al.*, 2019). Para além da ação expoliadora direta, que resulta numa perda de peso e de vigor das abelhas, reduzindo a sua longevidade (Rosenkranz *et al.*, 2010), a *Varroa destructor* pode ainda ser vetor de vários vírus, como o vírus de paralisia aguda de abelhas (ABPV) e o vírus das asas deformantes (DWV) (Bernardi & Venturino, 2016).

O ciclo de vida do ácaro *Varroa destructor* encontra-se dividido em duas fases: a fase reprodutiva e a fase forética. A fase reprodutiva começa com entrada da fêmea adulta num alvéolo não operculado onde se irá alimentar do tecido adiposo da larva, com o objetivo de realizar a postura de ovos, pouco depois da operculação, que ocorre por volta do 9.º dia (Murilhas & Casaca, 2004). O primeiro ovo (haploide) dá origem a um ácaro macho e a cada 30 horas nasce uma nova fêmea (diploide), que irá acasalar com este macho, quando ambos estiverem férteis (Ifantidis, 1983; Rehm & Ritter, 1989, citados por Boot *et al.*, 1995). No alvéolo de obreira apenas duas fêmeas irão ser fecundadas enquanto no alvéolo de zangão há possibilidade de três fêmeas serem fecundadas, havendo preferência do ácaro para o alvéolo de zangão que é mais largo que o de obreira (Godinho, 2009, citado por Pascoal, 2012). Este facto é exacerbado pelo maior número de abelhas que visitam os alvéolos de zangão, por haver maior quantidade de alimento e por haver maior libertação de feromonas por parte destes do que das obreiras (Silva, 2010). Com a desoperculação, termina o desenvolvimento dos ácaros. Os machos e as fêmeas imaturas morrem nos alvéolos e são removidos pelas abelhas (Calderón *et al.*, 2010). Na fase forética, as varroas fêmeas fecundadas saem da célula, juntamente com a abelha, podendo passar entre as abelhas, onde vivem durante meses. Sem a abelha, a varroa não é capaz de sobreviver morrendo em poucos dias (Murilhas & Casaca, 2004).

A varroose é o principal problema da apicultura ocidental e impossível de erradicar no atual estado do conhecimento humano (Murilhas & Casaca, 2004). Está presente em todos os continentes e a nível nacional tem estatuto de doença endémica, encontrando-se, por isso, presente em todos os apiários. As abelhas *Apis mellifera* não têm conseguido criar mecanismos de resistência ao parasita, pelo que se verifica atualmente uma mortalidade elevada, transformando-se num dos grandes desafios sanitários dos apicultores em todo o mundo (Steinhauer *et al.*, 2018).

A utilização de métodos de controlo da varroa é essencial para manter a população de ácaros a um nível que não comprometa a sobrevivência das colónias (Rosenkranz *et al.*, 2010). Caso não seja aplicado qualquer tratamento os enxames ficam mais fracos tornando-se vulneráveis a outras doenças e, em casos mais graves pode mesmo levar à perda das colónias. Os métodos utilizados podem ser de dois tipos; os biotecnológicos e os químicos. Os métodos biotecnológicos consistem na utilização de técnicas que permitem reduzir a população de varroa na colónia tirando proveito das particularidades do ciclo da varroa e/ou do comportamento das obreiras. Como por exemplo: a remoção da criação de zangão (Calderone, 2002); a técnica da interrupção da criação; a criação de rainhas resistentes à varroa (Osterlund, 2008); a pulverização de açúcar em pó sobre as abelhas, para estimular o comportamento higiénico (Hamdan, 2009); a mudança regular de quadros com ceras velhas ou com excesso de alvéolos de zangão. Alguns destes métodos têm-se mostrado bastante eficazes, atrasando consideravelmente o crescimento da população de varroas, reduzindo significativamente a utilização de químicos por parte dos apicultores. A aplicação de algumas destas técnicas requer experiência dos apicultores para que executem as técnicas de forma correta (Murilhas & Casaca, 2004).

Os métodos de controlo químicos baseiam-se na utilização de substâncias acaricidas naturais (ácido fórmico, ácido láctico, ácido oxálico, óleos essenciais, como o timol, o eucaliptol, etc.), ou de síntese para matar as varroas. Alguns apicultores designam os primeiros produtos por acaricidas fortes e os segundos por acaricidas fracos. Estes produtos podem atuar por contacto direto ou por evaporação (DGAMV, 2015; DGAMV, 2016; DGAMV, 2022). No primeiro caso, o contacto pode ocorrer directamente no ácaro ou indirectamente através da abelha, com impregnação no seu corpo ao tocar nas tiras acaricidas, transferindo para o ácaro o princípio activo (DGAMV, 2016; DGAMV, 2022). No segundo caso, o ácaro é sujeito à exposição a uma dose letal do princípio ativo, que se encontra disperso no ambiente interno da colmeia (DGAMV, 2015).

É na classe dos tratamentos químicos que se encontram os tratamentos homologados em Portugal (testados e autorizados pelas entidades oficiais) onde apenas

se podem utilizar os seguintes princípios ativos: amitraz, fluvalinato, flumetrina, timol, ácido fórmico e ácido oxálico (DGAV, 2022).

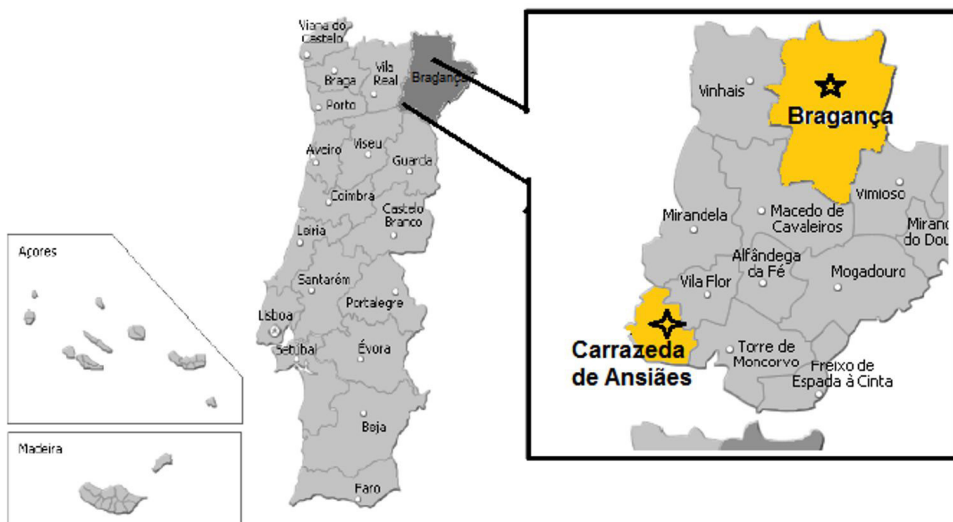
Ao longo dos anos, vários apicultores e investigadores, um pouco por todo o mundo, têm relatado resistências aos tratamentos químicos contra a varroa, tanto aos piretróides (Millani *et al.*, 1995; Elzen *et al.*, 1998; Gracia-Salinas *et al.*, 2006), como mais recentemente ao amitraz (Rodríguez-Dehaibes *et al.*, 2005; Maggi *et al.*, 2010; Kamler *et al.*, 2016; Rinkevich, 2020), sendo aconselhado fazer a rotatividade de substâncias químicas.

O objectivo deste trabalho foi avaliar a eficácia da utilização combinada de amitraz e flumetrina, utilizando fármacos homologados em Portugal, para o controlo da varrose.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas colmeias, distribuídas por dois apiários localizados em Bragança e Carrazeda de Ansiães (Figura 1), no Nordeste de Portugal.

Figura 1. Localização da área de estudo.



As colmeias usadas nos dois apiários são de modelo *Langstroth*, com uma largura de 43 cm, comprimento de 51 cm e altura de 24 cm, contendo 10 quadros no ninho.

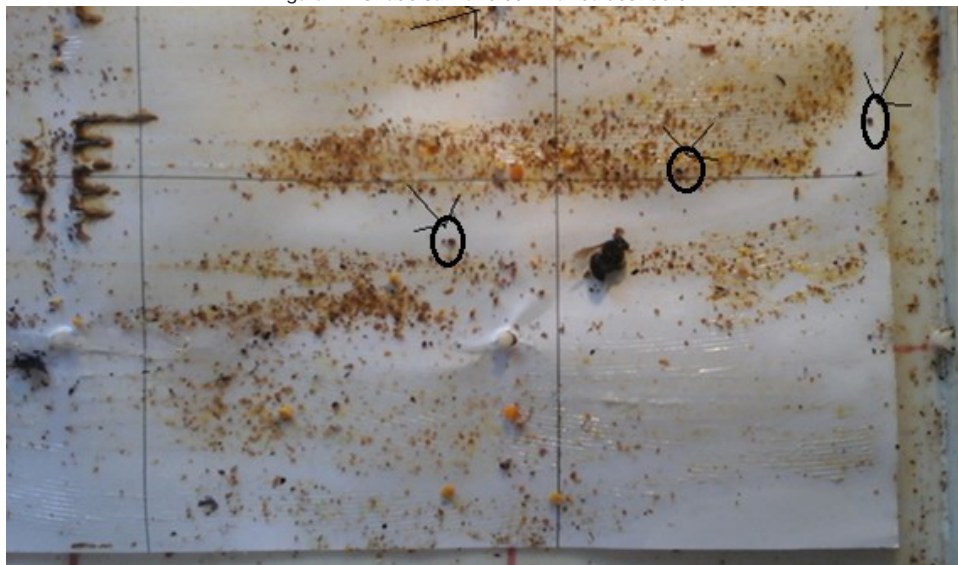
### 2.1 SELECÇÃO PRÉVIA DE COLÓNIAS

A seleção das colónias para o ensaio foi realizada com base na contagem de varroas.

A contagem de varroas foi efetuada com recurso a estrados sanitários e definindo como nível de infestação mínimo aquelas que apresentaram um número superior a 50 varroas por estrado, monitorizadas num período de 24 horas (Figura 2).

Foram selecionadas 19 colónias de cada apiário num total de 38.

Figura 2. Estrado sanitário com *Varroa destructor*.



## 2.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

As 19 colónias de cada apiário foram divididas em três grupos experimentais: um controlo (T0), com 5 colónias (tratadas com amitraz, nas duas aplicações) e dois grupos teste com 14 colónias (7+7) com aplicações alternadas sequenciais de amitraz e flumetrina (T1) e flumetrina e amitraz (T2). Cada aplicação foi realizada com um intervalo de 42 dias, com monitorização da queda de ácaros. No final das duas aplicações realizadas, em cada grupo, procedeu-se a uma aplicação final, com um produto biológico homologado para o tratamento da varroose à base de timol e outros óleos essenciais para eliminação das varroas remanescentes.

O amitraz foi aplicado sob a forma de tiras plásticas porosas, sendo libertado uniformemente ao longo do tempo, impregnando as abelhas por contacto direto. A dose recomendada é duas tiras, que devem ser colocadas entre os quadros de criação (DGAMV, 2022). A flumetrina foi aplicada igualmente sob a forma de tiras plásticas de forma ao produto ser libertado uniformemente ao longo do tempo, atuando igualmente por contacto direto. A dose recomendada é também as duas tiras, que devem ser colocadas entre os

quadros de criação (DGAMV, 2016). O timol e outros óleos essenciais são administrados sob a forma de esponjas com cerca de 7,5 x 5,0 x 0,5 cm. Cada esponja deve ser dividida em quatro e distribuída pelos quatro cantos da colmeia, para obter melhor eficácia. Deve ser colocada uma esponja a cada 7 dias, ficando o tratamento completo no final de 4 esponjas. Este tratamento ocorre por evaporação dos óleos essenciais (DGAMV, 2015).

## 2.3 AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DOS TRATAMENTOS

A contagem das varroas caídas durante o ensaio foi efectuada com intervalos de 3 a 7 dias, usando estrados sanitários revestidos com uma folha de cartolina untada com vaselina.

A eficácia de cada aplicação e tratamento foi calculada, para cada colmeia, utilizando o número de varroas caídas, através da seguinte fórmula:

$$\text{Eficácia (\%)} = \frac{\text{número de varroas caídas durante a aplicação ou tratamento}}{\text{número de varroas totais caídas após a aplicação final}} \times 100$$

## 2.4 EDIÇÃO DE DADOS E ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Foi avaliada a eficácia da utilização das aplicações sucessivas e dos tratamentos globais no combate à varroose através de análises de variância, usando o SPSS, v28 ( $p < 0,05$ ). Os modelos incluíam o local do apiário e o tipo de tratamento (foi excluída a interação entre fatores por, numa análise prévia, não apresentarem diferenças significativas em qualquer uma das aplicações ou tratamento global).

## 3 RESULTADOS

Na primeira aplicação, no apiário de Bragança, o princípio ativo que demonstrou maior eficácia foi o amitraz, com 91,3% de queda de varroas no grupo T1 e 87,1%, no grupo T0. A utilização da flumetrina demonstrou menor eficácia com 65,3% (Quadro 1). De forma semelhante, no apiário de Carrazeda de Ansiães, foi também o amitraz o princípio ativo que mostrou maior eficácia, com 91,2% no grupo T0 e 90,2% no grupo T1. Também aqui foi a flumetrina que mostrou menor eficácia (70,2%, no grupo T2; Quadro 1). Verificaram-se diferenças significativas entre a eficácia na primeira aplicação do amitraz e da flumetrina ( $p = 0,001$ ; Quadro 1). Contudo, o local do apiário não influenciou a eficácia de cada um dos grupos ( $p = 0,421$ ).

A segunda aplicação foi, de um modo geral, menos eficaz que a primeira. Neste caso, em Bragança, o princípio ativo mais eficaz foi novamente o amitraz (30,4%, no



grupo T2), onde anteriormente havia sido aplicada a flumetrina (Quadro 1). A aplicação de flumetrina revelou-se menos eficaz, com 7,3% no grupo T1. A situação foi semelhante em Carrazeda de Ansiães, onde a aplicação de amitraz no grupo T2 resultou numa maior eficácia (24,2%). Também na segunda aplicação ocorreram diferenças significativas entre a eficácia na aplicação do amitraz e da flumetrina ( $p=0,001$ ; Quadro 1).

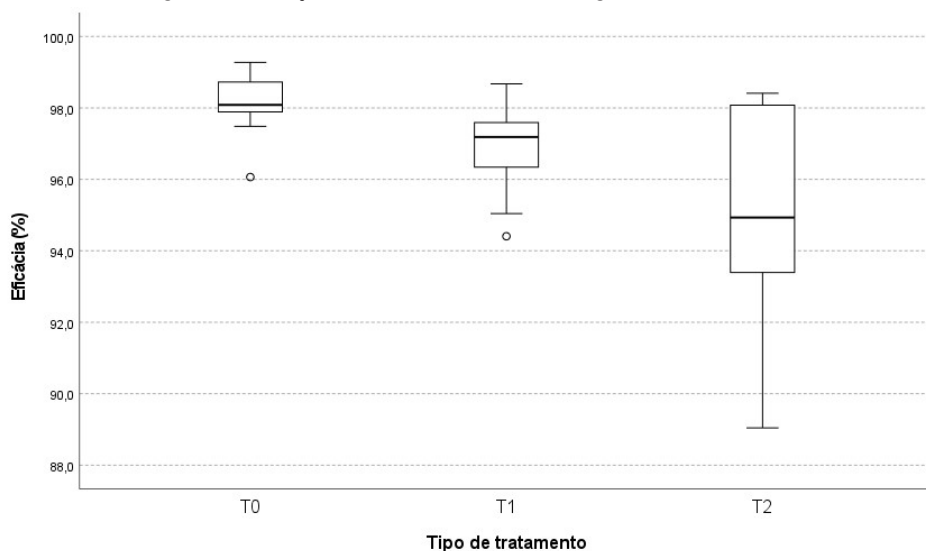
A aplicação final resultou numa menor eficácia nos grupos que tiveram a primeira aplicação com amitraz (T0 e T1), com diferenças significativas ( $p=0,002$ ) em relação ao grupo T2 (Quadro 1). Por outro lado, o local do apiário não influenciou a eficácia de cada um dos grupos ( $p=0,084$ ; Quadro 1).

Quadro 1. Eficácia média ( $\pm$  desvios-padrão; %) dos acaricidas, de acordo com o local do apiário e o tipo de tratamento, em cada aplicação e no global.

<b>Aplicação/ Tratamento</b>	<b>Local</b>	<b>T0</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>Prob.</b>
Primeira	Bragança	87,1 $\pm$ 4,3	91,3 $\pm$ 5,7	65,3 $\pm$ 10,0	0,421
	Carrazeda	91,2 $\pm$ 4,5	90,2 $\pm$ 5,0	70,2 $\pm$ 17,5	
	Total	89,2 $\pm$ 4,7 <sup>a</sup>	90,7 $\pm$ 5,2 <sup>a</sup>	67,8 $\pm$ 13,9 <sup>b</sup>	
Segunda	Bragança	11,4 $\pm$ 4,2	7,3 $\pm$ 3,8	30,4 $\pm$ 9,4	0,173
	Carrazeda	6,9 $\pm$ 3,7	6,9 $\pm$ 3,5	24,2 $\pm$ 14,8	
	Total	9,1 $\pm$ 4,4 <sup>a</sup>	7,1 $\pm$ 3,5 <sup>a</sup>	27,3 $\pm$ 12,3 <sup>b</sup>	
Final	Bragança	1,5 $\pm$ 0,8	2,9 $\pm$ 1,2	4,2 $\pm$ 2,0	0,084
	Carrazeda	2,4 $\pm$ 1,0	3,3 $\pm$ 1,3	6,5 $\pm$ 4,0	
	Total	1,9 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>	3,1 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>	5,3 $\pm$ 3,2 <sup>b</sup>	
Global	Bragança	98,5 $\pm$ 0,8	97,1 $\pm$ 1,2	95,8 $\pm$ 2,0	0,084
	Carrazeda	97,6 $\pm$ 1,0	96,7 $\pm$ 1,3	93,5 $\pm$ 4,0	
	Total	98,1 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>	96,9 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>	94,7 $\pm$ 3,2 <sup>b</sup>	

Em relação à avaliação global, a escolha do amitraz na primeira aplicação é a solução que se mostrou mais eficaz (T0=98,1% e T1=96,9%), relativamente ao grupo T2 (94,7%;  $p=0,002$ ), como podemos observar nos resultados do quadro 1. Nos tratamentos combinados, o grupo T1 que teve na primeira aplicação o amitraz e na segunda aplicação flumetrina, grupo T2, foi o que mostrou melhor eficácia, com 96,9%, em detrimento da aplicação inversa, no grupo T2 (94,7%). Além disso, verificamos que o grupo T2 apresenta maior dispersão dos resultados (Figura 3), sendo, portanto, menos homogénea a resposta de cada colónia no combate à varrose.

Figura 3. Distribuição da eficácia (%) no tratamento global contra a varroa.



#### 4 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Em relação aos resultados obtidos neste estudo, o amitraz em duas aplicações mostrou ser a melhor opção para o tratamento da varroa, com uma eficácia superior a 98%. Em relação aos tratamentos combinados, o que mostrou maior eficácia foi o que começou por utilizar o amitraz seguido da flumetrina, com 96,9% de eficácia, sendo a tratamento que utiliza flumetrina seguido de amitraz o menos eficaz (94,7%).

Foram encontradas eficácias elevadas com a utilização de amitraz em 2007 na Polónia (Chuda-Mickiewicz *et al.*, 2007). Em França, a Fédération Nationale des Organisations Sanitaires Apicoles Départementales (FNOSAD) realiza, anualmente, desde 2007, uma monitorização de campo, sobre a eficácia dos medicamentos veterinários acaricidas autorizados, para o tratamento do ácaro Varroa. Em 2014, o amitraz foi o princípio ativo mais eficaz, com uma eficácia superior a 95% em 87% das colónias tratadas (Vandame, 2014). Contudo, dados de 2020, mostraram que o mesmo produto comercial à base de amitraz teve uma eficácia superior a 95% apenas em 49% das colónias tratadas, enquanto um outro produto também com amitraz apresentou uma eficácia superior a 95% em 67% das colónias tratadas, existindo já sinais de colónias resistentes a esta substância (Vandame, 2022). Em Portugal, em 2007, apicultores queixavam-se de uma diminuição da eficácia do amitraz no combate da varroa. Foi realizado um estudo com 4000 colmeias, das quais 1579 forneceram dados conclusivos, indicando que 17% teriam uma população de varroa tolerante ao amitraz (utilizando como limite inferior de eficácia

os 80%) (Pires *et al.*, 2007). Dados recentes em Espanha, de um bioensaio que utilizou três acaricidas diferentes e cujo princípio ativo era o amitraz, todos evidenciam uma eficácia inferior a 95%, havendo mesmo casos em que a eficácia foi inferior aos 90%, mostrando um desempenho abaixo do que era expectável (Hernández-Rodríguez *et al.*, 2021).

O amitraz é um dos produtos químicos de síntese mais utilizados pelos apicultores. Apesar do longo historial da sua utilização é um princípio ativo ao qual a varroa ainda é susceptível (Rinkevich, 2020). Atua por contacto direto e o modo lento de libertação permite maior eficácia contra a varroose. O amitraz é um parasiticida pertencente ao grupo inseticida da formamida. O principal mecanismo de ação é a inibição dos recetores octopaminérgicos no sistema nervoso central dos ácaros, induzindo o aumento da atividade neuronal, comportamento anormal, desapego e morte. Assim, a abelha contacta com a tira de amitraz, impregnando a cutícula exterior da varroa, atuando contra o ácaro (DGAMV, 2022).

Em relação à flumetrina foram encontrados valores de eficácia bastante diferentes. Foram relatados valores de eficácia médios de 96,5% no Canadá, apesar da grande variabilidade nos valores encontrados (de 58,7% a 100%; Olmstead *et al.*, 2019). Valores bastante mais baixos foram relatados na Croácia, encontrando-se entre os 22,8% e os 56,2% de eficácia (Gajger *et al.*, 2020). A flumetrina é um parasiticida do grupo dos piretróides sintéticos que interfere com o canal de sódio da membrana da célula nervosa durante a excitação, resultando em descargas prolongadas e repetitivas e, por último, na morte do parasita (DGAMV, 2015).

Por todo o mundo, desde há muito tempo que são conhecidas as resistências aos acaricidas piretróides, entre os quais a flumetrina, devido à sua utilização em larga escala (Milani, 1995; Rodríguez-Dehaibes *et al.*, 2005; Mitton *et al.*, 2016).

Em 2012 (Pascoal, 2012) foi efetuado um trabalho semelhante ao nosso, utilizando dois produtos acaricidas combinados homologados em Portugal, com objetivo de determinar sua eficácia no controlo de *Varroa destructor*, o timol (Thymovar®) e o fluvalinato (Apistan®). O grupo, em que foi usado timol no primeiro tratamento e fluvalinato no segundo tratamento, foi o que teve menor eficácia (87,3%) em comparação com o grupo em se alternou a ordem dos tratamentos (91,2%; Pascoal, 2012). Neste caso, o fluvalinato, sendo também um acaricida piretróide, demonstrou menor eficácia quando foi usado para primeiro tratamento, contrariamente ao sucedido no nosso trabalho.

Devido à diminuição da eficácia dos poucos acaricidas homologados em Portugal (Pires *et al.*, 2007), a utilização combinada de dois ou mais acaricidas, bem como a rotatividade dos produtos químicos e princípios ativos utilizados, tem vindo a apresentar-se como uma alternativa para prevenir o desenvolvimento de resistências.

## 5 CONCLUSÕES

A eficácia dos acaricidas pode variar pela presença de populações de *Varroa destructor* resistentes. A combinação de produtos químicos utilizados neste trabalho mostrou ser uma boa escolha para o controlo da varroose e como os seus princípios activos não pertencem à mesma classe química, estes produtos são adequados para a rotação entre si, permitindo assim diminuir o desenvolvimento de resistência destes ácaros aos acaricidas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anderson, D., Trueman, J.W.H. (2000). *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology*, 24: 165-89. 10.1023/A:1006456720416.

Beaurepaire, A.L., Truong, T.A., Fajardo, A.C., Dinh, T.Q., Cervancia, C, Moritz, R.F. (2015) Host specificity in the honeybee parasitic mite, *Varroa* spp. in *Apis mellifera* and *Apis cerana*. *Plos One*, 10: e0135103. 10.1371/journal.pone.0135103.

Bernardi, S., Venturino, E. (2016). Viral epidemiology of the adult *Apis mellifera* infested by the *Varroa destructor* mite. *Heliyon*, 2(5): e00101. 10.1016/j.heliyon.2016.e00101.

Boot, W.J., van Baalen, M. & Sabelis, M.W. (1995). Why do *Varroa* mites invade worker brood cells of the honey bee despite lower reproductive success?. *Behav Ecol Sociobiol*, 36: 283-289. 10.1007/BF00165837.

