

Universidad
del Cauca



FOTOS DE PORTADA
Flickr - Unsplash - Archivo propio

Dirección Revista
Facultad de Ciencias Agrarias
Universidad del Cauca
Calle 5 No.4-70 Popayán, Colombia
Teléfono: 311 768 15 72
e_mail de contacto, suscripciones e intercambio:
biotecnofaca@unicauca.edu.co
biotecnofaca2009@gmail.com

Página web e inscripciones:
http://revistas.unicauca.edu.co/

Revista Biotecnología en el Sector
Agropecuario y Agroindustrial
publica un volumen cada año con dos ediciones:
Primera: Enero - Junio
Segunda: Julio - Diciembre
- VRI - Vicerrectoría de Investigaciones
Universidad del Cauca

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias Universidad del Cauca

ISSN - 1692-3561
Versión Impresa

Universidad del Cauca

ISSN-e 1909-9959
Versión Electrónica

Vol. 18 No 2 · Julio - DIciembre 2020

Héctor Samuel Villada Castillo- PhD.
Editor

COMITÉ EDITORIAL

Silvio Andres Mosquera M. Sc.
Universidad del Cauca
Departamento de Agroindustria
Sandra Morales Velasco M.Sc.
Universidad del Cauca
Departamento de Ciencias Agropecuarias
Consuelo Montes M. Sc.
Universidad del Cauca
Departamento de Ciencias Agropecuarias
Diana Paola Navia, Ph.D.
Universidad San Buenaventura
Cali, Colombia
Jhon Wilder Zartha S. - M. Sc.
Universidad Pontificia Bolivariana (UPB)
Michael Peters – Ph.D.
Universidad de Giessen – CIAT

Ángel Pérez – Ph. D.
Universidad de Holguín de Cuba
José Ángel Gómez Ruiz – Ph.D
Universidad Autónoma de Madrid,España
Henry Armando Jurado Gámez - Ph.D.
Universidad de Nariño
Jaime Ricardo Rosero Noguera - Ph.D.
Universidad Nacional – Sede Medellín

COMITÉ CIENTÍFICO

Nelson Vivas Quila – Ph. D.
Universidad del Cauca
Departamento de Ciencias Agropecuarias
Misael Cortés Rodríguez - Ph. D.
Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín
Alfredo Ayala Aponte Ph. D.
Universidad del Valle
Escuela de Ingeniería de Alimentos
Raúl Rodríguez Herrera,Ph. D.
Plant Breeding 1999.
Texas A&M University-USA.
Vijaya Raghavan - Ph. D.
Universidad de Mcgill de Canadá

Aidé Sáenz Galindo,PhD.
Universidad Autónoma de Coahuila. Mexico
Francisco J. Moreno Andújar - Ph.D.
Instituto de fermentaciones industriales
Madrid, España
Maria del Mar Villamiel G. Ph.D.
Universidad Complutense de Madrid

Asistente Editorial
Willian Enrique Sotelo O.

Diseño y Diagramación
Olga Nohelia Benavides Imbachí
Área de Desarrollo Editorial
Universidad del Cauca



Universidad
del Cauca

UNIVERSIDAD DEL CAUCA

Rector
José Luis Diago Franco

Vicerrector Académico
Luis Guillermo Jaramillo Echeverry

Vicerrectora Administrativa
Cielo Pérez Solano

Vicerrector De Investigaciones
Héctor Samuel Villada Castillo

Vicerrector De Cultura Y Bienestar
Deibar René Hurtado

Secretaria General
Laura Ismenia Castellanos Vivas

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

Decano
Luis Alfredo Londoño Vélez

Secretaria General
Tania Maritza Pabón Ruíz

Jefe Departamento Agroindustria
Jesús Eduardo Bravo Gómez

Jefe Departamento Ciencias Agropecuarias
Roman Ospina

Coordinador Programa Ingeniería Forestal
Juan Carlos Villalba

Coordinador Programa De Ingeniería Agroindustrial
José Fernando Solanilla Duque

Coordinador Programa De Ingeniería Agropecuaria
Victor Felipe Terán Gómez

Coordinador Programa De Tecnología Agroindustrial
Raquel Eugenia de la Cruz Noguera

BIOTECNOLOGÍA
EN EL SECTOR AGROPECUARIO
Y AGROINDUSTRIAL

· NORMAS DE PUBLICACIÓN ·

Vol. 18 No 2 · Julio - Diciembre 2020 · ISSN - 1692-3561 · ISSN-e 1909-9959 · DOI: http://dx.doi.org/10.18684

Universidad del Cauca
Facultad de Ciencias Agrarias
Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial

INFORMACIÓN GENERAL

La Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial es una publicación con periodicidad semestral, arbitrada, perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad del Cauca, que acepta trabajos originales e inéditos producto de investigación en el campo de la ciencia, la ingeniería y la tecnología que tengan un impacto en el sector agrario regional, nacional e internacional en temas como Agroindustria alimentaria y no alimentaria, Ciencias agrícolas y pecuarias, Ciencias Forestales, Energía y Medio Ambiente, Computación Aplicada, Biotecnología, Equipos y Procesos, Administración Industrial, en idiomas español (idioma sugerido para mayor visibilidad y factor de impacto), inglés y portugués.

POLÍTICAS EDITORIALES

Compromiso de tipo formal. Con la remisión del manuscrito postulado para evaluación y publicación, el (los) autor(es) acepta(n) la totalidad de las condiciones estipuladas en las normas.

Compromiso de tipo ético. Los autores deben establecer, por escrito, un compromiso de tipo ético en cuanto a la originalidad del manuscrito postulado: *"El autor(es) firmante(s) declara que el manuscrito presenta resultados originales de una investigación, que no han sido publicados ni están siendo considerados para publicación en otra revista, ajustándose además a las normas éticas internacionales de propiedad intelectual y autoría".* En la carta se deben incluir los datos personales de cada uno de los autores: nacionalidad, escolaridad, correo electrónico institucional, teléfonos para su ubicación o dirección postal y filiación institucional, o en su defecto, la dirección Web donde pueden ser consultados.

Derechos de Autor. Con el envío de los trabajos, los autores(as) conceden "Derechos de Autor" a la revista, por lo que los trabajos no pueden tener derechos otorgados a terceros, a la fecha de envío. La concesión de Derechos de Autor significa la autorización para que la revista pueda hacer uso del manuscrito, o parte de él, con fines de divulgación y difusión de la actividad científica- tecnológica. En ningún caso, dichos derechos afectarán la propiedad intelectual que es propia de los(as) autores(as).

PROCESO GENERAL

Envío de manuscritos. El texto completo de los trabajos en formato Word más la carta de presentación y la información de los evaluadores sugeridos (dos pares nacionales y dos internacionales), deben remitirse por correo electrónico (biotecnofaca@unicauca.edu.co o biotecnofaca2009@gmail.com) o por intermedio de la plataforma Open Journal System (OJS), luego del registro como usuario.

CC BY NC ND

Proceso de evaluación. El proceso inicia con la revisión por parte del Comité Editorial que se reserva el derecho de rechazar un manuscrito (decisión definitiva e inapelable) que presente deficiencias en estructura y redacción y que no cumpla con las áreas temáticas, las normas de publicación y referencias pertinentes o sugerir modificaciones con el objeto de lograr una mejor calidad. Los trabajos aceptados se evaluarán a ciegas, por dos (2) árbitros expertos en el área de conocimiento, quienes emitirán un concepto detallado sobre la pertinencia y atractivo científico y tecnológico, la rigurosidad del tratamiento del tema, el ajuste a las normas de la revista y su contribución al desarrollo de la ciencia, la ingeniería y la tecnología. Por ningún motivo se permitirá la evaluación simultánea de más de dos manuscritos por un autor proponente.

Si el concepto de los dos árbitros coincide, el Editor-Jefe acepta o rechaza el manuscrito. Si no coincide, se busca el concepto de un tercer árbitro: si es rechazado, el manuscrito y las observaciones de los árbitros se remiten a los autores para que consideren su publicación en otro medio. Si el manuscrito es aceptado con modificaciones menores o mayores, éste y las observaciones de los árbitros se remiten a los autores para que éstos remitan una versión revisada y corregida en máximo 20 días, acompañada de una carta dirigida al Editor-Jefe enumerando detalladamente los cambios realizados con base en las observaciones de los árbitros: será el Editor-Jefe quien decida sobre la aceptación de la versión corregida. Pasados los 20 días, el editor, a discreción, tratará el manuscrito como caducado, por lo que deberá ser presentado nuevamente siguiendo el proceso indicado.

TIPOS DE ARTÍCULOS

Artículos de investigación científica. Documento que presenta, de manera detallada, los resultados originales de investigaciones culminadas y está constituido por: 1. INTRODUCCIÓN, 2. MÉTODO, 3. RESULTADOS, 4. CONCLUSIONES y 5. REFERENCIAS. Los agradecimientos son opcionales y se incluyen luego de las conclusiones.

Artículo de reporte de caso. Documento que presenta los resultados de un estudio sobre una situación particular con el fin de dar a conocer las experiencias técnicas y metodológicas consideradas en un caso específico. Incluye una revisión sistemática comentada de la literatura sobre casos análogos y está constituido por: 1. INTRODUCCIÓN, 2. MÉTODO, 3. RESULTADOS, 4. CONCLUSIONES y 5. REFERENCIAS. Los agradecimientos son opcionales y se incluyen luego de las conclusiones.

Artículos de reflexión. Documento que presenta resultados de investigación sobre un tema específico bajo una óptica analítica, interpretativa y crítica del(los) autor(es) con base en fuentes originales (por lo menos 30 referencias). La estructura es: 1. RESUMEN, 2. INTRODUCCIÓN, 3. DESARROLLO DEL TEMA, 4. CONCLUSIONES y 5. REFERENCIAS.

Artículo de revisión (Review). Documento resultado de una revisión analítica y crítica de literatura (mínimo 50 referencias) sobre un campo en ciencia o tecnología en el que se analizan, sistematizan e integran los resultados de investigaciones publicadas para mostrar los avances científicos y las tendencias de desarrollo, más los aportes de los proponentes. Está compuesto por: 1. RESUMEN, 2. INTRODUCCIÓN, 3. DESARROLLO DEL TEMA, 4. CONCLUSIONES y 5. REFERENCIAS.

Cartas al editor. Son comunicaciones cortas, con posiciones críticas, analíticas o interpretativas sobre los manuscritos publicados previamente en la revista, temas o asuntos de interés profesional para los lectores, que a juicio del Comité editorial constituyen un aporte importante a la discusión del tema por parte de la comunidad científica de referencia.

Editorial. Documento escrito por el editor, un miembro del comité editorial o un investigador invitado sobre orientaciones en el dominio temático de la revista, sobre aportes a los investigadores en cuestiones de presentación y estructura de sus artículos, con reflexiones sobre la presentación de documentos escritos, su normatividad, su importancia y otros.

FORMA Y PREPARACIÓN DE MANUSCRITOS

Todo documento remitido a **BIOTECNOLOGÍA EN EL SECTOR AGROPECUARIO Y AGROINDUSTRIAL** debe cumplir con:

- Originalidad: el aporte debe ser totalmente inédito, no publicado en ningún otro medio.
- Consistencia metodológica: en donde se haga evidente el uso de métodos y técnicas de investigación válidos.
- Significación del asunto tal que informe o ilustre situación relevante en el sector Agropecuario y Agroindustrial.
- Impacto para un amplio sector de la academia, la investigación y estudiantes.
- Avance del campo: en el cual sea claro y evidente el aporte a consideraciones y prácticas de mejora en el campo de investigación Agropecuario y Agroindustrial.
- Consideraciones éticas.
- Estilo de redacción claro, conciso y ordenado, evitando jergas personales y expresiones locales.

Partes del manuscrito

La **INTRODUCCIÓN** debe resaltar la importancia de la investigación, presentar la literatura relacionada y entregar antecedentes necesarios para comprender la hipótesis de los autores, terminando con un párrafo que indique claramente los objetivos de la investigación.

El **MÉTODO** debe tener suficiente información que permita a otro investigador replicar el ensayo y lograr los mismos resultados, así como la inclusión del diseño experimental, el análisis estadístico y las referencias de los métodos ya publicados.

Los **RESULTADOS** se deben presentar en forma clara, apoyados con cuadros y figuras, con el análisis estadístico y de los alcances de otros investigadores que alimenten la discusión.

Las **CONCLUSIONES** se describen de forma clara y precisa, derivadas del análisis de los resultados y con base en los objetivos planteados.

Los **AGRADECIMIENTOS** se incluyen si el autor(es) lo desea (n), redactados en forma sobria y que no supere 4 líneas.

Las **REFERENCIAS** deben contener todos los documentos consultados.

Formato general. La extensión máxima es de 12 páginas, en tamaño carta (21,59 cm de ancho y 27,94 cm de alto) con interlineado sencillo y contenido a doble columna (7,5 cm de ancho de columna) a partir de la INTRODUCCIÓN, escrito en Arial recta (excepto los nombres científicos que van en cursiva) de 11 puntos, márgenes de 3 cm en el borde superior, 2 cm en el inferior y 2,5 cm en las márgenes laterales. Las cifras decimales se separan con coma y los nombres científicos se escriben en cursiva. Cuando se usen siglas, debe indicarse el significado completo la primera vez, luego puede usarse la sigla como tal.

Título del manuscrito. Debe estar en los tres idiomas y hacer referencia al contenido de una forma clara y concisa, escrito en Arial recta 11 puntos (excepto los nombres científicos), mayúscula, negrilla y centrado y no debe exceder 15 palabras: si ello no es posible, deberá incluir un subtítulo luego de dos puntos.

Información del autor (es). Los autores se nombran según la importancia y contribución en la investigación o en la preparación del manuscrito, separados entre sí por comas y enumerados con superíndice. Posterior a los títulos, a dos interlíneas, centrado, en mayúscula y sin negrilla, incluir primer y segundo nombre si lo tiene, primer y segundo apellido separados por un guión medio. En nota al pie de página (Arial 8 puntos, en la parte inferior de la primera página y justificada) se indicará la filiación de cada autor, finalmente la palabra **Correspondencia** (en negrilla) y dos puntos, en la que debe aparecer el correo institucional del autor elegido para el envío de correspondencia.

Ejemplo:

[1]Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de investigación Ciencia y Tecnología de Biomoléculas de Interés Agroindustrial (CYTBIA). Máximo título profesional alcanzado. Ciudad, País.

Correspondencia: gfvssp@unicauca.edu.co

Resumen. La palabra RESUMEN debe justificarse al margen izquierdo, en mayúscula y negrilla, iniciando la escritura luego de dos interlíneas en un solo párrafo justificado sin exceder de 200 palabras e incluirá Introducción, justificación, objetivos, metodología, resultados y conclusiones de la investigación haciendo énfasis en los logros alcanzados. Debe ser conciso, escrito en español, inglés (**ABSTRACT**) y portugués (**RESUMO**).

Palabras clave. Se ubican luego de cada resumen. El título en mayúscula, negrilla, en español (**PALABRAS CLAVE**), inglés (**KEYWORDS**) y portugués (**PALAVRAS-CHAVE**) seguido de dos puntos. Se admiten, mínimo tres (3) y máximo cinco (5) palabras clave que no hagan parte del título, con la primera letra en mayúscula, separadas entre sí por coma y con punto al final.

Ejemplo:

PALABRAS CLAVE: Reología, Pos cosecha, Maduración, *Bactris gasipaes*.

Cuadros y figuras. Se acepta un máximo de 6 figuras y/o cuadros y deberán aparecer dentro del texto y procesarse en el formato original, con buen contraste y resolución (calidad mínima de 300 dpi) para evitar policromías y facilitar la diagramación. El título va en la parte superior y no debe superar dos líneas, en Arial recta normal 9, separado por una interlinea y con punto final; debe incluir la palabra Cuadro o Figura seguido del número arábigo consecutivo (en negrilla), un punto y una breve descripción (Ejemplo: **Cuadro 1.** Título descriptivo). Se deben usar líneas horizontales y verticales para separar las entradas del cuadro y cada columna debe tener encabezado (en negrilla, con mayúscula inicial). El tamaño de fuente al interior de un cuadro es arial 9 puntos normal y, en el caso de necesitarse algún pie de cuadro/figura o fuente de consulta, debe estar escrito en Arial 8 puntos normal.

Títulos (en arial recta 11 puntos)**.** Los de primer nivel (partes principales del manuscrito) con mayúscula sostenida y negrilla; los de segundo nivel con mayúscula inicial, negrilla y sin punto final, separados del texto por dos interlineas. Los de tercer nivel con mayúscula inicial, negrilla y un punto seguido, continuando el texto en el mismo renglón luego de un espacio.

Ejemplo:

MÉTODO
Materiales
Material vegetal. El material vegetal usado.....

Expresiones matemáticas. Deben ser escritas dejando dos espacios sobre, debajo y entre cada una de ellas y se debe utilizar el editor de ecuaciones de MS Word. Deben seguir un formato uniforme, justificarse al margen izquierdo y usar la expresión (Ec.1) con números arábigos consecutivos justificada al margen derecho (para mayor facilidad, insertarlas en un cuadro de dos columnas, sin bordes), citándolas en el sitio indicado. El significado de las variables y sus respectivas unidades deben aparecer luego de que se utilicen por primera vez, usando el Sistema Internacional de Unidades (SI).

Referencias. Deben ser al menos 20 y mínimo el 70% de ellas deben ser recientes (de los últimos tres años) y corresponder a artículos de investigación científica (al menos el 60% del total) de corriente principal que puedan respaldar lo escrito, minimizando el uso de literatura gris (tesis, de informes locales y de poco alcance, y de trabajos de congresos, a menos que sea necesario). Dentro del manuscrito se deben indicar según el orden de aparición y encerradas entre corchetes [1,2], notación que se mantendrá en la sección de **REFERENCIAS**. Se permitirá máximo un 15% de autocitación y se espera que gran parte de las citaciones provengan del idioma inglés. Si la referencia cuenta con 4 o más autores, usar *et al*.

Para las referencias se deben seguir estos criterios:

Artículo científico:

SMITH, J.S., SORIA-WHITE, R. and WEBBER, A. Chaos in a model offorced quasi-geostrophic flow over topography: an application of Melinkov's method. Food Control, 2(3), 1991, p. 511-547, DOI (si lo tiene).

Libro:

BILLAS, G.L. y GOSPS, J. Física cuántica. 4 ed. Madrid (España): Acribia, 1990, 450 p.

Capítulo de libro:

LEWIS, P. and STEVENS, J.G. En: Time Series Prediction. Modeling time series by using Multivariate Adaptive Regression Spiines (MARS). 1 ed. Madrid (España): Iberoamericana, 1994, p. 297-318.

Memoria de evento:

ÁLZATE, N., BOTERO, T. y CORREA, D. El arte de la escritura de artículos. Memorias XIX Congreso Latinoamericano de Ponencias Científicas. Córdoba (Argentina): Instituto Argentino de Investigaciones, Tomo II, 2000, p. 219-228.

Normas técnicas:

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (AOAC). ASTM D1434–82: Standard test method for determining gas permeability characteristics of plastic film and sheeting. Pennsylvania (USA): 2009, 13 p.

Reporte de un organismo o Gobierno:

COLOMBIA. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. La situación de la provisión de alimentos en un mundo moderno. Bogotá (Colombia): 1997, 57 p.

Tesis:

JACOBS J. Regulación of life history strategies within individuáis in predictable and unpredictable environments [Ph.D. Thesis Social Communication]. Seattle (United States): University of Washington, Faculty of Humanities, 1996, 345 p.

Patentes:

MOREIRA, G. e MATOS, T. Embalagem biodegradável de amido de inhame. US 6.444.567, Clases 343, 356. Sao Paulo (Brasil): 2001.

Monografías electrónicas:

MACIAS, J.C., SANTOS, J.M. and WILD, E. Handbook of Nanomaterials [online]. 1996. Disponible: http://nano.hb/handbook/ kewat.com/[citado 4 de abril de 2004].

Otras referencia electrónicas:

NOAA-CIRES. Climate Diagnostics Center. Advancing Understanding and Predictions of Climate Variability [online]. 2010. Disponible: http://www.cdc.noaa.gov [citado 8 de Agosto de 1998].

ASHWELL, M. ILSI Europe Concise Series. Concepts of functional foods [online]. 2002. Disponible:http://www.ilsi.org/Europe/Publications/C2002Con_Food.pdf. [citado 13 mayo de 2009].

BIOTECNOLOGÍA
EN EL SECTOR AGROPECUARIO
Y AGROINDUSTRIAL

· CONTENIDO ·

Vol. 18 No 2 · Julio - Diciembre 2020 · ISSN - 1692-3561 · ISSN-e 1909-9959 · DOI: http://dx.doi.org/10.18684

EDITORIAL

ARTÍCULOS DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA

15 **Evaluación del efecto antifúngico de metabolitos de cultivos bioprotectores: aplicación en derivados lácteos**
MARY LUZ OLIVARES-TENORIO, BERNADETTE KLOTZ-CEBERIO

26 **Caracterización del epicarpio de guayaba (*Psidium guajava* L.) como alternativa natural para uso en productos alimenticios procesados**
VIVIANA ANDREA VELASCO-ARANGO, ALICIA ALEJANDRA BERNAL-MARTÍNEZ, LUIS EDUARDO ORDÓÑEZ-SANTOS, JOSÉ IGOR HLEAP-ZAPATA

37 **Clonación del cDNA codificante de las subunidades de la gonadotropina luteinizante de *Pimelodus grosskopfii***
JAMES BETANCUR-LÓPEZ, MARÍA FERNANDA FLÓREZ, ANA MARÍA PÉREZ-O´BRIEN, NEIL VASQUEZ-ARAQUE, ANDRÉS MONTOYA-LÓPEZ

48 **Desarrollo de novillas BON x Cebú en un silvopastoril de *Tithonia diversifolia*, en Antioquia, Colombia**
JERALDYN ARGÜELLO-RANGEL, LILIANA MAHECHA-LEDESMA, JOAQUÍN ANGULO-ARIZALA

60 **Micropropagación de *Gynerium sagitatum* Aubl. cvs "criolla", "costera" y "martinera"**
ISIDRO ELÍAS SUÁREZ-PADRÓN, CARLOS ALFREDO PÉREZ-ABDALA, CLAUDIA MARCELA LÓPEZ-DÍAZ

70 **Hidrólisis enzimática del aceite de *Bactris guineensis* con fracciones del látex de *Carica papaya*: estudio del efecto de la temperatura, ph y concentración del sustrato**
MILENA URQUIJO-RODRÍGUEZ, MIRIAM FONTALVO-GÓMEZ, ARIELA VELOSO-DE PAULA, DARY MENDOZA-MEZA

82 **Actividad antioxidante e influencia del periodo climático sobre el contenido de polifenoles totales en *Merremia aegyptia***
JOSÉ ALBERTO SALGADO-CHÁVEZ, ANDERSON ENRIQUE PALACIO-VALENCIA, NELSON OSVALDO VALERO-VALERO

CC BY NC ND

94 **Transformación electroquímica de un andisol en relación con la dinámica del fósforo**
DARWIN FERNANDO ACOSTA, YENNY MARITZA CAMACHO-TORRES, CAMILO ANDRÉS LÓPEZ-BARÓN, GERMÁN EDUARDO CELY-REYES, PABLO SERRANO

103 **Caracterización agromorfológica de cebada (*Hordeum vulgare* L.) en el Municipio de Chivatá Boyacá, Colombia**
YURANI VELASCO-LAITON, WILLIAM SANA-PULIDO, ANA MORILLO-CORONADO

117 **Análisis sensorial discriminativo y descriptivo de guacamole a base de polvo de aguacate "Hass"**
MISAEL CORTÉS-RODRÍGUEZ, FRANCY STEPHANIE ORREGO-VARGAS, JUAN DIEGO TORRES-OQUENDO

126 **Análisis composicional de la pupa de gusano de seda *(Bombyx mori* L.)**
CONNIE MITCHELLE GRISALES-MUÑOZ, FREDY JAVIER LOPEZ-MOLINA

135 **Efecto del periodo de recuperación en la producción y calidad nutricional de algunas especies forrajeras**
DANIA FONSECA-LÓPEZ, ISRAEL ALBERTO BOHÓRQUEZ-MASMELA, CARLOS EDUARDO RODRÍGUEZ-MOLANO, NELSON JOSÉ VIVAS-QUILA

145 **Efecto microbiológico de recubrimiento modificado por vía ácida sobre el tomate larga vida**
NESLY HOYOS-YELA, ROCÍO PÉREZ-IMBACHÍ, SANDRA PATRICIA PAZ-PEÑA, SILVIO ANDRÉS MOSQUERA-SÁNCHEZ

156 **Efecto del suministro *in vivo* de *Lactobacillus casei* en la alimentación de *Cavia porcellus***
HENRY JURADO-GÁMEZ, EDWARD ZAMBRANO-MORA, CARLOS CHÁVEZ-VELÁSQUEZ

166 **Elaboración de una bebida a base de suero lácteo y pulpa de *Theobroma grandiflorum***
ADRIANA ISABEL RODRÍGUEZ-BASANTES, CRISTIAN AUGUSTO ABAD-BASANTES, AMAURY PÉREZ-MARTÍNEZ, KAREL DIÉGUEZ-SANTANA*

176 **ÍNDICE DE AUTORES**

182 **ÍNDICE TEMÁTICO**

BIOTECNOLOGÍA
EN EL SECTOR AGROPECUARIO
Y AGROINDUSTRIAL

· EDITORIAL ·

Vol. 18 No 2 · Julio - Diciembre 2020 · ISSN - 1692-3561 · ISSN-e 1909-9959 · DOI: http://dx.doi.org/10.18684

Durante los últimos meses, el mundo viene sufriendo la mayor pandemia de los últimos tiempos, la cual ha afectado a los sistemas alimentarios mundiales, perturbando las cadenas de valor agrícolas a nivel regional, presentando riesgos para el abastecimiento de los hogares. Sin embargo, esta crisis sanitaria ha creado una mayor conciencia sobre la seguridad alimentaria, donde la labor incansable de los campesinos y sus diferentes agremiaciones se han consolidado mediante la adopción de diferentes tecnologías de elaboración y los saberes tradicionales, logrando de esta manera llevar a los mercados, productos de la canasta familiar que satisfacen las necesidades alimentarias. De esta manera, la revista Biotecnología en el Sector agropecuaria y Agroindustrial quiere hacerle un homenaje aquella población rural que trabaja en pro de la producción agropecuaria del Departamento del Cauca y del país.

En concordancia con lo anterior, en el volumen 18 númeo 2 de la revista, se presentan trabajos que contribuyen al fortalecimiento de la productividad del sector agrario, donde la comunidad académica y científica de distintas instituciones de investigación y universidades nacionales e internacionales dan a conocer los resultados de sus estudios.

Considerando al suelo y a sus componentes un elemento importante en la producción de alimentos; Acosta y colaboradores de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, estudian la Transformación electroquímica de un andisol en relación con la dinámica del fósforo, encontrando que el fosforo presenta su mejor solubilidad en un intervalo de pH de 6,3 a 6,6, además de otras características químicas importantes.

Desde el punto de vista de producción agrícola, Velasco, Sana y Morillo presentan la Caracterización agromorfológica de cebada (*Hordeum vulgare* L.) en el municipio de Chivatá, Boyacá, Colombia, donde revelan que los parámetros productivos de distintas accesiones de cebada representan la variabilidad de la especie. Así mismo, Fonseca, Bohórquez, Rodríguez y Vivas en su estudio del Efecto del periodo de recuperación en la producción y calidad nutricional de algunas especies forrajeras, manifiestan que los periodos de corte no presentaron incidencia en la calidad nutricional de las especies forrajeras, excepto la *Avena sativa* L. que presenta mejores condiciones de calidad y productividad forrajera a los 35 días.

En cuanto a la producción pecuaria, Arguello, Mehecha y Angulo de la Universidad de Antioquia, en su estudio de Desarrollo de novillas BON x Cebú en un silvopastoril de *Tithonia diversifolia*, en Antioquia, Colombia, reportan que los sistemas silvopastoriles con *Tithonia diversifolia* presentan buen comportamiento productivo en novillas BON x Cebú. Mientras que en la Universidad del

CC BY NC ND

Cauca, Grisales y López reportan que la harina de pupa de *Bombyx mori* L es una materia prima con buenas características nutricionales para ser usada en dietas alimenticias para los animales.

Usando técnicas biológicas, Suárez, Pérez y López de la Universidad del Córdoba presentan un protocolo eficiente de cultivo *in vitro* para la propagación de Caña flecha (*Gynerium sagitatum* Aubl.) como una alternativa para aumentar la población de esta especie.

En el campo de la agroindustria, universidades como la Universidad Nacional de Colombia, Universidad de la Guajira, Universidad Estatal Amazónica de Puyo Ecuador, Universidad del Cauca, Universidad de Nariño y Universidad del Atlántico; presentan estudios de diferentes alternativas de procesos de trasformación de productos pecuarios que generan valor agregado, resultados que permiten el fortalecimiento de las agremiaciones campesinas.