Calderón, R.A., van Veen, J.W., Sommeijer, M.J., Sanchez, L.A. (2010). Reproductive biology of *Varroa destructor* in Africanized honey bees (*Apis mellifera*). *Experimental and Applied Acarology*, 50: 281-297. 10.1007/s10493-009-9325-4.

Calderone, N.W. (2002). Evaluation of drone brood removal for management of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in the Northeastern United States. Cornell University Master Beekeeper Program. Consultado a 9/06/2022. [http://www.masterbeekeeper.org/pdf/research\\_summary\\_05.pdf](http://www.masterbeekeeper.org/pdf/research_summary_05.pdf).

Chuda-Mickiewicz, B., Prabucki, J., Kazimierczak, J., Samborski, J. (2007). The varroacidal efficacy of Apitraz. *Medycyna Weterynaryjna*, 63 (1): 110-112.

DGAMV (2015). Resumo das características do medicamento - APILIFE VAR tira para colmeias de abelhas. Consultado a 9/06/2022. [https://medvet.dgav.pt/medvet\\_dgav/static/RCM/APILIFE\\_VAR.pdf](https://medvet.dgav.pt/medvet_dgav/static/RCM/APILIFE_VAR.pdf).

DGAMV (2016). Resumo das características do medicamento - Bayvarol 3,6 mg tira para colmeia. Consultado a 9/06/2022. <https://myhealthbox.eu/pt/view/1871456/4b53a07867ddd8343b8f995bfa94dff4/leaflet>.

DGAMV (2022). Resumo das características do medicamento - APITRAZ 500 mg tiras para colmeias de abelhas. Consultado a 9/06/2022. <https://medvet.dgav.pt/products/667-01-13dfvpt-apitraz-500-mg-tiras-para-colmeias-de-abelhas-9949>.

DGAV (2022). Base de dados de Medicamento de uso Veterinários. Consultado a 9/06/2022. <https://medvet.dgav.pt/>.

- Elzen, P.J., Eischen, F.A., Baxter, J.B., Pettis, J., Elzen, G.W., Wilson, W.T. (1998). Fluvalinate resistance in *Varroa jacobsoni* from several geographic locations. *American Bee Journal*, 138: 674–676.
- Gajger, I.T., Svečnjak, L., Bubalo, D., Žorati, T. (2020). Control of *Varroa destructor* Mite Infestations at Experimental Apiaries Situated in Croatia. *Diversity*, 12(1): 12. 10.3390/d12010012.
- Gracia-Salinas, M.J., Ferrer-Dufol, M., Latorre-Castro, E., Monero-Manera, C., Castillo-Hernández, J.A., Lucientes-Curd, J., Peribanez-Lopez, M.A. (2006). Detection of fluvalinate resistance in *Varroa destructor* in Spanish apiaries. *Journal of Apicultural Research*, 45: 101–105.
- Hamdan, K. (2009). Preventing beeswax combs from wax moth damage. Consultado a 9/06/2022. [http://www.countryrubes.com/images/Preventing\\_beeswax\\_combs\\_from\\_wax\\_moth\\_damage.pdf](http://www.countryrubes.com/images/Preventing_beeswax_combs_from_wax_moth_damage.pdf).
- Hernández-Rodríguez, C.S., Marín, Ó., Calatayud, F., Mahiques, M.J., Mompó, A., Segura, I., Simó, E., González-Cabrera, J. (2021). Large-Scale Monitoring of Resistance to Coumaphos, Amitraz, and Pyrethroids in *Varroa destructor*. *Insects*, 12(1): 27. 10.3390/insects12010027.
- Hernández-Rodríguez, C.S., Moreno-Martí, S., Almecija, G., Christmon, K., Johnson, J.D., Ventelon, M., vanEngelsdorp, D., Cook, S., González-Cabrera, J. (2022). Resistance to amitraz in the parasitic honey bee mite *Varroa destructor* is associated with mutations in the  $\beta$ -adrenergic-like octopamine receptor *Journal of Pest Science*, 95: 1179–1195. 10.1007/s10340-021-01471-3.
- Kamler, M., Nesvorna, M., Stara, J., Erban, T., Hubert, J. (2016). Comparison of tau-fluvalinate, acrinathrin, and amitraz effects on susceptible and resistant populations of *Varroa destructor* in a vial test. *Experimental and Applied Acarology*, 69: 1–9. 10.1007/s10493-016-0023-8.
- Maggi, M.D., Ruffinengo, S.R., Negri, P., Eguaras, M.J. (2010). Resistance phenomena to amitraz from populations of the ectoparasitic mite *Varroa destructor* of Argentina. *Parasitology Research*, 107: 1189–1192. 10.1007/s00436-010-1986-8.
- Milani, N. (1995). The resistance of *Varroa-Jacobsoni* Oud to pyrethroids - A laboratory assay. *Apidologie*, 26(5): 415–429. 10.1051/apido:19950507.
- Mitton, G.A., Quintana, S., Martínez, P.G., Mendoza, Y., Ramallo, G., Brasesco, C., Villalba, A., Eguaras, M.J., Maggi, M.D., Ruffinengo, S.R. (2016). First record of resistance to flumethrin in a varroa population from Uruguay. *Journal of Apicultural Research*, 55 (5): 422–427. 10.1080/00218839.2016.1257238.
- Murilhas, A., Casaca, J. (2004). Conviver com a Varroa em Portugal – um contributo para a adopção de boas práticas apícolas de convivência com a Varroa. Relatório do Projecto AVAPInt – apicultura, varroose, ambiente e protecção integrada (AGRO 354/01). Universidade de Évora, Évora. 32 pp. Consultado a 9/06/2022. <https://xdocs.com.br/doc/conviver-com-a-varroa-em-portugal-w283m43l32n6>.
- Olmstead, S., Menzies, C., McCallum, R., Glasgow, K., Cutler, C. (2019). Apivar® and Bayvarol® suppress Varroa mites in honey bee colonies in Canadian Maritime Provinces. *Journal of the Acadian Entomological Society*, 15: 46–49.
- Osterlund, E. (2008). Sustainable beekeeping. *Bee Culture*, June: 34–37. Consultado a 9/06/2022. <http://www.elgon.se/story-2008/SustainableBeek.pdf>
- Pascoal, M.A.A. (2012). Avaliação da eficácia de nova estratégia de combate à varroose da abelha (*Apis mellifera*) em Portugal: tratamento combinado de acaricidas homologados. Tese de Mestrado. UTL-Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa. Consultado a 9/06/2022. <http://hdl.handle.net/10400.5/4947>.

Pires, S., Pereira, O., Murilhas, A. (2007). Field and laboratory testing for amitraz-tolerant *Varroa* populations. How comparable are their results [abstract]. Apimondia Programme & Abstracts, 40: 143. Melbourne: Apimondia.

Ramsey, S.D., Ochoa, R., Bauchan, G., Gulbranson, C., Mowery, J.D., Cohen, A., Lim, D., Joklik, J., Cicero, J.M., Ellis, J.D., Hawthorne, D., van Engelsdorp, D. (2019). *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 116(5): 1792-1801. 10.1073/pnas.1818371116.

Rinkevich, F.D. (2020). Detection of amitraz resistance and reduced treatment efficacy in the *Varroa* Mite, *Varroa destructor*, within commercial beekeeping operations. PLoS ONE, 15(1): e0227264. 10.1371/journal.pone.0227264.

Rodríguez-Dehaibes, S.R., Otero-Colina, G., Sedas, V.P., Jiménez, J.A.V. (2005). Resistance to amitraz and flumethrin in *Varroa destructor* populations from Veracruz, Mexico. Journal of Apicultural Research, 44(3): 124-125. 10.1080/00218839.2005.11101162.

Rosenkranz, P., Aumeier, P., Ziegelmann, B. (2010). Biology and control of *Varroa destructor*. Journal of Invertebrate Pathology, 103 (Supplement): S96-S119. 10.1016/j.jip.2009.07.016.

Silva, C.M.R. (2010). Luta contra *Varroa destructor* Anderson & Trueman: avaliação de estratégias biotécnicas e bioquímicas com o óleo de *Mentha cervina* L. Tese de Mestrado. ISA-Faculdade de Agronomia, Lisboa. Consultado a 9/06/2022. <http://hdl.handle.net/10400.5/2885>.

Steinhauer, N., Kulhanek, K., Antunez, K., Human, H., Chantawannakul, P., Chauzat, M.P., van Engelsdorp, D. (2018). Drivers of colony losses. Current Opinion in Insect Science, 26: 142-148. 10.1016/j.cois.2018.02.004.

Vandame, J. (2014). Médicaments de lutte contre *Varroa destructor*. Tests d'efficacité, 2014. FNOSAD, France. Consultado a 9/06/2022. [https://www.apiservices.biz/documents/articles-fr/medicaments\\_lutte\\_varroa\\_destructor\\_2014.pdf](https://www.apiservices.biz/documents/articles-fr/medicaments_lutte_varroa_destructor_2014.pdf).

Vandame, J. (2022). Médicaments de lutte contre *Varroa destructor*. Tests d'efficacité, 2022. FNOSAD, France. Consultado a 9/06/2022. [https://www.sante-de-labeille.com/docs/resultats\\_tests\\_efficacite\\_varroa\\_2020.pdf](https://www.sante-de-labeille.com/docs/resultats_tests_efficacite_varroa_2020.pdf).

# CAPÍTULO 21

## CAPTACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE AGUA PARA RIEGO DE PASTURAS EN CHIPAUQUIL (DPTO. VALCHETA). ARGENTINA

Data de submissão: 02/02/2022

Data de aceite: 27/02/2022

### Juan José Gallego

EEA INTA Valle Inferior  
Convenio Pcia. Río Negro – INTA  
Universidad Nacional del Comahue  
(C.U.R.Z.A.)

Viedma, Río Negro. Argentina  
<https://orcid.org/0000-0002-9340-1641>

### Ciro Adrián Saber

EEA INTA Valle Inferior  
Convenio Pcia. Río Negro – INTA  
Viedma, Río Negro. Argentina

### Germán Cariac

EEA INTA Valle Inferior  
Convenio Pcia. Río Negro – INTA  
Universidad Nacional del Comahue  
(C.U.R.Z.A.)

Viedma, Río Negro. Argentina

### Pablo Giovinne

EEA INTA Valle Inferior  
Convenio Pcia. Río Negro – INTA  
Viedma, Río Negro. Argentina

### Julio Argentino Llampa

EEA INTA Valle Inferior  
Convenio Pcia. Río Negro – INTA  
AER INTA Valcheta  
Valcheta, Río Negro. Argentina

### Horacio Alberto Pallao

EEA INTA Valle Inferior  
Convenio Pcia. Río Negro – INTA  
Viedma, Río Negro. Argentina

### Diego Milipil

Subsecretaría Agricultura Familiar  
Valcheta, Río Negro. Argentina

### Hernán Zelmer

EEA INTA Valle Inferior  
Convenio Pcia. Río Negro – INTA  
Viedma, Río Negro. Argentina

### Roberto Angel Molina

EEA INTA Valle Inferior  
Convenio Pcia. Río Negro – INTA  
AER INTA Valcheta  
Valcheta, Río Negro. Argentina

### Ines Mora Jara

EEA INTA Valle Inferior  
Convenio Pcia. Río Negro – INTA  
AER INTA Valcheta  
Valcheta, Río Negro. Argentina

### María Victoria Cortés

EEA INTA Valle Inferior  
Convenio Pcia. Río Negro – INTA  
AER INTA Valcheta  
Valcheta, Río Negro. Argentina

**RESUMEN:** Los sistemas de producción ovina-caprina de la región de la meseta Somuncura



(Chipauquil) son de subsistencia, con mano de obra familiar y netamente dependientes de las condiciones climáticas (precipitaciones) para la producción primaria y secundaria. Estos ambientes áridos se caracterizan por contar con pequeños mallines que se abastecen de humedad de muchas vertientes o nacientes de agua naturales que emanan de la meseta basáltica, y que se pierden en diferentes cursos de agua sin ser aprovechada para el riego de pasturas. El objetivo del presente trabajo de experimentación y extensión consistió en mejorar la captación, conducción y distribución de agua de vertientes y la siembra de pasturas perennes en un mallín de la cuenca del arroyo Valcheta. La experiencia se inició durante el 2014 y consistió en captar y almacenar en una represa aproximadamente 8 litros de agua por segundo de 11 vertientes distribuidas en la parte superior del mallín. La represa de un radio de 5 m, y 1,5 m de profundidad fue construida con materiales del lugar (tierra y piedras) e impermeabilizada con polietileno. Se construyeron sobre la represa 2 compuertas que se ubicaron en lugares opuestos y a partir de las cuales se generaba la salida del agua para el riego. En el mallín de aproximadamente 5 ha se trazaron curvas de nivel para la construcción de canales de conducción de agua distribuidos en el terreno. El objetivo fue lavar las sales solubles del suelo y por otro generar las condiciones propicias para la siembra e implantación de pasturas perennes. El mallín fue clasificado en 3 ambientes de acuerdo al suelo y vegetación presente. El mallín fue clausurado con alambre perimetral para no permitir el ingreso de hacienda y generar el ambiente adecuado para la siembra de las pasturas.

**PALABRAS CLAVES:** Agua. Valcheta. Pasturas. Vertiente. Represa.

## WATER OF CATCHMENT AND DISTRIBUTION FOR IRRIGATION PASTURES IN CHIPAUQUIL (DEPT. VALCHETA). ARGENTINA

**ABSTRACT:** The production systems sheep-goat of the Somuncura plateau region (Chipauquil) are subsistence, with family labor, and clearly dependent on climatic conditions (rainfall) for primary and secondary production. These arid environments are characterized by having small malls that are supplied with moisture from many springs or water natural sources that emanate from the basaltic plateau, and that are lost in different water courses without being used for irrigation of pastures. The objective experimental and extension work in a mallín in the Valcheta stream basin consisted improving the catchment, conduction and distribution of water from springs and the sowing of perennial pastures. The experience began in 2014 and consisted of capturing and storing in a dam approximately 8 liters of water per second from 11 springs distributed in the upper part of the mallín. The dam with a radius of 5 m, and 1.5 m deep was The objective was to wash the soluble salts from the soil and, on the other, to generate the favorable conditions for the sowing and implantation of perennial pastures. Mallin was classified into 3 environments according to the soil and vegetation present. Mallin was with closed perimeter wire to prevent the entry of the ranches and to create the right environment for sowing pastures.

**KEYWORDS:** Water. Valcheta. Pasture. Slope. Dam.

### 1 INTRODUCCIÓN

El departamento (Dpto.) Valcheta se encuentra en la Pcia. de Río Negro, posee una superficie de 20.457 km<sup>2</sup> y limita al Norte con el Dpto. Avellaneda, al Este con el Dpto.

San Antonio, al Oeste con el Dpto. 9 de Julio y al Sur con la Meseta Sumuncura y Pcia. de Chubut (Figura 1). La ciudad cabecera es la localidad de Valcheta y en la misma se sitúan diferentes instituciones del estado municipal, provincial y nacional que interactúan entre sí en post del crecimiento y desarrollo de su población.

Figura 1. Ubicación geográfica del Dpto. Valcheta en la Pcia. de Río Negro. Argentina.



El INTA es uno de los organismos nacionales que tiene su asiento en la localidad y por medio de su agencia de extensión rural (AER) compromete RRHH y presupuestarios para trabajar con la población rural y peri urbana del Dpto. El territorio que cubre la AER Valcheta abarca el Dpto. Valcheta y el Este del Dpto. 9 de Julio. En este último se localiza el Municipio de Ramos Mexía y las Comisiones de Fomento de Treneta y Yaminué. Mientras que en el Dpto. Valcheta se encuentra las Comisiones de Fomento de Aguada Cecilio, Nahuel Niyeu, CHIPAUQUIL, Sierra Pailémán, Arroyo Los Berros y Arroyo Ventana. Los técnicos de la AER, en conjunto con técnicos del área de producción animal de la estación experimental agropecuaria Valle Inferior del INTA (EEAVI) y productores de la región del Paraje Chipauquil, detectaron la necesidad y/o demanda de trabajar en la mejora de la captación, almacenamiento y distribución de agua de vertientes naturales para el riego de pasturas naturales y/o implantadas. Este paraje se encuentra al pie de la meseta Somuncura, más precisamente al sudoeste de la localidad de Valcheta. En esta región la precipitación media histórica es de 200 mm anuales. El poblado cuenta con aproximadamente 50 personas que viven en un radio de 50-60 km y es allí a partir de las vertientes de la meseta basáltica donde nace el arroyo Valcheta. Los productores que allí viven tienen pocos animales (100-200 ovejas), escasa inversión en infraestructura predial (alambres, aguadas, corrales, potreros

cercados) y con serios problemas de mortandad de animales por predación de zorros y pumas. En la cuenca de este arroyo desembocan centenares de vertientes que alimentan el caudal del mismo, pero a su vez tienen un rol fundamental en el soporte de ecosistemas denominados mallines que se sitúan muchos en los bordes de la cuenca. Estos mallines generalmente se caracterizan por ser poco productivos en términos de oferta de forraje, con suelos salinos o salinos-sódicos, con coberturas herbácea que generalmente son maciegas, pichana y gramíneas anuales y perennes.

A partir de este diagnóstico se comenzó a trabajar en el establecimiento del Sr. Ariel Calvo y flia. donde en el mismo se contaba con un potrero de 5 ha cercano a la casa principal que era regado por 11 vertientes que se distribuían de manera muy heterogénea, con baja distribución de la humedad y colonizado por especies pocos palatables por los animales. El principal problema en este sistema en términos productivos era la pérdida de los corderos post parición por causas de predación cuando los animales se encontraban en grandes potreros cambo abierto y lejos del cuidado del productor.

## 1.1 OBJETIVO

El objetivo general de este trabajo de experimentación adaptativa fue mejorar el potrero/mallín de 5 ha y que cumpla el rol de un gran “pulmón verde” de forraje con buena calidad para que pueda ser aprovechado por los animales en épocas o momentos estratégicos como la parición, pre-servicio con carneros y/o engorde de corderos. Para cumplir con este objetivo se trazaron varios objetivos específicos que consistieron en:

1. Realizar una reserva de agua (represa) a partir de la principal vertiente.
2. Construir 2 compuertas en lados opuestos de la represa para conducir el agua de riego.
3. Medir y realizar curvas de nivel que definirían las trazas de los canales que distribuirían el agua por todo el potrero.
4. Realizar los canales de distribución de agua con pala y pico.
5. Raleo de la vegetación herbácea presente (maciegas y pichanas) y clausura perimetral del potrero con alambre.
6. Intersiembrado del lote con gramíneas y leguminosas adaptadas a estos ambientes, utilizando maquinaria agrícola de mínima labranza.

El trabajo comenzó a mediados del año 2014 y en la actualidad continua con la implementación del objetivo 6. En esta actividad participaron técnicos del INTA (AER +EEAVI), de la Subsecretaría de agricultura familiar y el productor con su flia.

## 2 RESULTADOS

Al inicio de la experiencia se realizó un relevamiento por el potrero de 5 ha donde se identificaron las especies herbáceas presentes, la nivelación del terreno junto a sus características edáficas y la ubicación y caudal de las distintas vertientes naturales que darían origen a la futura represa que almacenaría el agua (Figura 2). Una vez identificada la vertiente principal por sus características de ubicación, forma y caudal, se procedió a construir y consolidar el terraplén que daría contención al agua de la represa (Figura 3). Este terraplén se construyó con insumos (tierra y piedras) del lugar, a una altura determinada según la distancia y altitud de la vertiente natural.

Figura 2. Situación inicial del mallín/potrero en cercanías a la casa del campo (Izquierda) y lugar donde se realizó la represa de agua (Derecha).



Figura 3. Terraplenado de la represa y vertiente natural.



A posterior y una vez consolidado el terraplén, se comenzó a trabajar en la impermeabilización de la represa que tenía en su máxima y mínima longitud de ancho 15



y 8 m respectivamente. Para la impermeabilización se utilizó polietileno (manta silo) de 150 micrones. También en esta instancia se construyeron las dos compuertas que darían origen a los canales principales y que se encuentran de manera opuesta en la represa (Figura 4).

Figura 4. Impermeabilización de la represa (Izquierda). Construcción de compuertas en la represa (Derecha).



Una vez finalizada la etapa la represa, se procedió a llenarla de agua para consolidar la construcción de la misma y corroborar su funcionamiento (Figura 5 derecha). Se comenzó a realizar la traza de los canales principales tomando niveles de altura (Figura 5 izquierda) para ajustar su recorrido y distribución sobre toda la superficie del potrero (Figura 6).

Figura 5. Medición del nivel del terreno con Teodolito para trazado de acequias (Izquierda). Represa completa de agua funcionando como prueba piloto (Derecha).



Figura 6. Agua en los canales sobre el mallín (Izquierda). Realización de canales con pala y pico (Derecha).



Figura 7. Superficie del lote para intersembrar con especies perennes.



### 3 CONCLUSIONES

El avance del trabajo se encuentra en un 70-80% de lo planificado. La represa se consolidó y quedó en funcionamiento. El mallín/potrero mejoró la distribución de agua en su superficie a partir de los canales realizados y queda como trabajo a futuro intersembrar el lote con pasturas perennes, utilizando herramientas/maquinarias que no generen un disturbio edáfico en sus parámetros físicos y biológicos.



## CAPÍTULO 22

### POTENCIALES MECANISMOS POR LOS CUALES SE MANIFIESTAN LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS EMERGENTES DEL CERDO

Data de submissão: 08/06/2022

Data de aceite: 24/06/2022

#### Dr. Carlos J. Perfumo

Laboratorio de Patología Especial Veterinaria  
(LAPEVET)  
Facultad de Ciencias Veterinarias  
Universidad Nacional de La Plata  
Argentina  
<https://orcid.org/0000-0001-9876-601X>

#### Dra. Mariana Machuca

Laboratorio de Patología Especial Veterinaria  
(LAPEVET)  
Facultad de Ciencias Veterinarias  
Universidad Nacional de La Plata  
Argentina  
<https://orcid.org/0000-0002-1670-7559>

#### Dra. Alejandra Quiroga

Laboratorio de Patología Especial Veterinaria  
(LAPEVET)  
Facultad de Ciencias Veterinarias  
Universidad Nacional de La Plata  
Argentina  
<https://orcid.org/0000-0002-5173-5686>

**RESUMEN:** Se precisa el concepto de Enfermedades Infecciosas Emergentes (EIE) de etiología viral y bacteriana del cerdo, así como sus ejemplos a nivel mundial y regional

(Argentina). Se analizan los mecanismos por los cuales se presentan y que incluyen: el salto interespecie, la variación antigénica e inmunogénica de los virus (mutaciones, recombinaciones y reassortants) así como resistencia de las bacterias, las modernas técnicas metagenómicas para la su detección así como otros factores. Sumado a programas, instituciones oficiales y laboratorios privados que centralicen y analicen los resultados, se precisa el rol del veterinario asesor de las granjas porcinas para detección con énfasis en los estudios postmortem.

**PALABRAS CLAVE:** Cerdo. Enfermedades Infecciosas Emergentes. Mecanismos para su presentación.

#### POTENTIAL MECHANISMS BY WHICH THE EMERGING INFECTIOUS DISEASES OF THE PIG ARE MANIFESTED

**ABSTRACT:** The concept of Emerging Infectious Diseases (EIE) of viral and bacterial etiology of pig is pointed out, as well as its examples at a global and regional level (Argentina). The mechanisms by which they occur are analyzed and include: interspecies jump, antigenic and immunogenic variation of viruses (mutations, recombinations and reassortants) as well as resistance of bacteria, modern metagenomic techniques for their detection and other factors. In addition to programs of official institutions and private laboratories that centralize and analyze the



results, the role of the advisory veterinarian of pig farms for its detection is explained with an emphasis on postmortem studies.

**KEYWORDS:** Pork. Emerging infectious diseases. Mechanisms for its presentation.

## 1 INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas de los animales domésticos impactan a varios niveles: en las economías regionales /nacionales (enfermedades de alto impacto económico-productivo, en la salud pública (zoonosis) y, en casos muy especiales y graves a nivel global en la estabilidad social y la seguridad de los países (pandemias, bioterrorismo).

En el cerdo, en los últimos 30 años las Enfermedades Infecciosas Emergentes (EIE) han adquirido una gran relevancia, más que en otras especies, y ha llevado a la realización de una reunión técnica internacional (*International Symposium on Emerging and Reemerging Pig Diseases* (ISERPD) orientada a dichas entidades que se realiza cada cuatro años diferentes países.

Se define como Enfermedades Infecciosas Emergentes (EIE) a la aparición de enfermedades /entidades /cuadros definidos que aparecen en una población por primera vez producidos por agentes no identificados con anterioridad o que pueden haber existido antes, pero su incidencia aumenta a nivel regional/nacional o supranacional como resultado de cambios epidemiológicos persistentes (*Enfermedades Reemergentes*) (Cortey y col. 2011, Dietze y col. 2012, Harding JC, 2012). Se debe considerar que una EIE ocurre cuando existen cambios a nivel de la interrelación entre el patógeno-huésped-ambiente-entorno. En la práctica comprendería cualquier entidad infecciosa que constituye un problema en un área / región en donde antes no existía.