Esta emergencia sanitaria, es un llamado a la comunidad académica para continuar con los procesos investigativos que fomenten la productividad del sector agrario, con el objeto de que pequeños y medianos productores sean resilientes y sustentables en el tiempo, como una estrategia de permanencia ante las adversidades que pueden llegar a presentarse a futuro.

CARLOS AUGUSTO MARTINEZ MAMIAN
Ph.D. en Ciencias Agrarias y Agroindustriales

BIOTECNOLOGÍA
EN EL SECTOR AGROPECUARIO
Y AGROINDUSTRIAL

· ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA ·

Vol. 18 No 2 · Julio - Diciembre 2020 · ISSN - 1692-3561 · ISSN-e 1909-9959 · DOI: http://dx.doi.org/10.18684

Evaluación del efecto antifúngico de metabolitos de cultivos bioprotectores: aplicación en derivados lácteos*

Evaluation of the antifungal effect of metabolites of bioprotective cultures: dairy food applications

Avaliação do efeito antifúngico de metabólitos de culturas bioprotetoras: sua aplicação em derivados lácteos

MARY LUZ OLIVARES-TENORIO[1], BERNADETTE KLOTZ-CEBERIO[2]

Historial del Artículo
Recibido para evaluación: 12 de Septiembre 2019.
Aprobado para publicación: 1 de Mayo 2020.

*Título del proyecto de origen: Aplicación de bioprotectores en la industria láctea. Financiación: Alpina Productos Alimenticios S. A. Culminación. Julio de 2018

1 Alpina Productos Alimenticios S.A., Dirección de Investigación, Desarrollo e Innovación. Ph.D Ciencia y Tecnología de Alimentos. Sopó, Colombia. ORCID. https://orcid.org/0000-0002-1471-6312

2 Alpina Productos Alimenticios S.A., Dirección de Investigación, Desarrollo e Innovación. Ph.D Biociencia de los Alimentos. Sopó, Colombia. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0184-0541

Correspondencia: bernadette.klotz@alpina.com

Cómo citar este artículo: JAMES BETANCUR-LÓPEZ, MARÍA FERNANDA FLÓREZ, ANA MARÍA PÉREZ-O´BRIEN, NEIL VASQUEZ-ARAQUE, ANDRÉS MONTOYA-LÓPEZ. Clonación del cDNA codificante de las subunidades de la gonadotropina luteinizante de Pimelodus grosskopfii. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 18(2),2020.15-25, DOI:http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(18)15-25

CC BY NC ND

RESUMEN

Para garantizar la inocuidad y la vida útil de muchos alimentos procesados, la industria de alimentos ha hecho uso de conservantes artificiales que cada vez son más cuestionados y reemplazados por alternativas naturales como son los cultivos bioprotectores. Las bacterias ácido lácticas (BAL) y ácido propiónicas (BAP) son los grupos bacterianos más reconocidos por su acción antimicrobiana sobre bacterias patógenas y en menor grado sobre hongos. El presente estudio evaluó la funcionalidad antifúngica de tres cepas de Lactobacillus casei, tres de L. rhamnosus y tres de Propionibacterium freudenreichii sobre aislados de Mucor circinelloides y Geotrichum candidum y el efecto de factores como la Pasteurización (74°C, 3 min) y el medio de crecimiento de los cultivos bioprotectores (leche y BRFS) sobre esta. Los ensayos reto con cultivos bioprotectores sin y con tratamiento térmico realizados por triplicado en modelos lácteos (agar yogur) arrojaron los siguientes resultados de acuerdo con una escala cualitativa de crecimiento fúngico: (1) diferentes cepas de BAL y BAP divergieron en funcionalidad bioprotectora, (2) el tratamiento térmico eliminó o redujo sustancialmente el poder antifúngico de los cultivos con la excepción de P. freudenreichii subsp. shermanii BPL0082 y (3) los cultivos desarrollados en medio BRFS presentaron mayor capacidad de inhibición.

PALABRAS CLAVE:
Bioprotección, Modelos lácteos, Mohos, Pasteurización.

KEYWORDS:
Bioprotection, Dairy models, Molds, Pasteurization.

PALAVRAS-CHAVE:
Bioproteção, Bolores, Modelos lácteos, Pasteurização.

ABSTRACT

To guarantee the food safety and shelf life of many processed food products, the food industry has made use of artificial preservatives that are each time more questioned and replaced by natural alternatives such as bioprotective cultures. Lactic acid bacteria (LAB) and propionic acid bacteria (PAB) are bacterial groups recognized by their antimicrobial action against bacterial pathogens but their activity against fungi is lesser known. The present study evaluated the antifungal functionality of three strains Lactobacillus casei, three of L. rhamnosus, and three of Propionibacterium freudenreichii against isolates of Mucor circinelloides and Geotrichum candidum and the effect of factors like pasteurization (74°C, 3 min) and culture media (milk and BRFS) on it. The challenge assays in dairy models (yogurt agar) produced the following results in accordance to a qualitative score scale of fungal growth: (1) different strains of LAB and PAB differed in the bioprotective functionality, (2) the heat treatment eliminated or reduced substantially the antifungal power with the exception of P. freudenreichii subsp. shermanii BPL0082, and (3) the cultures developed in media BRFS exhibited greater inhibition capacity.

RESUMO

Para garantir a inocuidade e a vida útil de muitos alimentos processados, a indústria alimentícia faz uso de conservantres artificiais, que vêm sendo cada vez mais questionados e substituídos por alternativas naturais, como é o caso das culturas bioprotetoras. As bactérias ácido-láticas (BAL) e ácido-propiônicas (BAP) constituem os grupos bacterianos mais reconhecidos por sua ação antimicrobiana sobre bactérias patogênicas e, em menor grau, sobre os fungos. O presente estudo avaliou a funcionalidade antifúngica de três cepas de

Lactobacillus casei, três de L. rhamnosus e três de Propionibacterium freudenreichii sobre isolados de Mucor circinelloides e Geotrichum candidum, bem como o efeito de fatores como a pasteurização (74°C, 3 min) e o meio de crescimento das culturas bioprotetoras (leite e BRFS) sobre ela. Os ensaios de desafio com culturas bioprotetoras com e sem tratamento térmico realizados por triplicado em modelos lácteos obtiveram os seguintes resultados de acordo com uma escala qualitativa de crescimento fúngico: (1) diferentes cepas de BAL e BAP divergem quanto à função bioprotetora, (2) o tratamento térmico eliminou ou reduziu o poder antifúngico com exceção da P. freudenreichii subsp. shermanii BPL0082 e (3) o culturas desenvolvidas em meio BRFS exibiu maior capacidade de inibição.

INTRODUCCIÓN

De Acuerdo con la FAO [1] un tercio de la producción de los alimentos destinados al consumo humano se pierde en todo el mundo, lo que equivale a más 1.300 millones de toneladas al año y se estima que un cuarto de la producción alimentaria mundial se pierde debido a las alteraciones causadas por microorganismos. Según el Departamento Nacional de Planeación (DNP), en Colombia se desperdicia el 34% de los alimentos destinados a consumo humano; se botan 9,76 millones de toneladas de alimentos por año y el 36% de esta cantidad se desperdicia en las etapas de distribución, venta al por menor y hogares. En los productos lácteos las pérdidas ascienden a 29 mil toneladas año [2]. La aparición de productos alimenticios deteriorados hace decrecer la confianza del consumidor y es causa de pérdidas económicas para empresas. Estas razones hacen que las industrias alimentarias se encuentren en continua búsqueda y desarrollo de nuevas tecnologías de conservación para alargar su vida útil y garantizar la inocuidad de sus productos.

Los derivados lácteos fermentados se caracterizan por proveer un sustrato favorable para el crecimiento de mohos y levaduras con la capacidad de fermentar azúcares (lactosa, glucosa, galactosa) e hidrolizar proteínas causando el deterioro de estos productos aun a temperaturas de refrigeración [3]. La contaminación del producto final por hongos presentes en el ambiente de plantas de producción, a pesar de las buenas prácticas de manufactura, es la primera causa de deterioro de productos lácteos. Durante su crecimiento, los hongos contaminantes alteran los derivados lácteos fermentados por la producción de diferentes tipos de sustancias como son compuestos volátiles y aromáticos y alcoholes entre otros que originan cambios de sabor, olor, textura y apariencia [4]. Los principales hongos causantes de alteraciones en productos lácteos fermentados son *Mucor circinelloide*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Candida parapsilosis*, *Candida diffluens*, *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces marxianus*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Yarrowia lipolytica*, *Zygosaccharomyces bailii* o *Penicillium brevicompactum* y, si bien esto es un punto para analizar para cada producto, su aparición depende de varios factores, entre ellos la calidad de las materias primas, de los programas de higiene y desinfección y del ambiente de manufactura [5, 6]. Para la industria láctea, la prevención de la contaminación por microrganismos provenientes del ambiente para garantizar la vida útil y la inocuidad de los productos alimenticios y reducir las pérdidas económicas es un reto constante [3].

En los últimos años, la bioconservación o bioprotección ha generado particular interés como una alternativa natural al uso de conservantes artificiales para alargar la vida útil y para garantizar la inocuidad de los productos alimenticios; también, puede servir como seguro adicional para productos alimenticios refrigerados que no permiten la adición de conservantes tradicionalmente utilizados en la industria de alimentos, especialmente en regiones donde no se garantiza la cadena de frio [7]. La aplicación de microorganismos inocuos, así como de sus metabolitos con actividad antimicrobiana puede inhibir o retardar el crecimiento de flora microbiana deteriorativa y patógena [7, 8]. Estos cultivos microbianos protectores de alimentos se componen principalmente de bacterias; son formulaciones que no solo contienen uno o más cultivos microbianos, también pueden estar presentes los metabolitos producidos durante su crecimiento o fermentación y compuestos necesarios para su estabilidad y aplicación en los correspondientes alimentos. Actualmente, la aplicación de cultivos bioprotectores y sus fermentados para reducir el deterioro de alimentos sigue creciendo en la industria de alimentos con la tendencia de etiquetado limpio o sea de productos naturales libres de aditivos y conservantes [9, 10, 11]. Los cultivos protectores pueden hacer parte de los cultivos microbianos iniciadores de fermentaciones al que también pertenecen los probióticos [12, 13].

De acuerdo con la Asociación Europea de Alimentos y Cultivos Alimentarios (EFFCA), el concepto cultivos protectores se aplica a los cultivos alimentarios

microbianos que, exhibiendo una actividad metabólica, contribuyen a inhibir o controlar el crecimiento de microorganismos indeseables en los alimentos sin cambiar sus propiedades tecnológicas y sensoriales [12, 13]. Los cultivos protectores vivos en productos fermentados no requieren de declaración en Estados Unidos y, si se trata de cultivos protectores inactivos se declaran como "leche fermentada" o "azúcar fermentada" [12].

En la industria láctea, las bacterias ácido lácticas (BAL) y propiónicas (BAP) son ampliamente utilizadas en procesos fermentativos debido a sus características fisiológicas que aportan beneficios nutricionales así como tecnológicos a los derivados lácteos. Las BAL y las BAP son generalmente reconocidas como seguras (GRAS) y presunción cualificada de seguridad (QPS) por su largo historial de uso en la alimentación humana y animal. Estas bacterias pueden producir compuestos anti-fúngicos en virtud de su metabolismo [14, 15]. Las BAL y las BAP son un grupo de bacterias Gram positivas morfológica y fisiológicamente heterogéneas. Durante sus procesos fermentativos de carbohidratos producen principalmente ácido láctico y propiónico pero también otros ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, diacetil, dióxido de carbono, hidrógeno y péptidos antimicrobianos que contribuyen a su actividad antagónica contra hongos y bacterias [3,16]. Sin embargo, el mecanismo de acción de su actividad inhibitoria no se encuentra totalmente dilucidado para poder hacer un uso optimizado de su capacidad antimicrobiana [17]. El efecto y el mecanismo inhibitorio de las BAL y BAP contra bacterias patógenas se conoce mucho mejor que contra mohos y levaduras deterioriativas [18].

Actualmente se identifican los siguientes principales mecanismos de acción de los compuestos con actividad antimicrobiana [19]:

- Ácido láctico y otros ácidos volátiles: disrupción del metabolismo celular.
- Peróxido de hidrógeno: inactivación de biomoléculas esenciales por reacción en cadena de aniones superóxido y activación del sistema lactoperoxidasa.
- Dióxido de carbono: entorno anaerobio y/o inhibición de la decarboxilación enzimática y/o disrupción de la membrana celular.
- Diacetil: interferencia con la utilización de la arginina.
- Bacteriocinas: disrupción de la membrana citoplasmática.

Dentro del grupo de las BAL los géneros *Lactobacillus*, *Pediococcus* y *Leuconostoc* han sido los más estudiados en relación con su actividad antifúngica [16, 18, 20]. La especie *Propionibacterium freudenreichii* es reconocida por sus propiedades antimicóticas dentro del grupo de las BAP [21]. El efecto antimicrobiano de bioprotectores ha sido estudiado con mayor intensidad con cultivos vivos y existe muy poca literatura científica sobre el efecto antimicrobiano de cultivos tratados térmicos.

Se reconoce ampliamente en la microbiología que las capacidades fisiológicas entre cepas pueden ser diferentes y, tanto su resistencia a agentes antimicrobianos como su capacidad antimicrobiana, no se escapan a esta realidad [10]. La aplicación de soluciones de bioprotección para el caso de bacterias patógenas está más extensamente referenciada en la literatura no así las aplicaciones sobre microrganismos deteriorativos de alimentos procesados [9].

En el procesamiento de derivados lácteos existen procesos que conllevan más de un tratamiento térmico y, por lo tanto, siempre existe la duda sobre la efectividad de cultivos bioprotectores a partir de células viables. El presente trabajo de investigación tuvo como propósito evaluar la capacidad antifúngica de diferentes cepas de cultivos bioprotectores sobre diferentes cepas de *M. circinelloides* y *Geotrichum candidum* mediante un escrutinio en modelos lácteos, el efecto del tratamiento térmico de cultivos bioprotectores sobre su capacidad inhibitoria y el efecto del medio de cultivo sobre la capacidad antimicótica.

MÉTODO

Aislamiento e identificación de especies alterantes

Para los aislamientos fúngicos se partió de derivados lácteos fermentados comerciales con presencia de mohos provenientes de la planta Sopó, Cundinamarca (altitud 2587 msnm, 14°C). Los aislamientos se realizaron mediante técnicas tradicionales en medios agar

YPD (Yeast Extract Peptone Dextrose) y Sabouroub agar; una vez obtenido el primer crecimiento, se llevaron a cabo pases sucesivos para asegurar la pureza de los cultivos. Con los cultivos aislados se llevó a cabo la creación de un banco celular primario de esporas (50% Glicerol + 0,005% Tween80) a -80°C, y a partir del cual se continuó trabajando.

Para su identificación se utilizaron técnicas de biología molecular que incluyeron la extracción del ADN, la amplificación de las regiones intergénicas ITS (Internal Transcribed Spacer) mediante PCR (Polymerase Chain Reaction) utilizando los cebadores ITS4 e ITS5 de los genes ARNr. La identificación se realizó mediante análisis en bases de datos públicas utilizando la herramienta on line BLAST [22].

Selección de los cultivos bioprotectores para las pruebas de antagonismo

Se seleccionaron 9 cepas pertenecientes a las especies *Lactobacillus rhamnosus*, *L. casei* y el género *Propionibacterium* del ceparío del centro biotecnológico ADM-Biopolis (España). Estos grupos fueron escogidos debido a que se ha descrito previamente actividad antifúngica en alguna cepa y por estar incluidos en el listado europeo de seguridad QPS (ver Cuadro 1).

Elaboración de los productos celulares bioprotectores para los ensayos reto

Se realizaron ensayos con distintas aproximaciones, en la que se varió el medio de cultivo y el estado de las células de cultivos bioprotectores. En relación con el medio de cultivo, se ensayó el medio industrial estándar del centro biotecnológico ADM-Biopolis, de calidad alimentaria y libre de productos de origen animal, y un medio de cultivo industrial en base láctea (leche). En el primer caso se ensayaron las células obtenidas de éste, mientras que en el segundo caso, los ensayos se realizaron con el cultivo total (base láctea más células), con lo que se analizó el efecto tanto de las células como de los productos de su metabolismo. Se evaluó adicionalmente el efecto antifúngico de los cultivos inactivados térmicamente por pasteurización (74°C, 30 min). Las aproximaciones para los ensayos se resumen a continuación:

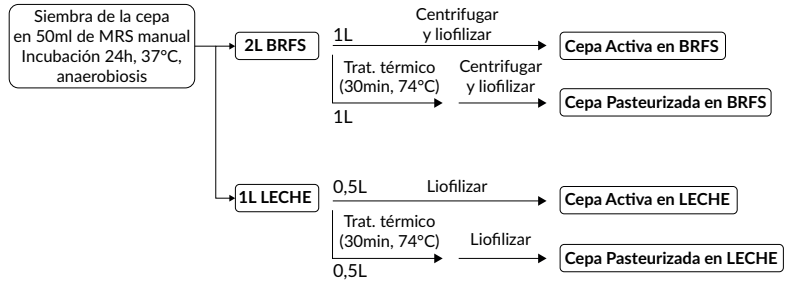
- Cepas crecidas en medio de cultivo estándar (libre de base láctea) activas.
- Cepas crecidas en medio de cultivo estándar (libre de base láctea) con tratamiento térmico posterior ("azúcar fermentada").
- Cepas crecidas en medio de cultivo de base láctea activas.
- Cepas crecidas en medio de cultivo de base láctea con tratamiento térmico posterior ("leche fermentada").

La Figura 1 muestra el diagrama de preparación de los productos celulares para su evaluación en los ensayos reto. Para cada una de las cepas incluidas en el cuadro 1, se llevó a cabo un crecimiento en dos medios de cultivo distintos, por un lado, el medio de cultivo que se utiliza en ADM-Biopolis para el crecimiento industrial de estos microorganismos, y por el otro lado leche entera. Los medios fueron los mismos para todas las cepas, si bien las temperaturas de creci-

Cuadro 1. Cepas bacterianas potencialmente bioconservantes para los ensayos reto.

Cepas	Especies
BPL0004	*Lactobacillus casei*
BPL0079	
BPL0080	
BPL0008	*Lactobacillus rhamnosus*
BPL0015	
BPL037	
BPL0081	*Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii*
BPL0082	
BPL0083	*Propionibacterium freudenreichii subsp. freudenreichii*

Figura 1. Elaboración de los productos celulares bioprotectores para los ensayos reto.



miento difirieron (37°C en el caso de lactobacilos, 30°C para propionibacterias). El medio BRFS está formulado para el crecimiento de bacterias lácticas y está compuesto por extractos proteicos, en particular, extracto de levadura, glucosa (3-5% p/v dependiendo de la bacteria) y sales (fosfato dipotásico 0,3% p/v, amonio hidrogenocitrato 0,2% p/v, acetato sódico 0,5% p/v, sulfato de magnesio 0,02% p/v, sulfato de manganeso 0,003% p/v).

Una vez realizados los crecimientos, se llevó a cabo un recuento en placa de los distintos cultivos. En el caso de las células activas en BRFS, éstas se recuperaron por centrifugación, se congelaron y liofilizaron. En el caso de las células inactivas, el cultivo se inactivó mediante tratamiento térmico (74°C, 30 min), se recuperaron las células por centrifugación, se congelaron y liofilizaron. Para el caso de los preparados celulares en leche se manutuvo la base láctea de la matriz. Se realizaron recuentos de viables en todos los casos.

Capacidad antifúngica de los productos celulares bioprotectores

Los ensayos de reto se llevaron a cabo en medio sólido y para el estudio se seleccionó como medio de cultivo agar yogurt. Este medio se prepara mediante autoclavado del agar bacteriológico en agua, posterior atemperado a 50°C en baño y adición de yogur (previamente agitado y atemperado a 40°C en baño) en movimientos circulares.

Se realizó el escrutinio sobre la capacidad antifúngica de los preparados celulares bioprotectores sobre *M. circinelloides* y los distintos ensayos realizados fueron:

- Control de crecimiento del hongo alterante: medio agar yogur inoculado con los hongos alterantes.
- Ensayos de inhibición: medio agar yogur adicionado en profundidad con los distintos productos celulares a ensayar e inoculadas con los hongos alterantes.
- Control de contaminación: medio agar yogur adicionado de los productos ensayar.

Para asegurar la homogeneidad, los distintos productos celulares se adicionaron al yogur y se homogeneizaron antes de ser vertidos al agar. Una vez solidificados los medios de cultivo, se procedió a la inoculación de los distintos hongos alterantes. Las inoculaciones se realizaron por siembra en gota, a partir de soluciones de esporas glicerinadas y almacenadas a -20°C, en una concentración de 3 esporas/10 µL. Las inoculaciones se realizaron con gotas de 10 µL y posterior incubación a 28°C.

La evaluación de la capacidad inhibitoria se realizó mediante medida del diámetro de crecimiento del hongo cada dos días. El ensayo se alargó hasta el momento en el que se dio un mismo diámetro en dos medidas consecutivas, o bien el cultivo alcanzó el diámetro de la placa.

RESULTADOS

Identificación de las especies de mohos

Se realizó la identificación de cinco aislados de las especies *M. circinelloides* y *G. candidum*. La Figura 2 muestra el crecimiento de los cinco aislados en agar Saboraud.

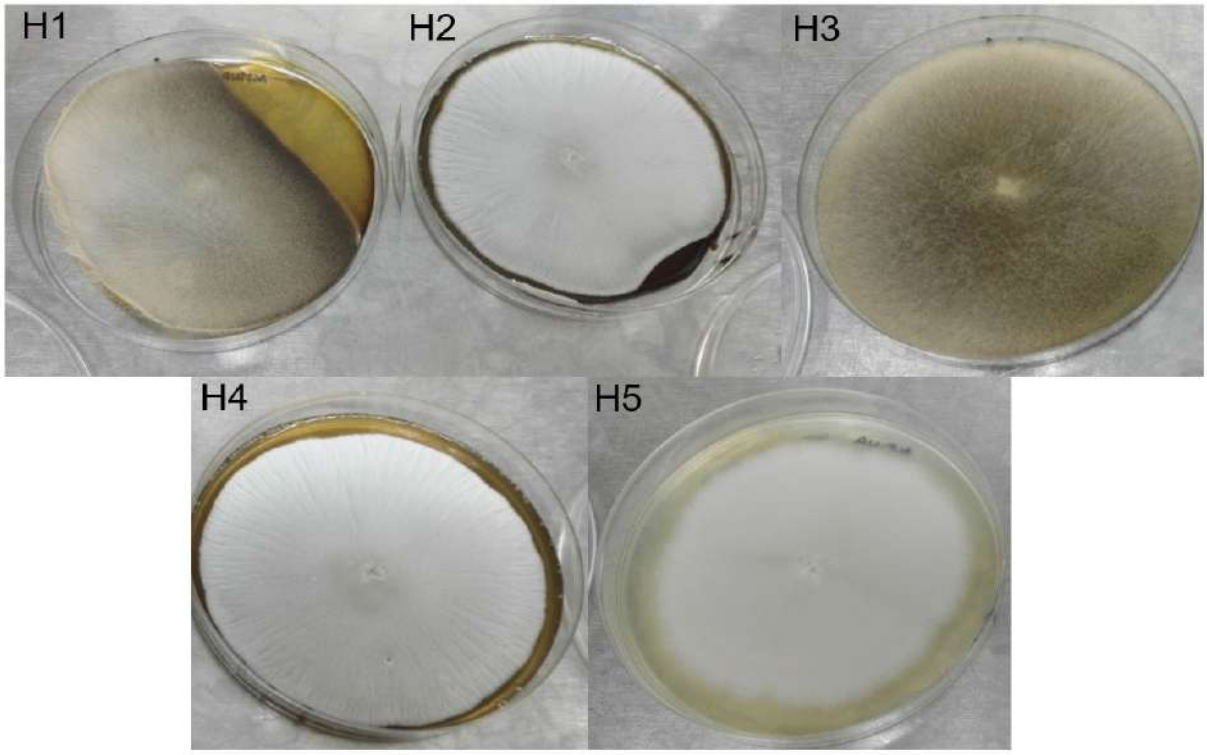
Cuantificación de los productos celulares bioprotectores

El Cuadro 2 muestra los resultados obtenidos de los recuentos bacterianos en los productos con y sin proceso térmico. Como puede observarse, el proceso de inactivación no fue completo en ninguno de los casos, aunque sí se produjeron reducciones en los recuentos de 3 a 10 unidades $\log_{10}$.

Funcionalidad inhibitoria de los productos celulares bioprotectores

Los productos celulares bioprotectores pasteurizados en términos generales no presentaron o tuvieron baja funcionalidad inhibitoria sobre los diferentes aislados de mohos comparado con los cultivos bioprotectores vivos. En el Cuadro 3 se resumió el desempeño de los productos celulares bioprotectores cultivados en medio BRFS sin y con Pasteurización. *P. freudenrichii* subsp. *shermanii* BPL0082 fue la cepa con mayor funcionalidad antifúngica presentando una inhibición de crecimiento alta sobre los cinco aislados de mohos. Las cepas de *L. casei* BPL0004, BPL0079 y BPL0080 tuvieron un efecto inhibitorio alto sobre los aislados de *M. cicirnelloides*, no así en general para *G. candidum* aunque para el aislado H2 las primeras dos cepas presentaron un efecto inhibitorio positivo y ligero respectivamente. Las cepas de *L. rhamnosus* y *P. freuden-*

Figura 2. Aislados de mohos de productos lácteos fermentados comerciales. *M. circinelloides* (H1), *G. candidum* (H2), *M. circinelloides* (H3), *G. candidum* (H4), *G. candidum* (H5).



richii subsp. *freudenrichii* se caracterizaron por tener bajo o ningún poder antifúngico.

El Cuadro 4 contiene los resultados obtenidos con los productos celulares bioprotectores cultivados en leche tal como sucedió con los cultivados en medio BRFS, los productos bioprotectores pasteurizados no tuvieron un efecto antifúngico. La cepa de *P. freudenrichii* subsp. *shermanii* BPL0082 fue la de mejor desempeño inhibitorio, aunque sobre *M. circinelloides* presentó un efecto menor al compararlo con los resultados obtenidos en medio BRFS. Las cepas de *L. casei* BPL0004, BPL0079 y BPL0080 presentaron efecto inhibitorio alto sobre *M. circinelloides*. Entre las cepas de *L. casei*, solo la cepa BPL0004 tuvo efecto inhibitorio positivo sobre el aislado H2 de *G. candidum*. En medio de cultivo leche la cepa de *L. rhamnosus* BPL0037 inhibió de manera positiva y ligera los cinco aislados de mohos, efecto que no se observó cuando se cultivó en medio BRFS.

En ninguno de los ensayos reto se presentó inhibición total del crecimiento. Cuando se presentó, el efecto antifúngico para todas las cepas BAL y BAP fue más alto con los liófilos con mayores recuentos indicando que la pasteurización afecta el poder antimicrobiano de los productos celulares bioprotectores. Leyva Salas *et al.* [23] reportaron en su estudio que la actividad antifúngica decreció sustancialmente cuando los recuentos de los inóculos de bacterias bioprotectoras se redujeron de 10E+7 a 10E+5.

La respuesta no homogénea de los aislados fúngicos de una misma especie permite sugerir que los aislados podrían ser cepas diferentes con tolerancias diferentes a los productos celulares bioprotectores [10]. A partir de los resultados obtenidos, *G. candidum* presentó una mayor resistencia a los preparados celulares bioprotectores evaluados.

En la literatura científica se identifica una considerable cantidad de conocimiento alrededor del efecto antagónico de BAL y BAP sobre bacterias patógenas en los alimentos. Mucho menos conocimiento existe alrededor del efecto antifúngico de estas bacterias (BAP y BAP) sobre hongos deteriorativos de los alimentos. Este trabajo de investigación contribuye al avance del conocimiento en la tecnología de biopro-

Cuadro 2. Recuentos obtenidos de los distintos liófilos para su posteriormente evaluación de su funcionalidad antifúngica.

Cepa	Muestra	UFC/g liófilo ± SD
L. rhamnosus BPL0008	BRFS	1,98E+11 ± 1,77E+10
	BRFS + Pasteurización	1,87E+06 ± 2,40E+05
	Leche	1,34E+09 ± 1,41E+07
	Leche + Pasteurización	1,02E+09 ± 1,63E+08
L. rhamnosus BPL0015	BRFS	2,33E+11 ± 2,83E+09
	BRFS + Pasteurización	9,00E+01 ± 0,00E+00
	Leche	7,45E+01 ± 1,48E+09
	Leche + Pasteurización	4,35E+06 ± 7,07E+04
L. rhamnosus BPL0037	BRFS	1,70E+11 ± 1,41E+09
	BRFS + Pasteurización	6,80E+03 ± 1,41E+02
	Leche	8,10E+09 ± 8,49E+08
	Leche + Pasteurización	1,12E+09 ± 1,24E+08
L. casei BPL0004	BRFS	3,75E+10 ± 7,78E+09
	BRFS + Pasteurización	6,25E+05 ± 2,12E+04
	Leche	6,45E+09 ± 4,95E+08
	Leche + Pasteurización	3,15E+02 ± 7,07E+00
L. casei BPL0079	BRFS	1,12E+11 ± 5,66E+09
	BRFS + Pasteurización	6,60E+07 ± 5,66E+06
	Leche	9,00E+09 ± 4,24E+08
	Leche + Pasteurización	3,65E+02 ± 4,31E+02
L. casei BPL0080	BRFS	1,18E+11 ± 1,02E+10
	BRFS + Pasteurización	7,75E+02 ± 7,07E+00
	Leche	1,32E+09 ± 6,22E+07
	Leche + Pasteurización	1,32E+02 ± 6,36E+02
P. freudenrichii subsp. *shermanii* BPL0081	BRFS	1,44E+11 ± 2,33E+10
	BRFS + Pasteurización	1,17E+05 ± 4,00E+04
	Leche	5,58E+09 ± 1,06E+08
	Leche + Pasteurización	9,55E+07 ± 4,95E+06
P. freudenrichii subsp. *shermanii* BPL0081	BRFS	1,19E+08 ± 5,66E+06
	BRFS + Pasteurización	3,00E+03 ± 8,49E+02
	Leche	4,95E+07 ± 6,36E+04
	Leche + Pasteurización	4,45E+04 ± 7,78E+03
P. freudenrichii subsp. *freudenrichii* BPL0083	BRFS	3,80E+07 ± 4,24E+06
	BRFS + Pasteurización	1,45E+03 ± 4,95E+02
	Leche	7,20E+07 ± 1,41E+06
	Leche + Pasteurización	1,23E+06 ± 3,54E+04

Cuadro 3. Efecto antifúngico de los productos celulares bioprotectores BRFS sin y con Pasteurización posterior. *M. circinelloides* (H1), *G. candidum* (H2), *M. circinelloides* (H3), *G. candidum* (H4), *G. candidum* (H5).

Especies	Cepas	H1	H2	H3	H4	H5
Lactobacillus casei	BPL0004	++	+	++	-	-
	BPL0004*	-	-	-	-	-
	BPL0079	++	(-)	++	-	-
	BPL0079*	-	-	-	-	-
	BPL0080	++	-	++	-	-
	BPL0080*	-	-	-	-	-
Lactobacillus rhamnosus	BPL0008	-	-	(-)	-	(-)
	BPL0008*	-	-	-	-	-
	BPL0015	-	-	-	-	-
	BPL0015*	-	-	-	-	-
	BPL0037	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	BPL0037*	-	-	-	-	(-)
Propionibacterium freudenreichii subsp. *shermanii*	BPL0081	-	(-)	-	(-)	(-)
	BPL0081*	-	-	-	-	-
	BPL0082	++	++	++	++	++
	BPL0082*	-	-	-	-	-
Propionibacterium freudenreichii subsp. *freudenreichii*	BPL0083	-	-	-	-	-
	BPL0083*	-	-	(-)	-	-

* con Pasteurización
++ Inhibición de crecimiento alta, + inhibición de crecimiento positiva, (-) inhibición de crecimiento baja, - Inhibición de crecimiento negativa.

Cuadro 4. Efecto antifúngico de los productos celulares bioprotectores en leche sin y con Pasteurización posterior. *M. circinelloides* (H1), *G. candidum* (H2), *M. circinelloides* (H3), *G. candidum* (H4), *G. candidum* (H5).

Especies	Cepas	H1	H2	H3	H4	H5
Lactobacillus casei	BPL0004	++	+	++	-	-
	BPL0004*	-	-	-	-	-
	BPL0079	++	-	++	-	-
	BPL0079*	-	-	-	-	-
	BPL0080	++	-	++	-	-
	BPL0080*	-	-	-	-	-
Lactobacillus rhamnosus	BPL0008	-	-	(-)	-	-
	BPL0008*	-	-	-	-	-
	BPL0015	-	(-)	-	-	-
	BPL0015*	-	-	-	-	-
	BPL0037	(-)	+	+	+	+
	BPL0037*	-	-	-	-	-
Propionibacterium freudenreichii subsp. *shermanii*	BPL0081	-	(-)	-	(-)	+
	BPL0081*	-	-	-	-	(-)
	BPL0082	+	++	+	++	++
	BPL0082*	-	-	+	++	(-)
Propionibacterium freudenreichii subsp. *freudenreichii*	BPL0083	-	-	(-)	-	-
	BPL0083*	-	-	-	-	-

* con Pasteurización
++ Inhibición de crecimiento alta, + inhibición de crecimiento positiva, (-) inhibición de crecimiento baja, - Inhibición de crecimiento negativa.

tección, especialmente en la medida que aporta resultados sobre el efecto de los tratamientos térmicos y del medio de crecimiento de los cultivos bioprotectores sobre la capacidad inhibitoria.

CONCLUSIONES

La aplicación de soluciones de bioprotección para la industria de alimentos, que garantice la inocuidad y el deterioro de los productos alimenticios, sigue creciendo con las tendencias de mercado por productos alimenticios naturales y con etiquetas limpias. Actualmente, se investiga intensamente sobre la aplicación de cultivos bioprotectores o sus fermentados para terminar de entender su mecanismo de acción y los factores que afectan su función antimicrobiana para así poder optimizar su aplicación. Los resultados del presente estudio permitieron concluir que las cepas bacterianas de una misma especie de BAL o BAP tienen funcionalidad antifúngica diferente, que los aislados de mohos pueden tener tolerancias diferentes, que los aislados de *G. candidum* presentaron una mayor resistencia a las soluciones bioprotectoras, que la Pasteurización reduce el efecto inhibitorio de los cultivos bioprotectores y que el medio de cultivo para el crecimiento de las BAL y BAP influye en su poder bioprotector.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos a ADM-Biopolis por su contribución en la ejecución de este estudio.

REFERENCIAS

[1] ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). Pérdidas y desperdicio de alimentos en el mundo – Alcance, causas y prevención. Roma. 2012. http://www.fao.org/docrep/016/i2697s/i2697s.pdf. [citado 8 octubre 2017]

[2] COLOMBIA. DEPARTAMENTO DE PLANEACIÓN NACIONAL (DNP). 2016 https://www.dnp.gov.co/Paginas/Colombianos-botan-9,76-millones-de-toneladas-de-comida-ala%C3%B1o.aspx. [citado 10 octubre 2017]

[3] DELAVENNE, E. *et al.* Assessment of lactobacilli strains as yogurt bioprotective cultures. Food Control, 30(1), 2013, p. 206-213. doi: 10.1016/j.foodcont.2012.06.043.

[4] ROUSE, S. *et al.* Lactic acid bacteria with potential to eliminate fungal spoilage in foods. Journal of Applied Microbiology, 104(3), 2008, p. 915–23. doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03619.x.

[5] LEDENBACH, L.H. and MARSHALL, R.T. Microbiological spoilage of dairy products. Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages, Food Microbiology and Food Safety. New York (USA): Springer, 2009, p. 41-67. doi: 10.1007/978-1-4419-0826-1_2.

[6] PAL, M. Spoilage of dairy products due to fungi. Beverage and Food World, 41(7), 2015, p. 37-38.

[7] YUSUF, M. Natural antimicrobial agents for food preservation. Food Packaging and Preservation, 12, 2018, p. 409-438. doi: 10.1016/B978-0-12-811516-9.00012-9

[8] GHANBARI, M. *et al.* Seafood biorpreservation by lactic acid bacteria - A review. Food Science and Technology, 54, 2013, p. 315-324. doi:10.1016/B978-0-12-811516-9.00012-9

[9] DOKKA, A. *et al.* Protective cultures – A review. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 7(6), 2018, p. 228-238. doi:10.20546/ijcmas.2018.706.028

[10] GARNIER, L. *et al.* Diversity and control of spoilage fungi in dairy products: An update. Microorganisms, 5(3), E42. 2017. doi: 10.3390/microorganisms5030042.

[11] LEYVA-SALAS, M. *et al.* Antifungal microbial agents for food biopreservetion: A review. Microorganisms, 5(3), 37, 2017. doi: 10.3390/microorganisms5030037.

[12] CLERICI-SACCO GROUP. Protective cultures in the food industry. 2016. http://users.unimi.it/dmora/materiali/BiotecFerm/ProtectCultures-DalBello.pdf. [citado 10 de octubre 2017]

[13] EUROPEAN FOOD AND FEED CULTURES ASSOCIATION (EFFCA). Traditional use of the protective properties of food cultures. 2016. http://www.effca.org/sites/default/files/Traditional%20use%20of%20the%20protecive%20properties%20of%20food%20cultures%20NOV%202016.pdf. [citado 10 de octubre 2017]

[14] FERNANDEZ, B. *et al.* Antifungal activity of lactic and propionic acid bacteria and their potential as protective culture in cottage cheese. Food Control, 78, 2017, p. 350-356. doi: 10.1016/j.foodcont.2017.03.007

[15] LEYVA-SALAS, M. Antifungal lactic acid bacteria combinations as biopreservation tool in cheese production. The 10th Cheese Symposium. Rennes (France): 2018.
[16] DALIÉ, D. *et al.* Lactic acid bacteria -Potential for control of mould growth and micotoxins: A review. Food Control, 21, 2010, p. 370-380. doi: DOI:10.1016/j.foodcont.2009.07.011
[17] HEREU, A. *et al.* High hydrostatic pressure and biopreservation of dry-cured ham to meet the Food Safety objectives for *Listeria monocytogenes*. International Journal of Food Microbiology, 154(3), 2012, p. 107-112. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.027
[18] CROWLEY, S. *et al.* Comparative analysis of two antifungal *Lactobacillus plantarum* isolates and their application as bioprotectants in refrigerated foods. Journal of Applied Microbiology, 113, 2012, p. 1417-1427. doi:10.1111/jam.12012
[19] SIEDLER, S., BALTI, R. and NEVES, A. Bioprotective mechanism of lactic acid bacteria against fungal spoilage of food. Current Opinion in Biotechnology, 56, 2019, p. 138-146. doi.org/10.1016/j.copbio.2018.11.015.
[20] SCHNÜRER, J. and MAGNUSSON, J. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. Trends in Food Science & Technology, 16(1-3), 2005, p. 70-78. doi:10.1016/j.tifs.2004.02.014
[21] LE LAY, C. *et al.* Identification and quantification of antifungal compounds produced by lactic acid bacteria and propionibacteria. International Journal of Food Microbiology, 239, 2016, p.79-85. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.06.020
[22] BASIC LOCAL ALIGNMENT SEARCH TOOL (BLAST). 2018. https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi
[23] LEYVA-SALAS, M., *et al.* Antifungal activity of lactic acid bacteria combinations in dairy mimicking models and their potential as bioprotective cultures in pilot scale applications. Frontiers in Microbiology, 6, 1787, 2018. doi: 10.3389/fmicb.2018.01787.

BIOTECNOLOGÍA
EN EL SECTOR AGROPECUARIO
Y AGROINDUSTRIAL

· ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA ·

Vol. 18 No 2 · Julio - Diciembre 2020 · ISSN - 1692-3561 · ISSN-e 1909-9959 · DOI: http://dx.doi.org/10.18684

Caracterización del epicarpio de guayaba (*Psidium guajava* L.) como alternativa natural para uso en productos alimenticios procesados*

Characterization of guyaba epicarp (*Psidium guajava* L.) as a natural alternative for use in processed food products

Caracterização do epicarpo de guyaba (*Psidium guajava* L.) como alternativa natural para uso em produtos alimentícios processados

VIVIANA ANDREA VELASCO-ARANGO[1], ALICIA ALEJANDRA BERNAL-MARTÍNEZ[2], LUIS EDUARDO ORDÓÑEZ-SANTOS[3], JOSÉ IGOR HLEAP-ZAPATA[4]

Historial del Artículo
Recibido para evaluación: 8 de Octubre 2019.
Aprobado para publicación: 4 de Mayo 2020.

* Proyecto de investigación de origen: "Valorización agroindustrial de pigmentos carotenoides extraídos de residuos de papaya (*Carica papaya* L.) y guayaba (*Psidium guajava*) como colorante natural en salchichas Frankfurt". Financiación: Proyecto HERMES 43547 Universidad Nacional de Colombia – Sede Palmira. Culminación: 30 de marzo de 2020

1 Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, Facultad de Ingeniería y Administración, Grupo de Investigación en Manejo y Agroindustrialización de Productos de Origen Biológico. Candidata a Magister en Ingeniería Agroindustrial. Palmira, Colombia. ORCID: 0000-0003-2514-1267

2 Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, Facultad de Ingeniería y Administración, Grupo de Investigación en Manejo y Agroindustrialización de Productos de Origen Biológico. Ingeniera Agroindustrial. Palmira, Colombia. ORCID: 0000-0002-6153-4773

3 Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, Facultad de Ingeniería y Administración, Grupo de Investigación en Procesos Agroindustriales (GIPA). Ph.D. en Ciencias Biológicas. Palmira, Colombia. ORCID: 0000-0002-5958-027X

4 Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, Facultad de Ingeniería y Administración, Grupo de Investigación en Manejo y Agroindustrialización de Productos de Origen Biológico. Ph.D. en Ingeniería de Alimentos. Palmira, Colombia. ORCID: 0000-0001-9692-5443

RESUMEN

Dentro de las frutas tropicales, la guayaba (Psidium guajava L.) es una de las más consumidas gracias a sus excelentes propiedades organolépticas y funcionales, rica en compuestos bioactivos. Su aprovechamiento agroindustrial genera gran cantidad de subproductos, incluido el epicarpio, el cual representa aproximadamente entre el 25 y el 30% del peso de la fruta. El objetivo de la presente investigación fue determinar, en el epicarpio de la guayaba, las propiedades fisicoquímicas, las coordenadas de color y caracterizarlo en su contenido de compuestos carotenoides y fenólicos, así como también determinar la actividad antioxidante del mismo. Se elaboró la harina de epicarpio de guayaba (HEG) y con base en métodos aprobados se le determinó rendimiento en peso, pH, acidez titulable, sólidos solubles, contenido de humedad, actividad de agua y parámetros de color, así como los compuestos bioactivos anotados. Los resultados, para los parámetros fisicoquímicos fueron altos y el contenido de compuestos carotenoides para las diferentes fracciones fluctuó entre 9,414 para la fracción de α-caroteno y 10,894 para la fracción de β-criptoxantina. La actividad antioxidante, arrojó un valor de 62,281% y el contenido de compuestos fenólicos fue de 24,948 mg EAG/g. Se concluye que la HEG puede ser utilizada como fuente de compuestos bioactivos naturales en la industria alimenticia.

PALABRAS CLAVE:
Antioxidantes, Colorantes naturales, Compuestos fenólicos, Frutas tropicales.

ABSTRACT

Among tropical fruits, guava (Psidium guajava L.), is one of the most consumed thanks to its excellent organoleptic and functional properties, rich in bioactive compounds. Its agroindustrial use generates a large number of by-products, including the epicarp, which represents approximately 25 to 30% of the fruit's weight. The objective of the present investigation was to determine, in the epicarp of guava, the physicochemical properties, the color coordinates and characterize it in is content of carotenoid and phenolic compounds, as well as to determine its antioxidant activity. Guava epicarp flour (GEF) was made and based on approved methods, yield in weight, pH, titratable acidity, soluble solids, moisture content, water activity and color parameters was determined, as well as the bioactive compounds noted. The results for the physicochemical parameters were high and the content of carotenoid compounds for the different fractions fluctuated between 9,414 for the α-carotene fraction and 10,894 for the β-cryptoxanthin fraction. The antioxidant activity showed a value of 62,281% and the content of phenolic compounds was 24,948 mg EAG/g. It is concluded that GEF can be used as a source of natural bioactive compounds in the food industry.

KEY WORDS:
Antioxidants, Natural colorants, Phenolic compounds, Tropical fruits.

PALAVRAS-CHAVE:
Antioxidantes, Corantes naturais, Compostos fenólicos, Frutas tropicais

Correspondencia: jihleapz@unal.edu.co

Cómo citar este artículo: VIVIANA ANDREA VELASCO-ARANGO, ALICIA ALEJANDRA BERNAL-MARTÍNEZ, LUIS EDUARDO ORDÓÑEZ-SANTOS, JOSÉ IGOR HLEAP-ZAPATA. Evaluación del efecto antifúngico de metabolitos de cultivos bioprotectores: aplicación en derivados lácteos. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial,18(2),2020.26-35, DOI:http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(18)26-36

RESUMO

Entre as frutas tropicais, a goiabeira (Psidium guajava L.) é uma das mais consumidas, graças às suas excelentes propriedades organolépticas e funcionais, ricas em compostos bioativos. Seu uso agroindustrial gera um grande número de subprodutos, incluindo o epicarpo, que representa aproximadamente 25 a 30% do peso da fruta. O objetivo da presente investigação foi determinar, no epicarpo de goiaba, as propriedades físico-químicas, as coordenadas de cor e caracterizá-la em seu conteúdo de compostos carotenóides e fenólicos, bem como determinar sua atividade antioxidante. A farinha de epicarpo de goiaba (FEG) foi confeccionada e baseada em métodos aprovados, foi determinado o rendimento em peso, pH, acidez titulável, sólidos solúveis, umidade, atividade de água e parâmetros de cor, bem como os compostos bioativos observados. Os resultados para os parâmetros físico-químicos foram elevados e o conteúdo de compostos carotenóides para as diferentes frações flutuou entre 9,414 para a fração α-caroteno e 10,894 para a fração β-criptoxantina. A atividade antioxidante apresentou um valor de 62,281% e o teor de compostos fenólicos foi de 24,948 mg EAG / g. Conclui-se que o FEG pode ser usado como fonte de compostos bioativos naturais na indústria alimentícia.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el alto desarrollo de la industria alimenticia ha conllevado a la generación de gran cantidad de residuos, tanto biodegradables como no biodegradables, lo cual ha obligado al perfeccionamiento e implementación de nuevas técnicas o métodos para el aprovechamiento de los mismos [1, 2, 3, 4]. En particular, los residuos resultantes de la agroindustria hortofrutícola, generalmente han sido utilizados para la fabricación de productos de valor agregado destinados básicamente a la alimentación animal o a la elaboración de insumos para la producción agrícola, lo que ha permitido minimizar la carga de estos sobre el medio ambiente y, por ende, aliviar los resultados negativos ambientales tales como propagación de plagas, malos olores, contaminación de suelos y cuerpos de agua, entre otros [5]. Sin embargo, una gran cantidad de estos subproductos terminan desechados, lo que implica, además de lo anotado referente al medio ambiente, pérdidas económicas considerables para los productores y comercializadores.

La guayaba rosada (*Psidium guajava* L) es conocida como la "manzana de los trópicos" debido a sus atractivas características de color, aroma, sabor y propiedades funcionales. Cultivada por primera vez en América Central, la guayaba rosada se ha convertido en un importante cultivo comercial en muchos países del mundo, incluidos Pakistán, Brasil, México, Egipto, India, Indonesia y Colombia entre otros [6]. Durante el año 2016 se cosecharon en Colombia 11.131 ha de guayaba, con una producción total de 119.161 ton, distribuida en 12 departamentos dentro de los cuales se destacan Santander, Meta, Valle del Cauca, Boyacá, Antioquia y Caldas [7].

Perteneciente al grupo de las frutas denominadas tropicales, de pulpa jugosa color rosado, ha sido considerada una fuente importante de carotenoides, pectina, fibra dietética, y otros fitoquímicos como el ácido ascórbico, el ácido elágico y las antocianinas [6, 8, 9, 10].

Con fines comerciales, la guayaba se procesa en forma de pulpa, jugos, néctares, mermeladas y concentrados, pero estos productos involucran aproximadamente la utilización del 70–75% de la fruta [9]. La agroindustrialización de la guayaba presupone el descarte de sus subproductos (25–30% de la fruta), lo cual conduce a los problemas ambientales anteriormente anotados. Estos residuos (epicarpio y semillas) han sido aprovechados para la elaboración de compuestos antimicrobianos, producción de etanol, biomasa ácido-láctica y ácido láctico [11, 12]. Sin embargo, el epicarpio de algunas frutas presenta gran importancia a nivel agroindustrial ya que contiene pigmentos carotenoides que pueden ser utilizados como fuente importante de colorantes naturales o de provitamina A [13, 14].

Los carotenoides son pigmentos naturales ampliamente distribuidos en múltiples productos de origen vegetal y animal y son los responsables de la coloración amarilla, naranja o roja de diversas frutas, raíces, flores, invertebrados, peces y pájaros entre otros [15, 16, 17]. Diversos estudios han demostrado que la ingesta de carotenoides se relaciona con una disminución del riesgo de padecer diferentes tipos de cáncer, enfermedades cardiovasculares, cataratas, degeneración macular, enfermedades neurológicas, inflamatorias y desórdenes inmunológicos [6, 9].

En múltiples investigaciones se han estudiado, separado e identificado como carotenoides mayoritarios de la guayaba el fitoflueno, el β-caroteno y en mayor propor-

ción el licopeno, haciendo de la guayaba una excelente fuente de estos componentes [6, 9, 10, 18, 19, 20, 21].

En este orden de ideas, los pigmentos carotenoides se constituyen como una fuente importante de color para ser aplicados a diferentes matrices alimenticias en sustitución de colorantes artificiales o sintéticos. En particular, la industria cárnica en la formulación de múltiples productos adiciona nitratos y nitritos, que además de cumplir la función de actuar como conservantes y antioxidantes, juegan un papel preponderante en el desarrollo de la coloración de los mismos. Sin embargo, en las últimas décadas se ha discutido el uso de ellos, ya que su consumo en cantidades altas conlleva a problemas de intoxicación y desarrollo de enfermedades catastróficas [22, 23, 24, 25]. El objetivo del presente estudio fue caracterizar la harina de epicarpio de guayaba y determinar sus componentes carotenoides, fenólicos y su actividad antioxidante, con fines de ser aprovechada como aditivo en productos alimenticios procesados.

MÉTODO

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Tecnología de Frutas y Hortalizas de la Universidad Nacional de Colombia – Sede Palmira, ubicado en el municipio de Palmira, Valle del Cauca, Colombia, ubicado a 1001 msnm y con una temperatura promedio de 24°C. Su cabecera está situada a 3° 31' 48'' de latitud norte y 76° 81' 13''de longitud oeste. Las guayabas se adquirieron en un mercado local especializado en venta de frutas en grado de madurez para consumo en fresco. Con la ayuda de un cuchillo en acero inoxidable, se retiró el epicarpio, procurando eliminar los residuos de pulpa adheridos. Éste se pesó y se empacó en bolsas de polietileno selladas al vacío, para lo cual se utilizó una máquina selladora manual EGARVAC S.C.P. Basic B (Vacarisses, Barcelona, España). Las bolsas selladas se sometieron a conservación bajo congelación (-30 ± 1°C) durante 24 horas. Posteriormente fueron sometidas a secado por liofilización utilizando un aparato liofilizador LABCONCO, de 18 L de capacidad, a presión de vacío a 0,120 mbar y temperatura del condensador -80°C durante 24 horas. Finalmente, el epicarpio seco se molió en un molino IKA M-20s3, USA hasta obtener una harina con diámetro de gránulo promedio de 0,25 mm, la cual se empacó en bolsas al vacío y se mantuvo a temperatura de refrigeración (5 ± 1°C) hasta el momento de realizar los respectivos análisis.

Parámetros fisicoquímicos

La harina de epicarpio de guayaba (HEG) se sometió a los siguientes análisis: rendimiento en peso (%), pH, sólidos solubles (°Brix), acidez titulable (%), parámetros de color (L*, a*, b*, C, h), contenido de humedad (%) y actividad de agua (A_w). De la misma forma, se determinó el contenido de carotenoides, la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos. Todas las pruebas se realizaron por triplicado.

Rendimiento en peso (%). Se midió el peso del epicarpio tanto en fresco como después del proceso de liofilización y se calculó el rendimiento mediante la siguiente ecuación:

$$R = \frac{\omega 1}{\omega 2}\ x\ 100 \qquad \text{(Ec. 1)}$$

Donde:

R: Rendimiento (%)

ω1: Peso del epicarpio después de la liofilización (g)

ω2: Peso del epicarpio antes de la liofilización (g)

Determinación del pH. Con la ayuda de un pH-metro (MP 230, Metter Toledo, Suiza) calibrado con soluciones tampón de pH 7 y pH 4 se midió el pH de la salchicha, para lo cual a 1 g de la muestra se le adicionaron 10 mL de agua destilada hasta obtener una solución homogénea (Norma Técnica Colombiana NTC – 4592) [26].

Determinación de sólidos solubles (°Brix). A 10 g de la muestra se le adicionó agua destilada en relación 1:10. Se mezcló con agitación permanente en un beaker de 250 mL hasta obtener una mezcla homogénea. Sobre el prisma inferior del refractómetro (POCKET ATAGO PAL – 1, Japón) se colocó una alícuota de la mezcla y se hizo la respectiva medición. El resultado se expresó en °Brix de acuerdo con la Norma Técnica Colombiana NTC – 4624 [26].

Determinación de la acidez titulable (% Acidez). En un beaker se colocó 1 g de la muestra y se mezcló con 10 mL de agua destilada, hasta obtener una mezcla homogénea. Se agregaron tres gotas de fenolftaleína como indicador, y se tituló con una solución 0,1 N de NaOH hasta obtener un pH 8,1–8,2 según la Norma

Técnica Colombiana NTC – 4623 [26]. El porcentaje de acidez se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\%\ Acidez = \frac{(ml\ NaOH\ x\ 0{,}1\ x\ F.Eqvt)}{ml\ muestra}\ x\ 100 \quad \text{(Ec. 2)}$$

Determinación de los parámetros de color. Las mediciones se realizaron en un colorímetro MICOLTA CHROMA METER CR-400, Japón), a través del cual se evaluaron los parámetros CIELab de la Comisión Internacional de Iluminación. Se utilizó un iluminante D65 y un observador a 2° (equipo calibrado con una placa de cerámica blanca con valores de referencia Y = 89,5, x = 0,3176 y y = 0,3340). Con base en estos parámetros se calcularon la tonalidad (h) y la cromaticidad (C) utilizando las siguientes ecuaciones:

$$C = (a*^2 + b*^2)^{1/2} \quad \text{(Ec. 3)}$$

$$h° = arctan(b^*/a^*) \quad \text{(Ec. 4)}$$

Determinación del contenido de humedad (%). Se pesaron 0,5 g de la muestra y se colocaron en un crisol a 105°C en un analizador halógeno de humedad HB43-S Metter Toledo, Suiza de acuerdo con el método AOAC 925.09 [27]. El contenido de humedad se expresó en porcentaje de peso húmedo.

Determinación de la actividad de agua (A_w). Con la ayuda de un equipo para medir actividad de agua (AquaLab, 4te, USA) y de acuerdo con la norma AOAC 978.19 [28] se determinó la actividad de agua de las muestras analizadas.

Determinación del contenido de carotenoides. El contenido de carotenoides totales en la HEG se realizó de acuerdo a lo propuesto por Ordoñez *et al*. [15]. 0,1 g de la muestra se colocaron en un tubo de ensayo recubierto con papel aluminio y se le adicionaron 7 mL de una mezcla de etanol/hexano (4:3 v/v). El tubo se colocó a 16°C durante una hora agitándolo permanentemente, posteriormente se le adicionó 1 mL de agua destilada y se agitó por 5 minutos más. Seguidamente se centrifugó a 4500 rpm durante 10 minutos, se tomaron 3 mL de la fase orgánica y se realizaron lecturas de absorbancia en un espectrofotómetro (Jenway, 6320D, Inglaterra) utilizando hexano como blanco, a longitudes de onda 450, 441, 451 y 472 nm. La concentración (mg/g de muestra) se calculó utilizando los siguientes coeficientes de extinción E% en hexano 2560, 2800, 2460, 2480 y 3450 respectivamente para β-caroteno, α-caroteno, β-criptoxantina, zeaxantina y licopeno, mediante la siguiente ecuación (ecuación de Lambe-Beer):

$$C.T. = \frac{A*V*10^3}{E^{1\%}*W} \quad \text{(Ec. 5)}$$

Donde:

A: Absorbancia a determinada longitud de onda (450 nm para β-caroteno, 444 nm para α-caroteno, 451 nm para β-criptoxantina, 451 nm para zeaxantina y 472 nm para licopeno.

V: volumen del extracto en mL.

W: peso de la muestra en gramos.

E 1%: coeficiente de extinción para una solución al 1% en hexano.

Determinación de la actividad antioxidante. El proceso se desarrolló de acuerdo con la metodología propuesta por Martínez *et al*. [29]. La actividad antioxidante se expresó como el porcentaje de inhibición del radical DPPH (2,2,-diphenyl-1-picrylhydrazyl radicals, marca Sigma-Aldrich Chemical). Se pesaron 0,25 g de la muestra de HEG y se colocaron en un Erlenmeyer cubierto con papel aluminio. Se le adicionaron 25 mL de metanol y se agitó durante un minuto, posterior a lo cual la solución se filtró hasta obtener el extracto. Se tomó 1 mL del extracto y 2 mL de DPPH 0,1 mM recién preparado. La muestra y el control (sin adición de DPPH) se dejaron en reposo durante una hora en un sitio oscuro y a temperatura ambiente. Finalmente, con la ayuda de un espectrofotómetro Jenway 6320D, Inglaterra, se leyeron las absorbancias, para la muestra y para el control, a una longitud de onda de 517 nm. El porcentaje de actividad antioxidante (AA%), se calculó usando la siguiente ecuación:

$$\%\ AA = \frac{A_{517\ Control} - A_{517\ Muestra}}{A_{517\ Control}}\ x\ 100 \quad \text{(Ec. 6)}$$

Determinación de los compuestos fenólicos. El contenido de fenoles se determinó de acuerdo con el método de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton *et al*. [30]. 0,5 g de HEG se colocaron en un Erlenmeyer de 50 mL cubierto con papel aluminio y se le adicionaron 10 mL de una mezcla etanol-agua en relación 80:20 (v/v).