En los animales domésticos existen 1000 patógenos conocidos, de ellos 600 afectan a los animales de producción, el 40% son infecciones zoonóticas y de ellas el 55% son infecciones virales, en particular virus ARN (Howard y Fletcher, 2012).

**A.- Las EIE virales del cerdo que a nivel mundial que han tenido, tienen o van a tener impacto económico o referencial son:**

Año 1989: PRRS (Arterivirus ARN), mutación del virus TGE (gastroenteritis transmisible) ► PRCv (coronavirus respiratorio porcino) (Coronavirus ARN)

Año 1996: PCV-2 Presentación sistémica (PMWS (Circovirus ADN cadena simple)

Año 1998: Influenza A subtipo H3N2 triple reassortans (TRIG) (ARN segmentado)

Año 2008: Diarrea epidémica porcina (PED variante de alta patogenicidad, China (Coronavirus ARN)

Año 2009: Influenza A subtipo H1N1 pdm 09 cuádruple reassortants (ARN segmentado)

Año 2014: Seneca virus (estomatitis vesicular idiopática porcina) (Brasil, USA Picornavirus ARN)

Año 2015: Mutación del coronavirus de la encefalomiелitis hemoaglutinante ► tropismo respiratorio (USA, Coronavirus ARN)

Año 2016 hasta la actualidad: PCV-3 (Circovirus ADN cadena simple) L.I.N.D.A virus (lateral-shaking inducing neurodegenerative agent) (Pestivirus ARN), influenza D virus, SADS (síndrome de la diarrea aguda del lechón) (Coronavirus ARN)

**B.- Existen otro gran grupo de virosis en cerdos potencialmente emergentes y de localización y difusión aún limitada como:**

- 1.- 2007. PRRS (variante asiática) China
- 2.- 1997 Fiebre aftosa (variante con tropismo en cerdos, Taiwan)
- 3.- 1998 Nipah (Malasia, zoonosis)
- 4.- Menangle (Australia)
- 5.- Bungownnah (Australia)
- 6.- Rotavirus (nuevos subtipos/genotipos) con transmisión inter-especies (hombre-cerdo)

**C.- Así mismo se han reportado nuevas EIE de origen viral con o sin manifestaciones clínicas como:**

- 6.- Porcine lymphotropic Herpes virus (ADN)
- 7.- Reston Ebolavirus (ARN)
- 8.- Torovirus (ARN)
- 9.- Kobuvirus (ARN)
- 10.- Sapelovirus (ARN)
- 11.- Astrovirus (ARN)
- 12.- Sapovirus (ARN)
- 13.- Norovirus (ARN)
- 14.- Boca virus (China, 2010)

En la Argentina en los últimos 20 años se han descrito un grupo de entidades virales emergentes, algunas de ellas de alto impacto económico por su morbimortalidad, otras en forma indirecta por su impacto la opinión pública por sus implicancias en la salud pública. El análisis de algunas de ellas en el marco de estudio de las EIE permitirá vislumbrar cuál será el accionar del veterinario asesor en sanidad porcina y como re-direccionar la formación de los futuros veterinarios.

## **D.- Enfermedades Infecciones Emergentes a virus ARN y ADN de cadena simple en los cerdos en la Argentina**

Año 1998: Síndrome dermatitis nefropatía porcina (PCV-2, virus ADN cadena simple)\*

Año 2002: Hepatitis E (virus ARN)

Año 2003: Síndrome multisistémico de adelgazamiento/desmedro postdestete (PMWS) (PCV-2, virus ADN cadena simple),

Año 2006: Coronavirus de la encefalomielitis hemoaglutinante (Coronavirus ARN)\*

Año 2008: Influenza A subtipo H3N2 humano no contemporáneo (virus ARN segmentado)\*

Año 2009: Influenza A subtipo H1N1 pandémico (virus ARN segmentado)\*

Año 2011: Influenza A subtipos rH1N2, rH3N2 y rH1N1 (human-like  $\delta 1; \delta 2$  + H1N1pdm09 (ARN segmentado)\*

Año 2012: Gastroenteritis transmisible (TGE) (Coronavirus, virus ARN)\*

Año 2019: Circovirus porcino tipo 3 (PCV-3, ADN cadena simple)\*

- **Entidades en las cuales intervino LAPEVET en su diagnóstico**

Las EIE deberíamos diferenciarlas de *Enfermedades Animales Transfronterizas* (EAT) (*Transboundary Animal Diseases*) que son aquellas enfermedades epidémicas altamente contagiosas y transmisibles y que tienen el potencial de rápida difusión a través de las fronteras nacionales y que causan serios problemas socio-económicos o en la salud pública. Algunas de ellas están incorporadas a las EIE. El ejemplo mas actual la constituye la peste porcina africana (PPA) que ha sido descrita en cerdos salvajes de Europa occidental y que diezmo la producción porcina de Asia, en particular China y Vietnam.

## **E.- Infecciones de etiología bacteriana que quedarían comprendidas dentro del concepto de EIE a nivel regional / local:**

1.- *Salmonella* Typhimurium (4,5,12: i:-) monofásica (zoonosis)\*

2.- *Clostridium difficile* (zoonosis)\*

3.- *Clostridium perfringens* tipo C\*

4.- *Actinobacillus suis*\*

5.- *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA) (zoonosis)\*

6.- *Enterococcus hirae*

7.- ¿*Brachyspira hampsonii*?

- **Entidades en las cuales intervino LAPEVET en su diagnóstico en la Argentina**

## **F.- ¿Cómo y porqué han emergido la EIE?**

Se describen los mecanismos/hipótesis por las cuales han emergido las EIE (Engering y col. 2013):

### **F.1.- La presencia un agente potencialmente patógeno en un nuevo huésped (salto inter-especies).**

Es uno de los mecanismos por el cual se genera EIE no solo en el hombre sino también en las especies domésticas. Obedece a un cambio en la interrelación patógeno-hospedador a lo que se suma la acción del hombre (deforestación/urbanización) y climáticos (el Niño).

**F.1.1.** Las aves migratorias acuáticas constituyen el reservorio en el aparato digestivo de todos los subtipos de virus de influenza cursando en las mismas como una infección subclínica y contaminando los acuíferos donde nadan con la materia fecal. A pesar que el cerdo tiene en el tracto respiratorio receptores para los virus de influenza aviares y mamíferos, solo el subtipo influenza A H1N1 *avian-like* circula en Europa y recientemente en China no así en América del Norte y América del Sur. Sin embargo se asigna al cerdo como el “vaso comunicante” entre las aves y el hombre para el virus de influenza A. El pasaje “*in toto*” del virus de influenza de una especie a otra, requiere al menos 5 años para su adaptación al nuevo huésped para producir enfermedad y durante dicho período circula en forma subclínica. Una vez que cruza la barrera interespecie, persiste en esta última por décadas y constituye el reservorio para futuras epidemias (Cappuccio y col. 2011).

**F.1.2** En el cerdo, el virus de influenza de triple reassortants H3N2 “TRIG cassette” (genes de origen aviar, humano y porcino) y su derivado el H1N1pdm09 al que se le sumó genes de origen porcino de Eurasia sin serlo, se comporta como un TRIG. El H1N1pdm09 fue el resultado de una cuádruple recombinación. Se estima que la transmisión al hombre ocurrió varios meses antes de la pandemia en humanos y los ancestros del virus, circularon aproximadamente 10-15 años anteriores a la infección en el hombre, en los cerdos en la región sur de Méjico y constituyó la 1ra pandemia de influenza del cerdo.

En el año 2011 por estudios de vigilancia serológica en cerdos ferales de USA (Ferguson y col 2018) y aislamiento se confirmó la presencia en cerdos de un nuevo serotipo de influenza denominado D, cuyo ancestro podría ser el virus de influenza C humano siendo su reservorio natural los bovinos, en particular los terneros en los que la seroprevalencia puede llegar al 95% (Su y col. 2017).

El delta CoV HKU es originario de Hong Kong en el año 2012, coexistiendo con el CoV de la diarrea epidémica porcina (DEP) en un 19,7% de los casos en China (Hu, 2016).

En el año 2014 se presentó en América del Norte, el virus utiliza el dominio B de la espícula viral (S) para unirse al receptor aminopeptidasa (APN) presente en las células del tracto respiratorio, digestivo y renal, pero en el cerdo particularmente en el intestino lo que se sugiere la presencia de co-receptores. El APN tiene numerosas funciones enzimáticas tales como la captación de colesterol, quimiotaxis y adherencia celular. El APN es un receptor conservado y presente para otras especies en particular en las gallináceas lo que sugiere el posible salto interespecie de este nuevo CoV. (Li y col. 2018).

**F.1.3.** Otra especie reservorio de virus potencialmente patógenos para el hombre y el cerdo lo constituyen los murciélagos. Los mismos representan el 25% de las especies de mamíferos, su existencia se remota a más de 60 millones de años y es el único mamífero volador. (Han y col. 2015). Aparte de su larga evolución, tienen particularidades inmunológicas que le han permitido adaptarse y albergar a 22 familias de virus que comprenden 5717 virus (particularmente ARN), en 207 especies de murciélagos distribuidos en 77 países (Allocati y col. 2016). Dentro de estas particularidades anatómica e inmunológicas se citan: ausencia de médula ósea, alta temperatura cuando vuelan (41°C), supresión de la inmunidad cuando hibernan (8-24°C), ausencia de *natural killer cells* y ausencia de genes que intervienen en la inflamación (Han y col. 2015) Se clasifican en: *Megachiroptera* que son murciélagos frugíferos y habitan en los países en vecindad del Ecuador y los *Microchiroptera* que se alimentan de insectos nocturnos y que tienen distribución mundial con excepción de la Antártida (Dexter y col. 2011). Las infecciones/enfermedades en las cuales los murciélagos son el reservorio y/o la fuente de infección del hombre son: Ebola (filovirus 1976), Marburg (filovirus), Hendra (paramixovirus 1994), Nipah (paramixovirus, 1998); SARS-CoV (coronavirus 2002), MERS (coronavirus 2012) Han y col. 2015, Allocati y col. 2016) y SARS-CoV2. En el cerdo, si bien tienen distribución limitada a Asia se citan: Nipah (cuadros respiratorios y nerviosos en lechones de 1-2 semanas); Menangle virus y recientemente *Sudden acute diarrhea syndrome* (SADS coronavirus) relacionado desde el punto de vista geográfico, temporal, ecológico y etiológico con el SARS del hombre (*sudden acute respiratory syndrome*) y que cursa con diarrea en lechones de menos de 5 días con 90% de mortalidad (Zhou y col. 2018).

**F.1.4.** El hombre constituye una importante fuente de infección por virus de influenza A. En la Argentina en el año 2000, mediante un estudio serológico en 17 granjas se comprobó que los subtipos H1 y H3 de influenza de origen humano no contemporáneo circulaban en la población porcina nacional en forma subclínica (Piñeyro y col. 2010). En el 2008 se identificó en una granja en la Pcia de Bs As con cuadro clínico un H3N2 human-like que circuló en la población humana de América del Norte y Eurasia entre los años 2000-2003

pero no en la Argentina (Cappuccio y col. 2011). La granja, 5 años antes fue serológicamente positiva a virus de influenza humana en forma subclínica. En el 2009, la transmisión del hombre al cerdo del H1N1pdm09 (TRIG) modificó la epidemiología de esta infección por su capacidad por de originar reassortants con cepas de origen humano que circulaban en forma subclínica y de las que adquiere la HA (hemaglutinina) y NA (neuraminidasa) ej: influenza A subtipos rH1N2, rH3N2 y rH1N1 (human-like  $\delta 1; \delta 2$  + H1N1pdm09) (Pereda y col. 2011). Similar comportamiento fue decripto em Brasil, Chile y Perú.

**F.2.- Los agentes están presentes desde hace mucho tiempo y se han “revelado/manifestado” con el desarrollo de técnicas de biología molecular y/o factores exógenos.**

Debido a que la mayoría de los nuevos virus no crecen en los medios de cultivo tradicionales, las técnicas metagenómicas como:

- *Next Generation Sequencing* (NGS)
- *Whole Deep Sequencing* (WDS)
- *Lawrence Livermore Microbial Detection Array* (LLMDA)

han permitido su identificación a través de la secuenciación parcial o total del ADN o ARN obtenidos por técnicas moleculares.

Así el LLMA o DNA chips” or “DNA microarray permite detectar 10.000 especies de microorganismos en una sola prueba en 24 hs. Consiste en 388.000 probes (oligonucleótidos (ADN) c/u con una secuencia específica para cada agente colocados en 1 pulgada y sin necesidad de la utilización de medios de cultivo *in vitro*.

El PCV-2 y sus diferentes genotipos, PCV-3, CoV (SADS; PHECoV), LINDA virus etc han sido caracterizados por las técnicas anteriormente mencionadas. Estas técnicas, salvo excepciones, no son aún accesibles como diagnóstico de rutina por su costo, equipamiento y personal capacitado para procesar la información (bioinformáticos), pero sin duda han abierto un campo infinito para la comprensión de la etiopatogenia a las EIE.

La técnica de MALDI-TOF (*matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry*) permite la identificación de las diferencias especies de bacterias luego del aislamiento primario en un lapso corto de tiempo (horas) mediante el análisis de las proteínas de los microorganismos.

**F.3.- “Nothing in the word of living things is permanently fixed” (Nada en el mundo de los seres vivos es fijo en forma permanente) Hans Zinner (1935).**

#### **Inestabilidad etiológica**

Un factor clave para la presentación de EIE, es la capacidad de invasión del patógeno la cual es determinada por la combinación de oportunismo y evolución. Los virus

RNA con alta tasa de mutación, las bacterias capaces de adquirir genes de resistencia a antibióticos o los patógenos con un amplio rango de huéspedes tienen más chance de constituir un agente infeccioso emergente (Engering y col. 2013).

¿Cuáles son razones de la aparición de nuevos virus ARN y ADN cadena simple?

Los virus ARN y los ADN de cadena simple tienen las siguientes características (Lauring AS, Andino, R)

1. Multiplicarse en el citoplasma celular.
2. Un alto índice de mutación ( $10^{-4}$ -  $10^{-5}$  nucleótidos por ciclo de replicación)
3. Síntesis deficiente enzimas transcriptasas por parte de los virus ARN en las células donde se replican para la autocorrección de los errores que ocurre durante la síntesis de ARN viral, razón por la cual se producen virus con cambios antigénicos e inmunogénicos en cada ciclo de multiplicación.
4. Los virus ARN segmentados (influenza y rotavirus) permiten el reassortants cuando dos subtipos o genotipos de virus distintos infectan una misma célula o huésped.

Un cerdo con una viremia por virus ARN dará origen en cada ciclo de multiplicación a un espectro *cloud o nube* de “mutantes” que tienen variaciones de secuencias de genoma estrechamente relacionadas con el virus progenitor, particularidad que se ha denominado “*cuasiespecies*,”. El concepto “*cuasiespecies*” fue un desarrollo matemático para explicar la evolución de la vida en la etapa del “ARN pre-celular” y en la actualidad para explicar la dinámica de evolución de los virus ARN (Biebricher y Eigen 2006; Drew, 2011; Lancaster y Pfeiffer 2013; Vignuzzi y col. 2006). Se define “*cuasiespecies*” como el número total de variantes relacionadas originadas a partir de un genoma viral pero genéticamente distintas. Las mismas están continuamente sujetas a competición, selección, variación genética entre ellas y por presión del huésped (resistencia/inmunidad) y que contribuyen a caracterizar una población viral (Lauring AS, Andino R). Muchas de estas variantes con cambios en áreas críticas no son viables (partículas virales defectivas) y son peligrosas para la supervivencia del virus, por el contrario en ciertos casos estos cambios son beneficiosos para la replicación y diseminación viral en ese ambiente (ambiente= inmunidad, genética, edad, nutrición, vacunas, estrés, otros patógenos, etc.). Como consecuencia se originará a lo largo de una serie de secuencias de multiplicación una “*cloud o nube*” de variantes.

La habilidad relativa de una particular población de virus de multiplicarse en un ambiente específico se define como “*fitness*” (capacidad de multiplicarse y eliminarse) y es regulada por la dosis infectante y las características del huésped. El “*fitness*” es



más adaptable cuando mayor es la población animal susceptible por lo que la tendencia mundial a las mega-producciones de cerdos de genética uniforme es una práctica a favor de la aparición de enfermedades emergentes (Drew 2011).

### **F.5- Resistencia**

Los estafilococos son cocos Gram positivos, colonizadores de la piel y las membranas mucosas de los mamíferos y las aves. El género *Staphylococcus* comprende más de 50 especies y 23 subespecies (Becker y col. 2014; Nemeghaire y col. 2014). En el cerdo, las especies de estafilococos, especialmente *S. aureus* y *S. hyicus*, están presentes en la mayoría de las granjas y están involucradas en una amplia gama de lesiones en cerdos desde el destete hasta las categorías de engorde. *Staphylococcus hyicus*, produce epidermitis exudativa, infección en cerdos lactantes o de recría y que en la presentación generalizada puede llevar a la deshidratación y la muerte.

*Staphylococcus aureus* es la única especie además de *S. hyicus*, que es aislada de lesiones en cerdos. La bacteria se multiplica por daños en la mucosa o la superficie de la piel y puede provocar septicemia y piemia con formación de abscesos en pulmón, hígado, bazo, hueso, corazón y otros procesos infecciosos (Griffith y col. 2006, Nielsen y col. 2009).

La prueba de coagulasa se considera una prueba clave para dividir el género *Staphylococcus* en dos grupos principales: coagulasa y Dnasa positivos staphylococcus (CPS) que incluyen *S. aureus* y el grupo coagulasa negativo staphylococcus (SNC) que incluye *S. sciuri* y especies relacionadas, *S. lentus*, *S. haemolyticus* entre otros (Nemeghaire y col. 2014).

En la década de 1960, la mayoría de las cepas de *S. aureus* eran resistentes a la penicilina. Estas nuevas cepas se trataron con otro grupo de fármacos similares a la penicilina, incluida la meticilina. Dos años más tarde, *S. aureus* desarrolló resistencia a la meticilina mediante la adquisición de un gen llamado *mecA* que codifica una proteína de unión a la penicilina PBP2a adicional. Esta proteína tiene una menor afinidad por todos los antibióticos beta-lactámicos (Tulinski y col 2011). Este gen se encuentra en un elemento genético móvil llamado cromosoma estafilocócico cassette *mec* (*SCCmec*). Las cepas de *S. aureus mecA* positivas se conocen como MRSA (*Staphylococcus aureus* resistencia a la meticilina).

Actualmente hay tres tipos diferentes de MRSA: MRSA para el cuidado de la salud (Health Care-MRSA) presente en hospitales y que afecta a personas inmunocomprometidas, MRSA adquirido en la comunidad (CA-MRSA) y desde el 2004 MRSA asociado al ganado (Live stock Associated-MRSA) encontrado en cerdos y otras especies animales.

La identificación de MRSA a partir de cerdos data de 2004 cuando se aisló una nueva cepa de MRSA que era resistente a la digestión con endonucleasa de restricción *Sma1* cuando se estudió con electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) (Voss, A 2005). Esta cepa se denominó LA-MRSA ST398 por ensayo de secuencia de múltiples locus.

En cerdos, la mayoría de los estudios están relacionados a LA-MRSA como un colonizador de la cavidad nasal de los cerdos o de infecciones purulentas en cerdos, trabajadores de granjas y mataderos y veterinarios, así como en la contaminación del medio ambiente como el polvo. Los resultados sugieren una transmisión de cerdo a cerdo y refuerzan la idea de que las personas que trabajan en granjas pueden ser reservorios potenciales de LA-MRSA (Rich 2005; Khanna 2008). Actualmente, la presencia de LA-MRSA está relacionada con un problema de salud pública y no como un patógeno primario para cerdos. Un estudio de vigilancia anatomopatológica realizada entre 2004-2011 sobre 456 cerdos necropsiados, se aislaron 34 cepas de *S. aureus*, linfadenitis purulenta (2); abscesos articulares (7), neumonía purulenta (16), piodermatitis (4), osteomielitis (3) y 1 de peritonitis y abscesos hepáticos (Vigo y col. 2012). En paralelo, un estudio transversal en la misma granja de hisopados nasales de cerdos sanos de cachorras, madres y cerdos de 2, 21, 42, 63, 90, 109 y 130 días arrojó 43 aislamientos de *S. aureus*. El 100% las cepas aisladas de lesiones purulentas y de la cavidad nasal fueron resistentes a la penicilina, 67/68% respectivamente a la eritromicina, 91/100% al cloranfenicol, 76/70 a la tetraciclina y 3/49% trimetropima-sulfamatoxazol. Todas las cepas fueron sensibles a oxacilina, cefoxitina y gentamicina.

Todas las cepas de *S. aureus* aisladas fueron sensibles a la metilicina (MSSA). Un aislamiento de cavidad nasal mostró un patrón *Sma1*-PFGE similar a los aislados de muestras patológicas (Vigo y col. 2012).

## **F.6- Otros factores**

- La presencia de granjas de alto estándar de sanidad favorecerá el descubrimiento de cuadros emergentes como ocurrió en Canadá con PCV-AD y la entidad denominada *Periweaning Failure to Thrive Syndrome* (PFTS) que produjo hasta un 10% de mortalidad postdestete y aún sin un diagnóstico etiológico conocido y en la Argentina con la encefalomielitis hemoaglutinante por coronavirus y la influenza porcina.
- Aumento del tamaño de las granjas con genética homogénea y con la presión de selección orientada al rápido desarrollo muscular y magro sin lugar a duda ha comprometido los mecanismos de inmunidad innata que en condiciones normales abortan el 80% de los desafíos etiológicos.

- Reconocimiento y sensibilización por parte de los veterinarios de cuadros/síndromes “anormales” a través del monitoreo de los cerdos que mueren “normalmente” en la granja así como la inspección “síndromes” en el frigorífico.
- Avances y rapidez en la información a través de algoritmos diagnósticos.
- Presencia de laboratorios de diagnóstico especializados, oferta de kit diagnósticos accesibles y rutina de los veterinarios de remisión de muestras para vigilancia.
- Capacitación y sensibilización de los veterinarios en “nuevas entidades” mediante cursos de postgrado orientados a EIE.

**F.7- Difusión de una infección a través de las barreras geográficas por medio del transporte de animales, fomites, personas etc. lo que amplía su distribución geográfica (*Enfermedades Infecciosas Transfronterizas*).**

## DIAGNÓSTICO DE LAS EIE

Se debe realizar a través de programas que realicen una activa vigilancia epidemiológica y que incluyan agencias oficiales y laboratorios privados que centralicen y analicen los resultados. A falta de los mismos, para el diagnóstico de EIE es necesario tener una estrecha vinculación con:

1. Las granjas adecuadas. Granjas de alta sanidad, con una activa vigilancia clínica y patológica y que hayan erradicado o controlado las infecciones endémicas más comunes.
2. Con el veterinario adecuado. Con conocimiento del estatus sanitario de la granja y sensibilizado (a través de cursos de capacitación) en nuevas entidades o cuadros. En nuestra experiencia fueron numerosas las ocasiones en que los cerdos arribaron al LAPEVET con el diagnóstico presuntivo de la entidad y nuestra función, fue solo confirmarla.
3. En el momento adecuado y con los cerdos adecuados. El cuadro puede presentarse en un período ej, en invierno para todos los CoV debido a la sensibilidad a la luz solar y al calor y no volver a repetirse en forma clínica en los años sucesivos (PHECoV) debido a una inmunidad de rebaño rápida.
4. Con el laboratorio adecuado y con los recursos adecuados. En la actualidad, con la vinculación entre los laboratorios locales e internacionales, tanto instituciones como privados, esto no constituye una limitante a la detección de una entidad.

## FUTURO

- 1.- A la brevedad las nuevas técnicas genómicas serán más accesibles al uso rutinario, esto creará dentro de la multiplicidad de agentes identificados cuál/ es de el/ellos estarán relacionados al cuadro patológico observado, o bien como interaccionan entre ellos (¿coinfecciones o infecciones secundarias?) para lo cual, la capacitación del veterinario será esencial así como laboratorios de patología con técnicas actualizadas de inmunohistoquímica o *In Situ Hybridization*.
- 2.- Las técnicas de edición génica como CRISPR/Cas9 se harán muy populares y mediante la misma se crearán líneas de cerdos genéticamente resistentes a virus como recientemente se logró con PRRSV mediante la defeción del gen que codifica el receptor presente en los macrófagos y células mononucleares de la sangre a dicho virus (Burkard y col. 2017).
- 3.- Desarrollo de vacunas universales que cubran el espectro de subtipos y genotipos virales así como diferentes serotipos bacterianos.

## CONCLUSIONES

Frente a estos constantes y novedosos desafíos que requieren del soporte de técnicas sofisticadas, equipos onerosos, laboratorios especializados y personal capacitado, la rápida percepción clínica de que “*algo diferente*” está ocurriendo, seguido de la selección adecuada de los cerdos para la realización de necropsias y tomas de muestras son los pasos iniciales y necesarios para llegar a un diagnóstico de EIE.

En medicina veterinaria, los estudios postmortem son un valor agregado en nuestra profesión y sigue siendo el más económico (Perfumo y col. 2021). Por tal razón, debemos enfatizar el entrenamiento de los nuevos profesionales en la observación macroscópica de cuadros patológicos así como la actualización en EIE.

La realizan de necropsias y remisión de muestras para estudios complementarios cuando:

- Cuadros con alta morbilidad o mortandad.
- Signos clínicos nunca vistos o registrados en la granja.
- Mortalidad en goteo persistente.
- Problemas recurrentes de etiologías no precisadas o resistentes a las medidas de control instauradas (antibióticos, vacunas).
- Mayor uso de antibióticos.

## BIBLIOGRAFIA

Allocati, N, AG Petrucci, P Di Giovanni, M Masulli, C Di Ilio, V De Laurenzi. Bat–man disease transmission: zoonotic pathogens from wildlife reservoirs to human populations. *Cell Death Discovery* (2016) 2, 16048; doi:10.1038/cddiscovery.2016.48.

Biebricher, CK; Eigen, M. What is a quasispecies?. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 299:1-31, 2006.

Beker, K.; Heilmann, C.; Peters, G. Coagulase-negative Spaphilococci. *Clin. Microbiol. Rev.* 27: 870-926, 2014.

Burkard, C.; Lillico, SG; Reid, E.; Jackson, B.; Millehan, AJ.; Ait-Ali,T.; Whitelaw, CB.; Archibald, AL. Precision engineering for PRRSV resistance in pigs: Macrophages from genome edited pigs lacking CD163 SRCR5 domain are fully resistant to both PRRSV genotypes while maintaining biological function. *PLOS Pathol*: 13: 1-28, 2017.

Cappuccio, JA.; Pena, L.; Dibárbora, M.; Rimondi, A.; Pineyro, P.; Insarralde, L.; Quiroga, MA.; Machuca, M.; Craig, MI.; Olivera, M.; Chockalingam, A.; Perfumo, CJ.; Perez, DR.; Pereda, A. Outbreak of swine influenza in Argentina reveals a noncontemporary human H3N2 virus highly transmissible among pigs. *J.Gen.Virol.* 08/2011; doi:10.1099/vir.0.036590-0.

Cortey, M.; Pileri, E.; Segalés, J.; Kekarainen, T. Globalización, global trade and potencial emerging pathogens: The example of torque teno virus 1 and 2. *Proceedings 6<sup>th</sup> International Symposium on Emerging and Re-emerging Pigs Disease, Barcelona 12-15 June 2011*.p 51.

Dietze K, Beltrán-Alcrudo, D.; Pinto,J.; Khomenko, S.; Slingenbergh,J.; Lubroth, J. Factors affecting emergence of diseases in swine. *Proceedings 22<sup>nd</sup> IPVS Congress Korea pp11-15, 2012.*

Drexler, JF, Victor Max Corman, Tom Wegner, Adriana Fumie Tateno, Rodrigo Melim Zerbinati, Florian Gloza-Rausch, Antje Seebens, Marcel A. Müller, Christian Drosten. Amplification of emerging viruses in a bat colony. *Emerg Infect Dis.* 17: 449-456, 2011.

Drew, T.W. The emergence and evolution of swine viral diseases: to what extent have husbandry systems and global trade contributed to their distribution and diversity?. *Res.Sci.Tech.Int.Epiz.* 30:95-106, 2011.

Engering, A.; Hogerwerf, L.; Slingenbergh, J. Pathogen-host-environment interplay and disease emergence. *Emerg. Microbes Infec.* Doi10.1038/emi.2013.5.

Ferguson, L; Luo, K; Olivier, AK; Cunningham, FL; Blackmon, S; Hanson-Dorr, K; Sun, H; Baroch,J; Lutman, MW; Quade, B; Epperson, W; Webby, R; DeLiberto, TJ; Wan, XF. Influenza D Virus Infection in Feral Swine Populations, United States. *Emerg. Infect Dis.* 24; 1020-1027, 2018.

Griffith RW, Schwartz, KJ. Meyerholdt DK. In: *Diseases of Swine.* Straw BE, Zimmerman JJ, D´Allaire S, Taylor D, editors. *Staphylococcus.* 9 ed. Blackwell Publishing 2006. pp: 739-754.

Howard, CR; Fletcher, N. Emerging virus diseases: can we ever expect the unexpected? *Emerg Microbes Infec.* 46: 1-2, 2012 1, e46; doi:10.1038/emi.2012.47

Hu, Hui; Kwonil Jung; Anastasia N. Vlasova; Linda J. Saif. Experimental infection of gnotobiotic pigs with the cell-culture-adapted porcine delta coronavirus strain OH-FD22. *Arch Virol.* DOI 10.1007/s00705-016-3056-8. 2016.

Han, Hui-Ju, Hong-ling Wen, Chuan-Min Zhou, Fang-Fang Chen, Li-Mei Luo, Jian-wei Liu, Xue-Jie Yu. Bats as reservoirs of severe emerging infectious diseases. *Virus Res* 205: 1-6, 2015.

- Harding, J.C. Emerging diseases and the greater good. Proceedings 22<sup>nd</sup> IPVS Congress Korea pp 32-34, 2012.
- Khanna Methicilin resistant *Staphylococcus aureus* colonization in pigs and pig farmers, Vet Microbiol 128: 298-303, 2008
- Lancaster, K.Z.; Pfeiffer, J. Viral population dynamics and virulence thresholds. Curr. Opinion in Microbiol. 15:525-530, 2012.
- Li, W; Ruben J. G. Hulswita; Scott P. Kenneyb; Ivy Widjajaa; Kwonil Jungb; Moyasar A. Alhamob; Brenda van Dierena; Frank J. M. van Kuppevelda; Linda J. Saif; Berend-Jan Boscha. Broad receptor engagement of an emerging global coronavirus may potentiate its diverse cross-species transmissibility. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1802879115. 2018.
- Lauring, AS, Andino, R. Quasispecies theory and the behavior of RNA virus. PLoS Pathog 6: e10011005. doi:10.1371/journal.ppat.
- Nemeghaire, S.; Argudin, A.A.; Feßler, A.T; Hauschild, T.; Schawartz, S.; Butaye, P. The ecological importance of *Staphylococcus sciuri* species group as a reservoir for resistance and virulence genes. Vet. Microbiol. 171: 342-356, 2014.
- Nielsen, O.L., Iburg, T.; Aalbaek, B.; Leifsson, P.S; Agerholm, J.S; Heegaard, P.; Boye, M.; Simon, S.; Jensen, K.B.; Christensen, S.; Melsen, K.; Bak, A.K.; Backman, E.R.; Jorgensen, M.H.; Groegler, D.K; Jensen, A.L., Kjelgaard-Hansen, M.; Jensen, H. E. A pig model of acute *Staphylococcus aureus* induced pyemia. Acta Vet. Scand. 51: 14-21, 2009.
- Pereda A.; Rimondi, A.; Cappuccio, J.; Sanguinetti, R.; Angel, M.; Ye, J.; Sutton, T.; Dibárbora, M.; Olivera, V.; Craig, M.I.; Quiroga, M.; Machuca, M.; Ferrero, A.; Perfumo C.; Perez, DR. Evidence of reassortment of pandemic H1N1 influenza virus in swine in Argentina: Are we facing the expansion of potential epicenters of influenza emergence? Influenza and Other Respiratory Viruses. 2011 DOI: 10.1111/j.1750-2659.2011.00246.
- Perfumo CJ, Cappuccio J, Machuca M, Quiroga MA. The Importance of Performing Necropsy at the Pig's Farm as a Tool for the Surveillance of Endemic or Emerging Pig Diseases. Clin Res AnimSci. 1(5). CRAS. 000525. 2021.
- Piñeyro, OE.; Baumeister, JA.; Cappuccio, JA; Machuca, M.; Quiroga, MA; Teodoroff, T.; Perfumo, CJ. Prevalencia serológica del virus de influenza A en cerdos en Argentina durante la temporada 2002: Evaluación mediante inhibición de la hemoaglutinación y ELISA. Rev. Arg. Microbiol. 42:98-101, 2010.
- Rich. M. Staphylococci in animals: prevalence, identification and antimicrobial susceptibility, with an emphasis on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Brit. J. Biomed. Sci. 62: 98-105, 2005.
- Serena MS, Cappuccio JA, Barrales H, et al. First detection and genetic characterization of porcine circovirus type 3 (PCV3) in Argentina and its association with reproductive failure. Transbound Emerg Dis. 2020;00:1-6. https://doi.org/10.1111/tbed.13893.
- Su, Shuo, Xinliang Fu, Gairu Li, Fiona Kerlin, Michael Veit.. Novel Influenza D virus: Epidemiology, pathology, evolution and biological characteristics. Virulence, DOI 10.1080 / 21505594.2017.1365216, 2017.
- Tulinski, P.; Fluit, Ad.C; Wagenaar, J.A.; Mevius, D.; van de Vijver, L.; Duim, B. Methicillin-resistant coagulase-negative *staphylococci* from pigs farms as reservoir of heterogeneous staphylococcal cassette chromosome *mec* elements. Appl. Environ. Microbiol. 78: 299-304, 2012.

Vignuzzi, M.; Stone, J.K.; Arnold, J.J.; Cameron, C.E.; Andino, R. Quasispecies diversity determine pathogenesis through cooperative interactions in a viral population. *Nature* 439: 344-348, 2006.

Vigo G, Giacoboni G, Cappuccio J, Pantozzi F, Ibar M, Perfumo C Búsqueda y aislamiento de *Staphylococcus* metilino-resistentes en diferentes especies animales de la República Argentina. *REIE* 7: 38-38, 2012.

Vigo, G.; Manfredi, E.; Cappuccio, J.; Moredo, F.; Rivas, M.; Perfumo, C.J.; Giacoboni, G. *Staphylococcus aureus* clinical infection and colonization status: bacteriological, pulsed-field gel electrophoresis and antimicrobial resistance profile in a pig farm. Proceedings 22th International Pigs Veterinary Society Congress. Jeju, Korea 10-13 June 2012. p.795 BP-438.

Voss, A., Loeffen, F.; Bakker, J.; Klaassen, C.; Wulf, M.. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs farming. *Emerg. Infect. Dis* 11: 1965-1966, 2005.

Zhou Peng, Hang Fan, Tian Lan y col.. Fatal swine acute diarrhea syndrome caused by an HKU2-related coronavirus of bat origin. *Nature* 556: 255-258, 2018.



### CONFORTO TÉRMICO PARA FRANGOS DE CORTE EM CENÁRIOS DE MUDANÇA CLIMÁTICA NO RS

Data de aceite: 22/08/2022

#### Zanandra Boff de Oliveira

Universidade Federal de Santa Maria  
Campus Cachoeira do Sul  
Cachoeira do Sul – Rio Grande do Sul  
<http://lattes.cnpq.br/3951317551573522>

#### Emanuel Luis Christmann

Universidade Federal de Santa Maria  
Campus Cachoeira do Sul  
Cachoeira do Sul – Rio Grande do Sul  
<http://lattes.cnpq.br/1097524850436053>

#### Eduardo Leonel Bottega

Universidade Federal de Santa Maria  
Campus Cachoeira do Sul  
Cachoeira do Sul – Rio Grande do Sul  
<http://lattes.cnpq.br/2754758384879917>

#### Tiago Rodrigo Francetto

Universidade Federal de Santa Maria  
Campus Cachoeira do Sul  
Cachoeira do Sul – Rio Grande do Sul  
<http://lattes.cnpq.br/0131275281658328>

**RESUMO:** O objetivo deste trabalho é analisar o conforto térmico para frangos de corte no Rio Grande do Sul em cenários de mudança climática e propor estratégias

para condicionamento térmico ambiental. Considerou-se os sete municípios do estado maiores produtores de frango: Frederico Westphalen, Passo Fundo, Lagoa Vermelha, Serafina Corrêa, Soledade, Bento Gonçalves e Canela. Os valores de temperatura utilizados na pesquisa foram obtidos do banco de dados de estações meteorológicas do INMET para o período de 2000 a 2020. Foram analisados valores médios, máximos e mínimos mensais para cada município, denominados como valores atuais. A partir destes, foram criados cenários de mudança climática com acréscimos de temperatura da seguinte forma: +1,5°C (cenário 1); + 3°C (cenário 2); + 5°C (cenário 3). Posteriormente, os valores de temperatura obtidos foram confrontados com os valores de referência para conforto térmico para frangos de corte da primeira à sexta semana de vida, disponíveis na literatura. Nas condições atuais, o estresse por frio pode ocorrer em todos os meses do ano e para todas as semanas de vida dos animais e não há uma alteração nessa condição com os cenários de mudança climática, mesmo os mais severos. O estresse calórico é preponderante para animais a partir da quarta semana de vida e se acentua nos cenários de mudança climática, sobretudo nos meses de verão. O conforto térmico que hoje ocorre na parte da tarde em alguns meses do ano para animais de primeira à quarta semana de vida sofrerá uma redução no período de 26%, 41% e 61%, respectivamente, para os cenários 1, 2 e 3, se confirmada a mudança climática. Para

a manutenção das condições térmicas ideais para os animais, são necessárias práticas de acondicionamento térmico, tanto para aumentar quanto para reduzir a temperatura no interior do aviário.

**PALAVRAS-CHAVE:** Aumento de temperatura. Estresse Térmico. Produção Animal.

## THERMAL COMFORT FOR BROILER CHICKENS IN CLIMATE CHANGE SCENARIOS IN RS

**ABSTRACT:** the objective of this work is to analyze the thermal comfort for broilers in Rio Grande do Sul in climate change scenarios and propose strategies for environmental thermal conditioning. The seven municipalities in the state that are the largest chicken producers were considered: Frederico Westphalen, Passo Fundo, Lagoa Vermelha, Serafina Corrêa, Soledade, Bento Gonçalves and Canela. The temperature values used in the research were obtained from the INMET meteorological station database for the period from 2000 to 2020. Average, maximum and monthly minimum values were analyzed for each municipality, called current values. From these, climate change scenarios were created with temperature increases as follows: +1.5°C (scenario 1); + 3°C (scenario 2); + 5°C (scenario 3). Subsequently, the temperature values obtained were compared with the reference values for thermal comfort for broilers from the first to the sixth week of life, available in the literature. Under current conditions, cold stress can occur in all months of the year and for all weeks of the animals' lives and there is no change in this condition with climate change scenarios, even the most severe. Heat stress is predominant for animals from the fourth week of life onwards and is accentuated in climate change scenarios, especially in the summer months. The thermal comfort that currently occurs in the afternoon in some months of the year for animals from the first to the fourth week of life will suffer a reduction in the period of 26%, 41% and 61%, respectively, for scenarios 1, 2 and 3, climate change is confirmed. In order to maintain ideal thermal conditions for the animals, thermal conditioning practices are necessary, both to increase and to reduce the temperature inside the aviary.

**KEYWORDS:** Temperature rise. Thermal Stress. Production.

### 1 INTRODUÇÃO

A produção de frangos de corte tem um destaque nas economias brasileira e mundial. A carne de frango é atualmente uma das mais consumidas no mundo devido ao seu menor preço em comparação a outras carnes. A diferença de preço entre as variedades de carne é decorrente de importantes mudanças na produção, industrialização e comercialização que ocorreram devido a competitividade nessa cadeia (COSTA; GARCIA, 2015).

O Rio Grande do Sul, dentre os demais estados do Brasil, ocupa a terceira posição no tocante à produção e à exportação de frangos de corte. O estado possui 30 frigoríficos que geram renda e sustentação para aproximadamente 7.500 famílias de produtores integrados de frango de corte, e cerca de 35 mil empregos diretos e mais de

500 mil atividades indiretas. A produção anual do estado é de 1,6 milhões de toneladas de carne de frango, correspondendo em torno de 45% do valor bruto da produção pecuária (COMUNICAÇÃO – ASGAV/SIPARGS, 2020). No entanto, Castro et al. (2009) destacam que as características climáticas tropicais e subtropicais predominantes do Brasil requerem uma grande atenção, pois um mal planejamento do aviário pode acarretar o sofrimento das aves por estresse devido ao calor e/ou frio, impactando diretamente a receita final e a qualidade da produção.

Abreu e Abreu (2011) e Baêta e Souza (2010) salientam, ainda, que todo animal tem uma zona de conforto (ZCT), e conhecer essa zona permite maximizar o ganho de peso com o mínimo gasto de nutrientes. A temperatura fora da ZCT compromete a manutenção da homeotermia, uma função vital, alcançada por meio de processos sensíveis e latentes de perda de calor (TINÓCO, 2001; OLIVEIRA et al., 2006).

Segundo dados do Atlas Socioeconômico RS (2020), o Rio Grande do Sul apresenta um clima Temperado do tipo Subtropical classificado como Mesotérmico Úmido. As estações do ano são bem definidas por verões quentes e invernos frios, com mínimas que podem chegar a  $-10^{\circ}\text{C}$  a até  $40^{\circ}\text{C}$  em algumas regiões. Conforme Oliveira e Knies (2017), estas temperaturas interferem negativamente na criação de aves, deixando-as fora de ZCT, causando estresse e impactos negativos na produção (CASTRO et al., 2009).

Damasceno et al. (2010) afirma que os efeitos negativos das variações climáticas tendem ao aumento das temperaturas superficiais terrestres. Algumas regiões que atualmente apresentam condições favoráveis para avicultura podem se perder e muitas espécies de aves podem não se adaptar o suficiente para poder enfrentar esses novos cenários. Swart et al. (2003) apontam que uma série de questões, como o crescimento populacional, a urbanização, a industrialização, o aumento do consumo de recursos naturais e da demanda sobre os ciclos biogeoquímicos nos últimos anos fez com que ocorressem as mudanças climáticas.

Alguns cenários de mudanças climáticas no Brasil em função dos diversos cenários de emissões de gases do efeito estufa, tais como o dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), o metano ( $\text{CH}_4$ ) e óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ), para os próximos 100 anos, indicam a possibilidade de impactos climáticos significativos. Alguns modelos climáticos computacionais sugerem que poderá ocorrer um aquecimento de  $4^{\circ}$  a  $6^{\circ}\text{C}$  em partes do país até o final do século XXI (NOBRE, 2001). Torres (2022), em um relatório climático da ONU publicado, revela um cenário de temperatura global com incremento de até  $2^{\circ}\text{C}$  até o ano de 2050.

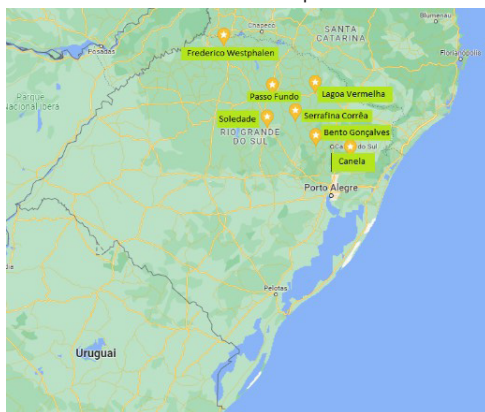
Contudo isso, é de fundamental conhecer o clima da região e analisar os impactos de uma possível mudança climática para o planejamento futuro das edificações. Sendo

assim, o objetivo deste trabalho é analisar o conforto térmico para frangos de corte no Rio Grande do Sul em cenários de mudança climática e propor estratégias para acondicionamento térmico ambiental.

## 2 METODOLOGIA

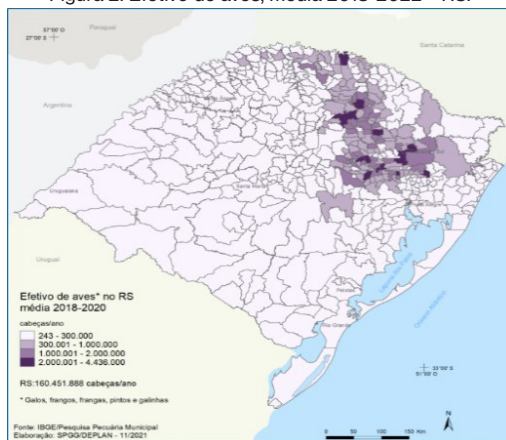
O estudo foi realizado para sete municípios do estado do Rio Grande do Sul, são eles: Frederico Westphalen, Passo Fundo, Lagoa Vermelha, Serafina Corrêa, Soledade, Bento Gonçalves e Canela (Figura 1), por representarem a maior região produtora de frangos de corte do estado. Na Figura 2, pode ser observada a média da quantidade de aves entre os anos de 2018 e 2020 no estado, bem como sua respectiva quantidade por município.

Figura 1: Municípios do estado do Rio Grande do Sul escolhidos para a análise bioclimática para avicultura de corte.



Fonte: Google Maps, 2022.

Figura 2: Efetivo de aves, média 2018-2022 – RS.



Fonte: Atlas Socioeconômico, 2020.

Os valores de temperatura para cada município foram obtidos do banco de dados de estações meteorológicas do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) para o período de 2000 a 2020. Analisou-se valores médios, máximos e mínimos mensais para cada município, denominados como valores atuais. A partir desses valores foram criados cenários de mudança climática com acréscimos de temperatura da seguinte forma: +1,5°C (cenário 1); + 3°C (cenário 2); + 5°C (cenário 3). A Figura 3 apresenta um esquema de como foram analisados os dados.

De posse dos dados de temperatura (média, máxima e mínima) nas condições atuais e nos diferentes cenários realizou-se a análise bioclimática para a produção de frangos de corte utilizando como referência os valores por semana de vida dos animais, apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Valores de referência para análise de conforto térmico.

Idade (semanas)	Temperatura (°C)
1	32-35
2	29-32
3	26-29
4	23-26
5	20-23
6	20

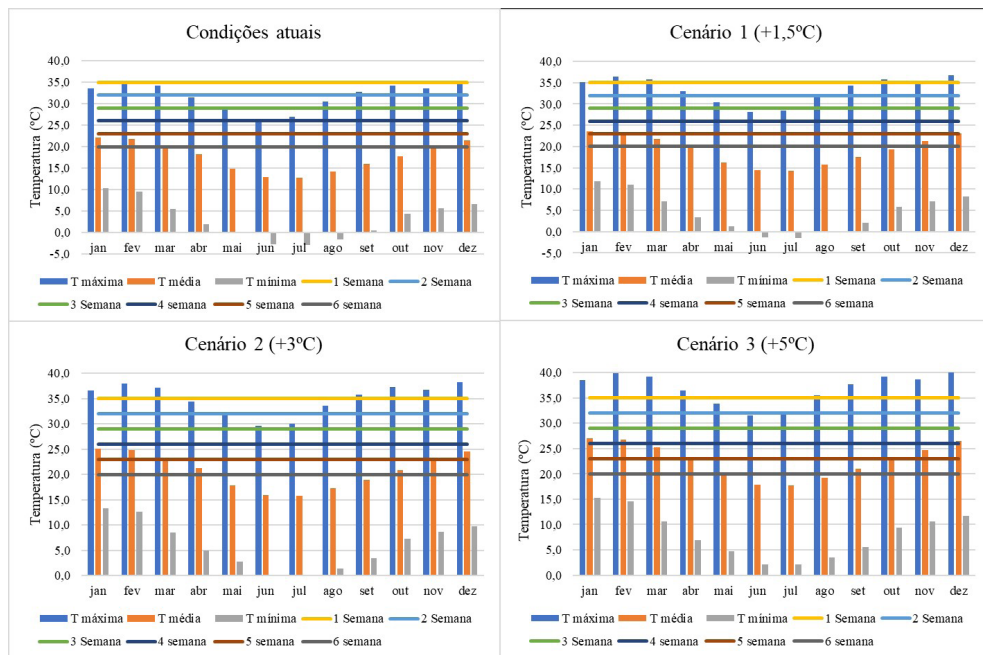
Fonte: Abreu e Abreu (2011); Silva (2007).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 3 apresenta as temperaturas médias (médias, máximas e mínimas) para os sete lugares estudados nas condições atuais e nos cenários de mudança climática estudados e as temperaturas ideais pelos valores de referência (Tabela 1) para as semanas de vida dos frangos de corte, nos doze meses do ano.

É possível observar que para todas as situações de estudo há raras ocasiões em que o conforto térmico ocorre, sendo que as condições oscilam entre estresse por calor, no horário em que a temperatura do ar é máxima, principalmente nos meses de verão e para animais em fase mais avançada (a partir da quarta semana de vida) e estresse por frio, no horário em que a temperatura é mínima para todos os meses e, de forma mais acentuada, para animais mais jovens. Além disso, os cenários de mudança climática só agravam o estresse calórico que já existe e apenas mitigam o estresse por frio existente.

Figura 3: Temperaturas médias durante todos os meses do ano em relação à temperatura ideal para o conforto térmico das aves em condições atuais e três diferentes cenários de mudança climática.



Fonte: autor.