La mezcla se mantuvo a temperatura ambiente en constante agitación por tres minutos. Seguidamente, la mezcla se sometió al proceso de ultrasonido, en un equipo Ultrasonic Cleaner-DC PowerPowerFull-Hagavish, Israel durante 20 minutos a 25°C. Posteriormente, la mezcla se filtró y 0,5 mL del filtrado se mezclaron con agua destilada y 0,5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu. Después de tres minutos de reacción a temperatura ambiente se le adicionó 1 mL de carbonato de sodio anhídrido al 20% y se colocó en un baño térmico programado a 45°C por 15 minutos. Después de enfriada la muestra se hicieron lecturas de absorbancia en un equipo Spectrophotometer Jenway 632D, USA, a una longitud de onda de 765 nm. Se realizó una curva de calibración con ácido gálico (patrón) y los resultados fueron expresados en mg de ácido gálico equivalentes por gramo de extracto de HEG.

Análisis estadístico

El utilizó un diseño aleatorio simple de un factor y un tratamiento. Para comparar las diferencias entre medias de los diferentes parámetros analizados se utilizó una prueba Tukey, con un nivel de significancia del 5%. Todos los análisis se realizaron por triplicado y se registran como media ± desviación estándar.

RESULTADOS

Los resultados de los parámetros fisicoquímicos referentes a la HEG se muestran en el cuadro 1. El rendimiento en peso de la muestra analizada fue del 11,5%. Con relación al pH, la HEG presentó un valor de 4,23 siendo ligeramente ácido lo que garantiza la no proliferación de microorganismos patógenos y, por lo tanto, la inocuidad del producto obtenido. Este valor de pH en la HEG concuerda con lo reportado por Ordóñez-Santos *et al*. (pH 4,29) [15], quienes trabajaron con residuos de guayaba, igualmente con lo presentado por Vasconcelos *et* al., (pH 3,99) quienes trabajaron con pulpa de arazá (*Psidium guineense*) [31], pero superior a lo presentado por Rojas-Garbanzo *et al*. (pH 2,72 – 2,77) en un estudio de caracterización de los compuestos fitoquímicos de la guayaba [20] y lo encontrado por Formiga *et al.* (pH 3,69) quienes analizaron las características de la piel de guayaba de la variedad "Pedro Sato" [32]. Las diferencias del valor de pH anotadas probablemente se deben a la variedad y al grado de madurez de la guayaba utilizada en las diferentes investigaciones.

El resultado obtenido para el contenido de sólidos solubles (°Brix) en la HEG elaborada mostró un valor inferior a lo presentado por Martínez-Ortiz *et al*. (10,5°Brix) [33], quienes trabajaron con guayabas recubiertas con una película a base de harina de chayote y ácido ascórbico, así como también por lo mostrado por Zambrano-Zaragoza *et al*. (9,01°Brix) [34] adicionando nanopartículas lipídicas como recubrimiento en guayabas y por Alamar *et al*. (7,0°Brix) [35] quienes trabajaron con guayabas congeladas. Los resultados para los sólidos solubles encontrados por los autores anotados muestran valores superiores debido, probablemente, a que éstos trabajaron con la pulpa de la fruta, mientras que esta investigación se llevó a cabo con el epicarpio de la fruta en donde evidentemente el contenido de sólidos solubles es menor. Con relación a la acidez titulable, el valor obtenido fue similar a lo reportado por Moon *et al*. (0,50%) [36] quienes trabajaron con 27 variedades de guayaba en diferentes estados de maduración, y por Murmu y Mishra (0,49%) [37] quienes adelantaron la respectiva investigación con guayaba empacada bajo diferentes condiciones de almacenamiento, pero ligeramente inferior a lo obtenido por Silva *et al*. (0,75%) [38] quienes investigaron con guayaba recubierta con quitosano.

Dentro de los parámetros de calidad referidos a una matriz alimenticia, el color juega un papel prepon-

Cuadro 1. Propiedades fisicoquímicas para la harina de epicarpio de guayaba (HEG).

Parámetros fisicoquímicos	Harina de epicarpio de guayaba (HEG)
Rendimiento en peso (%)	11,5
pH	4,23 ± 0,034
Sólidos solubles (°Brix)	3,033 ± 0,276
Acidez titulable (% ácido ascórbico)	0,451 ± 0,1648
Contenido de humedad (%)	11,05 ± 0,004
Actividad de agua (Aw)	0,410 ± 0,015
Coordenadas de color	
L*	81,78 ± 0,357
a*	18,5 ± 0,128
b*	23,2 ± 0,640
C	29,7 ± 0,185
h	51,4 ± 0,056

L*: 0 = negro y 100 = blanco; a*: -60 = verde y +60 = rojo; b*: -60 = azul y +60 = amarillo; Ángulo de tono (h): 90° = amarillo, 180° = verde y 0° = rojo; Cromaticidad (C): distancia desde las coordenadas en el origen hasta el punto de color determinado. Resultados reportados como media ± desviación estándar para n = 3.

derante, siendo factor de aceptación o rechazo en la apariencia de dicho producto [39]. Los valores de las coordenadas L*, a* y b*, así como la cromaticidad y el tono se muestran en el cuadro 1. El valor alto de la luminosidad (L*), comparado con lo presentado para la pulpa de guayaba (L* = 25,2) por Suárez *et al.* [40] y por Martínez-Ortiz et al. (L* = 56,0) [33] da cuenta de una HEG relativamente oscura debido probablemente a la isomerización de los compuestos carotenoides y al proceso de pardeamiento causado por las temperaturas utilizadas durante el proceso de secado. Por otro lado, las coordenadas a* y b*, la cromaticidad (C) y el ángulo de tono (h) ligeramente superan lo presentado por Martínez-Ortiz et al. [33]. Sin embargo, estos valores son inferiores a lo mostrado por Formiga et al. [32], quienes trabajaron con guayaba roja "Pedro Sato". Las diferencias encontradas se deben, posiblemente, a las variedades de guayaba utilizadas en cada experimentación.

La actividad de agua junto con el contenido de humedad y el pH son parámetros determinantes en la validación de la vida útil de cualquier alimento. Los datos reportados en esta investigación permiten concluir que el contenido de humedad y la actividad de agua garantizan el no deterioro de la HEG ya que los valores son bajos y adecuados para un producto seco y molido, tal como lo afirman Lang *et al*. [41], quienes argumentan que dichos procesos de deterioro se ralentizan considerablemente a valores bajos de actividad de agua (Aw = 0,60).

En el cuadro 2 se observan los resultados para el contenido de carotenoides en la HEG.

Se puede observar que el mayor valor se obtuvo para la fracción de β-criptoxantina, mientras que el menor valor fue para la fracción de α-caroteno. Estos datos son superiores a los mostrados por Nora *et al*. [42], sin embargo, se registra igualmente, que para estos investigadores el mayor valor obtenido fue para la fracción de β-criptoxantina y el menor valor fue para el α-caroteno. Para Bordiga *et al*. [43] los valores obtenidos para los carotenoides trabajando con epicarpio y pulpa de la fruta caqui (*Diospyros kaki* L.) fueron supriores, al igual que los resultados mostrados por Sánchez-Camargo *et al*. quienes investigaron con cáscaras de mango [44] y para Noronha *et al*. quienes adelantaron su trabajo con cáscaras de tucumã (*Astrocaryum vulgare*) y chontaduro (*Bactris gasipaes*) [45]. Las diferencias presentadas entre las frutas analizadas y mostradas en la literatura, pueden deberse a diferentes factores, tales como los genéticos, los geográficos asociados a la producción de dichas frutas, las condiciones ambientales, grado de maduración, métodos de pre y poscosecha, etc.

Cuadro 2. Concentración de carotenoides en la harina de epicarpio de guayaba (HEG).

Muestra	Carotenoides en HEP (mg/100 g)
β-caroteno	10,074 ± 0,370
α-caroteno	9,414 ± 0,859
β-criptoxantina	10,894 ± 0,885
Zeaxantina	10,806 ± 0,878
Licopeno	10,579 ± 0,069

El valor obtenido para la actividad antioxidante de la HEG fue de 62,281 ± 1,519% (promedio ± desviación estándar de tres repeticiones). Este valor fue menor que el mostrado por Kong e Ismail (77,78%) [46] quienes trabajaron con subproductos de la producción de pulpa de guayaba y Murmu y Mishra (84,45%) [47] quienes adelantaron su trabajo con un recubrimiento sobre la guayaba. Sin embargo, comparado con el valor referenciado por Nair, Saxena y Kaur (40,2%) para guayaba recubierta con alginato y quitosano es mayor [48]. Respecto al contenido de compuestos fenólicos, el valor obtenido (75,170 ± 0,241 mg EAG/g), fue considerablemente menor a lo presentado por Murmu y Mishra (122,23 mg EAG/g) [47], así como también con relación a los resultados obtenidos por Nair, Saxena y Kaur (139,5 mg EAG/g) [48], los mostrados por Formiga *et al*. (271,2 mg EAG/g) quienes trabajaron con guayaba de la variedad "Pedro Sato" [32] y los aportados por Wolf y Cylos (682,29 mg EAG/g) quienes trabajaron con pasta de guayaba [49]. Por el contrario, los datos mostrados por Souza *et al*. (24,63 mg EAG/g) [50] quienes trabajaron con residuos industriales de guayaba, al igual que los encontrados por Ademiluyi *et al*. (66,1 mg EAG/g) [51] fueron menores.

Los datos obtenidos en el presente estudio, referenciados a los mostrados por otros autores en sus respectivas investigaciones, permiten afirmar que a mayor o menor concentración de compuestos fenólicos o de su grado de hidroxilación, se presenta una variación en la actividad de captación de radicales del DPPH y por lo tanto en la actividad antioxidante, debido a la dependencia que se presenta con relación a las pro-

piedades de reducción y oxidación, las cuales pueden desempeñar un papel preponderante en la absorción y neutralización de los radicales libres. Por otro lado, el mayor o menor contenido de fenoles en la HEG tiene relación directa con las características genéticas de la variedad de guayaba utilizada y a su grado de maduración y condiciones agronómicas de producción [52].

CONCLUSIONES

Los valores obtenidos tanto para los parámetros fisicoquímicos como para las coordenadas del color y los contenidos de compuestos carotenoides y fenólicos y la actividad antioxidante de estos, permiten establecer que la harina de epicarpio de guayaba puede ser utilizada como fuente de pigmentos naturales para ser agregada a diversas matrices alimentarias. Además, gracias al alto contenido y a las propiedades funcionales de los componentes anotados presentes en la materia prima analizada, la HEG se muestra como una alternativa interesante, de origen natural, para enriquecer y prevenir enfermedades de alto riesgo para el ser humano.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Nacional de Colombia – Sede Palmira por la financiación del proyecto HERMES 43547, de donde se deriva este artículo.

REFERENCIAS

[1] RAMOS, M., JIMÉNEZ, A. and GARRIGÓS, M.C. Il-Bassed advanced techniques of value-added compounds from natural sources and found by-products. Trends in Analytical Chemistry, 119, 2019, 115616. doi: https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.07.027

[2] BECH, S. *et al*. Product and process variety management: case study in the food industry. Procedia CIRP, 81, 2019, p. 1065-1070. doi: https://doi.org/10.1016/j.procir.2019.03.252

[3] BUSSOLO DE SOUZA, C. *et al*. Characterization and *in vitro* digestibility of by-products from Brazilian food industry: Cassava bagasse, orange bagasse and passion fruit peel. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 16, 2018, p. 90-99. doi: https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2018.08.001

[4] SPINELLI, S. *et al*. Food by-products to fortified pasta: A new approach for optimization. Journal of Cleaner Production, 215, 2019, p. 985-991. doi: https://doi.org/10.1016/j.clepro.2019.01.117

[5] LAFARGA P. T. V. *et al*. Revalorización de los subproductos de la industria de transformación de vegetales. Biblioteca Horticultura. Valencia (España): Serveis per la produccio editorial SPE3, 2018, 18 p.

[6] ROJAS-GARBANZO, C. *et al*. Characterization of phenolic and other polar compounds in peel and flesh of pink guava (*Psidium guajava* L. cv. "criolla") by ultra-high performance liquid chromatography with diode array and mass spectrometric detection. Food Research International, 100(3), 2017, p. 445-453. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.12.004

[7] COLOMBIA. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. Anuario estadístico del sector agropecuario 2016. Bogotá (Colombia): 2017, 290 p.

[8] NAGARAJAN, J. *et al*. A facile water-induced complexation of lycopene and pectin from pink guava byproduct: Extraction, characterization and kinetic studies. Food Chemistry, 296, 2019, p. 47-55. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.135

[9] DA SILVA LIMA, R. *et al*. May de superfruit red guava and its processing waste be a potential ingredient in functional foods? Food Research International, 115, 2019, p. 451-459. doi: https://doi.org/10.1016/j.fodres.2018.10.053

[10] CHANG, S.K., ALASALVAR, C. and SHAHIDI F. Superfruits: Phytochemicals, antioxidant, efficacies, and health effects – A comprehensive review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 59(10), 2019, p. 1580-1604. doi: https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1422111

[11] KATIA, C.R. *et al*. Residuos agroindustriales su impacto, manejo y aprovechamiento. Revista Colombiana de Ciencia Animal, 9, 2017, p. 122-132. doi: https://doi.org/10.24188/recia.v9.nS.2017.530

[12] SERNA-COCK, L., MERA-AYALA, J.D. and ANGULO-LÓPEZ, J.E. Guava *Psidium guajava* seed flour and dry *Aspergillus niger* mycelium as nitrogen sources for the Production of biomass and antimicrobial compounds produced by *Weissella confusa*. Electronic Journal of Biotechnology, 16(6), 2013, p. 1-9. doi: https://doi.org/10.2225/vol16-issue6-fulltext-1

[13] MARTÍNEZ-GIRÓN, J. y ORDÓÑEZ-SANTOS, L.E. Determinación de la concentración de pigmentos carotenoides en harina de residuos de chontaduro (*Bactris gasipaes*). Revista Producción + Limpia, 11(1), 2016, p. 85-93.

[14] BATISTA, P.F. *et al*. Bioactive compounds and antioxidant activity in guava fruit cultivated in Sub-Middle São Francisco Valley, Brazil. Abstracts 3rd International Symposium on Guava and Other Myrtaceae, Petronila, PE (Brasil): Embrapa, 2012, p. 51-52.

[15] ORDÓÑEZ-SANTOS, L.E. *et al*. Concentración de carotenoides totales en residuos de frutas tropicales. Producción + Limpia, 9(1), 2014, p. 91-98.

[16] MERHAN, O. En: Carotenoids. The biochemistry and antioxidant properties of carotenoids. 3 ed. London (England): Intechopen, 2017, p. 50-66

[17] MARTÍNEZ, G.J. *et al*. Pigmentos vegetales y compuestos naturales aplicados en productos cárnicos como colorantes y/o antioxidantes: revisión. Inventium, 11(21), 2016, p. 51-62. doi: https://doi.org/10.26620/uniminuto.inventarium.11.21.2016.51-62

[18] NGBOLUA, K.N. *et al*. A review on the phytochemistry and pharmacology of *Psidium guajava* L. (Myrtaceae) and future direction. Discovery Phytomedicine, 5(2), 2018, p. 7-13. doi: https://doi.org/10.15562/phytomedcine.2018.58

[19] LOPEZ DOS SANTOS, W.N. *et al*. Simultaneous determination of 13 phenolic bioactive compounds in guava (*Psidium guajava* L.) by HPLC-PAD with evaluation using PCA and Neural Network Analysis (NNA). Microchemical Journal, 133, 2017, p. 583-592. doi: https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.04.029

[20] ROJAS-GARBANZO, C. *et al*. Characterization of phytochemicals in Costa Rican guava (*Psidium friedrichsthalianum*-Nied.) fruit and stability of main compounds during juice processing – (U)HPLC-DAD-ESI-TQD-MS^n. Journal of Food Composition and Analysis, 75, 2019, 26-42. doi: https://doi.org/10.1016/jfca.2018.09.012

[21] BLANCAS-BENITEZ, F.J. *et al*. In vitro evaluation of the kinetics of the release of phenolic compounds from guava (*Psidium guajava* L.) fruit. Journal of Functional Foods, 43, 2018, p. 139-145. doi: https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.02.011

[22] MAJOU, D. and CHRISTIEANS, S. Mechanisms of the bactericidal effects of nitrate and nitrite in cured meats. Meat Science, 145, 2018, p. 273-284. doi : https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.06.013

[23] CARDINALLI, F. *et al*. Microbial dynamics of model Fabriano-like fermented sausages as affected by starter cultures, nitrates and nitrites. International Journal of Food Microbiology, 278, 2018, p. 61-72. doi: https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.04.002

[24] HAMDI, M. *et al*. Improvement of the quality and the shelf life of reduced-nitrites turkey meat sausages incorporated with carotenoproteins from crabs shells. Food Control, 91, 2018, p. 148-159. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.03.048

[25] FLORES, M. *et al*. Risk assessment of chemical substances of safety concern generated in processed meats. Food Science and Human Wellness, Avalaible online 29 July 2019,. doi: https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.07.003

[26] INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS (ICONTEC). NTC 4592, NTC 4624, NTC 4623: Fruit and vegetable products. Determination of pH, Determination of soluble solids content, Determination of Titrable Acidity. Bogotá (Colombia): 1999, 21 p.

[27] ASSOCIATION OF CHEMICAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). Official Methods of Analysis, Methods 925.09: Moisture in cassava – air oven methods. Washington D.C. (USA): 2005.

[28] ASSOCIATION OF CHEMICAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). Official Methods of Analysis, Methods 978.19. Maryland (USA): 2000.

[29] MARTÍNEZ-GIRÖN, J. *et al*. Caracterización fisicoquímica de harina de residuos del fruto de chontaduro (*Bactris gasipaes* Kunth Arecaceae) obtenida por secado convectivo. Ciencia y Tecnologia Agropecuaria, 18(3), 2017, p. 599-613. doi: https://doi.org/10.21930/rcta.vol18_num3_art:747

[30] SINGLETON, V.L., ORTHOFER, R. and RAVENTÓS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods in Enzymology, 299, 1999, p. 152-178. doi: https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1

[31] VASCONCELOS, M.C.E. *et al*. Fruits from Brazilian Cerrado region: Physico-chemical characterization, bioactive compounds, antioxidant activities, and sensory evaluation. Food Chemistry, 245, 2018, p. 305-311. doi: https://10.1016/j.foodchem.2017.10.104

[32] FORMIGA, A.S. *et al*. Use of edible coatings based on hydroxypropyl methylcellulose and beeswax in the conservation of red guava "Pedro Sato". Food Chemistry, 290, 2019, p. 144-151.

[33] MARTÍNEZ-ORTIZ, M.A. *et al*. Effect of using microencapsulated ascorbic acid in coatings based on resistant starch chayotextle on the quality of guava fruit. Scientia-Horticulturae, 256, 2019, 108604. doi: https://doi.org/j.scienta.2019.108604

[34] ZAMBRANO-ZARAGOZA, M.L. *et al*. Use of solid Lipid nanoparticles (SLNs) in edible coatings to increase guava (*Psidium guajava* L.) shelf-life. Food Research International, 51(2), 2013, p. 946-953. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.012

[35] ALAMAR, P.D. *et al*. Quality evaluation of frozen guava and yellow passion fruit pulps by NIR spectroscopy and chemometrics. Food Research International, 85, 2016, p. 209-214. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.04.027

[36] MOON, P. *et al*. Assessment of fruit aroma for twenty-seven guava (*Psidium guajava*) accessions through three fruit developmental stages. Scientia Horticulturae, 238, 2018, p. 375-383. doi: https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.04.067

[37] MURMU, S.B. and MISHRA, H.N. Selection of the best active modified atmosphere packaging with ethylene and moisture scavengers to maintain quality of guava during low-storage. Food Chemistry, 253, 2018, p. 55-62. doi: https://10.1016/j.foodchem.2018.01.134

[38] SILVA, W.B. *et al*. Chitosan delays ripening and ROS Production in guava (*Psidium guajava* L.) fruit. Food Chemistry, 242, 2018, p. 232-238. doi: https://10.1016/j.foodchem.2017.09.052

[39] PAAKKI, M. *et al*. The importance of the visual aesthetics of colours in food at a workday lunch. International Journal of Gastronomy and Food Science, 16, 2019, 100131. doi: https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2018.12.001

[40] SUAREZ, C.S. *et al*. Ultrasound processing of guava juice: effect on structure, physical properties and lycopene *in vitro* accessibility. Food Chemistry, 268, 2018, p. 594-601. doi: https://doi.org/10.1016/j.fodchem.2018.06.127

[41] LANG, E. *et al*. Modeling the heat inactivation of foodborne pathogens in milk powder: high relevance of the substrate water activity. Food Research International, 99(1), 2017, p. 577-585. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.06.028

[42] NORA, C.D. *et al*. Effect of processing on the stability of bioactive compounds from red guava (*Psidium cattleyanum* Sabine) and guabiju (*Myrcianthes pungens*). Journal of Food Composition and Analysis, 34(1), 2014, p. 18-25. doi: https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.01.006

[43] BORDIGA, M. *et al*. Characterization of peel and pulp proanthocyanidins and carotenoids during ripening in persimmon "Kaki Tipo" cv, cultivated in Italy. Food Research International, 120, 2019, p. 800-809. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.041

[44] SÁNCHEZ-CAMARGO, A.P. *et al*. Valorization of mango peel: proximate composition, supercritical fluid extraction of carotenoids, and application as an antioxidant additive for an edible oil. The Journal of Supercritical Fluids, 152, 2019, 104574. doi: https://doi.org/10.1016/j.supblu.2019.104574

[45] NORONHA, K. A. *et al*. Peels of tucumã (*Astrocaryum vulgare*) and peach palm (*Bactris gasipaes*) are by-products classified as very high carotenoid sources. Food Chemistry, 272, 2019, p. 216-221. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.053

[46] KONG, K.W. and ISMAIL, A. Lycopene content and lipophilic antioxidant capacity of by-products from *Psidium guajava* fruits produced during puree production industry. Food and Bioproducts Processing, 89(1), 2011, p. 53-61. doi: https://doi.org/10.1016/j.fbp.2010.02.004

[47] MURMU, S.B. and MISHRA, H.N. The effect of edible coating based on Arabic gum, sodium caseinate and essential oil of cinnamon and lemon grass on guava. Food Chemistry, 245, 2018, p. 820-828.

[48] NAIR, M.S., SAXENA, A. and KAUR, C. Effect of chitosan and alginate based coatings enriched with pomegranate peel extract to extend the postharvest quality of guava (*Psidium guajava* L.). Food Chemistry, 240, 2018, p. 245-252. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.122

[49] WOLF, A.P. and CYLOS, C.M. Effect of industrial processing for obtaining guava paste on the antioxidant compounds of guava (*Psidium guajava* L.) "Paluma" cv. Revista Brasileira de Fruticultura, 40(2), 2018, 1-11. doi: https://doi.org/10.1590/0100-29452018011

[50] SOUZA, M.S.B. *et al*. Caracterização nutricional e compostos antioxidantes em resíduos de polpas de frutas tropicais. Ciencia e Agrotecnologia, 35(3), 2011, p. 554-559. doi: https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000300017

[51] ADEMILUYI, A.O. *et al*. A comparative study on antihypertensive and antioxidant properties of phenolic extracts from fruit and leaf of some guava (*Psidium guajava* L.) varieties. Comparative Clinical Pathology, 25(2), 2016, p. 363-374. doi: https://doi.org/10.1007/s00580-015-2192-y

[52] VASCO, C., RUALES, J. and KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. Food Chemistry, 111(4), 2008, p. 816-823. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.05

BIOTECNOLOGÍA
EN EL SECTOR AGROPECUARIO
Y AGROINDUSTRIAL

· ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA ·

Vol. 18 No 2 · Julio - Diciembre 2020 · ISSN - 1692-3561 · ISSN-e 1909-9959 · DOI: http://dx.doi.org/10.18684

Clonación del cDNA codificante de las subunidades de la gonadotropina luteinizante de *Pimelodus grosskopfii*

Cloning of the cDNA coding for the luteinizing gonadotropin subunits of *Pimelodus grosskopfii*

Clonagem molecular do cDNA codificante de las subunidades da gonadotropina luteinizante de *Pimelodus grosskopfii*

JAMES BETANCUR-LÓPEZ[1], MARÍA FERNANDA FLÓREZ[2], ANA MARÍA PÉREZ-O´BRIEN[3], NEIL VASQUEZ-ARAQUE[4], ANDRÉS MONTOYA-LÓPEZ[5]

Historial del Artículo
Recibido para evaluación: 24 de Febrero 2020.
Aprobado para publicación: 13 de Mayo 2020.

1 Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Grupo de Biotecnología Animal. Zootecnista. Medellín, Colombia.
2 Asociación Colombiana de Acuicultores (ASOACUICOLA). MSc Microbióloga. Medellín, Colombia. ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6945-5212
3 Asociación Colombiana de Acuicultores (ASOACUICOLA). Médica veterinaria zootecnista, PhD. Medellín, Colombia
4 Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Grupo de Biotecnología Animal. Doctor en Biotecnología. Medellín, Colombia
5 Asociación Colombiana de Acuicultores (ASOACUICOLA). Zootecnista, Doctor en Ciencias Animales. Medellín, Colombia.

Correspondencia: jjbetancurl@unal.edu.co

CC BY NC ND

RESUMEN

Pimelodus grosskopfii, es un Siluriforme importante en la pesca continental en Colombia y de interés en la acuicultura. La presente investigación tuvo como objetivo clonar y determinar las secuencias codificantes de las subunidades GP-α y LHβ de la gonadotropina luteinizante de esta especie. Para lograr lo anterior, el ARN total de glándulas pituitarias fue extraído y se realizó síntesis de cDNA. Los productos de PCR purificados de GP-α y LHβ fueron ligados en pJET1.2/blunt® seguido de la transformación de Escherichia coli DH5α® y posterior secuenciación de fragmentos de interés. El marco abierto de lectura de las subunidades GP-α y LHβ fue de 351 pb (116 aminoácidos) y 423 pb (140 aminoácidos), respectivamente. Se encontró una alta homología (aminoácidos) en la subunidad GP-α con otras familias de Siluriformes (87-99%) y menor homología con órdenes como Perciformes, Salmoniformes y Cypriniformes (66-90%). De igual manera para la subunidad LHβ, la homología (aminoácidos) fue alta al interior del orden Siluriformes (91-97%) y menor con otros ordenes (65-86%). Los resultados obtenidos en el presente estudio ofrecen información básica sobre las secuencias de las gonadotropinas en bagres neotropicales y pueden ser utilizados para el desarrollo de hormonas recombinantes para optimizar el control reproductivo en P. grosskopfii.

PALABRAS CLAVE:
Glicoproteínas, Secuencia codificante, Siluriformes.

ABSTRACT

Pimelodus grosskopfii is an important catfish in inland fisheries in Colombia as well as an attractive species for aquaculture. The aim of this study was to clone and determine the coding sequence of the GP-α and LHβ subunits of the luteinizing gonadotropin of this species. Total RNA from pituitary glands was extracted and cDNA was synthesized. GP-α and LHβ purified PCR products were linked to pJET1.2/blunt® followed by Escherichia coli DH5α® transformation. The extracted plasmids of the positive clones were sequenced. The open reading frame of GP-α and LHβ subunits was 351 bp (116 amino acids) and 423 bp (140 amino acids) respectively. The GP-α subunit showed high degrees of homology (amino acids) with GP-α subunit from different families of Siluriformes (87-99%) and lower homology with teleost orders such as Perciformes, Salmoniformes and Cypriniformes (66-90%). Similarly, the homology (amino acids) of LHβ subunit was high within siluriformes (91-97%) and lower with other orders (65-86%). The results obtained in the present study, provide basic information on the sequence of gonadotropins in neotropical catfishes and can be used for the development of recombinant hormones to optimize reproductive control in P. grosskopfii.

KEYWORDS:
Coding sequence, Glycoproteins, Siluriformes

PALAVRAS-CHAVE:
Glicoproteínas, Sequência de codificação, Siluriformes.