Nas condições atuais, a temperatura máxima fica próxima à de conforto térmico para animais na primeira e na segunda semana de vida de setembro a abril; a partir de maio até agosto pode haver necessidade de aquecimento do ambiente, mesmo na parte da tarde. Para animais na terceira semana de vida, o conforto térmico na parte da tarde pode ocorrer de maio a agosto. Já, para animais mais pesados, a partir da quarta semana de vida, impera o estresse calórico que pode acontecer em todos os meses do ano, de sobremaneira nos meses de verão. Em relação à temperatura mínima, verifica-se que o estresse por frio pode acontecer em todos os meses do ano para animais em qualquer fase de vida, com maior severidade para animais em fase inicial do ciclo de desenvolvimento nos meses de maio a agosto.

No cenário 1, o estresse calórico é acentuado e, para animais na primeira semana de vida, já passa a haver a necessidade de práticas para a redução da temperatura no horário em que a temperatura é máxima nos meses de dezembro e fevereiro. Para animais na segunda semana de vida, o conforto térmico na parte da tarde prevalece de abril a agosto, podendo ainda demandar aquecimento nos meses de junho e julho, meses em que pode haver conforto em relação à temperatura máxima para animais na terceira semana. Animais a partir da quarta semana terão problema com estresse calórico em todos os meses do ano, que se acentua em comparação à situação atual.

Nos cenários mais severos de mudança climática (cenários 2 e 3), o conforto térmico no horário da temperatura máxima pode acontecer apenas nos meses de maio a julho para animais na primeira e segunda semana de vida. Para os demais meses e fases de vida dos animais, o estresse calórico se agrava podendo demandar de maior quantidade de estratégias para redução de calor do que é usual, como por exemplo, maior número de ventiladores para a renovação do ar, associação de estratégias de condicionamento térmico, como mecanismos evaporativos associados à ventilação e ao sombreamento natural, entre outras.

Por outro lado, o estresse por frio (temperatura mínima) que existe prevalece mesmo nos cenários de mudança climática 2 e 3, com uma atenuação em sua severidade para animais na quinta e na sexta semana de vida de dezembro a fevereiro. Demandando estratégias para o aumento da temperatura dentro do aviário, como uso de aquecedores e o fechamento de cortinas.

Em relação a temperatura média, ela permanece abaixo da de conforto para animais da primeira à quarta a semana nos cenários 1 e 2. No cenário 1, ela se aproxima mais da situação de conforto para animais na quinta semana de novembro a março e para animais na sexta semana em abril e outubro. No cenário 2, a temperatura média fica próxima à de conforto para animais na quinta semana em março e novembro e para animais na sexta semana em setembro e outubro. No cenário 3, a temperatura média fica próxima à de conforto para animais na quinta semana em setembro outubro e abril, para animais na sexta de maio a agosto e para animais na quarta semana de dezembro a janeiro.

Essa maior aproximação da temperatura média a de conforto dos animais (a partir da quarta semana) nos cenários de mudança climática não gera grandes benefícios em relação a adoção das práticas de condicionamento térmico necessárias. Pois, a temperatura média não é o que define a condição de maior estresse que os animais estão sujeitos, que ocorre nos extremos, quando as temperaturas são mínimas e máximas. Situações para quais são definidas as práticas de condicionamento térmico e que serão melhor exploradas nesse estudo. Lopes et al. (2015) salientam que um grande limitante da produção de aves é o estresse por temperatura.

As aves são animais homeotérmicos, e quando estão fora ZCT respondem com alterações comportamentais, bioquímicas e fisiológicas (NAZARENO et al., 2009), ocasionando um decréscimo produtivo, reprodutivo e da resistência do organismo, sendo que extremos podem ser até mesmo letais. Independente da técnica empregada, tanto para a redução de temperatura como para o aquecimento, o importante é sempre ter um bom monitoramento da temperatura.

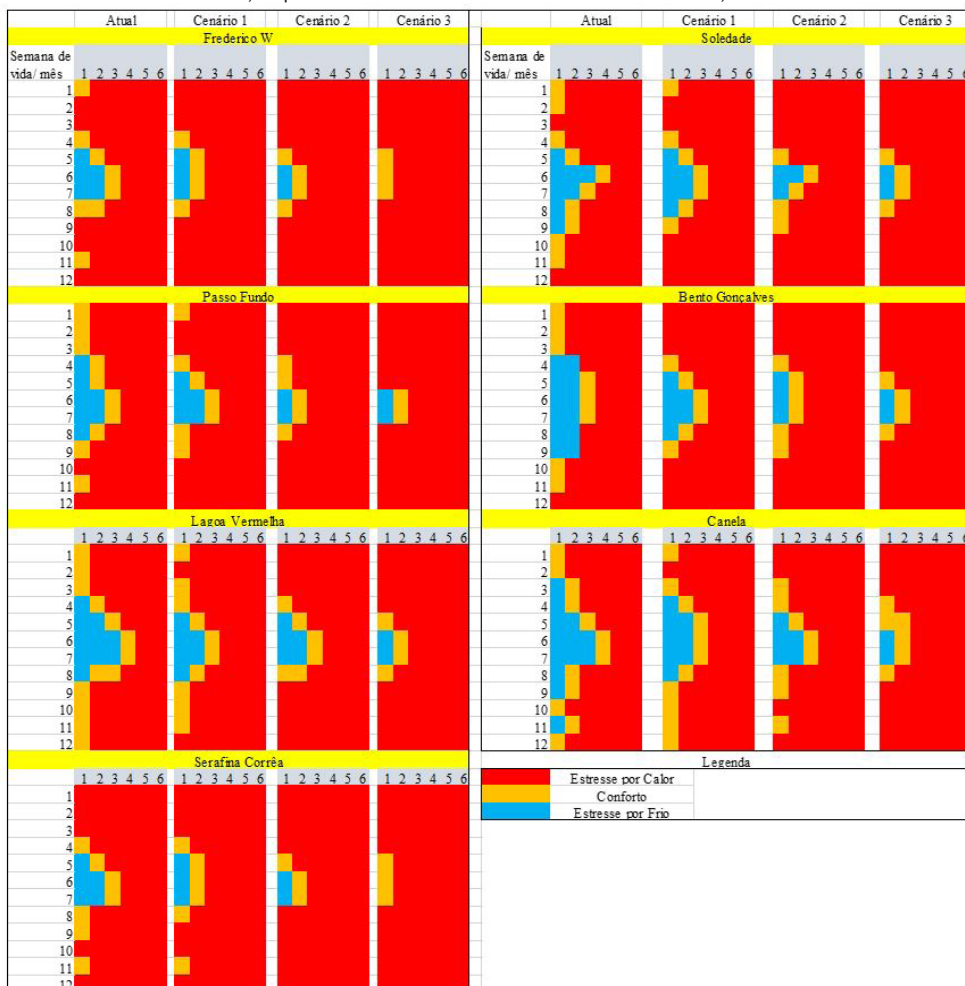
Nas Figuras 4 e 5 estão representados, respectivamente, para a temperatura máxima e mínima, os resultados da situação de conforto térmico para frangos de corte



nos 7 municípios do estado de acordo com os valores de referência para as aves durante as primeiras 6 semanas de vida no decorrer dos 12 meses do ano. Além das condições atuais, pode-se observar as condições de conforto térmico para os três diferentes cenários propostos.

Em relação à temperatura máxima (Figura 4), nota-se que a partir da terceira semana de vida as aves começam a sofrer por estresse de calor em praticamente todos os meses do ano. Pode haver algum conforto para animais em fase inicial do ciclo nos meses de primavera/verão e no período de outono/inverno para animais um pouco maiores. De um modo geral, são aves entre a primeira à terceira semana de vida que conseguem obter condições de temperatura mais favoráveis ao conforto térmico em relação à temperatura máxima.

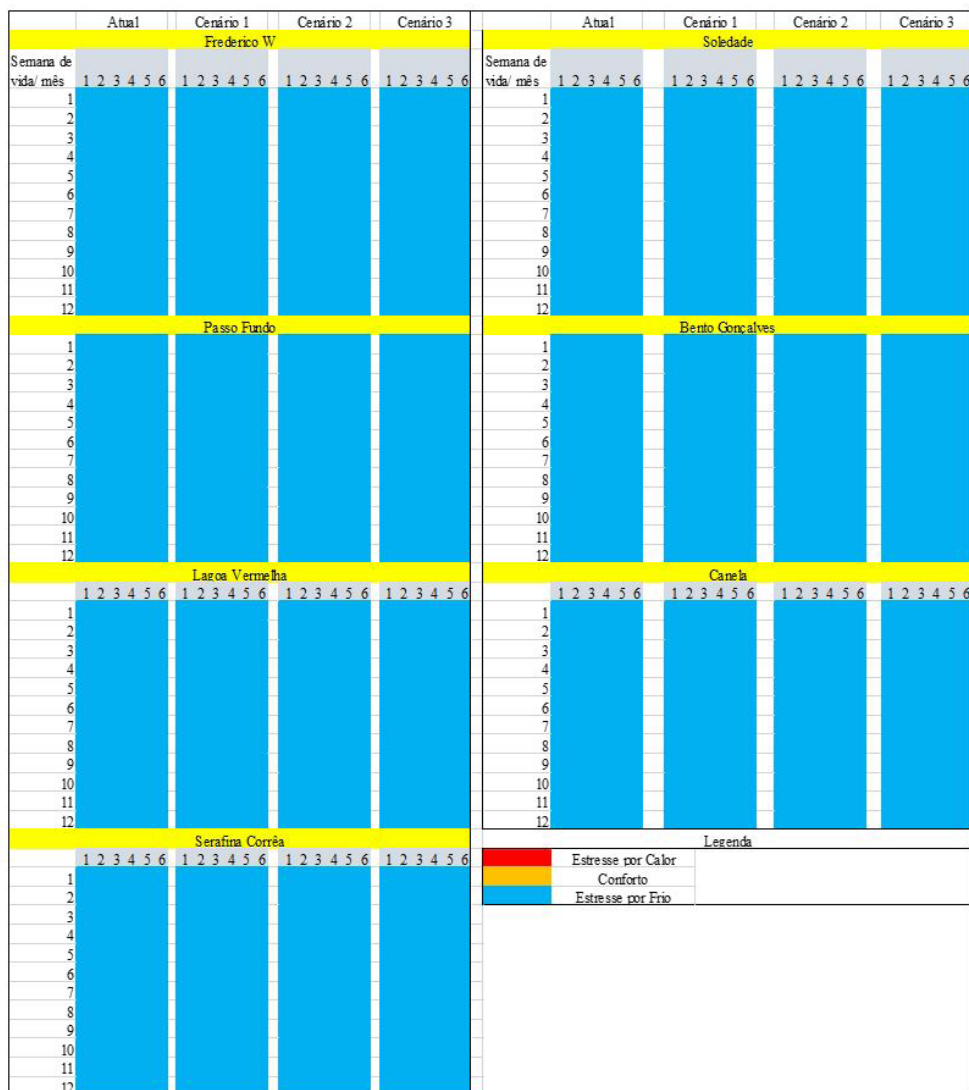
Figura 4: Condição de conforto térmico em relação à temperatura máxima do ar para diferentes municípios do estado do Rio Grande do Sul, da primeira à sexta semana de vida das aves de corte, nos doze meses do ano.



Fonte: autor.

Há maior predomínio de conforto térmico em relação à temperatura máxima (Figura 4) nos municípios de Lagoa Vermelha e Canela, seguidos de Passo fundo e Soledade, na sequência Frederico Westphalen, Bento Gonçalves e Soledade e, com menor período de ocorrência de conforto em Serafina Corrêa. A redução média do período de conforto térmico nos cenários de mudança climática em comparação à condição atual será de 26%, 41% e 61%, respectivamente, para os cenários 1, 2 e 3, o que demandará em maior tempo de utilização das técnicas para o acondicionamento térmico dos aviários para a redução do calor.

Figura 5: Condição de conforto em relação à temperatura mínima do ar para diferentes municípios do estado do Rio Grande do Sul, da primeira à sexta semana de vida das aves de corte, nos doze meses do ano.



Fonte: autor.

Verifica-se que o estresse por frio é predominante na temperatura mínima em todas as condições estudadas (Figura 5) e na temperatura máxima (Figura 4), principalmente nas primeiras semanas de vida, com uma pequena atenuação nos cenários de mudança climática. O município com as temperaturas mais baixas é Canela, acompanhado por Bento Gonçalves e Soledade. Isso se deve principalmente às altitudes mais elevadas em relação aos demais municípios. Contudo, todos os municípios obedecem ao clima subtropical que predomina no estado, com grande variação de temperatura anual, isto é, verões quentes e invernos frios.

Para o aquecimento do aviário, diversas maneiras já foram desenvolvidas para solucionar o problema, como aquecedores a lenha, elétricos, a gás e ainda outras alternativas. O importante é ter capacidade de aquecimento suficiente para manter a temperatura de acordo com a idade das aves, proporcionando ventilação adequada para que a qualidade do ar seja aceitável independentemente da temperatura externa. Uma boa capacidade de aquecimento bem distribuído em todo o aviário muitas vezes resultará em um menor custo e ainda um ambiente melhor e mais uniforme para as aves (GUIMARÃES, 2022).

Muito do que já é utilizado nos dias de hoje poderá continuar sendo utilizado, talvez com a associação de várias estratégias (naturais e artificiais), intensificação do uso de ventiladores ou exaustores associados a mecanismos evaporativos, melhoria de vedação em aviários fechados, estratégias construtivas utilizando materiais de coberturas mais reflexivos, entre outras. Existem opções para se chegar à temperatura desejada dentro do aviário. Para resfriar ou aquecer o ar, é necessário transferir energia e/ou massa por mecanismos sensíveis (condução, convecção ou radiação) ou latentes (evaporação). O uso de mecanismos latentes, como o resfriamento adiabático evaporativo do ar, quando há contato entre o ar e a água é comum em construções avícolas (SOUZA, 2017).

Segundo Baêta e Souza (2010), para fins de ventilação, os aviários brasileiros podem ser classificados em abertos e fechados. Os abertos são mais simples e normalmente são utilizados devido ao seu baixo custo. Nesse sistema, prioriza-se a ventilação natural. Durante períodos quentes são mantidos abertos o lanternim e as cortinas, maximizando a ventilação. Já, os aviários fechados são mais complexos, de maior custo e requerem ventilação forçada e resfriamento evaporativo, que pode ser positiva ou negativa. Esse tipo de sistema exige que o aviário seja bem vedado e se houver fugas de ar, o sistema será pouco eficiente ou não funcionará.

Como mecanismos para ventilação, são muito utilizados ventiladores (pressão positiva) e exaustores (pressão negativa). O aumento da velocidade de circulação do ar através da utilização de ventiladores pode aliviar o estresse térmico, uma vez que aumenta

as trocas de calor do animal com o ambiente (YAHAV et al., 2004). Já, os exaustores executam a ventilação negativa, que capta o ar quente no interior do aviário e o lança para o exterior (NOWICKI et al., 2011). Outro método sugerido por Furtado et al. (2005), é a utilização de aspersão de água sobre a cobertura do aviário. De acordo com Tinôco (2001) essa técnica sobre a cobertura proporciona redução da temperatura da telha simultaneamente por evaporação da água em contato com a telha, evaporação da água da lâmina sobre a telha, transferência de calor da telha para a lâmina de água e remoção de calor sobre a cobertura por meio do ar já resfriado evaporativamente.

Os acréscimos de temperatura simulados aqui neste estudo resultam no agravamento do estresse por calor e não resolvem o problema de estresse por frio, pois até mesmo no cenário 3, poderá haver estresse por frio em todas as idades das aves, em todos os meses do ano e em todos os municípios avaliados (Figura 5). Sendo assim, mesmo com os cenários de mudança climática, ainda serão necessários investimentos para aquecer o ambiente aliado aos investimentos maiores ainda que os atuais para a redução de temperatura.

Com toda a demanda de energia para resfriar e aquecer o aviário, o custo energético poderá se tornar um obstáculo ao produtor. Nassa et al. (2019) salientam que a energia se tornou o maior custo das granjas. Desse modo, a energia solar fotovoltaica é uma boa alternativa para uma economia importante na avicultura, gerando ainda uma energia limpa, sustentável e de menor custo. As placas solares podem ser utilizadas nos próprios telhados da granja ou em alguma outra área limpa em que haja boa incidência de sol.

## 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estresse por frio pode ocorrer em todos os meses do ano e para todas as semanas de vida dos animais e não há uma alteração nesta condição com os cenários de mudança climática, mesmo mais severos. O estresse calórico é preponderante para animais a partir da quarta semana de vida e se acentua nos cenários de mudança climática, sobretudo nos meses de verão. Assim, para a manutenção das condições térmicas ideais para os animais são necessárias práticas de acondicionamento térmico tanto para aumentar quanto para reduzir a temperatura no interior do aviário.

## REFERÊNCIAS

ABREU, P. G.; ABREU, Valéria Maria Nascimento. **Ventilação na avicultura de corte**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2000. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/58306/1/doc63.pdf>. Acesso em: 22 jun. 2022.

ABREU, V. M. N.; ABREU, P. G. **Os desafios da ambiência sobre os sistemas de aves no Brasil**. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 40, p. 1-14, 2011.

ATLAS SOCIOECONÔMICO. **Aves e ovos**: o RS é o terceiro maior produtor de aves do país e o quinto de ovos de galinha. Secretaria de Planejamento, Governança e Gestão, Porto Alegre, 20 jul. 2020. Disponível em: <https://atlassocioeconomico.rs.gov.br/aves-ovos-e-leite>. Acesso em: 22 jun. 2022.

ATLAS SOCIOECONÔMICO. **Clima, temperatura e precipitação**: o clima do Rio Grande do Sul é Temperado do tipo Subtropical, classificado como Mesotérmico Úmido. Secretaria de Planejamento, Governança e Gestão, Porto Alegre, 20 jul. 2020. Disponível em: <https://atlassocioeconomico.rs.gov.br/clima-temperatura-e-precipitacao>. Acesso em: 22 jun. 2022.

AVICULTURA INDUSTRIAL. **As cidades brasileiras com o maior número de aves**. Redação AI, 25 set. 2019. Disponível em: <https://www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/as-cidades-brasileiras-com-o-maior-numero-de-aves/20190925-114955-n622>. Acesso em: 22 jun. 2022.

BAÊTA, F. C.; SOUZA, C. F. **Ambiência em edificações rurais**: conforto animal. Viçosa: Editora UFV, 2010.

CASTRO, J. O.; SANTOS, G. C.; AGUIAR, E. F.; SOUSA, F. A.; ALMEIDA, A. K.; CAMPOS, A. T. **Avaliação do índice de temperatura e umidade para as diferentes fases de produção de aves de corte no município de Diamantina - MG**. In: ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 13.; ENCONTRO LATINO AMERICANO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 9., Paraíba. Anais ...Universidade do Vale do Paraíba, 2009.

COSTA, L.S; GARCIA, L.A.F; BRENE, P.PA. **Panorama do setor de frango de corte no Brasil e a participação da indústria avícola paranaense no complexo dado seu alto grau de competitividade**. In: SINGEP – SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE GESTÃO DE PROJETOS, INOVAÇÃO E SUSTENTABILIDADE, 4., 2015, São Paulo. **Anais...** São Paulo – SP – Brasil – 08, 09 e 10/11/2015, ISSN: 2317- 8302. Disponível em: <https://singep.org.br/4singep/resultado/209.pdf>. Acesso em: 22 jun. 2022.

DAMASCENO, F.A.; GOMES, R.C.C.; TINÔCO, I.F.F.; SOUZA, F.F. **Mudanças climáticas e sua influência na produção avícola**. PUBVET, Londrina, v. 4, n. 28, ed. 133, art. 901, 2010.

FURTADO, D. A.; TINÔCO, I.F.F.; NASCIMENTO, J.W.B.; LEAL, A.; AZEVEDO, M.A. **Caracterização das instalações avícolas na mesorregião do agreste paraibano**. Engenharia Agrícola, v. 25, n. 3, p. 831-840, 2005.

GARCIA, L. A. F. **Economias de escala na produção de frangos de corte no Brasil**. (Tese de Doutorado) Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz. Piracicaba. 2004.

GUIMARÃES, R.T. **Aquecimento e qualidade de ar na fase inicial**. Engormix, [s. l.], 14 jun. 2022. Disponível em: <https://pt.engormix.com/avicultura/artigos/aquecimento-qualidade-fase-inicial-t50249.htm>. Acesso em: 22 jun. 2022.

LIMA, K.R.S.; ALVES, J.A.K.; ARAÚJO, C.V.; MANNO, M.C.; JESUS, M.L.C.; FERNANDES, D.L.; TAVARES, F. **Avaliação do ambiente térmico interno em galpões de frango de corte com diferentes materiais de cobertura na mesorregião metropolitana de Belém**. Revista de Ciências Agrárias, n. 51, p. 37-50, 2009.

LOPES, J.C; RIBEIRO, M.N; LIMA, V.B.S. **Estresse por calor em frangos de corte**. Nutritime, v. 12, n. 6, p. 4478-4487, nov-dez, 2015. Disponível em: [https://www.nutritime.com.br/arquivos\\_internos/artigos/352\\_-4478-4487\\_-\\_NRE\\_12-6\\_nov-dez\\_2015.pdf](https://www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/352_-4478-4487_-_NRE_12-6_nov-dez_2015.pdf). Acesso em: 22 jun. 2022.

NASSA, T.; MORAES NETO, S.; MEYER, R.; CASARIN, R.G. **Avicultura encontra na energia solar a solução para economia energética nas granjas**. Portal Solar, 8 jan. 2019. Disponível em: <https://www.portalsolar.com.br/blog-solar/energia-solar/avicultura-encontra-na-energia-solar-a-solucao-para-economia-energetica-nas-granjas.html>. Acesso em: 22 jun. 2022.

NAZARENO, A.C.; PANDORFI, H.; ALMEIDA, G.L.P.; GIONGO, P.R.; PEDROSA, E.M.R.; GUISELINI, C. **Avaliação do conforto térmico e desempenho de frangos de corte sob regime de criação diferenciado.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v. 13, n. 6, p. 802–808, 2009.

NOBRE, C. A. **Mudanças climáticas globais: possíveis impactos nos ecossistemas do país. Parcerias Estratégicas,** Brasília, p. 239-258, 2001.

NOWICKI, R.; BUTZGE, E.; OTUTUMI, L.K.; PIAU JÚNIOR, R.; ALBERTON, L.R.; MERLINI, L.S.; MENDES, T.C.; DALBERTOS, J.L.; GERÔNIMO, E.; CAETANO, I.C.S. **Desempenho de frangos de corte criados em aviários convencionais e escuros.** Arquivo de Ciências Veterinárias e Zoologia, v. 14, n. 1, p. 25-28, 2011.

OLIVEIRA, Z.B; BOTTEGA, E.L; OLIVEIRA, M.B; MORAES, C.S; LINK, T.T. **Análise do conforto térmico no estado do rio grande do sul utilizando técnicas geoestatísticas e dados das normais climatológicas.** Engenharia na Agricultura, Viçosa, v. 27, n. 3, p. 195-203, 2019.

OLIVEIRA, Z.B; KNIES, A.E. **Diagnóstico bioclimático para a produção de aves de corte em diferentes municípios do RS.** Energia na Agricultura, Botucatu, v. 32, n. 4, p. 372-378, out-dez., 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.17224/EnergAgric.2017v32n4p372-378>. Acesso em: 22 jun. 2022.

SILVA, E.T. Índice de temperatura e umidade (ITU) na produção de aves para a **Mesoregião do Nordeste e Norte pioneiro Paranaence.** Revista Acadêmica, v. 5, n. 4, p. 385-390, 2007. Disponível em: [www2.pucpr.br/reol/index.php/academica?dd99=pdf&dd1=1875](http://www2.pucpr.br/reol/index.php/academica?dd99=pdf&dd1=1875). Acesso em: 30 abr. 2022.

SOUZA, F. **Galpões climatizados: uma ferramenta eficiente aliada à alta produtividade.** Avicultura Industrial, 1 fev. 2017. Disponível em: <https://www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/galpoes-climatizados-uma-ferramenta-eficiente-aliada-a-alta-productividade/20170201-144126-c248>. Acesso em: 22 jun. 2022.

SWART, R.; ROBINSON, J.; COHEN, S. **Climate change and sustainable development: expanding the options.** Climate Policy, v. 1, p. 19–40, 2003.

TINÔCO, I. F. F. **Avicultura industrial: novos conceitos de materiais, concepções e técnicas construtivas disponíveis para galpões avícolas brasileiros.** Revista Brasileira de Ciência Avícola, Campinas, v. 3, n. 1, p. 1-26, 2001.

TORRES, W. **Relatório climático da ONU revela cenário dramático para o futuro do planeta.** Canaltech, [s. l.], 1 mar. 2022. Disponível em: <https://canaltech.com.br/meio-ambiente/relatorio-climatico-da-onu-revela-cenario-dramatico-para-o-futuro-do-planeta-210311/>. Acesso em: 22 jun. 2022.

YAHAV, S.; GOLDFELD, S.; PLAVNIK, I.; HURWITZ, S. **Physiological response of chickens and turkeys to relative humidity during exposure to high ambient temperature.** Journal Thermal Biology, v. 20, n. 3, p. 245-253. 1995.

## CAPÍTULO 24

### GANADERÍA EQUINA EXTENSIVA, FIESTAS Y PRODUCTOS TRADICIONALES: COOPERATIVA MONTE CABALAR Y RAPA DAS BESTAS DE SABUCEDO (A ESTRADA, PONTEVEDRA)

*Data de aceite: 22/08/2022*

**Francisco Xavier Barreiro**

Cooperativa Monte Cabalar  
Somoza, 36681 A Estrada, Pontevedra  
Galicia, España  
<http://www.montecabalar.com/>

**Adolfo Cano Guervós**

Asociación Medioambiental Estela  
Galicia, España

**RESUMEN:** La cría de caballos en libertad cuenta con una tradición secular en Galicia. En un horizonte de futuro dominado por el Cambio Climático Global, para la lucha contra el cambio climático, el equino de la raza autóctona “Cabalo de Pura Raza Galega” (PRG), sobresale por su positiva acción como “desbrozadora” del matorral atlántico, evitando la acumulación de biomasa forestal. Este sistema ha demostrado ser una eficaz acción preventiva de los incendios forestales que periódicamente afectan al monte gallego. La Sociedade Cooperativa Galega Monte Cabalar, de explotación comunitaria

<sup>1</sup> XXVI Jornadas Técnicas de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica (SEAE) “Innovación Agroecológica y Cambio Climático”, X Seminario Agroecología, Cambio climático y Agroturismo. Escuela Politécnica Superior (EPSO) Orihuela (Alicante), 19 – 20 Octubre, 2017.

de la tierra, de A Estrada, Pontevedra, viene realizando una explotación ganadera extensiva del monte. La cooperativa es pionera en la producción de elaborados “gourmet” de carne de equino. El “Cabalo de Pura Raza Galega” (PRG), es un recurso poco aprovechado, pero un caballo autóctono muy valioso. Su presencia en Galicia data de tiempos prerromanos. Posiblemente de raíz celta. A su aprovechamiento cárnico, se han incorporado recientemente alternativas, como su uso terapéutico, turístico, recreativo, de ocio, etc. En toda Galicia hay más de 20 “curros”, fiesta dedicado a la raza autóctona “Cabalo de Pura Raza Galega” (PRG). En A Estrada se celebra “A Rapa das Bestas de Sabucedo”, fiesta de interés turístico internacional.

**PALABRAS CLAVE:** Cabalo de Pura Raza Galega. Curros. Ganadería equina. Rapa das Bestas. Razas autóctonas.

GANADERÍA EQUINA EXTENSIVA,  
EVENTS AND TRADITIONAL PRODUCTS:  
COOPERATIVA MONTE CABALAR Y RAPA  
DAS BESTAS OF SABUCEDO (A ESTRADA,  
PONTEVEDRA)

**ABSTRACT:** The livestock of horses in freedom has a secular tradition in Galicia. In a horizon of future dominated by the Global Climatic Change, for the fight against the climatic change, the horses of the autochthonous race “Cabalo de Pura Raza Galega” (PRG), projects by his positive action like “desbrozadora” of the atlantic bush, avoiding the accumulation



of forest biomass, preventive action of forest fires, that destroy Galicia periodically. This horse has showed his utility for the improvement of the management of Agrosilvopastorals Systems. The Sociedad Cooperativa Galega Monte Cabalar, of community exploitation of the earth of A Estrada, Pontevedra, manage an exploitation grazier extensive. The cooperative is pioneering in the production of elaborated “Gourmet” of meat from horses. The autochthonous horse (PRG), is a very valuable resource. To his food use have incorporated alternatives, as his tourist use, recreational, of leisure, etc. In all Galicia there is 20 “Curros”, events devoted to the autochthonous race (PRG). In A Estrada celebrates “A Rapa das Bestas of Sabucedo”, party of international tourist interest.

**KEYWORDS:** Cabalo of Pure Race Galega. Curros. Rapa das Bestas. Autochthonous horse races.

## 1 INTRODUCCIÓN

La cría de caballos en libertad cuenta con una tradición secular en Galicia. Este caballo del país ha tenido múltiples denominaciones, que se consideran incorrectas actualmente, como cabalo do país, poni galego, faca galega, faca galiciana, etc. El caballo autóctono “Cabalo de Pura Raza Galega” (PRG), emparentado con el Asturcón, entre otras razas europeas, es un recurso actualmente infrutilizado. A su aprovechamiento como aporte de carne económica, se han incorporado recientemente otras alternativas, como su uso turístico, recreativo, de ocio, e incluso terapeutico.

Es una raza frugal, que convive con el lobo ibérico desde hace siglos. También sobresale su positiva acción como “desbrozadora” del matorral atlántico, preventiva de incendios forestales, en un horizonte de futuro dominado por el Cambio Climático Global.

Los sistemas agrosilvopastorales en Galicia constituyen sistemas seculares de uso de la tierra. Abunda la superficie mancomunada (*Montes veciñais en man común*), una figura jurídica de origen germánico, que pervive en el derecho gallego.

Durante la segunda mitad del siglo XX, el monte gallego, tradicionalmente un mosaico de pastos, bosques y cultivos, que atesoraba una alta biodiversidad, ha experimentado rápidos cambios de gestión, pasando de los sistemas tradicionales de cultivo, con insumos energéticos externos bajos, a sistemas menos complejos, con disminución de la diversidad en los usos del suelo y técnicas de manejo mas intensivo.

Por otro lado, el abandono de la ganadería tradicional, extensiva, ha inducido cambios en la vegetación dominante, con la proliferación de los matorrales arbustivos y el arbolado de repoblación forestal. También se abandonó la extracción de leñas del bosque. Esta globalización, a veces condujo a sistemas menos resilientes, con cambios en la gestión que permite un incremento de la biomasa forestal y aumentan el riesgo de incendios.

El interior de Galicia sufre un importante despoblamiento rural, como consecuencia de la secular emigración y el envejecimiento de la población. El minifundio

gallego actualmente es poco rentable, al pasar del sistema de autoconsumo tradicional, autosuficiente, a una agricultura y ganadería intensivas, para suministro de las grandes distribuidoras, que rinde muy poco al agricultor y ganadero.

Para hacer frente a esta situación de partida, en el municipio de A Estrada, de la provincia de Pontevedra, se constituye en 2006 la Cooperativa Agroganadera Monte Cabalar. Esta Cooperativa crea, desarrolla y difunde un modelo de uso cooperativo del terreno, apto para la gestión de la propiedad de los montes, agrupa más de 700 has, en un sistema compatible con el mantenimiento de la micropropiedad de la tierra. Esta unión permite explotar un sistema agrosilvopastoral, en régimen de ganadería extensiva, especialmente de equino. El pastoreo reduce la biomasa forestal, sobre todo de monte bajo, matorrales atlánticos, y el sotobosque del pinar. Desde su constitución, este sistema puso freno a los incendios forestales.

La cooperativa aprovecha las potencialidades de las razas ganaderas autóctonas, de aptitud cárnica, frugales, rústicas, muy adaptadas al medio. La ganadería produce carne de vacuno (Caldelao y Rubia del país), porcino (Porco celta) y equino, Caballo de Pura Raza Gallega (PRG). Los elaborados cárnicos de alta calidad, son productos “gourmet”, elaborados mediante procesos productivos tradicionales, y representan una alternativa ante la ausencia de mercado en fresco de la carne de equino.

La comunidad rural aporta su experiencia secular, para lograr un desarrollo rural endógeno. La importancia de estas áreas descansa tanto en sus elevados valores ambientales, como en los socioeconómicos. Apoyan una excepcional diversidad de vida silvestre, forman paisajes únicos, son fuente de alimentos vegetales y animales de alta calidad, obtenidos con sistemas de producción tradicional, sustentan a la población rural y constituyen una base importante para la creciente demanda de ocio rural y turismo de calidad.

Las fiestas tradicionales caballares (Curros, Rapas, Romerías), son eventos unidos a la cría de caballos en libertad, son eventos turísticos rentables, que contribuyen a la conservación de la raza autóctona “Caballo de Pura Raza Gallega” (PRG), raza en peligro de extinción. Uno de los más conocidos es la llamada “Rapa das bestas” de Sabucedo, A Estrada, Pontevedra. Estas celebraciones dieron lugar a un tipo de construcción rural específico, los llamados curros, donde se reúnen cada año miles de personas, digno de estudio, seguimiento y fomento, que se mantiene gracias a la cría en libertad del Caballo de Pura Raza Gallega (PRG). Las características de la raza, mansa y fuerte, hacen posible una orientación alternativa para la cría y selección de ejemplares con cualidades terapéuticas, deportivas, de exposición y de ocio.

## 2 LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA Y MATERIALES

### 2.1 MEDIO FÍSICO, CONCELLO DE A ESTRADA

Está situado en la zona centro occidental de Galicia, interior de Pontevedra. Su relieve es montañoso, integrado en la llamada Comarca de Tabeirós e Terra de Montes (Precedo 1997).

Cuadro 1. <b>Concello de A Estrada: Datos Geográficos</b>	
Latitud Norte	42° 41' 21"
Longitud Oeste	008° 29' 14"
Cuota máxima (m.s.n.m.)	792
Cuota mínima (m.s.n.m.)	25
Superficie (Km <sup>2</sup> )	281,8
Nº de parroquias	51
<b>Temperatura Media Anual (°C)</b>	<b>13,3</b>
Invierno	8,8
Primavera	14,4
Verano	18,6
Otoño	11,2
<b>Precipitación Anual (mm)</b>	<b>1811</b>
Invierno	655
Primavera	368
Verano	194
Otoño	594

\* Fuente: Web Concello de A Estrada (2017)

La topografía está dominada por pequeñas altiplanicies y ríos poco encajados. El territorio, relativamente alejado del mar, presenta cierta continentalidad, bioclima euoceánico, dentro del termotipo mesotemplado inferior. El ombroclima es húmedo e hiperhúmedo (Rodríguez-Gutián, Ramil-Rego 2008).

La vegetación natural está notablemente antropizada en amplias áreas del territorio. En el antropoceno, aparece una cierta tendencia a la reducción de la



Nombre: Cabalo de Pura Raza Galega. Área de origen: Galicia.

Aptitudes: Temperamento dócil, tranquilo, valiente e inteligente, que lo hace apropiado para la equitación, tanto de ocio como deportiva.

Prototipo racial. Características generales: El Cabalo de Pura Raza Galega agrupa animales de perfil recto o subcónico, elipométricos y de proporciones sublongilíneas. Con una alzada a la cruz entre 120 y 140 cm. Presentan capa castaña o negra.

Fig. 2. Ejemplar típico de «Caballo de Pura Raza Gallega» (PRG).

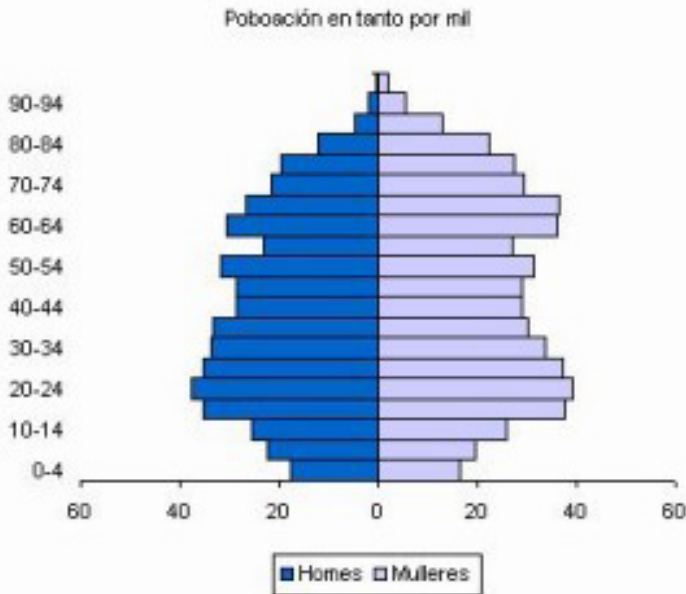


## 2.2 MEDIO HUMANO Y SOCIOECONÓMICO DE A ESTRADA

El municipio de A Estrada tiene una población de 22.362 habitantes, la estructura de edades de la población es la siguiente:

Cuadro 2. Estructura de la población por edad	
A Estrada Pontevedra Galicia	
Edad media Hombres	42,3 38,8 41,1
Edad media Mujeres	46,2 42,2 44,4
Edad media Total	44,4 40,6 42,8
Índice de envejecimiento	136,6 87,3 116,3
Índice de sobre-envejecimiento	13,0 11,4 11,9

Fig. 3. Pirâmide de população de A Estada.



Fuente : IGE 2002, a partir de INE. Padrón municipal de habitantes 2001.

La pirâmide de población muestra una estructura en la que sobresale el descenso de la población joven, de menos de 24 años, y un progresivo envejecimiento. El relevo inmediato, puede venir de la llegada de inmigrantes para trabajar, o de jubilados centroeuropeos.

### 3 MÉTODOS Y RESULTADOS

#### 3.1 COOPERATIVA MONTE CABALAR (CMC): MODELO DE GESTIÓN COOPERATIVA DEL MONTE

Monte Cabalar fue inicialmente un monte comunal, que a través de sucesivas particiones pasó a propietarios particulares, la superficie media de la parcela es de 0,16 ha. El minifundio y la intensificación de la agricultura, a fines de los 60, llevaron al abandono del monte, dejándose de rozar y pacer. El matorral acumulado se transformó en biomasa combustible, iniciándose a fines de los 70 un ciclo de grandes incendios (El País 1992). El último incendio forestal en Monte Cabalar fue en marzo do 2005, con la quema de 250 has de monte.

Frente a esta situación de partida, minifundios, abandono del monte y frecuentes incendios forestales, en el año 2006 se constituyó la Cooperativa Monte Cabalar, en

lo sucesivo CMC, en la que se unen 3.600 fincas, de más de 1.000 propietarios. Se mantiene la micro-propiedad de la tierra, y se agrupan 720 has de tierras de monte y antiguos cultivos. En la actualidad, CMC está integrada por socios propietarios, vecinos y colaboradores, que participan con aportaciones de tierra, capital y trabajo voluntario (Web: [www.montecabalar.com](http://www.montecabalar.com)).

CMC desarrolla desde hace años un nuevo modelo de explotación comunitaria de la tierra, evitando la excesiva parcelación del monte. Los propietarios mejoraron el rendimiento agrícola y ganadero de sus tierras. Según el Presidente de CMC, Francisco Xavier “Fuco” Barreiro: En el modelo de cooperativa de explotación comunitaria de la tierra encontramos el instrumento idóneo para lograr la unidad de gestión que, superando el minifundio, nos permite intervenir sobre el abandono y los incendios para tornar productivos los montes.” CMC desarrolla un modelo ganadero, forestal y agrícola para la recuperación productiva de superficies de bosque, matorrales y antiguos cultivos. Un modelo de pastoreo en libertad, con rotación de diferentes especies, de equino, vacuno y porcino (Cano et al. 2016, Web: [www.montecabalar.com](http://www.montecabalar.com)).

Por sus altos valores medioambientales, el modelo de gestión aporta una elevada sostenibilidad. Se realiza la ordenación forestal de los bosques, a través de la gestión conjunta del terreno forestal. Se recuperan superficies agrícolas abandonadas, para complemento de la explotación ganadera. El sistema de producción ganadera es tradicional, en extensivo. Se controla la biomasa forestal por el pastoreo, sobre todo de equino, que consume el matorral mas duro, menos palatable para especies poco adaptadas al medio, como el tojo y las zarzas. El presidente de la cooperativa se refiere al caballo como una gran procesadora de biomasa, del “toxo” que cubre los montes gallegos, diseñada por la evolución biológica: el intestino del caballo. En un monte limpio no hay incendios, se aprovecha todo el potencial del monte gallego, con importante ahorro de medios técnicos, como vehículos y brigadas. Por otra parte, se preservan ecosistemas como los brezales atlánticos, integrados en la Red Natura 2000 (Directiva Habitat). CMC divulga en foros ganaderos y vecinales la revalorización del pastoreo extensivo tradicional. La comunidad rural, con sus usos y conocimientos ancestrales, asume el protagonismo, para crear un modelo de desarrollo rural endógeno. Pero su impacto va mas allá de lo local. CMC es una referencia en Galicia, contribuyendo a la creación y difusión de una cultura de la cría ganadera en extensivo, de gestión del territorio y de la propiedad según un modelo de cooperativa agroganadera.



Fig. 4. Macizo Monte Cabalar, A Estrada.

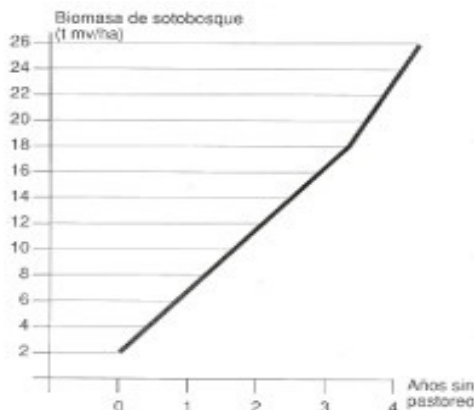


### 3.2 CONTROL DE BIOMASA FORESTAL EN SISTEMAS AGROSILVOPASTORALES

Compatibilizar ganado y arbolado es un reto. No podemos ignorar los frecuentes conflictos entre silvicultores y ganaderos. El pastoreo en montes arbolados puede ordenarse a través de sistemas agrosilvopastorales bien gestionados. El caballo es compatible con eucaliptos y pinos, incluso con brinzales de corta edad. El vacuno de razas rústicas se considera compatible con pinos, eucaliptos y frondosas cuando no alcanza las copas. Controla el crecimiento del matorral atlántico, como tojos, brezos y retamas y los pastizales de gramíneas duras.

En parcelas acotadas al pastoreo de pino del país, la fitomasa aérea del sotobosque se incrementa a un ritmo de 5 toneladas por hectárea y año, tasa que supone un grave riesgo de incendios forestales (Rigueiro y Mosquera 2016, Rigueiro-Rodríguez et al. 2009, Rigueiro et al. 2005).

Fig. 5. Fitomasa aérea acumulada anualmente en pinares sin pastoreo.



### 3.3 PASTOREO Y REDUCCIÓN DE BIOMASA DEL SOTOBOSQUE EN REPOBLACIONES FORESTALES

Se ha estudiado experimentalmente la eficacia del pastoreo para la reducción del combustible vegetal del sotobosque en las repoblaciones forestales de *Pinus pinaster* Ait., *Pinus sylvestris* L., *Pinus radiata* D. Don, *Betula alba* L. y *Eucalyptus globulus* Labill.; presentamos varias experiencias realizadas en Galicia (Rigueiro y Mosquera 2016, Rigueiro-Rodríguez et al. 2009, Rigueiro et al. 2005).

**Coto do Muíño (Zas, A Coruña):** Parcelas experimentales de *Eucalyptus globulus* Labill., 420 m de altitud. El sistema agrosilvopastoral se estableció hace 25 años. La densidad del arbolado es de 2000 pies por ha y hay pastoreo libre o continuo. La carga ganadera general es de 1 cabra cada 2 ha y 1 yegua cada 4 ha, pastoreando conjuntamente. En primavera se introducen vacas con una carga ganadera de 1 vaca por ha. La biomasa del sotobosque varía de 45 toneladas de materia verde por hectárea en parcelas sin pastorear a 10 en las pastoreadas. La altura del matorral en parcelas no pastoreadas es de 150 cm., mientras que en las parcelas pastoreadas es de 30 cm. Los resultados del control del combustible vegetal son muy positivos, no ha sufrido prácticamente incendios en los últimos decenios.

**Pinar de Marco da Curra (Monfero, A Coruña):** el matorral del sotobosque antes de la experiencia alcanzaba una biomasa de 20-30 t/ha de materia seca y una altura media superior a los 2 m. El control de la vegetación es muy efectivo, predominan en la actualidad las herbáceas, con una altura máxima de 10-15 cm y una biomasa estabilizada de 0`5-2 t/ha de materia seca.

**Monte vecinal de Sambreixo (Parga-Guitiriz, Lugo):** En parcelas con una altitud de 500 m., en pinar de *Pinus radiata* D. Don, se estudió el efecto del pastoreo rotacional y continuo del equino Caballo de Pura Raza Gallega (PRG). Los pinos tienen 25 años, la densidad era 800 pies por ha al inicio, reduciéndose a 400 tras una clara reciente. La carga ganadera es de 0.5 animales por ha. Las parcelas son pastadas un mes y se acotan 3 meses. La figura 6.1 muestra el pasto en oferta en cada rotación para los tojos, especie dominante en el sotobosque. El pasto en oferta en las dos primeras rotaciones es superior en las parcelas sometidas a pastoreo continuo, invirtiéndose la tendencia hasta la quinta rotación, en la cual el pasto en oferta vuelve a ser mayor en las parcelas de pastoreo continuo.

En la figura 6.2 podemos observar el pasto residual, cuando el ganado sale en el pastoreo rotacional y una estimación simultánea en el continuo, para las mismas especies de matorral. El efecto desbrozado es inicialmente superior en el pastoreo rotacional,

pero tiende a igualarse en los dos sistemas con el tiempo. Cuando el pastoreo dificulta la recuperación de los tojos, el equino aprovecha otras menos palatables, como las zarzas (*Rubus spp.*).

Figuras 6.1 y 6.2. Respectivamente, efecto del pastoreo del caballo PRG sobre la biomasa en oferta y residual de tojos (*Ulex spp.*).

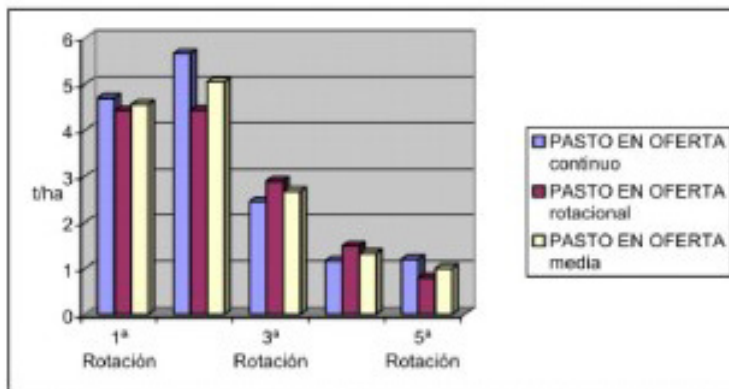


Figura 1. Pasto (biomasa) en oferta de *Ulex sp.* al comienzo de cada rotación, en las cinco primeras rotaciones (20 meses), en la experiencia de Sambreixo.

Figure 1. Offered pasture (biomass) of *Ulex sp.* when each rotation starts, in the five initial rotations (20 months), in experiment of Sambreixo.

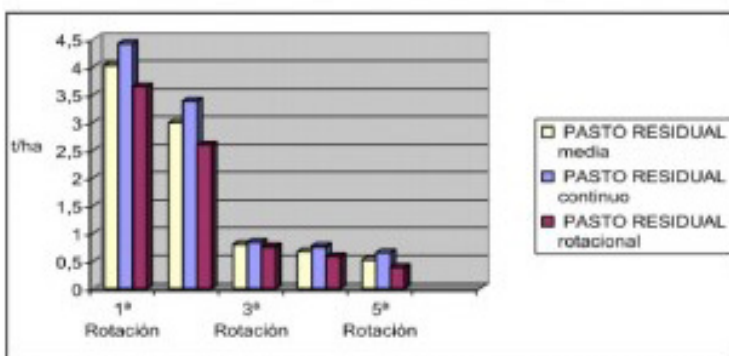


Figura 2. Pasto (biomasa) residual de *Ulex sp.* al final de cada rotación, en las cinco primeras rotaciones (20 meses), en la experiencia de Sambreixo.

Figure 2. Remain pasture (biomass) of *Ulex sp.* when each rotation ends, in the five initial rotations (20 months), in the experiment of Sambreixo

### 3.4 PRODUCCIÓN DE ELABORADOS CÁRNICOS DE ALTA CALIDAD

Monte Cabalar aprovecha razas ganaderas autóctonas, por su rusticidad, adaptación al medio y aptitud cárnica. Dispone de una piara de cerdo celta (Porco Celta), 120 cabezas de vacuno distribuidas en dos rebaños, de las razas Caldela y Rubia del País; 110 yeguas pura raza “Caballo de Pura Raza Gallega (PRG)”. En Galicia no hay mercado para la carne de caballo, sin embargo, muy apreciada en toda Europa.

Los productos CMC estuvieron presentes en Fórum Gastronómicos gallegos y en el Congreso Internacional de Agroecología en Vigo. La cooperativa está integrada en AGACA (Asociación Galega de Cooperativas Agrarias), lo que le permitió llegar a países europeos, como Holanda, Bélgica y Alemania, donde tuvieron una buena aceptación.