Cómo citar este artículo: JAMES BETANCUR-LÓPEZ, MARÍA FERNANDA FLÓREZ, ANA MARÍA PÉREZ-O´BRIEN, NEIL VASQUEZ-ARAQUE, ANDRÉS MONTOYA-LÓPEZ. Clonación del cDNA codificante de las subunidades de la gonadotropina luteinizante de Pimelodus grosskopfii. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial,18(2),20.37-47, DOI:http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(18)37-47

RESUMO

Pimelodus grosskopfii é um peixe importante nas pescarias de agua doce da Colômbia, além de ser uma espécie potencial para a aquicultura. O objetivo deste estudo foi clonar e determinar a sequência de codificação das subunidades GP-α e LHβ da gonadotrofina luteinizante de P grosskopfii. O RNA total das glândulas pituitárias foi extraído e o cDNA foi sintetizado. Os produtos de PCR purificados de GP-α e LHp foram ligados a pJET1.2 / blunt®, seguido pela transformação de Escherichia coli DH5α® e sequenciamento dos plasmídeos extraídos dos clones positivos. A grelha de leitura aberta das subunidades GP-α e LHβ foi de 351 pb (116 aminoácidos) e 423 pb (140 aminoácidos), respectivamente. A subunidade GP-α apresentou altos graus de homologia (aminoácidos) com a subunidade GP-α de diferentes famílias de Siluriformes (87-99%) e menor homologia com ordens de teleósteos, como Perciformes, Salmoniformes e Cypriniformes (66-90%). Da mesma forma, a homologia (aminoácidos) da subunidade LHβ foi alta com os Siluriformes (91-97%) e menor com outras ordens (65-86%). Os resultados obtidos no presente estudo fornecem informações básicas sobre a sequência das gonadotrofinas em bagres neotropicais e podem ser utilizados para o desenvolvimento de hormônios recombinantes para otimizar o controle reprodutivo em P. grosskopfii.

INTRODUCCIÓN

Las hormonas glicoproteínas (GPHs) son una familia de moléculas ricas en cisteínas que se han conservado evolutivamente. Entre las GPHs, se encuentran las hormonas gonadotropinas (GTH) como la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), también denominadas en la literatura de peces teleósteos como GTH I y GTH II respectivamente. Las GTHs, contienen dos subunidades disimiles designadas como α y β codificadas por genes diferentes [1]; mientras la subunidad α (GP-α) es la misma entre gonadotropinas de una especie, la subunidad β (FSHβ o LHβ) es única para cada hormona y le confiere especificidad biológica [2]. Las estructuras de los de genes de GP-α y FSHβ se han conservado durante la evolución entre peces teleósteos y mamíferos. En contraste, los loci del gen LHβ de los teleósteos y los tetrápodos no muestran ninguna relación sintética [3].

Las funciones de la LH en la activación de la maduración de los ovocitos y la ovulación parecen ser similares entre los vertebrados [4]. En el modelo de teleósteos mejor estudiado que es el pez cebra, la LH mediante la señalización de AMPc regula la expresión de la proteína reguladora aguda esteroidogénica (star), la cual interviene en la maduración de los ovocitos catalizando el primer paso en la síntesis de la hormona inductora de la maduración (MIH) [5]. Por otro lado, en los machos de pez cebra la señalización de las gonadotropinas es esencial para la espermatogénesis y espermiación, sin embargo las acciones de la LH y FSH están altamente superpuestas [4].

Los bagres de la familia Pimelodidae son diversos y abundantes en la vasta red de ríos de tierras bajas que fluyen desde los Andes y los escudos continentales hacia el Océano Atlántico, en la cuenca del Maracaibo y en la vertiente del Pacífico de Panamá [6,7]. Diferentes especies de pimelodidos como *Pseudoplatystoma* spp., *Leiarius* spp, *Brachyplatystoma* spp y *Pimelodus* spp. son económicamente importantes en las pesquerías continentales de Suramérica y algunas poseen un alto potencial para la acuicultura. Muchos pimelodidos realizan migraciones reproductivas sincronizadas con el ciclo hidrológico [8,9]. Por esta razón, se presenta una disrupción reproductiva en cautiverio debido a la falta de estímulos ambientales apropiados y que en los machos de *Pimelodus* spp. se agrava porque los testículos digitiformes [10] impiden que el semen se libere por masaje abdominal durante los procedimientos de reproducción inducida [11]. Por otro lado, la ausencia tanto de maduración final de los ovocitos como de ovulación en pimelodidos en cautiverio, indica que el desove parece estar estrictamente modulado por la síntesis y liberación de LHβ [12].

Pimelodus grosskopfii es un pez críticamente amenazado, de importancia comercial en las pesquerías artesanales y endémico de las cuencas de los ríos Magdalena, Cauca y San Jorge [13,14]. Al igual que en las demás especies de la familila Pimelodidae, las secuencias codificantes de las GTH de *P. grosskopfii* son desconocidas. El objetivo de la presente investigación fue aislar, clonar y determinar las secuencias de las subunidades GP-α y LHβ de la LH de *P. grosskopfii* para generar información básica de las gonadotropinas como requisito importante para estudios de regulación de la gametogénesis en Siluriformes tropicales y como insumo fundamental en la síntesis de hormonas recombinantes especie-específicas que mejoren la eficiencia reproductiva en cautiverio de esta especie.

MÉTODO

Material biológico

Individuos adultos de *Pimelodus grosskopfii* (250-300 g) fueron obtenidos en el Centro Acuícola Piscícola Santa Cruz (Caucasia, Antioquia). Los peces fueron sacrificados mediante inmersión en una solución de MS-222 a una concentración de 300 ppm. Posteriormente, las glándulas pituitarias fueron extraídas y almacenadas en RNA*later*™ (QIAGEN) a -80°C, hasta laextracción de ARN.

Extracción de ARN y transcripción reversa

El procesamiento de las muestras se realizó en el laboratorio de Biología Molecular de la Asociación Colombiana de Acuicultores en Medellín, Colombia.

Las pituitarias fueron congeladas en nitrógeno líquido y pulverizadas con un homogenizador en solución de lisis (QIAGEN). El ARN total fue extraído en el sistema automatizado QIAcube (QIAGEN) empleando la programación para extracción a partir de tejidos con el Kit RNeasy Mini (QIAGEN). La integridad del ARN fue verificada mediante electroforesis de geles de agarosa 1,5% en TBE 0,5X y basado en la absorbancia a 260 nm empleando el Nanodrop 2000 (Thermo Scientific).

La síntesis de la primera cadena de cADN se realizó empleando el Kit RevertAid H Minus First Strand cDNA Synthesis (ThermoScientific) usando Oligo (dT) y cebadores random hexamer. La transcripción reversa se llevó a cabo por 60 min a 42°C en una reacción de 20 µL, con 1 µg de ARN, 4 µL 5X de búfer de reacción, 0,5 mM mezcla dNTP, 20 U RNase Inhibitor, 200 U RevertAid H Minus y finalización a 70°C por 5 min. El producto de la reacción fue almacenado a -80°C hasta su uso en la PCR.

Amplificación GP-*α* y LH*β* *mediante* PCR

Se diseñaron 13 diferentes grupos de cebadores a partir de las secuencias de las subunidades de la LH de otras especies de Siluriformes depositadas en las bases de datos de NCBI (National Center for Biotechnology Information) (cuadro 1). Para GP-α, se obtuvo amplificación con dos grupos de cebadores denominados como 3GP-α y 4GP-α. El perfil térmico utilizado para estas PCR fue desnaturalización inicial a 94°C por dos minutos, 35 ciclos de 94°C por un minuto, 49,1°C por 30 segundos, 72°C por 40 segundos y una extensión final a 70°C durante 5 minutos. Para la subunidad LHβ, se obtuvo amplificación con los cebadores nombrados como 7LHβ. El perfil térmico utilizado fue desnaturalización inicial a 94°C por 2 minutos, 35 ciclos de 94°C por un minuto, 58°C por 30 segundos y 72°C por 40 segundos y una extensión final a 70°C durante 5. Para todas las PCR, las concentraciones de reactivos fueron: 2 mM $MgSO_4$, 0,2 mM dNTP's, 0,5 µM cebadores, 2,5 U Pfu DNA Polymerase (Thermo Scientific).

Clonación, transformación y purificación

Los productos de la PCR de las subunidades GP-α o LHβ fueron clonados en el vector pJET1.2/blunt (Life Technologies). Las condiciones de la reacción de clonación fueron: 10 µL de búfer de reacción (2X), 1 µL pJET1.2/blunt (50 ng/µL), 1 µL T4 DNA ligasa (5 U/µL), 7 µL Agua libre de nucleasas, 1 µL producto de PCR. La reacción de clonación se incubó a 20°C por una hora. La transformación de *Escherichia coli* DH5α (Thermo Scientific), se realizó por choque térmico, empleando 50 µL de células competentes y 5 µL del constructo (vector pJET 1.2/blunt con producto de PCR GP-α ó LHβ), siguiendo las recomendaciones de la casa comercial.

La recuperación del constructo se realizó a partir de colonias transformadas, que se inocularon en medio LB con Ampicilina a 37°C en agitación a 250 rpm por 16 horas. La purificación se realizó con el sistema Miniprep QIAprep Spin (QIAGEN). Posteriormente, se realizó la verificación de la clonación mediante una nueva PCR para cada subunidad.

Secuenciación

Una vez realizada la purificación de los constructos con la inserción de cada una de las subunidades, los clones identificados como positivos fueron enviados a Macrogen (Corea), para realizar secuenciamiento en ambas direcciones. Las secuencias obtenidas fueron editadas manualmente en el programa BioEdit versión 7.2.5. La creación de las secuencias consenso fue realizado en el programa Geneious versión 5.4.6. La comparación de las secuencias de GP-α y LHβ con las depositadas en GenBank se realizó mediante BLAST con las herramientas en línea de NCBI.

Cuadro 1. Cebadores diseñados para amplificar secuencias de GP-α y LHβ de *Pimelodus grosskopfii*.

Cebador	Secuencia	Accesión	Especie
1GP-α	5'-CATTGGTGAAATTACTGTCCATTGC-3' 5'-GAGATTTCTTGAACATACTAGTG-3'	KF934189	*Hemibagrus nemurus*
2GP-α	5'-GAAGAACAAAGACTGTCCATTGC-3' 5'-GGGATTTCTTGAACATACAAGTC-3'	GQ889499	*Pelteobagrus fulvidraco*
3GP-α	5'-ATGATTCTTRTTCTCAAATACACTG-3' 5'-TRAAAATTTATGYTAGTAGCAAGTG-3'	KF934189 GQ889499	*Hemibagrus nemurus*
4GP-α	5'-CACTGGAGCAACAATCCTTT-3' 5'-TTCACTGATTGATACATAGTTGCAG-3'	NM_001200078	*Ictalurus punctatus*
5LHβ	5'-CCTGCTGAGCGATCACGGCAAAA-3' 5'-GTGTGCAGCTCTTACAACAAGATC-3'	KF573628 KF934190	*Heteropneustes fossilis*
6LHβ	5'-ATGTCAGTGCCAGCTTTTTCTTTTC-3' 5'-TCAGTAGTCCAGGATAAACTCTTTC-3'	NM_001200080 KF934190	*Ictalurus punctatus*
7LHβ	5'-ATGCCAGGTTCCTCTTTCCTTCT-3' 5'-TCAGTAGTCCAGGATAAACTCTTTC-3'	KF573628 NM_001200080	*Heteropneustes fossilis* *Ictalurus punctatus*
8LHβ	5'-ATGCCTGCATCCTCTTACATACT-3' 5'-TCAGTAATCCAGGATGAACTCTTTC-3'	KF934190 KF573628	*Hemibagrus nemurus* *Heteropneustes fossilis*
9LHβ	5'-ATGCCWGCWTCCTCTWACAWACTTGA-3' 5'-ATGCCTGSATCCTCTTAMATACTTGA-3' 5'-TCAGTAGTCCAGYATAAACTCYTTC-3'	AY973946 KF573628	*Silurus meridionalis* *Heteropneustes fossilis*
10LHβ	5'-CCKGCTGAGCGAKCACTGCAAA-3' 5'-GRYWGCAGRTCTTACAACAAGYTC-3' 5'-GRGTGCAGRTCTTACAACAAGYTC-3' 5'-GRGEGCAGRTCTTACAACAAGATC-3'	KF934190 KF573628	*Hemibagrus nemurus* *Heteropneustes fossilis*
11LHβ	5'-CCGGCTGAGCGATCACTGCAAAC-3' 5'-GCAAGCAGTTCTTACAACAAGGTC-3'	KF934190 KF573628	*Hemibagrus nemurus* *Heteropneustes fossilis*
12GP-α	5'-GCCACGTGATGATTCTTRTTCTCAAATACACTG-3' 5'-GCGCGGCCGCTRAAATTTATGYTAGTAGCAAGTG-3' 5'- GCGCGGCCGCAATTTATGYTAGTAGCAAGTG-3'	-	-
13LHβ	5'-GCGAATTCATGCCAGGTTCCTCTTTCCTTCT-3' 5'-GCTCTAGATCAGTAGTCCAGGATAAACTCTTTC-3' 5'-GCTCTAGAGTAGTCCAGGATAAACTCTTTC-3'	-	-

Análisis estructural y filogenético

La predicción de las secuencias de aminoácidos para GP-α y LHβ fueron obtenidas con el programa SignalP versión 4.1. Para predecir la secuencia del péptido señal y los sitios putativos ligados para N-glicosilación se utilizó el programa NetNGlyc 1.0.

Las distancias genéticas, se calcularon mediante comparación por pares usando 1.000 repeticiones de bootstrap con el modelo de Kimura 2-parametros y se construyó un árbol a partir del método Neighbor-Joining usando el programa Mega versión 6.0.

RESULTADOS

El producto amplificado con los cebadores 3GP-α fue de 370 pb. Para estos cebadores las temperaturas óptimas de alineamiento estuvieron entre 48 y 55,5°C. Temperaturas superiores afectaron la eficiencia de la PCR. Por otro lado, con los cebadores 4GP-α se obtuvo un producto de 577 pb con temperaturas óptimas de alineamiento entre 49,1 y 52,7°C. El fragmento amplificado con los cebadores 7LHβ fue de 417pb.

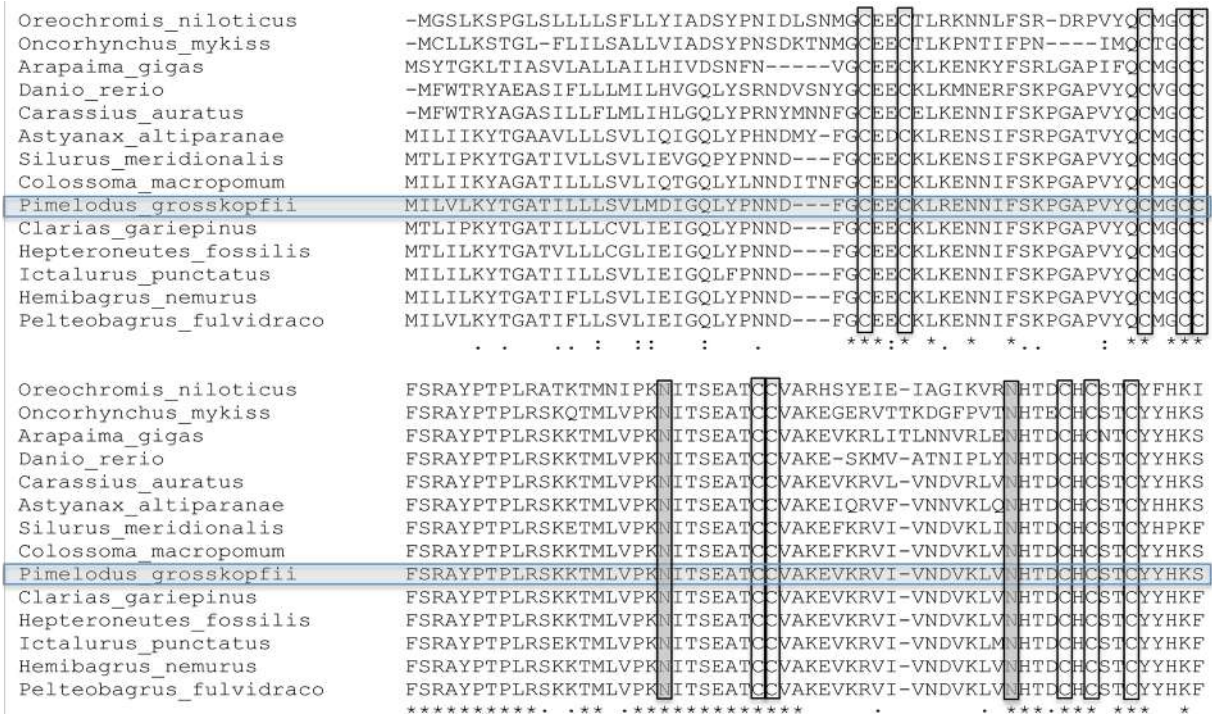
La longitud del marco abierto de lectura para la secuencia de la subunidad GP-α fue de 351 pb, el cual incluyó un codón de inicio ATG y codón de parada TAA (accesión de GenBank KY860907). Por su lado, la longitud del marco abierto de lectura de la subunidad LHβ, fue de 423pb, que incluyó un codón de inicio ATG y codón de parada TGA codificando para un péptido de 140 residuos de aminoácidos (aa). (cuadro 2). En GP-α, se identificó un péptido señal de 24 aa (MILVLKYTGATILLLSVLMDIGQL), dejando una proteína madura de 92 aa, 10 residuos de cisteína así como dos sitios de N-glicosilación NIT y NHT (posiciones Asn^{53} y Asn^{78},

figura 1). En LHβ, se observó un péptido señal de 22 aa (MPGSSFLLVLCFLVNVFSPAQS), para una proteína madura de 118 aa, 12 residuos de cisteína y un sitio de N-glicosilación NET (posición Asn^{10}, figura 2)

El tamaño del péptido de GP-α de *P. grosskopfii* y sus características son similares a lo reportado para otras especies de Siluriformes como *Clarias gariepinus*, *Silurus meridionalis* y *Hemibragus nemurus* (ver la figura 1 y el cuadro 3). La presencia de dos sitios de N-glicosilación (posición Asn^{53} y Asn^{78}) y 10 residuos de cisteína son altamente conservadas entre teleósteos y otros vertebrados [15] debido probablemente a que GP-α es compartido por todas las glicoproteínas pituitarias, incluyendo FSH, LH y Tirotropina (TSH). Se ha sugerido que estas regiones, tienen diferentes funciones, entre ellas, generar la formación de cinco enlaces disulfuro intra-moleculares relevantes para síntesis del péptido maduro y posiblemente relacionados con la dirección del dímero en la proteína [16]. Entre las GP-α de diferentes especies de peces, se identifica una región altamente conservada entre los residuos de aminoácidos 33-66, ubicada entre dos pares de cisteínas adyacentes y el primer sitio de N-glicosilación, que puede estar involucrada en el ensamble de la subunidad y su afinidad para unirse al receptor [17].

La longitud de la proteína madura de LHβ de *P. grosskopfii* de 118 aa está estrictamente conservada entre las especies del orden siluriformes incluidas en el presente análisis (figura 2). En otros grupos de teleósteos en los cuales LHβ ha sido clonada, se ha determinado que las longitudes de la proteína madura y el péptido señal varían entre 115-119 y 21-27 aa respectivamente [18,19]. El análisis de la topología de la estructura del péptido maduro de LHβ en *P. grosskopfii*, indicó la presencia de un sitio de N-glicosilación (posición Asn^{10}) y 12 residuos de cisteína. Esta estructura es conservada en las diferentes secuencias de LHβ previamente reportadas en teleósteos (figura 2). Adicionalmente, se identificó una región ampliamente conservada (HPGVDPHVTYPVALS) que concentra residuos de prolinas, que son esenciales para la estructura proteica de la subunidad LHβ debido a su importancia en el plegamiento de la proteína y direccionamiento del péptido [20].

Figura 1. Alineamiento de la estructura primaria del péptido de GP-α de *P. grosskopfii* con otros teleósteos



Los residuos de cisteína son identificados con cuadros. Los sitios de N-glicosilación son identificados con cuadros en sombra. Para el análisis se incorporaron los espacios (gaps) marcados con (-).

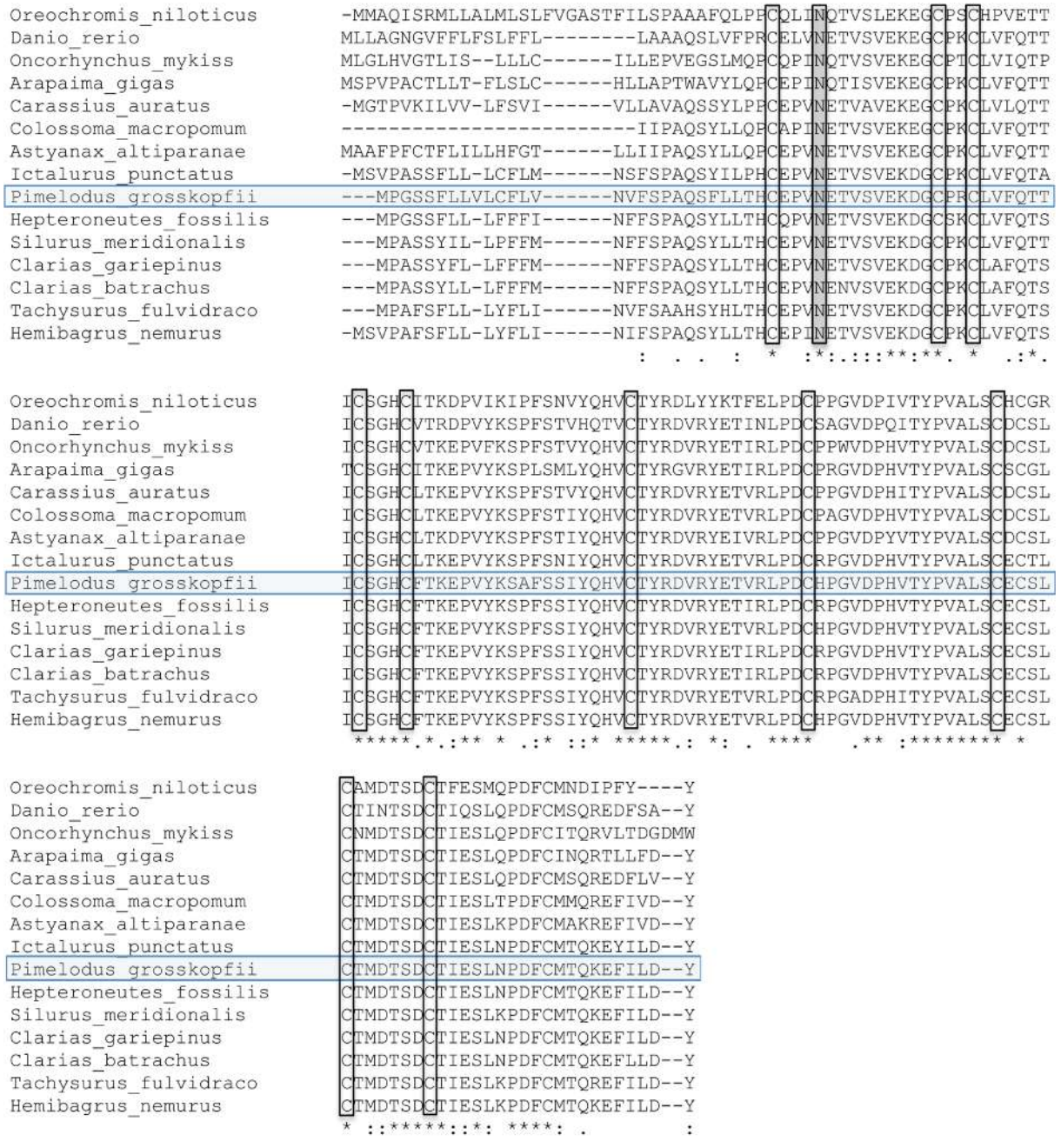
Cuadro 2. Secuencia nucleotídica y predicción de aminoácidos de GP-α y LHβ de *Pimelodus grosskopfii*.

Secuencia Nucleótidos GP-α	ATGATTCTTGTTCTCAAATACACTGGAGCAACAATTCTTTTACTGTCTGTTTTAATGGATA-TTGGACAACTTTACCCAAATAATGACTTTGGCTGTGAAGAGTGCAAACTCAGGGAGAA-CAATATTTTCTCAAAACCTGGCGCTCCTGTGTATCAGTGCATGGGATGCTGCTTTTCCA-GAGCTTACCCGACTCCACTGAGATCCAAGAAGACTATGCTGGTTCCGAAGAATATTA-CATCTGAAGCCACATGTTGCGTTGCCAAAGAGGTTAAACGGGTAATCGTTAATGATG-TAAAGCTAGTGAATCACACAGACTGCCACTGCAGCACTTGCTACTATCATAAATCTTAA
Predicción secuencia aminoácidos GP-α	MILVLKYTGATILLLSVLMDIGQLYPNNDFGCEECKLRENNIFSKPGAPVYQCMGCCFS-RAYPTPLRSKKTMLVPKNITSEATCCVAKEVKRVIVNDVKLVNHTDCHCSTCYYHKS-
Secuencia Nucleótidos LHβ	ATGCCAGGTTCCTCTTTCCTTCTTGTCCTATGTTTTTTGGTCAACGTCTTTTCTCCTGCT-CAAAGCTTCCTTCTGACCCACTGTGAACCTGTTAATGAGACTGTCTCTGTGGAGAAAGAT-GGCTGCCCAAGATGCCTTGTGTTTCAAACCACCATCTGCAGTGGACACTGCTTCACCAAG-GAACCTGTGTACAAGAGCGCGTTCTCTTCCATCTATCAGCATGTGTGCACCTACAGAGAC-GTTCGCTACGAAACGGTTCGCCTGCCAGACTGTCACCCAGGGGTGGATCCCCATGTCACC-TATCCTGTCGCTCTAAGTTGCGAGTGCAGCTTGTGCACCATGGACACCTCGGACTGTAC-CATCGAGAGCCTGAATCCGGATTTCTGTATGACACAGAAAGAGTTTATCCTGGACTACTGA
Predicción secuencia aminoácidos LHβ	MPGSSFLLVLCFLVNVFSPAQSFLLTHCEPVNETVSVEKDGCPRCLVFQTTICSGHCF-TKEPVYKSAFSSIYQHVCTYRDVRYETVRLPDCHPGVDPHVTYPVALSCECSLCTMDTS-DCTIESLNPDFCMTQKEFILDY-
Se señalan el Codón de inicio y parada, Señal del péptido, (-) aminoácido de terminación, Sitio de N- glicosilación	

Cuadro 3. Homología de nucleótidos y predicción de aminoácidos para GP-α y LHβ de *Pimelodus grosskopfii*.

Orden	Accesión GenBank	Especie	% identidad nucleótidos		% identidad aminoácidos	
			GP-α	LHβ	GP-α	LHβ
Siluriformes	KF934189 KF934190	*Hemibagrus nemurus*	92	91	94	91
	X97760.1 X97761.1	*Clarias gariepinus*	91	88	93	89
MF373412.1		*Clarias major*	91	-	92	-
	KM258876.1	*Clarias batrachus*	-	89	-	89
	GQ889499.1 KP036409.1	*Tachisurus fulvidraco*	91	89	95	88
	NM_001200078 AF112192	*Ictalurus punctatus*	90	88	92	89
	AY973945.1 AY973946.2	*Silurus meridionalis*	86	85	86	92
	KF573626 KF573626.1	*Hepteroneutes fossilis*	91	89	92	91
Cypriniformes	XM_019096146.1	*Cyprinus carpio*	80	73	86	73
	AY800266 D88024	*Carassius auratus*	80	74	86	73
	AY424306 AY424304.1	*Danio rerio*	73	70	71	65
Salmoniformes	AB050836 NM001124205.1	*Oncorhynchus mykkis*	72	68	75	65
Perciformes	NP_001266680.1 XP_003438397.1	*Oreochromis niloticus*	65	65	64	59
Characiformes	KU312261 KU312262.1	*Colossoma macropomum*	85	80	92	84
	KJ544555.1 KJ544556	*Astyanax altiparanae*	80	79	85	77
Osteoglossiformes	KJ755358 KJ741848	*Arapaima gigas*	68	68	71	66

Figura 2. Alineamiento de la estructura primaria del péptido de LHβ de P. grosskopfii, con otros teleósteos.



Los residuos de cisteína son identificados con cuadros. Los sitios de N-glicosilación son identificados con cuadros en sombra. Para el análisis se incorporaron los espacios (gaps) marcados con (-).

Se encontró una alta homología de las secuencias de nucleótidos (86-92%) y aminoácidos (86-95%) de la subunidad GP-α de *P. grosskopfii* con otros géneros de Siluriformes como: *Hemibragrus*, *Clarias*, *Pelteobragus*, *Ictalurus*, *Tachisurus* y *Silurus*. En contraste, se evidenció menor homología de la subunidad GP-α de *P. grosskopfii* con peces de otros ordenes como Characiformes, Cypriniformes, Salmoniformes, Osteoglossiformes y Perciformes a nivel de nucleótidos (65-85%) y para la predicción de aminoácidos (64-92%) (cuadro 3). Igual-

mente, para LHβ de *P. grosskopfii* se registró una alta homología de la secuencia de nucleótidos (85-91%) y aminoácidos (88-92%) con otros Siluriformes así como menor homología con peces de los órdenes Characiformes, Cypriniformes, Salmoniformes, Osteoglossiformes y Perciformes a nivel de nucleótidos (65-80%) y para la predicción de aminoácidos (59-84%) (cuadro 3).