En Galicia, ante la ausencia de alternativas, la Cooperativa Monte Cabalar apostó en 2011 por la comercialización de la carne de potro transformada. Se consigue una carne de alto valor nutritivo: baja en calorías y grasas saturadas y alta en proteína, hierro y omega 3. Los embutidos se producen de modo tradicional, conservados con sal y ahumados. Se elabora salchichón y chorizo. También se producen cremas con carne de potro. Son productos de alta calidad, naturales y exclusivos. La producción anual supera los 3000 kg. La producción es artesanal, está en tramitación la certificación de ecológica según las normas de la UE.

Entre los productos “Gourmet” Monte Cabalar, conviene mencionar los siguientes:

**Salchichón natural de magro de potro:** carne de potro (85%) con tocino de porco celta (15%). Con carácter propio debido al magro de potro y el tocino de porco celta, una leve tendencia a la sequedad debido al bajo nivel de grasa. Ligero olor a ácido láctico y un sabor suave a caza, que recuerda el monte atlántico.

**Chorizo de potro:** elaboración natural, sin aditivos, bajo en grasa. 85 % carne de potro y 15 % de tocino de porco celta.

**Chorizo de porco celta:** elaborado íntegramente con carne porco celta. Natural, sin aditivos, bajo en grasa, 80 % magro de porco celta y 20 % de tocino de porco celta.

**Crema de magro de potro:** carne de potro (80%) y harina de castaña (15%), con aceite de oliva virgen (5%), sin aditivos y esterilizada. Sabor poco expresivo, recuerda el carácter del monte atlántico. Retrosabor delicado, frescor cítrico y suave huella a castaña. Crema de untar muy saludable, sin grasa y bajo en calorías, alto contenido en proteínas, hierro, potasio, calcio, fósforo, magnesio, ácidos omega-3 y vitaminas C e E.

Fig. 7. Crema Monte Cabalar.



### 3.5 FIESTAS TRADICIONALES Y AGROTURISMO: CURROS Y RAPAS DAS BESTAS

La cría de caballos libres en los montes de Galicia dio lugar a unas de las fiestas más típicas de Galicia, los “Curros” o “Rapa das Bestas”. La palabra “rapa” que recuerda la costumbre de cortar las crines. Los Curros son acontecimientos de importancia turística, con honda raigambre sociocultural y tienen cierto carácter de rito iniciático para los mozos del lugar. Los curros siempre se desarrollan según pautas fijadas. Se comienza con el cerco a los caballos y se les dirige más tarde hacia un punto común de parada. Posteriormente tiene lugar la entrada en el curro, un recinto cerrado. Después de la separación y rapa de los animales, se realiza la suelta.

La objetivos de los curros o rapas son varios, entre ellos se cuentan la identificación de los caballos, la rapa de las crines, la venta de los potros que no se vayan a dejar en el monte y la desparasitación de los animales. Entre los curros más antiguos de Galicia está el de A Valga, que se celebra el segundo domingo de mayo, y se puede repetir el primer domingo de agosto, en el llamado Curro de las moscas, que se lleva a cabo con el fin de desinfectar a las bestias de los insectos del verano (Pose Nieto 2003).

En Galicia se celebran desde mayo a agosto mas de 20 curros. La Guía de los Curros de Galicia categoriza y puntúa cada uno de estos en función de varios criterios, como la tradición histórica de cría de caballo en libertad en la zona, el manejo de los animales, la inclusión o no de otras actividades complementarias que incrementen el atractivo turístico, el trato respetuoso a los animales, la ausencia de malos tratos, la calidad de las instalaciones del curro (forma, materiales, reformas, etc.), el empleo de caballos del país en las prácticas habituales de manejo del ganado y la mayor o menor presencia de Caballos de Pura Raza Galega (PRG) inscritos entre los currados (Stilton et al. 2003).

El caballo PRG se expone en eventos como las pruebas del Campeonato Gallego de Concursos Morfológicos del “Cabalo de Pura Raza Galega”, Feria Internacional Semana Verde de Galicia en Silleda, Equina, Salón do Cabalo de Galicia, Feria del Apóstol y Feria de la Ascensión en Santiago de Compostela, Feria de la Pascua en Padrón, Feria de San Lucas en Mondoñedo, Feria de San Martiño en Teo, y en diferentes “Curros” y “Rapas das bestas” en toda Galicia. Los espectáculos con caballos de pura raza gallega generaron más de un millón de euros a lo largo de 2015, y asistieron a estos eventos más de 150.000 espectadores. Se ha estimado un gasto medio indirecto por persona/evento de 7,5 euros. Estos datos representan un futuro esperanzador para el turismo ecuestre de Galicia (Europa Press 2015).

Fig. 8. Corta de crines y desparasitado de la res.



La “Rapa das Bestas de Sabucedo”, A Estrada, ha sido declarada fiesta de interés turístico internacional. Las reses jóvenes son separadas de la manada, los garañones muestran su carácter indómito, enfrentándose a los “aloitadores”. Los curros también son acciones solidarias, Rapa das Bestas entrega la recaudación a Cruz Roja, que se coordina con bancos de alimentos locales (Pampín 2014).

Fig. 9. Curro de Sabucedo, A Estrada. Vista aérea.



Vista aérea de O Curro de Sabucedo

Cuadro 2. Calendario de Curros y Rapas das Bestas de Galicia

Mes	Localización	Provincia
<b>Mayo</b>	Festa do Cabalo en As Angustias: Primer fin de semana	Pontevedra
	Curro de Valga, en Oia, 2º domingo	Pontevedra
<b>Junio</b>	Curro de Torroña, en Oia, 1º domingo	Pontevedra
	Curro de Mougás, en Oia, 2º domingo	Pontevedra

Curro de Morgadáns, en Gondomar, 3º domingo Pontevedra
Curro de San Cibrán, en Gondomar, 4º domingo Pontevedra
Curro de A Capelada, en Cedeira, último domingo A Coruña
Curro Campo do Oso, en Mondoñedo, último domingo Lugo
<b>Julio</b> Curro de Sabucedo, A Estrada, 1º sábado, domingo y lunes Pontevedra
Curro de Candaoso, Boimente-Viveiro, 1º domingo Lugo
Curro de Amil, en Amil-Moraña, 2º domingo Pontevedra
Curro de Monte Castelo, en Cotobade, 2º domingo Pontevedra
<b>Agosto</b> Curro Recarei-San Tomé, en O Valadouro, 1º domingo Lugo
Curro de A Escusa, Monte Castrove, Poio, 3º domingo Pontevedra
Curro da Paradanta, en Luneda-A Cañiza, 4º domingo Pontevedra

#### 4 DISCUSIÓN

El caballo de Pura Raza Galega es un animal con múltiples posibilidades de aprovechamiento. Se ha demostrado su utilidad como consumidor de biomasa forestal, para prevención de incendios, en un horizonte de futuro dominado por el Cambio Climático Global. Tampoco es despreciable el aprovechamiento cárnico, en elaborados de alta calidad, con salida en mercados de distribución exclusiva, como producto Gourmet, para un consumidor con sensibilidad ecológica, que está dispuesto a pagar un poco más, por un producto innovador, alternativo y saludable. Sin embargo, los hechos evidencian que la orientación productiva del Cabalo de Pura Raza Galega (PRG) no debe ser solamente la producción cárnica. Este error de apreciación se debe al sistema de explotación en régimen extensivo de la mayoría de los ejemplares inscritos. La preservación de esta raza fue descuidada muchos años, y la única salida productiva era una muy escasa producción cárnica, pero por el régimen de cría no implicaba gastos, solo había beneficios netos. Sin embargo, algunos ganaderos intentaron introducir sementales de otras razas más idóneas para la producción de carne, llegando a desvirtuar las características raciales del caballo gallego. La iniciativas de la Consellería de Medio Rural encauzaron esta situación. La Orden de 4 de abril de 2001 establece la reglamentación específica del Libro Genealógico del Caballo de Pura Raza Gallega. La raza equina autóctona de Galicia en peligro de extinción, hasta el momento conocida como caballo gallego de monte, pasará a denominarse «Caballo de Pura Raza Gallega» (PRG). (DOG N° 74, del Martes, 17 de abril de 2001).



Se presentan alternativas agroturísticas para el Cabalo Pura Raza Galega (PRG). Esta raza tiene entre sus cualidades sobresalientes la rusticidad, adaptación al medio y temperamento identificativo de raza. Su mansedumbre, por ejemplo, hace posible una orientación alternativa para la cría y selección de la raza, se debería fomentar la selección de ejemplares con cualidades deportivas, de exposición y de ocio. Las razas Connemara o Shetland, entroncadas con el Cabalo de Pura Raza Galega han obtenido reconocimiento para la práctica de la equitación, tanto de ocio como deportiva. No es descabellado pensar que otras razas emparentadas con ellas también sean válidas, realizando un adecuado programa de selección. Los ejemplares de Pura Raza Galega son aptos para paseos y rutas de turismo ecuestre, pruebas de salto en categoría “pony”, horseball, enganche ligero y andadura gallega. Además, por su temperamento tranquilo y noble, pueden ser muy válidos para centros de hipoterapia (equitación terapéutica) con discapacitados, activación de mayores con alzheimer, e incluso podrían ser útiles en actividades de reinserción social (Consellería do Medio Rural 2007).

El turismo ecuestre puede ser una alternativa rentable en el rural despoblado, y el Caballo de Pura Raza Gallega (PRG), por su tamaño y mansedumbre, presenta aptitudes como animal de transporte en rutas turísticas y actividades recreativas, especialmente para menores y en geriatría. En la actualidad, y dadas las características de los ejemplares de la raza para la equitación de ocio y deportiva, así como la proliferación de concursos morfológicos de la raza, algunos de estos animales se están criando ya en condiciones intensivas, para garantizar su pureza racial. Las características de la raza hacen posible una orientación alternativa para la cría y selección, convendría fomentar más programas de investigación (I+D+i) y ayudas, para la selección de ejemplares con cualidades deportivas, de exposición y de ocio, como de hecho ya hay algunas iniciativas en marcha.

## 5 CONCLUSIONES

Un modelo productivo intensivo, el abandono de tierras de cultivo y monte, incrementa el riesgo de incendios forestales. El cambio climático global realza la importancia de realizar una adecuada de gestión integral del monte.

La cooperativa para la explotación comunitaria de la tierra ha creado un modelo socioeconómico innovador, frente al minifundio.

Los sistemas agrosilvopastorales gallegos explotados en régimen de pastoreo extensivo, favorecen el control de la biomasa y se consideran idóneos para la prevención de incendios forestales.

El caballo de raza autóctona, rústica, consume especies del matorral atlántico, como el tojo, para el control de biomasa forestal debe fomentarse la cabaña equina. Los elaborados de carne de equino de alta calidad, producidos al modo tradicional, constituyen una alternativa ante la ausencia de mercado.

Las fiestas tradicionales caballares (Curros, Rapas, Romerías), son eventos turísticos rentables, que contribuyen a la conservación de la raza autóctona “Caballo de Pura Raza Gallega”.

El caballo de Pura Raza Galega, de temperamento tranquilo, es aprovechable para usos de ocio, recreativos, de paseo, exposición, e incluso terapéuticos.

## BIBLIOGRAFÍA

Blog: Turismo y hostelería de Pontevedra. Calendario de Curros, 9.5.2008, turismodepontevedra.blogspot.com. 2007.

Cano, A., Gantes, M., y J. Barreiro. 2016. Cooperativa Monte Cabalar: Nuevo modelo de organización y usos ganaderos tradicionales para mejora del monte gallego. XII Congreso Anual de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica. Lugo, 21 a 23 de septiembre de 2016. Actas.

Consellería de Medio Rural. 2001. Orden de 4 de abril de 2001, por la que se establece la reglamentación específica del Libro Genealógico del Caballo de Pura Raza Gallega (DOG N° 74, del Martes, 17 de abril de 2001).

Consellería do Medio Rural. 2007. Ficha técnica del Caballo Pura Raza Gallega. Web:www.xunta.gal.

IGE. 2002. IGE a partir de INE. Padrón municipal de habitantes 2001 El País. Anuario El País 1991, Incendios forestales. Prisa. 1992.

Europa Press. 2015. espectaculos-con-caballos-pura-raza-gallega-generaron-2015-mas-millon-euros.http://www .20minutos.es/noticia/2640616/0/espectaculos-con-caballos-pura-raza-gallega-generaron-2 015-mas-millon-euros/#xtor=AD-15&xts=467263.

Ministerio de Agricultura, Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA). Estudios sobre el caballo en España. Madrid. 2004.

Montalvo, J., Lorenzo, P., and A. Cano. 2004. Biomass Turnover as an Ecological Indicator of Vegetation Dynamics in Agrosilvopastoral Systems of SW Galicia. Chapter 4 in: S. Schnabel and A. Ferreira (Editors). Sustainability of Agrosilvopastoral Systems – Dehesas, Montados –. Advances in GeoEcology 37 (CATENA Verlag), 395 pp. Pampín, S. (2014). Rapa das Bestas entrega la recaudación del curro a Cruz Roja. La Voz de Galicia, A Estrada, 07.07.2014.

Pose Nieto, H. 2003. Guía dos Curros de Galicia. Información práctica, historia y tradición. Edicións Xerais de Galicia S.A. Vigo.

Precedo Ledo, A. (Coord.). 1997. Tabeirós-Terra de Montes. Plans de Desenvolvemento Comarcal de Galicia. Col. Plans de Comarcalización. Xunta de Galicia. Santiago. 1997. Rigueiro A, Mosquera MR. 2016. Silvopastoralismo y Agroecología en Galicia. Actas del XII Congreso de SEAE: “Las leguminosas, clave para la gestión de los agrosistemas y en la alimentación ecológica”. Lugo, 21-23 septiembre 2016. pag. 60-65.

Rigueiro-Rodríguez A, Fernández-Núñez E, Santiago-Freijanes JJ, Mosquera-Losada M. 2009. Silvopastoral systems for forest fire prevention. Páginas 335 – 344 en: A. Rigueiro-Rodríguez\* Coordinator, Agroforestry Systems as a Technique for Sustainable Territorial Management. AECID. Unicopia ediciones. Lugo 2009.

Rigueiro, A.; Mosquera, M. R.; Romero, R.; González, M. P.; Villarino, J. J.; López, L. 2005. 25 años de investigación en Galicia sobre sistemas Silvopastorales en prevención de incendios forestales. II Conferencia Internacional sobre Estrategias de Prevención de Incendios en el Sur de Europa. Barcelona.

Rodríguez Guitián, M.A. & Ramil-Rego, P. 2008. Fitogeografía de Galicia (NW Ibérico): análisis histórico y nueva propuesta corológica. Recursos Rurais (2008) Vol1 nº 4: 19-50. Instituto de Biodiversidade Agraria e Desenvolvemento Rural (IBADER) - Universidade de Santiago de Compostela. 2008.

Stilton, G, Mosqueira Camba, XL., Pose Nieto, LH. 2003. Guía dos Curros de Galicia. Colección Turismo / Ocio, Montes e Fontes – Roteiros. Edicións Xerais. Vigo. Web: concello de A Estrada. <http://www.aestrada.gal/index.php/es/o-concello-2/descubrir-a-estrada-2/a-estrada-e> (2017).

Web: Cooperativa Monte Cabalar: <http://www.montecabalar.com>

Zurita de la Vega, E. (Dir.). Agrobyte. Manual de Sistemas Silvopastorales. 1997.

## CAPÍTULO 25

### VINCRISTINA SUBCUTÁNEA COMO VIA ALTERNATIVA PARA EL TRATAMIENTO DE TUMOR VENÉREO TRANSMISIBLE EN PERROS

*Data de submissão: 28/04/2022*

*Data de aceite: 18/05/2022*

**Gloria Beatriz Cabrera Suarez**

Doctora Veterinaria

M.Sc. En Salud Canina

Universidad Agraria del Ecuador

<https://orcid.org/0000-0001-8444-4861>

**David Octavio Rugel González**

Ingeniero en Estadística Informática

M.Sc en Productividad y Calidad

Universidad Agraria del Ecuador

<https://orcid.org/0000-0002-3900-1209>

**RESUMEN:** El tumor venéreo transmisible, se lo conoce como sarcoma, granuloma venéreo, linfosarcoma transmisible o tumor de sticker, es un tumor reticuloendotelial de perros que afecta a las partes genitales externas ocasionalmente en otras partes del cuerpo. Es transmitido usualmente después del coito, ocurre tanto en hembras o machos, sexualmente activos. Este trabajo se realizó en el Cantón Montalvo Provincia de los Ríos, con 13 perros de diferentes edades, razas y sexo, a los cuales se les confirmó por medio de citología la presencia del tumor de sticker. El objetivo de la investigación fue de comprobar la eficiencia de la aplicación de vincristina vía subcutánea como una alternativa para el

tratamiento de tumor de sticker, por la facilidad, simpleza y rapidez que otorga, con buenos resultados en la remisión de los síntomas que acompañan a dicha enfermedad y lo práctico que resulta el tratamiento en lo que refiere al paciente, al dueño y al veterinario. En los ensayos realizados, la vía subcutánea no resultó ser tan irritante ni necrosante, siempre y cuando el sitio de aplicación de la droga se limite exclusivamente a la parrilla costal alta con el fin que el paciente no llegue con su boca a lamerse y/o morderse. La disminución de la masa tumoral en tiempo y forma es evidente; y disminuye la cantidad de efectos adversos que muchas veces aparecen con el método convencional (vía endovenosa).

**PALABRAS CLAVE:** Perro. Tumor. T.V.T. Quimioterapia. Vía subcutánea. Parrilla costal.

#### VINCRISTINE SUBCUTANEOUS AS AN ALTERNATIVE METHOD FOR THE TRANSMISSIBLE VENEREAL TUMOR'S TREATMENT

**ABSTRACT:** Transmissible venereal tumor, it is known as sarcoma, granuloma venereum, transmissible lymphosarcoma or sticker tumor, is a reticuloendothelial tumor of dogs that affects the external genital parts occasionally in other parts of the body. It is usually transmitted after sexual intercourse and occurs in both sexually active males and females. This work was carried out in Montalvo Canton, Province of Los Rios, with 13 dogs of different ages, breeds and sex, which were

confirmed by cytology the presence of sticker tumor. The objective of the research was to prove the efficiency of the application of vincristine subcutaneously as an alternative for the treatment of sticker tumor, due to the ease, simplicity and speed it provides, with good results in the remission of the symptoms that accompany this disease and the practicality of the treatment as far as the patient, the owner and the veterinarian are concerned. In the tests carried out, the subcutaneous route did not prove to be irritating or necrotizing, as long as the site of application of the drug is limited exclusively to the high costal grid so that the patient does not lick and/or bite himself with his mouth. The decrease of the tumor mass in time and form is evident; and it decreases the amount of adverse effects that often appear with the conventional method (intravenous route).

**KEYWORDS:** Dog. Tumor T.V.T. Chemotherapy. Subcutaneous route. Costal high gridiron.

## 1 INTRODUCCIÓN

Los procesos neoplásicos en perros revisten de mucha importancia en la clínica veterinaria diaria, son entidades morbosas que se presentan en los genitales, el término neoplasia y tumor se refiere a una masa anormal de tejido para indicar crecimientos malignos y benignos (Martínez MM, 2010) (Spugnini EP, 2010).

El Tumor Venéreo Transmisible o Tumor de Sticker es una neoplasia que afecta a perros sin distinción de sexo o raza, está altamente distribuido a lo largo del mundo, ocurriendo con más frecuencia en las aéreas tropicales y subtropicales (Castañeda G., 2011). Este tipo de tumores suele aparecer en perros sexualmente activos (Rogers KS, 2008), adquieren la enfermedad por transmisión venérea o contacto sexual el trasplante de células neoplásicas durante el coito, (Spugnini EP, 2010) (Park MS, 2012) se presenta tanto en mucosa genital y extra genital, también en mucosa nasal u oral. (San Martín M., 2009) (Mello M., 2014). Es un tumor que rara vez produce metástasis hasta sitios distantes como pulmones vísceras abdominales y SNC.

Las lesiones pueden ser únicas o múltiples de color rosado a rojo en forma de coliflor y gran variedad de tamaño. Estas lesiones son firmes y frágiles presentan una gran irrigación sanguínea por lo que se asocia a la fragilidad tumoral. (Se rompen con facilidad). (Romairone A., 2009)

El tratamiento se lo realiza con quimioterapia, radioterapia, cirugía etc. pero el tratamiento convencional se lo realiza con vincristina endovenosa, (i.v) es un antineoplásico que bloquea la mitosis y detiene las células en metafase también interfiere el metabolismo de los aminoácidos. No atraviesa la barrera hematoencefálica, a no ser que se administre en grandes dosis, es efectiva en un 90 a 95%, muchos pacientes sometidos a este tratamiento presentan vómitos, náuseas, diarreas, necrosis de miembros anteriores provocadas por la extravasación de vincristina en el tratamiento donde la vía de elección

es la vena cefálica, siendo esta engorrosa tanto para el veterinario como para el dueño ya que requiere de un protocolo a seguir y de un tiempo que tiene que permanecer el paciente en un centro veterinario, en consecuencia el ensayo utilizando la **vía subcutánea** a nivel de la parrilla costal se considera una vía segura practica y rápida, disminuye en su totalidad la auto injuria, los pacientes pueden retirarse en seguida, y tiene el mismo efecto terapéutico que utilizado por vía endovenosa, cuando se trabaja con animales indóciles que corren riesgos con las sucesivas tranquilizaciones necesarias para el tratamiento EV, en pacientes geriátricos, cardiópatas, en pacientes que deben ser atendidos a domicilio, cuando a causa de los costos al dueño se le hace imposible tratar a su animal, con la técnica subcutánea se reducen los costos, en pacientes con conocida intolerancia a la droga aplicada EV en pacientes con flebitis traumática, pacientes recogidos o de fundaciones protectoras de animales, en condiciones de campo en criaderos, es más fácil su manejo con la técnica subcutánea (SC). (De La Torre S., 2002).

## 2 MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación fue cuantitativa con diseño no experimental y se realizó en Ecuador, cantón Montalvo, provincia de los Ríos, donde el clima es subtropical, se estudiaron un total de 13 perros de ambos sexos y razas diferentes.

A cada uno de los animales se hizo un estudio previo, donde se elaboró una historia clínica individual en donde se reflejaron datos generales como nombre del propietario, peso, edad, sexo del animal, así como la posterior evolución después del tratamiento. Se tomó una muestra de sangre (2ml) a cada animal por punción de vena cefálica anterior, con una gota de anticoagulante (E.D.T.A) a razón de 1ml de sangre.

Estas muestras fueron enviadas de inmediato al laboratorio Veterinario DIAGNOVET para que se realicen un Hematocrito (Hto) Hemoglobina, leucocitos, proteínas totales y frotis teñidos Diff Quick STAIN BENJAMIN, 1984, además, en cada caso se tomó una muestra de tejido tumoral de 1cm por 1cm; fijado en formol 10% y fue llevado al mismo laboratorio para su estudio cito patológico.

Posteriormente se formaron tres grupos de animales al cual se procedió a aplicar el tratamiento a 5 pacientes por día, es decir que se utilizaron 3 días para la aplicación del primer tratamiento a los 13 pacientes los mismos que recibieron sulfato de vincristina a razón de 1mg se diluyo en 3 cc de solución fisiológica de cloruro de sodio al 0,9 % para disminuir el efecto necrosante de la vincristina, de esta dilución se aplicó por vía subcutánea (SC) la dosis de 0,016mg /kg, la misma que se aplicó en el cuadrante craneal superior del tórax o dorso craneal, también llamada “parrilla costal alta” (cerca de la

cruz) bien lateral para evitar lamidas y mordidas por el paciente (auto traumas), con una frecuencia semanal utilizando 5 tratamientos para observar su evolución por inspección clínica valorando la involución del tumor y la detención del sangramiento, así como de reacciones adversas en el lugar de la aplicación, como la inflamación (bubón).

Estos animales se continuaron monitoreando para comprobar su evolución al tratamiento subcutáneo y al cabo de un mes y medio se dio por culminado la observación clínica. Una vez registrados los tamaños de los tumores se procedió a calcular el índice de reducción del tumor durante las cinco semanas del estudio, obteniendo cuatro mediciones del índice por cada animal. Se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para comparar los índices de reducción del tumor entre hembras y machos.

### 3 RESULTADOS

En todos los animales estudiados clínica y cito patológicamente se confirmó la presencia del tumor venéreo transmisible. De los cuales 13 pacientes culminaron el ensayo siendo el 100% y en todos ellos hubo remisión total del tumor macroscópicamente. Esto hace corroborar el ensayo de De la Torre (2002) que todos se curan con el tratamiento subcutáneo.

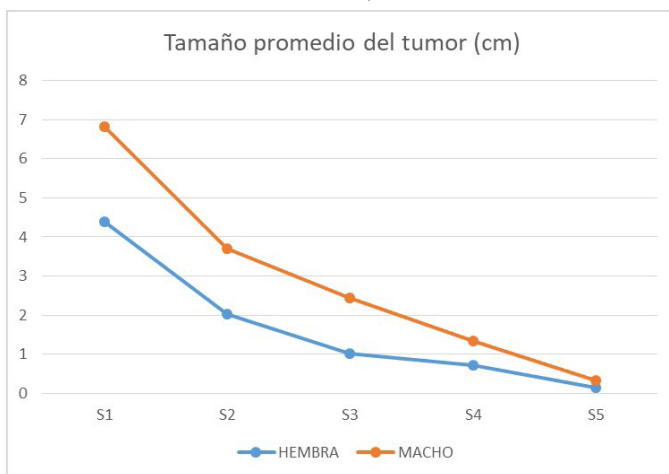
Tabla 1. Control semanal de la disminución de la masa tumoral en cm.

PACIENTE	MEDIDA TUMOR SEMANAL EN CENTIMETROS (cm)					6° SEMANA CONTROL
	1	2	3	4	5	
LOBA	2,6	1,6	0,4	0,2	0,1	0
HARRIET	4,1	2,5	0,5	0,2	0	0
MALU	5,2	1,5	0,75	0,6	0,2	0
RUDY	4,2	2,3	1,5	1	0,3	0
ZULI	6,8	2,7	2	1,5	0,1	0
CHOCOLATE	3,5	1,5	1	0,8	0,2	0
RICKY	3	2	1,2	1	0,3	0
PULGOSO	13	7	4,7	3,2	0,2	0
BOBBY	5,7	4	3,4	1,5		0
NACHO	8	4,7	1,3	0,3	0	0
COPITO	5	3	2,5	1,2	0,5	0
POCHONGO	8	5,2	4	2,1	1	0
DUQUE	5	0	0	0	0	0
<b>Promedio</b>	<b>5,7</b>	<b>2,92</b>	<b>1,78</b>	<b>1,04</b>	<b>0,24</b>	
<b>Desviación Estándar</b>	<b>2,7</b>	<b>1,86</b>	<b>1,46</b>	<b>0,89</b>	<b>0,28</b>	



La Tabla 1 indica que el tamaño de los tumores al inicio del tratamiento presentó una alta dispersión, siendo el tumor más pequeño de 2,6 cm, y el más grande de 13 cm. El promedio del tamaño de los tumores al inicio del estudio fue de 5,7 cm.

Gráfico 1. Reducción del tumor por sexo de los animales.



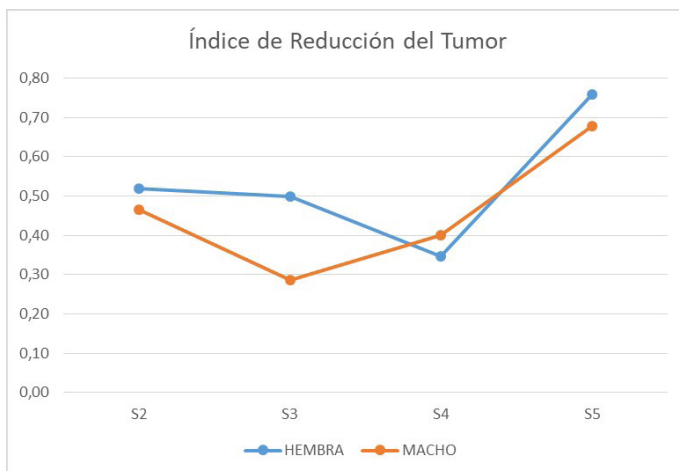
En el gráfico 1 se puede observar los promedios de reducción del tumor durante las cinco semanas del estudio. En todos los casos el tratamiento subcutáneo por vincristina redujo el tumor tanto en hembras como en machos.

Tabla 2. Índice de reducción del tumor por semana.

PACIENTE	SEMANAS				
	1	2	3	4	5
LOBA	0%	38%	75%	50%	50%
HARRIET	0%	39%	80%	60%	100%
MALU	0%	71%	50%	20%	67%
RUDY	0%	45%	35%	33%	70%
ZULI	0%	60%	26%	25%	93%
CHOCOLATE	0%	57%	33%	20%	75%
RICKY	0%	33%	40%	17%	70%
PULGOSO	0%	46%	33%	32%	94%
BOBBY	0%	30%	15%	56%	100%
NACHO	0%	41%	72%	77%	100%
COPITO	0%	40%	17%	52%	58%
POCHONGO	0%	35%	23%	48%	52%
DUQUE	0%	100%	0%	0%	0%
<b>Promedio</b>		<b>46%</b>	<b>36%</b>	<b>37%</b>	<b>75%</b>

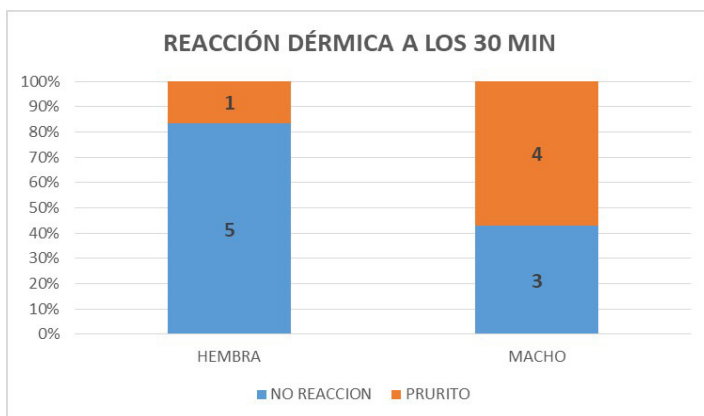
En la Tabla 2 se puede observar la reducción semana a semana de la masa tumoral. A la primera semana de haberse suministrado el tratamiento subcutáneo con vincristina, se obtuvo un promedio de reducción del 46%. En la segunda semana se obtuvo un promedio de reducción del 36%. En la tercera semana el promedio de reducción fue del 37%; mientras que en la cuarta semana el promedio de reducción fue del 75%. Existieron dos pacientes en los cuales el tumor desapareció luego de la primera aplicación del tratamiento subcutáneo con vincristina.

Gráfico 2. Índice de reducción del tumor por sexo de los animales.



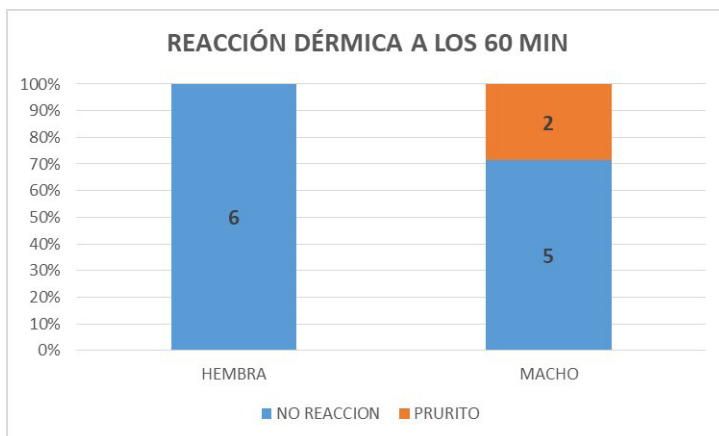
En el gráfico 2 se puede observar que con la primera y la última aplicación del tratamiento subcutáneo con vincristina se obtuvo mayor índice de reducción del tumor, tanto en hembras como en machos; además la comparación de los índices de reducción del tumor entre hembras y machos no determinó diferencias significativas en el estudio ( $p > 0.05$ ).

Gráfico 3. Reacción dérmica de los animales a los 30 minutos post-inyección (primera aplicación).



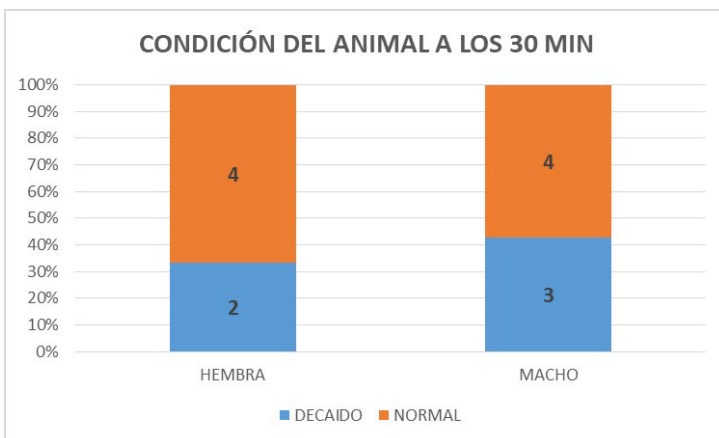
En el gráfico 3 se puede observar la reacción dérmica a los 30 minutos post-inyección de los animales por sexo. En las hembras, el 83% no presentaron reacción dérmica al tratamiento; mientras que en los machos tan solo el 43% no presentaron reacción dérmica al tratamiento.

Gráfico 4. Reacción dérmica de los animales a los 60 minutos post-inyección (primera aplicación).



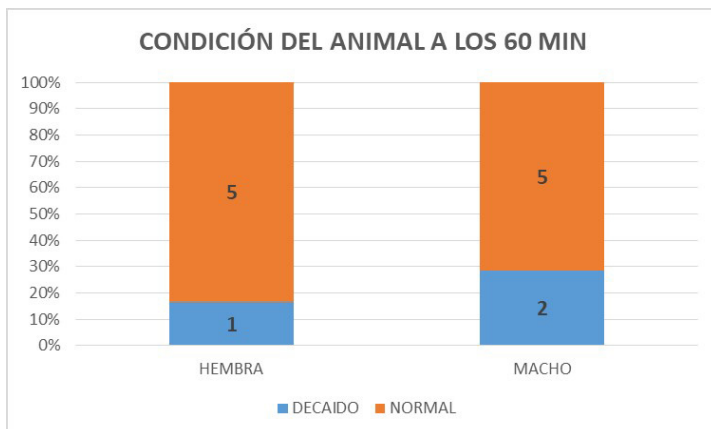
En el gráfico 4 se puede observar la reacción dérmica a los 60 minutos post-inyección de los animales por sexo. En las hembras, ninguna presentó reacción dérmica; mientras que en los machos el 71% no presentaron reacción dérmica.

Gráfico 5. Condición anímica de los animales a los 30 minutos post-inyección (primera aplicación).



En el gráfico 5 se puede observar la condición anímica a los 30 minutos post-inyección de los animales por sexo. La mayoría de los animales no presentaron decaimiento, mareo ni vómito a los 30 minutos post-inyección; representado por la condición normal del 67% y 57% para hembras y machos respectivamente.

Gráfico 6. Condición anímica de los animales a los 60 minutos post-inyección (primera aplicación).



En el gráfico 6 se puede observar la condición anímica a los 60 minutos post-inyección de los animales por sexo. La mayoría de los animales no presentaron decaimiento, mareo ni vómito a los 60 minutos post-inyección; representado por la condición normal del 83% y 71% para hembras y machos respectivamente.

Durante las siguientes cuatro semanas del estudio, se observó un comportamiento similar a la primera semana, con respecto a la conducta anímica de los animales tratados.

#### 4 DISCUSIÓN

Generalmente el tratamiento de Tumor Venéreo Transmisible o Tumor de Sticker es tratado por vía endovenosa (Castañeda G., 2011) (Rogers KS, 2008) (Romairone A., 2009), ya que si la droga por error se extravasaba, podría producir necrosis a nivel muscular y dérmico. Por ende, se recomendaba la aplicación del fármaco como única vía la endovenosa. No obstante, (De La Torre S., 2002) indicó como opción alternativa para el tratamiento del Tumor Venéreo Transmisible o tumor de Sticker, Vincristina vía subcutánea como alternativa efectiva sencilla y segura, lo cual coincide con este trabajo.

(De La Torre S., 2002) Propuso el uso de este medicamento por una vía no convencional (subcutánea). Dicho informe no era denominado trabajo científico, sino un ensayo experimental, donde se mencionaba sobre las reacciones adversas y los signos dérmicos, y los propios del uso del medicamento quimioterapéutico.

El informe realizado por De la Torre, concluía, que por esta vía disminuían radicalmente los efectos indeseables del fármaco a nivel sistémico, ya que la biodisponibilidad de la droga al torrente sanguíneo era de forma gradual y paulatina a partir del bubón en parrilla costal, evitando así las reacciones adversas.

El informe De la Torre, por ser un ensayo experimental no poseía datos estadísticos acerca de reacciones en piel, como conductas post aplicación del fármaco, aunque si los menciona.

El presente trabajo, tenía como principal objetivo corroborar lo expuesto por el Dr. De la Torre, para ello se tomó un grupo de 13 pacientes 7 machos y 6 hembras, con diagnóstico clínico y de laboratorio de TVT. Se procedió a realizar el protocolo terapéutico con el uso de vincristina por vía subcutánea por 5 semanas. Los resultados obtenidos fueron que el 100 % de los casos lo que corresponde a 13 pacientes, hubo remisión total del tumor después de haber completado el protocolo terapéutico tal como indica el autor (Pensylvania, 2013) comprobando así la eficacia del uso de vincristina por vía subcutánea. también pretendimos demostrar los cambios de conducta que presentaban los pacientes; cada organismo reacciona de diferente manera entre cada sesión de quimioterapia subcutánea, llegando a obtener como respuesta promedio que el 50% presentó cambios a los 60 minutos post aplicación.

Lo referente a las lesiones de la piel como expone el Dr. De la Torre, en el sitio de la aplicación igual que el prurito soportable. Los resultados obtenidos en este trabajo fueron iguales a los De la Torre; el prurito que causa durante la aplicación de la droga, era diferente de acuerdo a cada paciente a juzgar por la forma en que se manifiesta durante los 60 minutos, y en cuanto a las lesiones en piel solo se observaban cuando el paciente tenía opción a lamerse, morderse, rascarse contra cualquier objeto. Dos a tres días posteriores de la aplicación se observaba el área de aplicación inflamada (bubón), al finalizar el tratamiento esta inflamación desaparecía.

## 5 CONCLUSIONES

El tratamiento con vincristina subcutánea en la dosis y frecuencia señalada tiene una gran efectividad en el tratamiento del tumor venéreo transmisible, logrando la remisión total del tumor en 5 tratamientos sin que repercuta desfavorablemente la aplicación subcutánea en la salud de los animales.

La quimioterapia subcutánea es efectiva en el tratamiento del tumor de Sticker dejando de un lado el miedo a la necrosis del tejido subcutáneo.

La quimioterapia con sulfato de vincristina a dosis de 0,016mg/kg subcutáneo en parrilla costal, fue efectiva en el tratamiento y curación de las neoplasias.

## REFERENCIAS

Castañeda G., D. S. (10 de Junio de 2011). *Argos Portal Veterinaria*. Obtenido de <http://argos.portalveterinaria.com/noticia/1454/articulos-archivo/comprobacion-de-la-efectividad-de-dos-esquemas-terapeuticos-en-el-tratamiento-del-tumor-de-sticker-en-perros.html>

De La Torre S., L. M. (2002). Terapia Alternativa para ek Tumor Venereo Transmisible o Tumor de Sticker. *Vincristina subcutánea una alternativa efectiva sencilla y segura*. Argentina.

Martínez MM, B. J. (2010). Tumor Venéreo Transmisibles (TVT) de localización extragenital. *M.V.Z - Cordoba* 7.

Mello M., F. F. (2014). Tumor Venereo Transmisible: Temas de Reproducción de caninos y felinos por autores latinoamericanos. *Intervet*, 65-70.

Park MS,.. K. (2012). Disseminated transmissible venereal tumour in a dog. *J Vet Diag Invest*, 18: 130 - 133.

Pensylvania, V. H. (05 de Junio de 2013). *oncolink.org*. Obtenido de <http://es.oncolink.org/types/article.cfm?c=22&s=69&ss=548&id=5997>

Rogers KS,.. (2008). Transmissible venereal tumor. *Compendium on Continuing Education-Practical Veterinary*, 3:951-956.

Romairone A. (2009). *Diagnóstico Veterinario*. Obtenido de <http://www.diagnosticoveterinario.com/tumor-venereo-transmisible/1122>

San Martín M. (2009). Neoplasias Caninas. Evaluación estadística. *Tesis*, 44.

Spugnini EP, D. I. (2010). Biphasic pulses of canine transmissible venereal tumor during vincristine therapy. *Vet J*. 183: 362 - 363.

## SOBRE O ORGANIZADOR

**EDUARDO EUGENIO SPERS** realizou pós-doutorado na Wageningen University (WUR), Holanda, e especialização no IGIA, França. Possui doutorado em Administração pela Universidade de São Paulo (USP). Foi Professor do Programa de Mestrado e Doutorado em Administração e do Mestrado Profissional em Comportamento do Consumidor da ESPM. Líder do tema Teoria, Epistemologia e Métodos de Pesquisa em Marketing na Associação Nacional de Pós-Graduação e Pesquisa em Administração (ANPAD). Participou de diversos projetos de consultoria e pesquisa coordenados pelo PENSE e Markestrat. É Professor Titular no Departamento de Economia, Administração e Sociologia, docente do Mestrado em Administração e Coordenador do Grupo de Extensão MarkEsalq no campus da USP/Esalq. Proferiu palestras em diversos eventos acadêmicos e profissionais, com diversos artigos publicados em periódicos nacionais e internacionais, livros e capítulos de livros sobre agronegócios, com foco no marketing e no comportamento do produtor rural e do consumidor de alimentos.



## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Aceite 1, 28, 38, 50, 52, 53, 56, 57, 58, 59, 62, 70, 83, 97, 98, 99, 101, 102, 103, 106, 107, 108, 110, 125, 130, 141, 151, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 191, 200, 209, 225, 239, 250, 263, 270, 285, 298, 309, 316

Aceites 33, 56, 57, 100, 107, 109, 162, 163, 165, 166, 168, 169, 170, 171, 172

Agua 33, 42, 47, 71, 72, 73, 74, 77, 78, 80, 81, 86, 87, 99, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 126, 130, 131, 133, 136, 163, 164, 167, 168, 169, 180, 187, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 203, 204, 208, 211, 215, 216, 217, 225, 226, 227, 228, 230, 231, 236, 239, 241, 242, 244, 245, 246, 247, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 294, 295

Alimento composto 239, 244, 245

Amitraz 250, 251, 252, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 261, 262

Análisis exergético 71, 75

Análisis fisicoquímicos 162, 163, 169

Apis mellifera 251, 252, 253, 260, 261

Aprendizagem Supervisionada 210, 212, 214

Aptidão solos regadio 210

Arándanos 191, 193, 195, 198

Aspersión 200, 202, 203, 204, 205, 208

Aumento de temperatura 286

Autoevaluación 29, 31, 32, 36

### B

Beneficio neto 200, 201

Berry skin 152, 155, 157

Biocombustibles 84, 85, 86, 96, 98, 99, 101, 102, 107, 108, 162, 163, 172

Biocultural 39, 49

Bioetanol 83, 84, 95, 109

Biological effectiveness 142, 146, 147, 148, 150

Biomasa vegetal 98, 99, 100, 102

### C

Cabalo de Pura Raza Galega 298, 299, 303, 310, 312, 313, 314

Carica papaya Linn 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 60

Cepa 84, 89, 90, 91, 94, 95, 98, 99, 100, 103, 105, 106, 107, 139, 279

Cepas hiperproductoras 84  
Cerdo 270, 271, 272, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 308  
Cerezas 125, 126, 128, 129, 130, 131, 135, 136, 139  
Co-diseño 63  
Colorantes naturales 125, 126, 129, 130, 137, 138, 139  
Complex of amino acids 152, 154  
Comprimento 239, 243, 244, 245, 246, 247, 254  
Conditional parameters 142, 145, 148  
Curros 298, 299, 300, 310, 311, 314, 315

## E

Eficácia 143, 180, 217, 250, 251, 254, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 307, 324  
Enfermedades Infecciosas Emergentes 270, 271  
Epifitias 175, 176, 177, 185  
Eritrosina 125, 126, 128, 130, 131, 132, 133, 135, 136  
Especies nativas 39, 40, 47  
Estabilidad 57, 126, 127, 130, 131, 136, 162, 169, 170, 172, 271  
Estresse Térmico 286, 294  
Extracción de compuestos fenólicos 70, 71, 80

## F

Fator K 239, 242, 243, 244, 245, 246, 247  
Fermentación 84, 85, 86, 87, 89, 90, 91, 94  
Fertilización nitrogenada 200, 202, 203, 206, 207  
Flumetrina 251, 254, 255, 256, 257, 258, 259  
Fruits 59, 60, 111, 142, 144, 145, 146, 148, 149

## G

Ganadería equina 298  
Goteo por fertiriego 200, 202, 203, 204, 205, 206, 208  
GreenTray 110, 111  
GT bioreactor 110, 111, 112, 115, 116, 117, 118, 120, 121, 122, 123

## H

Humedal 225, 226, 227, 228, 231, 237, 238

## I

Immune 142, 143, 144

Influenza 3, 80, 102, 225, 226, 228, 234, 235, 236, 246, 296

Innovación social 62, 63, 66, 67, 68, 69

In vitro plant micropropagation 111

IRTA-reactor 111, 112

## L

Lípidos 50, 54, 57, 58, 99, 104, 105, 107, 244, 246

Liquid culture 110, 111, 112, 124

## M

Machine Learning 209, 210, 211, 212, 214, 223, 224

Macrófitas acuáticas 225, 226, 229, 230, 235, 236

Macroinvertebrados acuáticos 225, 226, 227, 228, 229, 238

Madre vieja 225, 226, 227, 228

Mal de Panamá 175, 176, 178

Mayos 39, 48

Mecanismos para su presentación 270

Mediterráneo 1, 3, 6

Métodos de extracción 72, 98, 106, 162

Microalgas 98, 99, 100, 101, 102, 103, 107, 108, 109

Micropterus salmoides 239, 240, 247, 248, 249

Moko bacteriano 175, 176

Morfología 190, 226

## N

Nematodos 175, 176, 177, 178, 179, 180, 182, 183, 184, 186, 187, 188, 189, 190

## O

Optimización de extracción 71

## P

Paisagem cultural 1, 2, 3, 22, 25

Parrilla costal 316, 318, 323, 324

Pasturas 263, 264, 265, 269

Património cultural imaterial 1, 13, 22  
Perro 52, 316, 317, 318, 324  
Pesca artesanal 62, 63, 64, 69  
Peso 57, 73, 88, 92, 143, 166, 167, 168, 193, 215, 225, 229, 230, 239, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 252, 287, 318  
Phenolic compounds 59, 71, 72, 81, 82, 152, 153, 156, 159  
Phenolic maturity 152, 153, 154, 158, 160  
PH y temperatura 126, 131, 136  
Picudo negro 175, 176, 177, 180  
Potencialidades 4, 24, 50, 52, 53, 58, 162, 300  
Prácticas 28, 29, 30, 31, 32, 35, 36, 37, 40, 187, 188, 310  
Produção Animal 286  
Productividad 191, 193, 316  
Productivity 111, 122, 123, 142, 143, 144, 149, 150, 192  
Prototipos 21, 62, 63, 68, 69

## Q

Questionários 1  
Quimioterapia 316, 317, 324

## R

Rapa das Bestas 298, 299, 310, 311, 314  
Razas autóctonas 298  
Represa 264, 266, 267, 268, 269  
Residuos industriales de pistacho 70, 71, 80  
Resolución 29, 31, 35, 37  
Resultados 1, 12, 16, 18, 19, 21, 22, 29, 32, 34, 39, 43, 47, 57, 58, 69, 71, 73, 74, 76, 79, 81, 88, 90, 95, 100, 106, 126, 131, 132, 133, 136, 168, 169, 170, 172, 182, 183, 184, 185, 187, 188, 194, 200, 201, 205, 207, 208, 209, 211, 213, 218, 222, 223, 230, 233, 239, 243, 245, 247, 251, 256, 257, 258, 267, 270, 279, 280, 289, 291, 304, 307, 316, 319, 324  
Riego 33, 180, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 204, 263, 264, 265, 266  
Rojo gardenia 126

## S

Salinidad 102, 103, 104, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199

Salud 28, 29, 35, 50, 51, 52, 53, 54, 58, 72, 97, 125, 128, 129, 164, 271, 272, 273, 278, 279, 316, 324

Scikit-Learn 210

Seeds 51, 59, 60, 82, 152, 158, 159, 160, 173, 174

Semillas 47, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 85, 162, 163, 164, 165, 168, 169, 170, 172, 173, 174, 179, 208

Simulación numérica 71

Sistemas agroforestales 38, 39, 40, 41, 43, 47, 48

Sobreiro 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 20, 21, 24, 26

## T

Temporary immersion system 110, 111, 121, 122, 123, 124

Tiradores de cortiça 1, 2, 10, 11, 14, 16, 22, 23, 24

TIS 110, 111, 112, 115, 117, 122, 124

Tumor 316, 317, 319, 320, 321, 323, 324, 325

T.V.T 316, 317

## V

Valcheta 263, 264, 265

Validación de la innovación social 62, 63, 66, 67

Varroa destructor 250, 251, 252, 255, 259, 260, 261, 262

Vertiente 264, 265, 266, 267

Vertisol 200, 201, 202, 205

Vía subcutánea 316, 318, 323, 324

Vinaza 83, 84, 94, 95, 96