La filogenia basada en las secuencias de LHβ separó claramente los diferentes órdenes incluidos en el análisis, comparado con el árbol basado en GP-α (figuras 3 y 4) ya esta última filogenia no agrupó en un solo clado a los miembros del órden Characiformes. Sin embargo, en ambas filogenias los miembros del orden Siluriformes presentaron menor distancia entre sí, comparados con representantes de Osteoglossiformes, Salmoniformes y Perciformes. En ambos árboles, los bagres del viejo mundo (*Silurus*, *Heteropneustes*, *Clarias*, *Hemibragrus* y *Tachisurus*) fueron más cercanos entre sí, comparados con uno de los dos bagres americanos (*Ictalurus* o *Pimelodus*) según la reconstrucción filogenética analizada.

En general las relaciones presentadas en la filogenia basada en las secuencias de LHβ fueron consistentes con los resultados obtenidos por [21,22] para la clase Actinopterygii ya que se identificó a: 1. Osteoglossomorpha (*Arapaima gigas*) como el linaje hermano de los demás teleósteos analizados y 2. el clado Otophysi (compuesto por Characiformes y Siluriformes como grupos hermanos junto a Cypriniformes). La principal diferencia entre la filogenia basada en LHβ y las propuestas por [21,22] fue la relación de Salmoniformes

Figura 3. Relaciones filogenéticas de la subunidad GP-α de P. grosskopfii con otras de especies teleósteos.

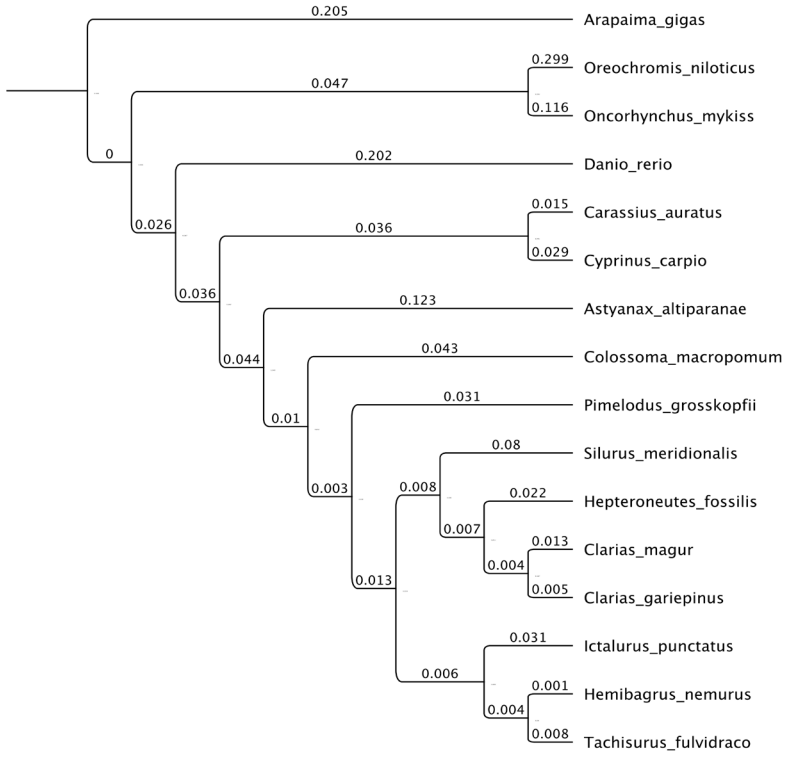
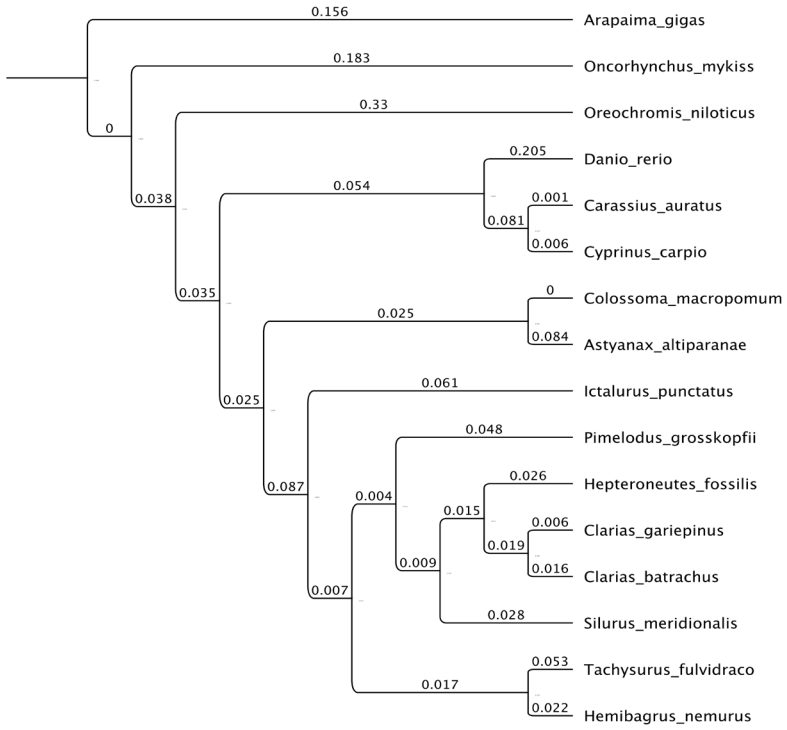


Figura 4. Relaciones filogenéticas de la subunidad LHβ de P. grosskopfii con otras de especies teleósteos.



y Perciformes sin la formación del clado Euteleostei que si se presentó en la filogenia basada en GP-α. Las relaciones entre las familias del orden Siluriformes encontradas en las filogenias basadas en GP-α o LHβ conservaron la relación entre *Hepteroneustes* con *Clarias* (Claroidea), *Tachysurus* con *Hemibagrus* (Bagridae) y *Silurus* (Siluridae) como linaje independiente que se presentan en [23]. La relación de *Ictalurus* con Bagridae observada en la filogenia basada en GP-α fue consistente con la filogenia presentada por [22] pero fue diferente a la obtenida para LHβ. La posición de Pimelodidae en las filogenias basadas en GP-α o LHβ es diferente a lo descrito por [22] debido a que estos autores encontraron a Pimelodidae como parte del grupo hermano del clado del que hacen parte Ictaluridae más Bagridae

CONCLUSIONES

El presente estudio, es el primer reporte de las secuencias de las subunidades de una gonadotropina en una especie de la familia Pimelodidae. El marco abierto de lectura para las secuencias de las subunidades GP-α y LHβ de *P. grosskopfii* fue de 351 y 423 pb respectivamente. En GP-α, se identificó un péptido señal de 24 aa dejando una proteína madura de 92 aa. Por otra parte, en LHβ, se observó un péptido señal de 22 aa para una proteína madura de 118 aa. La homología de las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de GP-α y LHβ de *P. grosskopfii* fue mayor con miembros del orden Siluriformes comparados con otros ordenes de peces. Las filogenias construidas a partir de GP-α o LHβ conservan muchas de las relaciones previamente reportadas entre los grandes grupos de peces con aletas radiadas, pero presentan particularidades, entre ellas la posición de Pimelodus al interior de Siluriformes. Estos resultados son un punto de partida para el desarrollo de anticuerpos para cuantificación de hormonas gonadotrópicas y la producción de hormona luteinizante recombinante en *P. grosskopfii*.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por la Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural de la Gobernación de Antioquia en el marco del convenio 4600000970 SADRA-ASOACUICOLA del fondo de Ciencia Tecnología e innovación del Sistema General de Regalías.

REFERENCIAS

[1] YOM-DIN, S. *et al*. Gonadotropins in the Russian sturgeon: Their role in steroid secretion and the effect of hormonal treatment on their secretion. PLoS ONE, 11, 2016, p. e0162344. doi:https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162344

[2] BUROW, S. *et al*. Medaka follicle-stimulating hormone (Fsh) and luteinizing hormone (Lh): Developmental profiles of pituitary protein and gene expression levels. General and Comparative Endocrinology, 272, 2019, p. 93–108. doi:https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.12.006

[3] KANDA, S. Evolution of the regulatory mechanisms for the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in vertebrates–hypothesis from a comparative view. General and Comparative Endocrinology, 27, 2018, p. S0016- 6480(18)30494-5.doi: https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.11.014

[4] LI, J. and CHENG, C. Evolution of gonadotropin signaling on gonad development: insights from gene knockout studies in zebrafish. Biology of Reproduction, 99, 2018, p. 686–94. doi:https://doi.org/10.1093/biolre/ioy101/4987199

[5] SHANG, G. *et al*. Steroidogenic acute regulatory protein and luteinizing hormone are required for normal ovarian steroidogenesis and oocyte maturation in zebrafish. Biology of Reproduction, ioz132, 2019. doi: https://doi.org/10.1093/biolre/ioz132

[6] LUNDBERG, J., SULLIVAN, J.P. and HARDMAN, M. Phylogenetics of the South American catfish family Pimelodidae (Teleostei: Siluriformes) using nuclear and mitochondrial gene sequences. Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia, 161, 2011, p. 153–89. doi: https://doi.org/10.2307/41446000

[7] VILLA-NAVARRO, F.A., ACERO, A. and CALA, P.C. Taxonomic review of Trans-Andean species of Pimelodus (Siluriformes: Pimelodidae), with the descriptions of two new species. Zootaxa, 4299, 2017, p. 337–60. doi: https://doi.org/10.11646/zootaxa.4299.3.2

[8] GARCÍA-DÁVILA, C. *et al*. Using barcoding of larvae for investigating the breeding seasons of pimelodid catfishes from the Marañon , Napo and Ucayali rivers in the Peruvian Amazon. Journal of Applied Ichthyology, 31, 2015, p. 40–51. doi. https://doi.org/10.1111/jai.12987

[9] FREITAS, T.M. and MONTAG, L.F. Population and reproductive parameters of the red-tailed catfish, *Phractocephalus hemioliopterus* (Pimelodidae: Siluriformes), from the Xingu River, Brazil. Neotropical Ichthyology, 17, 2019, p. 1–8. doi: https://doi.org/10.1590/1982-0224-20190015

[10] DOS SANTOS, J.E. *et al*. Reproductive biology of the Neotropical catfish *Iheringichthys labrosus* (Siluriformes: Pimelodidae), with anatomical and morphometric analysis of gonadal tissues. Animal Reproduction Science, 209, 2019, p. 106173. doi: https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106173

[11] DAMASCENO, D.Z. *et al*. Induced spermiation of *Pimelodus britskii* (Teleostei : Pimelodidae) during the reproductive period. Aquaculture Research, 2015, p. 1–13. doi: https://doi.org/10.1111/are.12930

[12] HONJI, R.M., CANEPPELE, D. and PANDOLFI, M. Gonadotropins and growth hormone family characterization in an endangered siluriform species, *Steindachneridion parahybae* (Pimelodidae): relationship with annual reproductive cycle and induced spawning in captivity. Anatomical Record, 1658, 2015, p. 1644–58. doi: https://doi.org/10.1002/ar.23174

[13] FRICKE, R., ESCHMEYER, W. and VAN DER LAAN, R. Eschmeyer's catalog of fishes: genera, species [online]. 2019. Disponible: http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp [citado 14 de octubre de 2019]

[14] VILLA-NAVARRO, F. *et al*. *Pimelodus grosskopfii* The IUCN Red List of Threatened Species [online]. 2016. Disponible: https://www.iucnredlist.org/species/49829828/61473588 [citado 14 de octubre de 2019]

[15] PRADHAN,A, RATH S.C and SAHA, A. Molecular characterization and expression analysis of gonadotrophic α-subunit hormone in rohu (*Labeo rohita*). International Journal of Fisheries and Aquatic Studies, 5, 2017, p. 23–28.

[16] LARSON, S.B. and MCPHERSON, A. The crystal structure of the β subunit of luteinizing hormone and a model for the intact hormone. Current Research in Structural Biology, 1, 2019, p. 1–5. doi: https://doi.org/10.1016/j.crstbi.2019.07.001

[17] DE JESUS, L.W. *et al*. Gonadotropin subunits of the characiform *Astyanax altiparanae*: molecular characterization, spatio temporal expression and their possible role on female reproductive dysfunction in captivity. General and Comparative Endocrinology, 246, 2017, p. 150–63. doi. https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2016.12.004

[18] RATHER, M.A., BHAT, I.A. and SHARMA, R. Identification, cDNA cloning, and characterization of luteinizing hormone beta subunit (Lhb) gene in *Catla catla*. Animal Biotechnology, 27, 2016, p. 148–56. doi: https://doi.org/10.1080/10495398.2016.1140055

[19] GAO, Y. et al. Molecular cloning, characterization, and mRNA expression of gonadotropins during larval development in turbot (*Scophthalmus maximus*). Fish Physiology and Biochemistry, 45, 2019, p. 1697-1707. doi: https://doi.org/10.1007/s10695-019-00656-z

[20] SEVILHANO, T. *et al*. Molecular cloning and characterization of pirarucu (*Arapaima gigas*) follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone β-subunit cDNAs. PLoS ONE, 12, 2017, p. e0183545. doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.018354

[21] NEAR, T.J. *et al*. Resolution of ray-finned fish phylogeny and timing of diversification. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 109, 2012, p. 13698–13703. doi: https://doi.org/10.1073/pnas.1206625109

[22] BETANCUR, R. *et al*. Phylogenetic classification of bony fishes. BMC Evolutionary Biology, 17, 2017, p. 162. doi: https://doi.org/10.1186/s12862-017-0958-3

[23] SULLIVAN, J.P., LUNDBERG, J.G. and HARDMAN, M. A phylogenetic analysis of the major groups of catfishes (Teleostei: Siluriformes) using rag1 and rag2 nuclear gene sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution, 41, 2006, p. 636–662. doi. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.05.044

BIOTECNOLOGÍA
EN EL SECTOR AGROPECUARIO
Y AGROINDUSTRIAL

· ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA ·

Vol. 18 No 2 · Julio - Diciembre 2020 · ISSN - 1692-3561 · ISSN-e 1909-9959 · DOI: http://dx.doi.org/10.18684

Desarrollo de novillas BON x Cebú en un silvopastoril de *Tithonia diversifolia*, en Antioquia, Colombia*

Performance of heifers BON x Cebu in a silvopastoral of *Tithonia diversifolia*, in Antioquia, Colombia

Desempenho de novilhas BON x Cebu em um silvipastoril de *Tithonia diversifolia* em Antioquia, Colombia

JERALDYN ARGÜELLO-RANGEL[1], LILIANA MAHECHA-LEDESMA[2], JOAQUÍN ANGULO-ARIZALA[3]

RESUMEN

Historial del Artículo
Recibido para evaluación: 11 de Noviembre 2019.
Aprobado para publicación: 4 de Mayo 2020.

* Proyecto de investigación de orígen: "Uso de arbustivas forrajeras en la cría y levante de ganado BON x Cebú en Caucasia, Antioquia". Financiación: Departamento de formación académica de Haciendas y a la estrategia sostenibilidad 2018-2019 de la Universidad de Antioquia. Culminación: 30 de septiembre de 2019.

1 Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación en Ciencias Agrarias (GRICA). Médico Veterinario Zootecnista. Medellín, Colombia. ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4311-0501.
2 Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación en Ciencias Agrarias (GRICA). Dr. Agricultura y Medio Ambiente. Medellín, Colombia. ORCID: http://orcid.org/0000-0003-3377-8399.
3 Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación en Ciencias Agrarias (GRICA). Dr. Ciencias Animales. Medellín, Colombia. ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3352-8795.

Correspondencia: liliana.mahecha@udea.edu.co

La producción bovina en Colombia se caracteriza por presentar bajos indicadores de producción debido a la baja calidad de las pasturas y el manejo extensivo de las praderas. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de un silvopastoril de Tithonia diversifolia y Urochloa brizantha cv. Toledo asociado a Urochloa humidicola, sobre los parámetros productivos de novillas BON x Cebú. Se distribuyeron de manera aleatorizada, 24 novillas BON x Cebú de 15,81 ± 2,05 meses y 183,95 ± 33,45 kg de peso, en dos tratamientos, un monocultivo de Urochloa brizantha cv. Toledo y Urochloa humidicola, y el sistema silvopastoril de Tithonia diversifolia. Se estimó la producción de materia seca y el consumo de materia seca en cada tratamiento y se realizó evaluación del peso, ganancia de peso, altura a la cruz, perímetro torácico y longitud corporal de los animales, durante dos pastoreos. Se hallaron diferencias significativas a favor del sistema silvopastoril para la producción de materia seca, la ganancia de peso, el peso, y la altura a la cruz ($p \leq 0,05$). Se concluyó que los sistemas silvopastoriles son una alternativa para mejorar la oferta forrajera y, por consiguiente, el desarrollo productivo de novillas.

PALABRAS CLAVE:
Arbustivas forrajeras, Producción ganadera, Sostenibilidad, Trópico.

ABSTRACT

Bovine production in Colombia is characterized for its low production indicators, because pastures are of low quality and the grasslands has an extensive management. The objective of this research was to evaluate the effect of a silvopastoral with Tithonia diversifolia, and Urochloa brizantha cv. Toledo associated with Urochloa humidicola, on the productive parameters of BON x Zebu heifers. 24 heifers BON x Zebu with an average age of 15,81 ± 2,05 months and 183,95 ± 33,45 kg of weight, were distributed randomly in two treatments, a monoculture with Urochloa brizantha cv. Toledo associated to Urochloa humidicola, and, the silvopastoral with Tithonia diversifolia. The dry matter production and the consumption was estimated in both treatments. Also, the weight, weight gain, body height, heart girth and body length were evaluated in the animals during two rotations. Significant differences were found in the silvopastoral system for the production of dry matter, weight gain, the weight, and body height ($p \leq 0,05$). It was concluded that silvopastoral systems are an alternative to improve the forage offer and the performance of heifers.

KEYWORDS:
Forage shrubs, Livestock production, Sustainability, Tropics.

RESUMO

A produção bovina na Colômbia é caracterizada por baixos indicadores de produção, devido à baixa qualidade das pastagens e ao amplo manejo das pastagens. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de um sistema silvipastoril de Tithonia diversifolia, Urochloa brizantha cv. Toledo consorciado com Urochloa humidicola, nas desempenho de novilhas BON x Zebu. 24 novilhas BON x Zebu

PALAVRAS-CHAVE:
Arbustos forrageiros, Produção animal, Sustentabilidade, Trópico.

Cómo citar este artículo: JERALDYN ARGÜELLO-RANGEL, LILIANA MAHECHA-LEDESMA, JOAQUÍN ANGULO-ARIZALA. Desarrollo de novillas BON x Cebú en un silvopastoril de Tithonia diversifolia, en Antioquia, Colombia. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial,18(2),2020.48-59, DOI:http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(18)48-59

com idade média de 15,81 ± 2,05 meses e 183,95 ± 33,45 kg de peso, em dois tratamentos, em monocultivo de Urochloa brizantha cv. Toledo e Urochloa humidicola, e o silvipastoril com Tithonia diversifolia. A massa de matéria seca e o consumo de matéria seca foi estimada, Da mesma forma, avaliação do peso, ganho de peso, altura ao garrote, perímetro torácico e comprimento do corpo em cada tratamento, durante duas rotações. Diferenças significativas foram encontradas a favor do sistema silvipastoril para a massa de matéria seca, o ganho de peso, o peso e a altura ao garrote apresentaram diferenças significativas (p ≤ 0,05). Concluiu-se os sistemas silvipastoris são uma alternativa para melhorar a produção de forragem e, consequentemente, o desempenho de novilhas.

INTRODUCCIÓN

La ganadería en Colombia posee un esquema de producción en el que generalmente los sistemas de pastoreo hacen uso de grandes áreas con un mínimo o nulo manejo rotacional de las praderas, recurriendo a la deforestación como solución para ampliar el área en pasturas. Debido a esto, el área destinada a la ganadería supera la vocación de uso de suelo recomendada, que es del 13,3% del territorio nacional (15.184.586,48 ha) [1], ocupando en pastos, forrajes, arvenses y rastrojos 33,9 millones de hectáreas [2]. Además, este tipo de manejo ha generado degradación de los suelos, contaminación de cuerpos de agua y pérdida de biodiversidad [3].

La producción de carne (cría, levante, ceba) bovina se localiza principalmente en las zonas de trópico bajo (0 a 1000 msnm), donde suele haber falencias en la alimentación por la baja relación energía: proteína de las pasturas predominantes y la baja disponibilidad de forrajes, acentuada por la intensidad y erraticidad de sequías y lluvias asociadas al cambio climático [4, 5]. Si bien es cierto, el componente racial hace parte de los elementos determinantes del desarrollo productivo y reproductivo de los bovinos, los factores ambientales, nutricionales y de manejo, tienen un alto grado de influencia [6]. Por tanto, la alteración en cualquiera de estos aspectos repercute a nivel fisiológico y metabólico y, por ende, en la reproducción, desarrollo, salud y rendimiento de los animales [7]. Una de las etapas más influenciada por estos factores es la pubertad, que se conoce como el momento en que una novilla es capaz de expresar un ciclo estral acompañado de un cuerpo lúteo funcional [8].

Para que una novilla alcance la pubertad, es necesario que el eje hipotálamo-hipófisis-ovario sea capaz de generar ondas de FSH y LH que estimulen el reclutamiento, selección y dominancia de un folículo ovárico [9]. La maduración del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, se ha relacionado con factores como la raza, la edad y la nutrición [10]. En condiciones ideales de alimentación, manejo y sanidad, las razas *Bos indicus* se caracterizan por presentar mayores edades a la pubertad (397-426 días) con relación a las razas *Bos taurus* (347-355 días) [9]. Sin embargo, en las regiones tropicales de baja altitud, en donde predominan las razas *Bos indicus*, la edad a la pubertad puede retrasarse, debido, principalmente, a la baja calidad de la oferta forrajera [7].

Se considera que una novilla alcanza la pubertad cuando tiene el 55 a 60% de su peso adulto según la raza. Esto se debe a que el peso está relacionado con una buena condición corporal y, esta a su vez, con el almacenamiento de tejido adiposo del animal. Uno de los principales reguladores de la función reproductiva a nivel del eje hipotálamo-hipófisis es la leptina, que es secretada por el tejido adiposo. Por tanto, una baja condición corporal conlleva a concentraciones séricas insuficientes de leptina, para estimular la activación de la secreción de GnRH en el hipotálamo, ocasionando la inhibición de la función reproductiva en novillas [8, 10, 11].

Por consiguiente, la dieta es un factor determinante en el desarrollo productivo y reproductivo de las novillas, lo que plantea la necesidad de abordar estrategias de producción de forraje que favorezcan un mejor desarrollo corporal, peso y ganancia de peso [6, 12]. Una de las alternativas para mejorar la oferta forrajera en las ganaderías es el establecimiento de sistemas silvopastoriles (SSP) para ramoneo directo, los cuales consisten en arreglos espaciales en potrero, que combinan arbustivas forrajeras, pasturas y árboles para sombra, contribuyendo a mejorar la producción de biomasa y la oferta nutricional y con un impacto favorable sobre el ambiente y el bienestar animal [13, 15].

Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de un sistema silvopastoril para ramoneo directo, de botón de oro *(Tithonia diversifolia* Hemsl A. Gray*)*, pasto toledo (*Urochloa brizantha* cv. Toledo) asociado a pasto dulce (*Urochloa humidicola*) y árboles para sombra, sobre los parámetros productivos de novillas Blanco Orejinegro (BON) x Cebú.

MÉTODO

Este estudio se realizó en la Hacienda La Candelaria ubicada en el municipio de Caucasia-Antioquia, a 08°01′49″N y 75°13′03″O, con una temperatura promedio de 26 ° C, altura sobre el nivel del mar de 50 msnm, precipitación promedio anual de 2100 mm, 75% de humedad relativa, y topografía 15% plana y 85% terreno ondulado. Este estudio contó con el aval del Comité de ética para la experimentación con animales de la Universidad de Antioquia, como consta en el Acta No. 120 del 09 de octubre de 2018.

Características de los animales

Se seleccionaron 24 novillas BON x Cebú, con edades entre los 13,76 y 17,86 meses de edad, y peso entre 150,5 y 217,4 kg. Los animales se encontraban en buen estado de salud y provenían de un sistema de pastoreo tipo extensivo en pasturas como *Urochloa humidicola*, *Andropogon gayanus*, y *Leersia hexandra*. Las 24 novillas fueron distribuidas aleatoriamente entre dos tratamientos, correspondientes a dos sistemas de pastoreo: un monocultivo (MONO) y un sistema silvopastoril (SSP).

Características de los sistemas de pastoreo

En cuanto al monocultivo (tratamiento control), consistió en un área de 1,5 ha, en la que se sembró pasto toledo a 8,0 kg/ha en zonas con bajo nivel freático, y se conservó el pasto humidicola en las áreas con alto nivel freático. Respecto al tratamiento experimental, se estableció un SSP de 1,3 ha, en el cual se sembró pasto toledo (8,0 kg/ha) para zonas con bajo nivel freático, y se conservó el pasto humidicola ya existente en zonas con alto nivel freático. Como arbustiva para ramoneo directo, se estableció botón de oro por semilla sexual. Si bien es cierto, se reporta usar para la siembra de botón de oro 5,0 kg de semilla sexual por hectárea en trópico alto [16], en este estudio, debido a que se trabajó en suelos erosionados, compactados y de acuerdo al análisis de suelos de la finca, con baja materia orgánica (1,6%), alta saturación de aluminio (46,9%) y pH ácido (4,67), se consideró pertinente usar una mayor cantidad de semilla. Por lo anterior, se utilizaron 7 kg de semilla sexual/ha mezclados previamente con gallinaza, a razón de 10 kg de gallinaza por kg de semilla de botón de oro. La siembra, se hizo directamente en campo a menos de 2 cm de profundidad, tapando ligeramente con tierra y pasto seco, previo trazado del terreno, el cual fue subdivido en 16 franjas, en cada una de las cuales se establecieron 2 surcos de botón de oro a una distancia de 5 m entre ellos y de 20 cm entre plantas.

Respecto a los árboles dispersos en el potrero, se identificaron 42, correspondientes a las especies *Cassia grandis*, *Xylopia aromatica*, *Chrysophyllum cainito*., *Albizia carbonaria britton*, *Enterolobium cyclocarpum*, y *Gmelina arborea*. Además de los árboles para sombra mencionados, se establecieron árboles de totumo *(Crescentia cujete)* por semilla sexual, y de matarratón *(Gliricidia sepium)* con estacas de 2,5 m de largo, para un total de 199 árboles dispersos (153/ha) en el área de estudio.

Manejo de los sistemas de pastoreo

Previo al inicio de los pastoreos, se hizo un corte de uniformización de la pastura de cada sistema (30 días de edad) y del botón de oro (60 días de edad) del sistema silvopastoril. La pastura se cortó con guadaña y, al botón de oro, se le realizó un corte en bisel a 1 m de altura. Cada área fue manejada a través de un sistema de rotación por franjas con cinta eléctrica, con 16 franjas por sistema, teniendo en cuenta 2 días de ocupación y 30 días de descanso por franja. En el sistema silvopastoril (SSP), se dejó disponible un surco de botón de oro por pastoreo, con el fin de dar un tiempo de descanso de 60 días a la arbustiva.

Variables evaluadas

A continuación, se describe la metodología aplicada a cada una de las variables evaluadas. Respecto al análisis de los datos, estos fueron procesados en el software estadístico R Project versión 3.6.0.

Composición nutricional de las especies usadas en el estudio. Se realizó evaluación de la composición nutricional (contenido de MS, PC, FDN, y FDA) de las pasturas (toledo y humidicola) de cada tratamiento (SSP y MONO) a 30 días de edad, y del del botón de oro del SSP a los 60 días de edad. Se tomaron muestras de 500 g de forraje verde de cada especie en los sistemas de pastoreo evaluados, las cuales fueron secadas en horno con ventilación forzada durante 16 h a 70°C, posteriormente se molieron con un molino tipo ciclón con malla de 1 mm. Los análisis se realizaron por es-

pectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS) en el laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia (cuadro 1).

Producción de forraje verde (PFV) y materia seca (PMS) (kg/m²). Para el caso del forraje verde de las pasturas en ambos tratamientos, se hicieron aforos usando la técnica de doble muestreo [17], y en cuanto al SSP, se tuvo en cuenta también el estrato de las arbustivas, al cual se le aplicó la técnica de doble muestreo adaptada [18]. La estimación de forraje verde por m², tanto para las pasturas como para el botón de oro se hizo mediante un análisis de regresión lineal. Por su parte, la producción de materia seca (MS) se calculó considerando el % MS reportado por el análisis de composición nutricional para cada especie. Los datos fueron analizados a través de una prueba de T de dos vías para varianzas desiguales.

Consumo de materia seca por animal/día (CMS kg/animal/día). La evaluación de consumo se realizó a partir de aforos de entrada y salida en cada franja en ambos tratamientos. Para establecer la cantidad de forraje ofertada a los animales y el excedente después del pastoreo en cada franja, se pesó con báscula digital y, a partir de dichos datos, se calculó la diferencia entre entrada y salida, asumiendo que dicha diferencia correspondía al valor consumido por el grupo de animales de cada sistema. Posteriormente, a partir del consumo grupal se estimó un promedio de consumo individual de acuerdo con el número de animales en pastoreo en cada tratamiento. Para el cálculo en el SSP, se realizaron aforos de entrada y salida tanto a las pasturas como al botón de oro, y se sumaron dichos valores para obtener el consumo total. Para el análisis de los valores de consumo estimados, se hizo estadística descriptiva, calculando la media del consumo, desviación estándar y el coeficiente de variación.

Desarrollo productivo. Se usó un diseño experimental completamente aleatorizado con mediciones repetidas en el tiempo, donde entre el tratamiento control (MONO), y el tratamiento experimental (SSP) se distribuyeron aleatoriamente 24 novillas BON x Cebú con una edad promedio de 15,81 ± 2,05 meses y 183,95 ± 33,45 kg de peso. Los animales fueron sometidos a un pastoreo de adaptación de 32 días, previo a los periodos de evaluación. Los periodos de evaluación fueron dos pastoreos de 32 días cada uno, con dos días de ocupación y 30 días de descanso por franja. En el primer pastoreo de evaluación se

Cuadro 1. Características nutricionales de las especies usadas en los sistemas de pastoreo evaluados.

	Monocultivo		Sistema silvopastoril		
Variable	*U. brizantha*	*U. humidicola*	*U. brizantha*	*U. humidicola*	*T. diversifolia*
MS (%)	27,1	19,8	25,4	21,5	15,3
PC (%)	9,0	8,3	8,0	7,4	27,4
FDN (%)	69,4	67,1	68,0	68,0	32,7
FDA (%)	37,3	39,3	37,2	39,0	20,7

evaluaron 12 animales por tratamiento. Sin embargo, para el segundo pastoreo, se redujeron los animales a ocho por cada uno debido a que, de acuerdo con los aforos, bajó la producción de forraje por m² en el monocultivo, debido a que este pastoreo coincidió con un periodo de baja precipitación (época seca). Por tal motivo, las variables fueron analizadas bajo un modelo desbalanceado. Durante los pastoreos, se evaluó el peso, la ganancia de peso, y las mediciones bovinométricas de altura a la cruz (AC), perímetro torácico (PT) y longitud corporal (LC).

En cuanto a la variable peso (kg/animal), se utilizó bascula mecánica para los respectivos pesajes y las ganancias de peso (kg/animal/día) se obtuvieron a partir de las mediciones periódicas de éste. Las mediciones bovinométricas (altura a la cruz, perímetro torácico, longitud corporal) se realizaron con cinta métrica, y tanto estas variables como el peso, fueron evaluadas antes de iniciar el ensayo y durante los dos pastoreos.

Los datos de cada variable fueron evaluados a través de análisis de varianza (ANOVA) y prueba de comparación de medias de Tukey, según un modelo lineal mixto procesado con el paquete nlme del software R Project, de acuerdo al modelo estadístico descrito a continuación (ecuación 1):

$$Y_{ijkl} = \mu + \beta_i + \alpha_j + \gamma_k + \alpha\beta_{ij} + \alpha\gamma_{jk} + \delta_l + e_{ijkl} \quad \text{(Ec. 1)}$$

Donde, Y_{ijkl} = variable de respuesta obtenida de la ecuación; μ = media general; β_i = Efecto fijo del i-ésimo tratamiento (MONO y SSP); α_j = Efecto fijo del j-ésimo pastoreo; γ_k = Efecto aleatorio del k-ésimo animal; $\alpha\beta_{ij}$ = Efecto fijo del i-ésimo tratamiento en el j-ésimo pastoreo; $\alpha\gamma_{jk}$ = Efecto aleatorio del k-ésimo animal en el j-ésimo pastoreo; δ_l = co-variable; e_{ijkl} = error experimental. La co-variable para

el peso y la ganancia de peso, fue el peso inicial, y para las mediciones bovinométricas, se usó la medición inicial de cada una.

RESULTADOS

Calidad nutricional de los sistemas de pastoreo

Las características nutricionales encontradas en el MONO y el SSP se presentan en el cuadro 1. Los porcentajes de MS, PC, FDN, FDA y lignina de las pasturas en ambos tratamientos, estuvieron en el mismo rango y son similares con los contenidos de MS reportados para otras pasturas de trópico bajo, como el pasto estrella (22,36%) (*Cynodon plectostachyus)* y pasto guinea (19,92%) *(Megathyrsus maximus)* [19].

En cuanto al porcentaje de PC, aunque entre tratamientos el valor de PC de las pasturas estuvo en el mismo rango (7-9%), el SSP tuvo un mayor aporte proteico con respecto al MONO. Esto se debió a la inclusión del estrato arbustivo en este sistema de pastoreo, donde el botón de oro presentó un contenido de PC de 27,4%. Los valores hallados de PC para las pasturas fueron superiores a los reportados para un sistema establecido en suelos ácidos y baja fertilidad de la Amazonía colombiana con 6,13% de PC para *U. humidicola* y 7,61% para *U. brizantha* [20], pero inferiores con relación a un SSP en México, que reporta para *U. brizantha* un porcentaje de PC entre 11,2 y 11,8% [21].

Con relación al contenido de fibra, las fracciones de FDN (68-69,5%) y FDA (37-37,5%) para el pasto toledo, fueron menores en este estudio, comparado con lo reportado para los porcentajes de FDN (73,8-74,5%) y FDA (41,3-43,7%) en un estudio donde se comparaba el desarrollo de novillas en un monocultivo de pasto toledo y un sistema silvopastoril de pasto toledo y cratylia *(Cratylia argentea)* [21]. Otra investigación, reporta para el pasto toledo, un valor de 80,8% de FDN, 55,8% de FDA y una digestibilidad del 48,1%, mientras que para el humidicola, 69,5% de FDN, 42,4% de FDA y una digestibilidad del 51,9% [20]. Comparando estos datos con los del presente estudio, el pasto toledo tuvo valores inferiores de las fracciones de FDN y FDA en ambos sistemas, en tanto que el pasto humidicola tuvo un porcentaje de FDN (67-68%) similar y un porcentaje de FDA (39-39,5%) menor con relación al valor mencionado para esta fracción por el mismo autor. Con relación al contenido de fibra, la FDN se ha asociado con una reducción en el consumo, debido al efecto de llenado a nivel ruminal y la FDA con la digestibilidad, por lo que, valores elevados de FDA, se han relacionado con una disminución en la digestibilidad, debido a que esta fracción está conformada por celulosa y lignina, que son altamente indigestibles [13, 22-25]

En lo que concierne al botón de oro, el porcentaje de MS (15,3%) fue mayor comparado con reportes en trópico alto [16], donde se han hallado contenidos de MS entre 12,45% y 12,74%. Sin embargo, con relación a trópico bajo (18,2-19,7% según la época) el contenido de MS fue inferior [26]. El porcentaje de MS puede ser muy variable en el botón de oro y puede deberse a diversos factores como la edad del cultivo, época del año, el manejo agronómico, la asociación con otras especies forrajeras y la altura sobre el nivel del mar [16].

En cuanto a la proteína cruda del botón de oro (24,7%), fue mayor comparada con lo reportado en trópico alto (12,76-14,10%) [16] y cercana a lo reportado en trópico bajo (27,4-28,7%) [26], lo que resulta relevante teniendo en cuenta las pobres condiciones edáficas del suelo en que se estableció el sistema silvopastoril. Esto podría sugerir que el botón de oro, es una especie con la capacidad no solo de adaptarse a suelos ácidos y de baja fertilidad, sino de expresar buenas características nutricionales [20, 27].

En cuanto a la fibra del botón de oro, los valores del presente estudio fueron de 32,7% para la FDN y 20,7% para la FDA, frente a reportes para trópico alto de 50,21-53,81% de FDN y 48,18-48,47% de FDA [16]. Y para trópico bajo de 25,2% de FDN y 23,5% de FDA [20]. Con relación a trópico alto, los valores encontrados en el presente estudio son más bajos, mientras que, con respecto a los valores reportados en trópico bajo, la FDN es más alta pero el FDA es está en un mismo rango.

La composición nutricional de los forrajes de un sistema de pastoreo que integra varios estratos (gramínea, arbustiva, arbórea) como el SSP evaluado, puede presentar contrastes en su contenido de proteína y fibra que favorecen la calidad de la dieta ofertada. En este caso, el contenido de PC del botón oro representó un aumento en la oferta total de proteína en la dieta, frente al monocultivo, cuya única fuente de proteína fue la gramínea. De igual modo ocurre con los contenidos de FDN y FDA, cuyo contenido total en la dieta se vio disminuido debido a que el botón

de oro tiene valores bajos comparados con las gramíneas evaluadas. Es precisamente por esta capacidad de expresar buenas características nutricionales, aun en pobres condiciones edáficas, que esta especie podría ser una alternativa para mejorar la calidad de la dieta en producciones bovinas con suelos ácidos, de baja fertilidad y/o degradados [3, 20, 28].

Producción de FV (forraje verde) y MS (materia seca) (kg/m^2)

El SSP tuvo una producción de FV y MS superior al monocultivo (cuadro 2, $p \leq 0,05$), con una producción estimada de MS de 2,8 ton/ha, que resulta también superior a un reporte [21] donde para un primer pastoreo en un SSP de *U. brizantha cv.* Toledo y *Cratylia argentea* se obtuvo 1,9 ton/ha. Sin embargo, resulta inferior con relación al segundo pastoreo (3,6 ton/ha) y tercer pastoreo (4,08 ton/ha), de dicho estudio, en tanto que la producción de MS para el monocultivo del presente estudio fue mayor (2,4 ton/ha) con relación a los 3 pastoreos en el monocultivo de *U. brizantha cv.* Toledo del citado estudio (0,77, 0,946 y 1,39 ton/ha respectivamente).

Por otra parte, los valores del presente estudio son superiores tanto para el SSP como para el MONO, con respecto a un SSP intensivo de botón de oro (*T. diversifolia*), *Urochloa decumbens*, *U. brizantha* cv. Toledo, y *Urochloa humidicola*, donde se reportó una producción de 0,243 kg MS/m^2 (1,126 kg FV/m^2) donde el 15% fue aportada por la arbustiva *T. diversifolia*, mientras que, para el monocultivo fue de 0,169 kg MS/m^2 (0,761 kg FV/m^2) [20]. Así mismo, al estimar la carga animal con base en la producción de MS aprovechable/m^2, para un manejo rotacional como el dado a los sistemas de pastoreo en el presente estudio, en 1,0 ha en SSP se podría tener 4,16 UGG en época de lluvias, y 3,26 UGG en época seca, mientras que, en un monocultivo se podrían tener 3,73 UGG en época de lluvias y 2,78 UGG en época seca.

Consumo de materia seca por animal/día (CMS kg/animal/día)

Los cálculos del CMS mostraron valores similares entre tratamientos (cuadro 3). Sin embargo, al hacer la estimación del porcentaje consumido en MS con respecto al peso vivo (PV), es mayor para el SSP con un 2,85%, frente a un 2,57% para el MONO. Así mismo, la oferta total de MS/100 kg PV fue de 10,47 kg para el SSP y 10,33 kg para el MONO.

En un SSP en trópico húmedo mexicano, usaron pasto toledo junto con *Cratylia argentea* para ramoneo directo de novillas Holstein x Cebú entre 11 y 16 meses de edad, estimando una ingesta de MS por animal de 4,3 kg para el grupo en el SSP, mientras que en un monocultivo de pasto toledo fue de 4,09 kg. Sin embargo, en dicho estudio el contenido de MS consumido con respecto al PV fue mayor para el monocultivo con un 2,49% comparado con un 2,22% para el silvopastoril [21]. Por otra parte, en Brasil [29] evaluaron también el consumo en un SSP de *Urochloa decumbens* y *Stylosanthes guianensis* cv. Mineirão y un monocultivo de *U. decumbens*, en novillas Holstein x Cebú de 250 kg. En dicho estudio, hallaron que el consumo fue mayor en el SSP (2,1-2,4%) que en el monocultivo (2,0-2,2%), aunque, siendo más alto en ambos casos para la época de lluvias. Estos resultados podrían sugerir que la diversificación de la oferta forrajera de los sistemas silvopastoriles contribuye a mejorar la ingesta al aumentar el aporte de nutrientes de la dieta debido a la asociación de gramíneas con especies arbustivas que expresan alto nivel proteico y bajos niveles de FDN y FDA con respecto a las pasturas tropicales [22, 30].

En el cuadro 4 se presenta la oferta de MS y el CMS del SSP evaluado. La relación de CMS de pastura: botón de oro, estuvo en un 95,92: 4,07%, sin embargo, el porcentaje de consumo de botón de oro fue alto (96,10%), lo que podría indicar que la proporción de consumo con

Cuadro 2. Producción de forraje verde y materia seca por metro cuadrado, en los tratamientos evaluados (kg/m^2).

Variable	MONO	SSP	p-value
FV	1,04^b±0,08	1,19^a± 0,05	5,43e-04
MS	0,24^b±0,02	0,28^a± 0,01	1,15e-06

MONO=Monocultivo; SSP=Sistema silvopastoril; FV= forraje verde; MS= Materia seca; diferentes letras en la fila, indican diferencias significativas p≤0,05.

respecto a la pastura estuvo influenciada por la oferta de botón de oro. Es decir, que pudo haber sido mayor el consumo de botón oro a una mayor densidad de la arbustiva en el área estudiada, pues en este caso la oferta de MS proveniente del botón de oro fue de 2,53 kg MS por cada 786,86 m^2, que es baja comparada con un sistema silvopastoril en trópico alto, donde se reportan 3,6 kg de MS por cada 375,9 m^2 [18], o con un SSP de alta densidad (4000 arbustos/ha) en trópico bajo, donde se obtuvo un promedio de disponibilidad de biomasa proveniente del botón de oro de un 15% [20].

Desarrollo productivo de las novillas

En cuanto al peso y la ganancia de peso (cuadro 5), hubo efecto para el tratamiento, el pastoreo y la interacción tratamiento x pastoreo. El promedio de peso al final del experimento fue de 219,75 ± 28,41 kg para el MONO, y de 217,25 ± 39,81 kg para el SSP. Sin embargo, la ganancia promedio de peso del experimento fue mayor para el SSP con 0,743 ± 0,37 kg/animal/día, mientras que en el MONO fue de 0,478 ± 0,21. Si bien, en el primer pastoreo, el MONO tuvo un mayor peso, cuando se relaciona con la ganancia de peso en dicho periodo, fue mayor para el SSP con 0,930 ± 0,38 kg/animal/día ($p \leq 0,05$), y en el segundo pastoreo, el SSP superó en peso y ganancia de peso al MONO, por lo que, se podría considerar que las novillas del SSP tuvieron un mejor desempeño productivo que el MONO.

En lo que a desarrollo productivo se refiere, cabe resaltar que los animales evaluados presentaron un peso promedio inicial por debajo de los 200 kg, con una edad promedio de 15,81 ± 2,05 meses (13,76-17,86), lo que es muy inferior si se considera que en trópico bajo los animales son destetados en promedio a los 9 meses de edad con pesos que pueden oscilar entre 140 kg y 150 kg [19, 31]. Lo anterior, sugeriría que, por las condiciones de oferta y calidad forrajera del sitio de evaluación, debido a las pobres características de los suelos y al tipo de pasturas predominantes (*U. humidicola*, *Andropogon gayanus*, y gramas nativas como *Leersia hexandra*), hubo bajas ganancias de peso post-destete y, por ende, un atraso en el desarrollo de

Cuadro 3. Consumo de materia seca (MS) de las novillas en los tratamientos evaluados (kg/animal/día).

Tratamiento	Media	DE	CV
MONO	4,97	0,04	0,8
SSP	5	0,06	1,2

MONO=Monocultivo; SSP=Sistema silvopastoril; DE= Desviación estándar; CV= Coeficiente de variación.

Cuadro 4. Oferta de materia seca (MS) por franja en el SSP.

Forraje	Densidad	OTMS/franja (kg)	CMS/animal (kg)	% Consumo	Relación (%) Pastura: Botón
Toledo+Humidicola/m^2	786,86 ± 86,87	220,02 ± 21,37	4,80 ± 0,13	53,39 ± 4,89	95,92
Botón de oro (arbustos)	60,93 ± 26,94	2,53 ± 1,12	0,20 ± 0,09	96,10 ± 1,01	4,07

OTMS= oferta total de materia seca; CMS= consumo de materia seca de forraje.

Cuadro 5. Desarrollo productivo de las novillas parar el efecto tratamiento, y para la interacción tratamiento x pastoreo.

	Tratamiento		Pastoreo 1		Pastoreo 2		
Variable	MONO	SSP	MONO	SSP	MONO	SSP	p-value
Peso (kg)	$219,75^{a}$±28,41	$217,25^{b}$±39,81	$209,75^{c}$±29,63	$202,91^{d}$± 41,05	$234,75^{b}$±19,84	$238,75^{a}$± 27,81	0,0073
GDP (kg/animal/día)	$0,478^{b}$±0,21	$0,743^{a}$±0,37	$0,561^{b}$±0,24	$0,930^{a}$± 0,38	$0,354^{cd}$±0,09	$0,462^{cd}$± 0,05	0,0421
AC (cm)	$114,95^{a}$±4,69	$115,05^{a}$±5,58	$113,83^{bcd}$±4,89	$112,45^{bcd}$±5,44	$116,62^{bcd}$±4,10	$117,12^{a}$±5,46	0,0149
PT (cm)	$150,9^{a}$±7,10	$151,45^{a}$±14,63	$148,33^{a}$±7,12	$147,83^{a}$±15,24	$154,75^{a}$±5,39	$156,87^{a}$±12,66	0,7901
LC (cm)	$129,2^{a}$±7,32	$126,35^{a}$±9,95	$127,08^{a}$±7,70	$123,16^{a}$±10,34	$132,37^{a}$±5,75	$131,12^{a}$±7,58	0,9018

MONO=Monocultivo; SSP=Sistema silvopastoril; GDP= Ganancia de peso;
AC= Altura a la cruz; PTT= Perímetro torácico;
LC= Longitud corporal; diferentes letras en la fila diferencias indican diferencias significativas según la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0,05$).

los animales, reflejado en el peso y las medidas bovinométricas halladas al inicio de este estudio.

Las ganancias de peso del presente trabajo fueron favorables para ambos tratamientos, aunque con valores promedio más altos entre tratamientos para el SSP (0,743 kg/animal/día), así como para el primer pastoreo (0,930 kg/animal/día). Los valores observados en este trabajo, se hallaron en un rango similar con relación al estudio en el que se evaluó un SSP de toledo y cratylia con un monocultivo de toledo (0,46-0,82 kg/animal/día) [21], Mientras que, con respecto a otros estudios, con reportes para el SSP de 0,29-0,72 kg/animal/día [32] y de 0,55-0,6 kg/animal/día [33], las ganancias de peso observadas fueron superiores. Los datos citados y los del presente estudio podrían indicar que el cambio en los esquemas de pastoreo, al integrar otros estratos que contribuyan nutricionalmente a la dieta, favorecen notablemente las ganancias de peso de los animales sin tener que recurrir a fuentes de suplementación externas al sistema de pastoreo.

En lo que concierne a las mediciones bovinométricas, en el presente estudio, sólo se hallaron diferencias significativas para la altura a la cruz, que tuvo un promedio por tratamiento de 115,05 ± 5,58 cm para el SSP y 114,95 ± 4,69 cm para el MONO, con efecto únicamente para la interacción tratamiento x pastoreo (cuadro 5). La AC favoreció al SSP en ambos pastoreos comparándolo con el MONO, mientras que para el PT (151,45 ± 14,63 cm para el SSP, y 150,9 ± 7,10 cm para el MONO) y la LC (126,35 ± 9,95 cm para el SSP, y 129,2 ± 7,32 cm para el MONO), no hubo diferencias significativas ni para el efecto del tratamiento, del pastoreo, ni de la interacción tratamiento x pastoreo.

Cabe anotar, que las mediciones bovinométricas han sido utilizadas en ganadería, con el fin de poder establecer criterios de selección relacionados con el desarrollo de los animales y el peso de los mismos [34]. Por lo anterior, medidas como la altura al sacro, el perímetro torácico, la longitud corporal, la amplitud de cadera, amplitud de isquiones, longitud del anca y circunferencia testicular (machos) han sido evaluadas en modelos de predicción del peso vivo del animal en diversas razas y esquemas productivos [35]. Los resultados hallados en esta investigación corresponden a animales con bajo peso y bajas medidas bovinométricas para la edad, lo que se podría explicar por el atraso que traían estas novillas, debido al tipo de sistema en que estuvieron pastoreando en los meses posteriores al destete, con una oferta forrajera baja y de pobre calidad.

CONCLUSIONES

Este estudio revela la pertinencia de los SSP como alternativa para mejorar la productividad de las ganaderías, máxime si se considera que el modelo actual tipo extensivo en ganadería de carne va en detrimento no solo de los rendimientos económicos, sino de la sostenibilidad ambiental.

Así mismo, con un mínimo manejo agronómico y usando especies adaptables a suelos de baja fertilidad, se podría obtener una buena oferta forrajera y buenas ganancias de peso. Aunque se considera necesario tener en cuenta que, para evitar atrasos en el desarrollo de novillas, sería pertinente su pastoreo en un SSP para ramoneo directo desde el destete, esto podría favorecer no solo el desarrollo productivo sino reproductivo, que en este caso no fue posible evaluar, porque el diagnóstico inicial determinó que ya había un retraso en el desarrollo, el cual no podría ser compensado con el tiempo evaluado en el presente estudio, sino que requeriría de acciones más prolongadas.

De igual modo, es importante anotar que en animales que vienen de un manejo extensivo, se requiere un pastoreo completo de acostumbramiento previo a las evaluaciones productivas, dado que la reducción de su espacio de movilización y el uso de cinta eléctrica puede tener un efecto negativo sobre las ganancias de peso, debido a que las razas cebuinas y sus cruces con *Bos taurus* o con razas criollas como en este caso, podrían exhibir dificultades para adaptarse a espacios de pastoreo más reducidos, ya que no han sido manejadas bajo este esquema desde edades tempranas, tal como se pudo observar en el periodo de acostumbramiento implementado en este estudio.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad de Antioquia, y al departamento de Formación Académica de Haciendas, por el apoyo logístico y financiero para el desarrollo del proyecto “Uso de arbustivas forrajeras en la cría y levante de ganado BON x Cebú en Caucasia, Antioquia”. De igual forma, extienden sus agradeci-

mientos a la Cooperativa Colanta por el convenio de cooperación interinstitucional con la Universidad de Antioquia, que permitió el otorgamiento de becas a los mejores promedios de cada posgrado de la Facultad de Ciencias Agrarias, y de las cuales resultó beneficiada la estudiante de Maestría del presente artículo.

REFERENCIAS

[1] INSTITUTO DE HIDROLOGÍA, METEOROLOGÍA Y ESTUDIOS AMBIENTALES (IDEAM) Y UNIVERSIDAD DE CIENCIAS APLICADAS Y AMBIENTALES (U.D.C.A). Estudio nacional de la degradación de suelos por erosión en Colombia. Bogotá (Colombia): 2015, 62 p.

[2] COLOMBIA: DEPARTAMENTO ADMINISTRATIVO NACIONAL DE ESTADÍSTICA (DANE). Boletín Técnico [online]. 2017. Disponible: https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/enda/ena/2017/boletin_ena_2017.pdf citado 10 de septiembre de 2019.

[3] MAURICIO, R., SANDIN, R., MURGUEITIO, E., CHARÁ, J. and FLORES, M. Silvopastoral systems in Latin America for biodiversity, environmental, and socioeconomic improvements. In: Agroecosystem Diversity. Massachusetts (Estados Unidos): Elsevier, 2019, p. 287-297. doi: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811050-8.00018-2

[4] SOTELO, M., SUÁREZ, J., ÁLVAREZ, F., NUÑEZ, A., CALDERÓN, V. y ARANGO, J. Sistemas sostenibles de producción ganadera en el contexto amazónico- Sistemas silvopastoriles: ¿una opción viable?. 1 ed. Cali (Colombia): Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), 2017, 24 p.

[5] DE OLIVEIRA, F., DETMANN, E., DE CAMPOS, S., BATISTA, E., DE ALMEIDA, R., MEDRADO, M. and RIBEIRO, A. Intake, digestibility, and rumen and metabolic characteristics of cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogen and different levels of starch. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 30(6), 2017, p. 797-803. https://doi.org/10.5713/ajas.16.0629

[6] MAGESTE, D., MARCONDES, M., NAVAJAS, L., PEREIRA, L., MARTINS, L., CONTRERAS, D., CASTAÑO, F., VELEZ, F., CASTAÑO, J., FRANCO, C., SOTELO, D., DE MOURA, F. and FONSECA, M. Nutritional planning for Nellore heifers post-weaning to conception at 15 months of age : performance and nutritional , metabolic, and reproductive responses. Tropical Animal Health and Production, 51, 2019, p. 79-87. doi: https://doi.org/10.1007/s11250-018-1662-z

[7] CALDERÓN, M., BOSA, L., YASNÓ, D. y SALDAÑA, L. Relación nutrición-fertilidad en hembras bovinas en clima tropical - Relationship nutrition-fertility in female cattle in tropical climate. Revista electrónica de Veterinaria, 18(9), 2017, p. 1-19. https://www.redalyc.org/pdf/636/63653009019.pdf

[8] LEA, R. and ENGLAND, G. Puberty and Seasonality. In: Veterinary reproduction and obstetrics. 10 ed. Amsterdam (Netherland): Saunders Ltd., 2018, p. 54-62.

[9] LARSON, R. and WHITE, B. Beef heifer development. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 32, 2016, p. 285-302. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2016.01.003

[10] PERRY, G. Factors affecting puberty in replacement beef heifers. Theriogenology. 86, 2016, p. 373-378. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.04.051

[11] GUZMÁN, A., HERNÁNDEZ, C., ROSALES, A. and HERNÁNDEZ, J. Leptin regulates neuropeptides associated with food intake and GnRH secretion. Annales dÉndocrinologie, 80, 2019, p. 38-46. doi: http://doi.org/10.1016/j.ando.2018.07.012

[12] PARKINSON, T. Infertility in the Cow Due to Functional and Management Deficiencies. In: Veterinary reproduction and obstetrics. 10 ed. Amsterdam (Netherland): Saunders Ltd., 2018, p. 361-407.

[13] DE CASTRO, D., GUIMARÃES, R., VILELA, L., ALCANTARA G. and FERNANDES, A. Implementation of silvopastoral systems in Brazil with *Eucalyptus urograndis* and *Brachiaria brizantha*: Productivity of forage and an exploratory test of the animal response. Agriculture, Ecosystems and Environment, 266, 2018, p. 174-180. doi: http://doi.org/10.1016/j.agee.2018.07.017

[14] ARGÜELLO, J., MAHECHA, L. and ANGULO, J. Fodder shrubs relevance in cattle systems of Colombian low altitude lands. Agronomía Mesoamericana, 30(3), 2019, p. 899-915. doi:http:///doi.org/ 10.15517/am.v30i3.35136

[15] MAHECHA, L., ANGULO, J. y BARRAGÁN, W. Calidad nutricional, dinámica fermentativa y producción de metano de arreglos silvopastoriles. Agronomía Mesoamericana, 28(2), 2017, p. 371-387. doi: http://doi.org/10.15517/ma.v28i2.22750

[16] GALLEGO, L., MAHECHA, L. y ANGULO, J. Calidad nutricional de *Tithonia diversifolia* Hemsl. A Gray bajo tres sistemas de siembra en el trópico alto. Agronomía Mesoamericana, 28(1), 2017, p. 213-222. doi: http://doi.org/10.15517/am.v28i1.21671

[17] HAYDOCK, K. and SHAW, N. The Comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry, 15, 1975, p. 663-670.

[18] MEJÍA, E., MAHECHA, L. y ANGULO, J. Consumo de materia seca en un sistema silvopastoril de *Tithonia diversifolia* en trópico alto. Agronomía Mesoamericana, 28(2), 2017, p. 38-46. doi: http://doi.org/10.15517/ma.v28i2.23561

[19] CUARTAS, C., NARANJO, J., TARAZONA, A., MURGUEITIO, E., CHARÁ, J., KU VERA, J., SOLORIO, F., FLORES, M., SOLORIO, B. and BARAHONA, R. Contribution of intensive silvopastoral systems to animal performance and to adaptation and mitigation of climate change. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 27(2), 2014, p. 76-94.

[20] RIVERA, J., CUARTAS, C., NARANJO, J., TAFUR, O., HURTADO, E., ARENAS, F., CHARÁ, J. y MURGUEITIO, E. Efecto de la oferta y el consumo de *Tithonia diversifolia* en un sistema silvopastoril intensivo. Livestock Research for Rural Development [online]. 2015. Disponible: http://www.lrrd.org/lrrd27/10/rive27189.html citado 19 de septiembre de 2019.

[21] VALLES DE LA MORA, B., CASTILLO, E., ALONSO, M., OCAÑA, E. and JARILLO, J. Live-weight gains of Holstein x Zebu heifers grazing a *Cratylia argentea* / Toledo-grass *(Brachiaria brizantha)* association in the Mexican humid tropics. Agroforest Systems, 91, 2017. doi: http://doi.org/1057-1068. 10.1007/s10457-016-9980-5

[22] DA SILVEIRA, L., SANTIAGO, R., SAVIAN, J., BERNDT, A., MOLETTA, J., PORFÍRIO-DA-SILVA, V., BAYER, C. and DE FACCIO, P. Performance and methane emissions by beef heifer grazing in temperate pastures and in integrated crop-livestock systems : The effect of shade and nitrogen fertilization. Agriculture, Ecosystems and Environment, 253, 2018, p. 90-97. doi: https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.11.009

[23] DA SILVA, L., PEREIRA, O., DA SILVA, T., VALADARES, S. and RIBEIRO, K. Effects of silage crop and dietary crude protein levels on digestibility, ruminal fermentation, nitrogen use efficiency, and performance of finishing beef cattle. Animal Feed Science and Technology, 220, 2016, p. 22-33. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.07.008

[24] HIMANSHU, H., MURPHY, J., GRANT, J. and O'KIELY, P. Synergies from co-digesting grass or clover silages with cattle slurry in in vitro batch anaerobic digestion. Renewable Energy, 127, 2018, p. 474-480. doi: https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.04.086

[25] GAVIRIA, X., NARANJO, J., BOLÍVAR, D. y BARAHONA, R. Consumo y digestibilidad en novillos cebuInos en un sistema silvopastoril intensivo. Archivos de Zootecnia, 64(245), 2015, p. 21-27.

[26] VERDECIA, D., RAMÍREZ, J., LEONARD, I., ÁLVAREZ, Y., BAZÁN, Y., BODAS, R., ANDRÉS, S., ÁLVAREZ, J., GIRÁLDEZ, F. y LÓPEZ, S. Calidad de la *Tithonia diversifolia* en una zona del Valle del Cauto. Revista electrónica de Veterinaria, 12(5), 2011, p. 1-13.

[27] RUÍZ, T., ALONSO, J., FEBLES, G., GALINDO, J., SAVÓN, L., CHONGO, B., TORRES, V., MARTÍNEZ, Y., LA O, O., GUTIÉRREZ, D., CRESPO, G., CINO, D., SCULL, I. y GONZÁLEZ, J. *Tithonia diversifolia*: I. Estudio integral de diferentes materiales para conocer su potencial de producción de biomasa y calidad nutritiva. Avances en Investigacion Agropecuaria, 20(3), 2016, p. 63-82.

[28] CASTAÑEDA, N., ÁLVAREZ, F., ARANGO, J., CHANCHY, L., GARCÍA, G., SÁNCHEZ, V., SOLARTE, A., SOTELO, M. y ZAPATA, C. Especies vegetales útiles para sistemas silvopastoriles del Caquetá. 1 ed. Cali (Colombia): Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), 2016, 84 p.

[29] PACIULLO, D., LOPES, F., MALAQUIAS, J., FILHO, A., RODRIGUEZ, N., MORENZ, M. e AROEIRA, L. Características do pasto e desempenho de novilhas em sistema silvipastoril e pastagem de braquiária em monocultivo. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 44(11), 2009, p. 1528-1535.

[30] MAHECHA, L. and ANGULO, J. Nutrient Management in Silvopastoral Systems for Economically and Environmentally Sustainable Cattle Production: A Case Study from Colombia. In: Soil Fertility Improvement and Integrated Nutrient Management - A Global Perspective. 1 ed. Rijeka (Croacia): InTech, 2012, p. 201-216. doi: https://doi.org/10.5772/29476

[31] TAPASCO, J., MARTÍNEZ, J., CALDERÓN, S., ROMERO, G., ORDÓÑEZ, D, ÁLVAREZ, A., SÁNCHEZ, L. y LUDEÑA, C. Impactos económicos del cambio climático en colombia: Sector ganadero [online]. 2015. Disponible: z: https://publications.iadb.org/bitstream/handle/11319/7186/Impactos_economicos_cambio_climatico_Colombia_Sector_Ganadero.pdf?sequence=1 citado 21 de septiembre de 2019.

[32] PACIULLO, D., TAVARES, C., MIRANDA, C., MARTINS, R., ÁVILA, M., MULLER, M. and FERREIRA, D. Performance of dairy heifers in a silvopastoral system. Livestock Science, 141, 2011, p. 166-172. doi: http://doi.org/ 10.1016/j.livsci.2011.05.012
[33] VEGA, A., HERRERA, R., LAMELA, L., SANTANA A. y RODRÍGUEZ, G. Evaluación en Silvopastoreo y monocultivo de hembras Charolaise en crecimiento en el oriente cubano. Revista Electronica de Veterinaria, 14(2), 2013, p. 10-11.
[34] LUKUYU, M., GIBSON, J., SAVAGE, D., DUNCAN, A., MUJIBI, F. and OKEYO, A. Use of body linear measurements to estimate liveweight of crossbred dairy cattle in smallholder farms in Kenya. SpringerPlus, 5(63), 2016, p. 1-14. doi: http://doi.org/10.1186/s40064-016-1698-3
[35] VARGAS, S. y MANRIQUE, C. Relación de medidas bovinométricas y su proporcionalidad con el peso de animales Senepol en Colombia. Revista MVZ Córdoba, 22(3), 2017, p. 6320-6333. doi: http://doi.org/10.21897/rmvz.1136

BIOTECNOLOGÍA
EN EL SECTOR AGROPECUARIO
Y AGROINDUSTRIAL

· ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA ·

Vol. 18 No 2 · Julio - Diciembre 2020 · ISSN - 1692-3561 · ISSN-e 1909-9959 · DOI: http://dx.doi.org/10.18684

Micropropagation of *Gynerium sagitatum* Aubl. cvs "criolla", "costera" and"martinera"*

Micropropagación de *Gynerium sagitatum* Aubl. cvs "criolla", "costera" y "martinera"

Micropropagação do *Gynerium sagitatum* Aubl CVS "criolla", "costera" e "martinera"

ISIDRO ELÍAS SUÁREZ-PADRÓN[1], CARLOS ALFREDO PÉREZ-ABDALA[1],
CLAUDIA MARCELA, LÓPEZ-DÍAZ[1]

ABSTRACT

Arrowcane (Gynerium sagitatum Aubl.) (Poaceae) is the fiber source for Colombian most famous handicrafts; however, there are no commercial crops and natural population have decreased jeopardizing artisan activity and associated ecosystems. To provide a

Historial del Artículo
Recibido para evaluación: 24 de Noviembre 2019.
Aprobado para publicación: 4 de Mayo 2020.

* Proyecto de investigación de orígen: "Micropropagación de tres variedades de caña flecha (*Gynerium sagitatum* Aubl.)" Código FCA 03-16, 2. Financiación: Vicerrectoría de Investigación y Extensión, Universidad de Córdoba. Culminación 3 dicembre 2018.

1 Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias Agrícolas, Instituto de Biotecnología Aplicada para el Caribe Colombiano (IBAC).Ph.D Biotecnología. Córdoba, Colombia. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8926-2781, https://orcid.org/0000-0002-0764-6280, https://orcid.org/0000-0001-6961-3153.

Correspondencia: iesuarez@correo.unicordoba.edu.co

Cómo citar este artículo: ISIDRO ELÍAS, SUÁREZ-PADRÓN, CARLOS ALFREDO, PÉREZ-ABDALA, CLAUDIA MARCELA, LÓPEZ-DÍAZ. Micropropagation of Gynerium sagitatum Aubl. cvs "criolla, "costera" and"martinera". Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial,18(2).xx-xx, DOI:http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(18)60-69

mechanism for plant material supply for planting, micropropagation of three arrowcane cultivars was evaluated. Explant from "Criolla", "Martinera" and "Costera" Cvs were in vitro established and multiplied using different BAP concentrations, followed by in vitro rooting in medium with several NAA levels and transfer to Ex vitro conditions. Treatments were distributed with a complete randomized design, data were analyzed with an ANOVA and means separated with Tukey test. BAP statistically increased multiplication rates. NAA promoted adventitious root formation while decreased root length. Complete Ex vitro adaptation occurred for all three cultivars indicating the development of an efficient micropropagation protocol to provide large quantity of high quality arrow cane plants.

RESUMEN

La Caña flecha (Gynerium sagitatum Aubl.) (Poaceae) es la fuente de fibra para las más famosas artesanías colombianas; sin embargo, no existen cultivos comerciales y las poblaciones naturales han disminuido, amenazando la actividad artesanal y los ecosistemas asociados. Con el fin de proveer un mecanismo que suministre plantas para el establecimiento de cultivos, la micropropagación de tres cultivares de caña flecha fue evaluada. Explantes de los cultivares "Criolla, "Martinera" y "Costera" fueron establecidos in vitro y multiplicados usando diferentes concentraciones de BAP, seguido por el enraizamiento in vitro en presencia de diferentes niveles de ANA y transferidos a condiciones Ex vitro. Los tratamientos fueron distribuidos con un DCA, los datos analizados con ANOVA y los promedios separados con la prueba de Tukey. BAP incremento estadísticamente las tasas de multiplicación. ANA promovió la formación de raíces adventicias al tiempo que redujo la longitud de las raíces. Las plantas de los tres cultivares se adaptaron totalmente a las condiciones Ex vitro, indicando el desarrollo de un eficiente protocolo de micropropagación para proveer grandes cantidades de plantas de alta calidad.

KEYWORDS:
Brave cane, Propagation, *In vitro* multiplication, *In vitro* rooting, *Ex vitro.*

PALABRAS CLAVE:
Caña Brava, Propagación, Multiplicación *in vitro*, Enraizamiento *in vitro*, *Ex vitro*.

RESUMO

A cana-do-rio ou cana-flecha (Gynerium sagitatum Aubl.) (Poaceae) é a fonte de fibra para os mais famosos artesanatos colombianos; no entanto, não existem cultivares comerciais e as populações naturais estão diminuído, Ameaçando a actividade artesanal e os ecossistemas associados. Para estabelecer um mecanismo que fornece plantas para o estabelecimento das culturas, foi avaliada a micropropagação de três cultivares de cana-de-flecha. Explantes das cultivares "Criolla," Martinera "e" Coastal "foram estabelecidos in vitro e multiplicados usando diferentes concentrações de BAP, posteriormente submetidos a enraizamento in vitro na presença de diferentes níveis de ANA e transferidos para condições Ex vitro. Os tratamentos foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, os dados analisados com ANOVA e as médias separadas pelo teste de Tukey. O BAP aumentou estatisticamente as taxas de multiplicação. ANA promoveu a formação de raízes adventícias enquanto reduzia o comprimento das raízes. As plantas das três cultivares foram totalmente adaptadas às condições Ex vitro, indicando o desenvolvimento de um protocolo de micropropagação eficiente para fornecer grandes quantidades de plantas de alta qualidade.

PALABRAS - CHAVE:
Cana brava, Propagação, Multiplicação *in vitro*, Enraizamento *in vitro*, *Ex vitro*.

INTRODUCTION

Gyneriun sagitatum Aubl. (Poaceae) is a perennial, giant, rhizomatous, reed grass with erectus stems basal clothed with bladeless sheaths while the upper part has the unfold leaf blades with an open fanshaped form. Leaves are bright green 160 to 230 cm long and 8 to 14 cm wide; a culm can form as much as 200 leaves during lifetime with 19 to 28 fresh blades at any time [1,2]. For centuries, in the flatlands of Córdoba and Sucre Departments (Colombia), indigenous *Zenú* communities have used arrow cane central nerve to make distinctive handicrafts worldwide known because of their beauty and tradition; one of the best known is the Sombrero Vueltiao established as Colombian cultural symbol; however, increasing demand of arrowcane products has negatively impacted arrow cane natural populations affecting not fiber availability but also associated wetland ecosystems. The growing handicraft market will require enough fiber supply to sustain increasing sales, to reduce the negative impact on the environment and to maintain the *Zenú* artisan legacy.

Arrow cane seeds produced in humid Caribbean are unviable; therefore, establishing an efficient clonal plant propagation system for large production of plant material has been a challenge. Cutting treatments such as source (aerial, underground), length, position (vertical, horizontal), substrate and hormone addition for rooting has been evaluated; however, most results showed the need for large cutting portions (<30 cm) making inefficient large-scale propagation using this method [3,4]. Micropropagation instead has been proved to be an efficient technique to produce large quantities of high quality plants from arrow cane Cv "Criolla" using explants with pre-existing meristems [4,5,6, 7,8,9], but there are several other cultivars used by growers and artisans based on fiber softness, resistance and availability. In the present work, the micropropagation of arrow cane cultivars "Criolla", "Costera" and "Martinera" were evaluated as a way for providing an efficient plant propagation system for establishing commercial arrow cane crops for fiber supply, for craftsmanship industry and to contribute to lower artisan activity impact on the environment.

METHOD

The study was done at the Plant Biotechnology Lab of the Biotechnology Institute of the Colombian Caribbean at the Agricultural Sciences School of the Universidad de Córdoba, Monteria, Colombia, located at Latitude 8° 31' North and Longitude75° 58' to Greenwich Meridian.

Plant material

Explants were isolated from *in vitro* established arrow cane cultivars "Criolla", "Martinera" and "Costera" cultured in 250 cm^3 flasks containing 30 mL of semisolid Murashige and Skoog (MS) medium [10] with (in mg L^{-1}) myo inositol (100), sucrose (30.000), thiamine HCl (0,4) and TC agar (8.000) (Sigma Co.). Flasks were covered with two layers of heavy-duty aluminum foil, sealed with Nescofilm® and maintained at 20 °C with 12 h photoperiod (40 µmol m^2 s^2). Plants were maintained for more than a year with transfer to fresh medium of the same formulation every four weeks.

Shoot multiplication

Explants, consisting of clusters with three shoots isolated from *in vitro* growing "Criolla", "Costera" and "Martinera" plants, were established into 200 cm^3 flasks similar conditions to establishing stage except for addition of four benzylaminopurine (BAP) concentrations (0,0; 0,5; 1,0 and 1,5 mg L^{-1}). The experiment was a 2-way factorial (3 cultivars x 4 BAP levels) with 12 treatments and 10 replicates per treatment; the experimental units (120) were distributed using a complete randomized design. After six weeks in culture, the variables number of new shoots per explant and the average shoot length were registered. Data were analyzed using an ANOVA based on the model:

$$Y\,ik = \mu + \mathrm{T}i + \beta j + (\mathrm{T}\beta) + \mathrm{E}iik \qquad \text{(Ec. 1)}$$

where µ was the general mean, Ti was the effect of cultivar, β*j* was the effect of BAP level and E_{iik} was the experimental error; means were separated with Tukey test (α = 0,05).

In vitro rooting

Three-shoots clusters isolated from *in vitro* multiplied shoots of "Criolla", "Costera" and "Martinera" plants were transferred onto 30 mL semisolid MS with similar conditions to establishing stage except for addition of and independently supplied with four (0,0; 0,5; 1,0 and 1,5 mg L^{-1}) naphthalene acetic acid (NAA). After four weeks in culture, the number of cultures with

roots, the number of roots per culture and the average root length per culture were registered. Collected data were analyzed with ANOVA based on the model:

$$Y_{ik} = \mu + T_i + \beta_j + (T\beta)_{ii} + \varepsilon_{iik} \quad \text{(Ec. 2)}$$

where μ was the general mean, Ti was the effect of cultivar, β*j* was the effect of NAA level and ε_{iik} was the experimental error.

Means were separated with a *Tukey* test (α = 0,05).

Transfer to *Ex vitro* conditions

In vitro rooted and rootless shoots from multiplication stage were transferred to *Ex vitro* conditions in order to evaluate plant survival rate. In both cases, cultures were extracted from the flasks, washed with distilled water to remove medium remains, and planted in 72-plug trays filled with peat as substrate. A single culture was placed in every plug, sprayed with distilled water and the tray covered with a plastic transparent cover. Trays were placed in a shadehouse (50% light) at 28°C with fog irrigation every 4 h during 1 min. After 3 days, covers were removed and irrigation frequency was changed to one every 8 hours. After 40 days, the number of plants that survived was registered.

RESULTS

Shoot multiplication

New shoot growth from established explants was observed for all treatments. Growing shoots emerged from pre-existing meristems present in the original established explant. Cultures from all cultivars showed short stems with small leaves and dark green color as evidence of well adaptation to *in vitro* conditions (Figure 1).

The ANOVA allowed to detect statistical differences (*Pr*< 0,05) among mean results of new shoot formation rate as a result of the effect of cultivar, BAP concentrations in the medium and the interaction between both, cultivar versus BAP concentrations. The collected data showed that the highest multiplication rate (129 new shoots per explant) occurred when explants of "Martinera" were cultured in medium supplied with 1,0 mg L^{-1} BAP; in contrast, the lowest number of new shoots per explant (8,2) were observed in the same cultivar when explants were cultured in absence of BAP (Table 1). The *Tukey* test showed that for all three cultivars, the addition of BAP in the culture medium statistically increased, (>3x), the multiplication rate compared to non BAP-supplied media (Table 1). For cultivars "Criolla" and "Costera" multiplication rate were not different among BAP-supplied treatments; however for "Martinera", 1,0 mg L^{-1} BAP in the medium induced a higher number of new shoots than other BAP treated explants (Table 1). For all cultivars, it was observed that a 1,5 mg L^{-1} BAP supply in the media lowered the formation of new shoots.

For the variable shoot length, the ANOVA showed that length of shoots were statistically different (Pr< 0,05) as a result of the cultivars, BAP treatments and the interaction between both, BAP levels and cultivars. For all cultivars, the longest shoots grew in in media deprived of BAP while those cultured in the 1,5 mg L^{-1} BAP were the shortest (Table 1). There was an evidenced gradual reduction in shoot length as BAP levels were increased. The longest shoot average were registered in "Criolla" shoots cultured

Figure 1. Shoot multiplication of "Costera", "Martinera" and "Criolla" Cultivars.

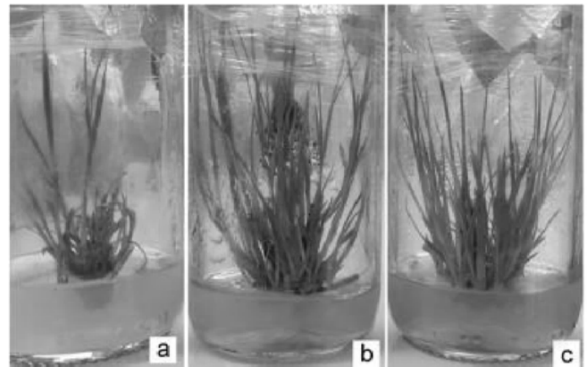


Table 1. Effects of different BAP levels on *in vitro* arrow cane shoot multiplication.

BAP (mg.L^{-1})	Cultivars					
	Criolla		Martinera		Costera	
	Shoot	Shoot length	Shoot	Shoot length	Shoot	Shoot length
0,0	12,3d*	133,6a	8,2d	113,0ab	9,9d	93,7b
0,5	108,6ab	52,4cd	78,0ab	55,9c	34,9c	32,8ef
1,0	121,6ab	32,7ef	129,3a	38,7de	31,8c	27,6f
1,5	71,4b	21,1f	71,4b	33,6ef	23,8c	17,2g

*Numbers with same letter are not different according to Tukey test (α 0,005)

in medium with non-BAP supply while the shortest shoots developed from "Costera" explants cultured in medium supplied with 1,5 mg L^{-1} BAP (Table 1).

In vitro rooting

Adventitious root formation was observed in all cultures; however, statistical differences were detected (*Pr*<0,05) based on the ANOVA analysis with respect to the number and length of adventitious roots as a result of the effect of cultivar and NAA concentrations in the medium (Figure 2).

For cultivars "Criolla" and "Martinera", shoots cultured in NAA-supplied media formed a significant higher number of roots than those cultured in absence of NAA (Table 2); while for "Costera", the number of adventitious roots increased at least 4x in shoots cultured in NAA-supplied media compared to those cultured in simple media (Table 2). For shoots of all cultivars, the number of emerging adventitious roots increased as the NAA concentration in the medium was increased, registering the highest number of roots (73) for "Martinera" shoots cultured in medium supplied with 1,5 mg L^{-1} NAA and the lowest number (5,4) of adventitious roots in "Costera" shoots cultured in medium without NAA (Table 2).

Average length of adventitious root formed *in vitro* showed statistical differences (*Pr*< 0,05) as a result of the effect of cultivar, NAA concentrations and the interaction of both factors. Although, for all cultivars, the longest roots grew in media without NAA, only roots produced from "Martinera" shoots were statistically larger than roots grown from shoots cultured in any NAA supplied media (Table 2). "Criolla" and "Martinera" shoots developed roots that were shorter as NAA concentration in the culture medium was increased, while for "Costera" shoots, root length showed no statistical different at any NAA treatment (Table 2); "Martinera" adventitious roots registered the longest (36,5 cm) and shortest (15,9 cm) average root length.

Plant adaptation to *Ex vitro* conditions

Transplanted *in vitro* rooted plants from all cultivars, as well as rootless shoots from multiplication stage, showed a complete (100%) survival and full adaptation to *Ex vitro* conditions. Four weeks after transplant, plants were healthy, green colored and actively growing with no dead tissues, necrotic areas or adventitious growth (Figure 3). Performance of both, rooted and rootless shoots, on field conditions evidenced that *in vitro* rooting is not necessary for arrowcane micropropagated plants to adapt to *Ex vitro* conditions; this shows that *Ex vitro* transfer from multiplication stage can be performed with no implications for plant survival, but instead time for plant production can be shortened and costs reduced.

Micropropagation is a clonal plant propagation technique to produce plants in aseptically closed recipients with artificial media and stored under controlled environmental factors, that has proved to be very efficient for producing large quantities of high quality plants in comparative short periods of time and reduced space [11, 12, 13]. Arrow cane micropropagation as well as other biotechnological techniques has been performed on "Criolla" cultivar [9]. Artisans prefer *Cv* "Criolla" flexibility and resistance fiber to make hats; however, fiber from other cultivars such as "Martinera" and "Costera" are precious for their softness and plant availability to make shoes, necklace, bracelets, rings and purses. However, in the present research *in vitro* multiplication, rooting and *Ex vitro* adaptation of "Martinera" and "Costera" to "Criolla" plants were evaluated.

In vitro multiplication based on culture of pre-existing meristems is promoted by adding cytokines to the culture medium in order to disrupt apical dominance and induce a repetitive axillary shoot growth [14, 15,16,17,18,19,20,21,22]. The results of the multiplication stage evaluation showed that supplying BAP in the culture medium induced an increase in shoot multiplication rate for all cultivars compared to non-supplied treatments; effects previously reported in different plant species [22, 23]. BAP supply association to increased shoot multiplication for arrow cane micropropagation has been reported for different cultivars and alternative media formulation. A previous study reported significant increase in new shoot formation for cultivars "Criolla", "Criolla 1" and "Martinera" when cultured with different BAP concentrations in double phase (liquid/semisolid) medium system; indicating that cytokine effects on arrow cane *in vitro* multiplication are independent o cultivar and culture system Previous reports on arrow cane micropropagation using semisolid system [4].

Despite the significant increase in BAP presence, shoots of cultivars "Criolla" and "Martinera" multiplied at least 4x more than "Costera" shoots when cultured

in a medium supplied with 1,0 mg L $^{-1}$ BAP. This indicates significant genotype dependent response to culture conditions and BAP supply; however, even for "Costera" shoots, a multiplication rate of >30 shoots per multiplication round means potentially producing >2 million plants in less than a year.

High quality shoot multiplication stage must complain not only for high multiplication rate but also for good size shoots that are able to develop new organs specially when transferred to *Ex vitro* conditions [24, 25, 26]. In the present research, shoots reduced >50% their length when cultured in media supplied with BAP and decreasing as BAP levels increased; however, the shortest shoots were >10 mm. Usually, micropropagated shoots shorter than 10 mm are prone to die when transferring to *Ex vitro* conditions due to shortage in energetic reserve supply [27, 28]. The collected data showed that when shoots were cultured in the presence of 0,5 mg L^{-1} long was at least 33 mm, maintaining a larger standard for plant survival after transferring to *Ex vitro* conditions. Root formation is a critical step for micropropagated plant to be able to take water and minerals [29, 11, 30]. Usually, *in vitro* cultured plants are able to grow without roots since media formulation and environmental conditions protect plants from dehydration and minerals diluted in the medium are easily adsorbed by plants tissues [31]. In contrast, when transferred to *Ex vitro* conditions, roots are necessary for both, water and nutrient uptake [32, 33]. Adventitious root growth from *in vitro* cultured shoots is induced by supplying auxins in the culture medium [34, 35]. In the present research, micropropagated shoots cultured in absence or presence of ANA did form adventitious roots independently of the cultivar, indicating that arrow cane is an easy to root plant species [36]. *In vitro* rooting evaluation is based on both quantity and quality of roots formed.

Figure 2. Root formation with (a) 0,0 – (b) 1,5 – (c) 1,0 and (d) 1,5 mg L^{-1} NAA in the medium.

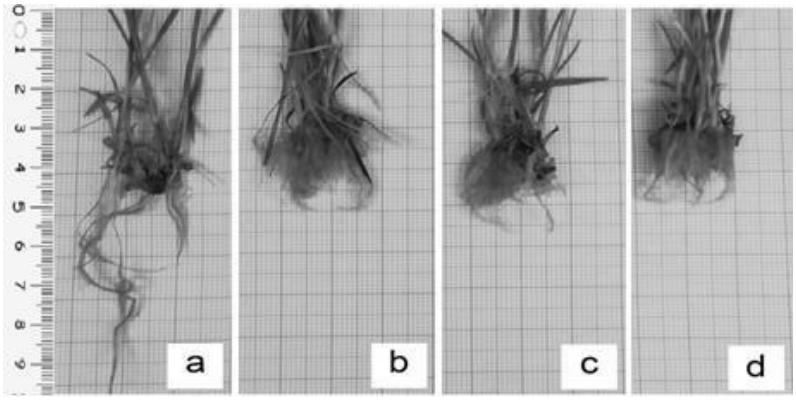


Figure 3. Ex vitro adaptation of micropropagated arrow cane plants cultivars "Criolla and "Martinera".



Table 2. Rooting of three arrow cane cultivars in media with different levels of NAA.

ANA (mg.L^{-1})	Cultivars					
	Criolla		Martinera		Costera	
	Roots	Root length (cm)	Roots	Root length (cm)	Roots	Root length (cm)
0,0	14,4d	34,5ab	7d	36,5a	5,4d	33,0ab
0,5	44,4bc	24,5bcde	43,8bc	19,7cde	23,0cd	29,0abcd
1,1	53,8ab	18,2de	59,4ab	16,2e	47,2 bc	25,3abcde
1,5	63,6ab	17,7de	73,0a	15,9e	56,7ab	30,1abc

*Numbers with same letter are not different according to Tukey test (α 0,005)

For non-NAA supplied treatments, "Criolla" shoots formed >10 roots per explant; however, "Martinera" and "Costera" resulted in low root formation. As observed in previous studies, in the present research, shoots cultured in NAA supplied media formed 4X more roots than those ransferred to simple media with at least 20

adventitious shoots per explant, and increasing the number of roots as NAA level in the medium were augmented [37, 38, 39, 7, 8]. These results showed that the quantity of adventitious roots formed *in vitro* by arrow cane micropropagated shoots increases when shoots are cultured in the presence of NAA in the medium, independently of the genotype. However, with respect to root quality, length and width of roots considered as indicators[40,41, 42], Long-thin roots are usually considered inconvenient since they are fragile and transfer to *Ex vitro* may require trimming that opens wounds for microbial contamination under *Ex vitro* conditions. Non-supplied NAA treatments not only induced a lower number of roots but also larger roots than those produced by shoots cultured with NNA-supplied media. The *in vitro* rooting data collected in the present research suggests that NAA supply not only increases the number of adventitious roots but also improves quality of root formation.

Ex vitro adaptation is the stage where micropropagated plants are adapted to regular environmental conditions. Two are the major problems for micropropagated plants to survive *Ex vitro* conditions: low control of water loss and low photosynthetic competence [43, 44]. *In vitro* micropropagated plants are cultured in culture media with >90% water inside sealed containers that produce a highly saturated humid environment. Under these conditions, plants do not develop mechanism to control water loss, such as stomata closure and cuticle accumulation; therefore, if transferred directly to outside conditions, tissues will rapidly dehydrate to death. To avoid this situation, *in vitro* maintained plants must be transferred initially to a water saturated environment, usually modified with fog irrigation systems to protect plants from high water loss. On the other hand, *in vitro* cultivated plants grow under low light intensity that results in a deficient chloroplast development and incompetence for photosynthesis activity; therefore, during adaptation to *Ex vitro* conditions sunlight should be increased gradually to avoid plant loss and induce new leaf formation to acquire full photosynthetic competence. Energy required for new leaf development is obtained from energetic reserves store in Shoots organs such as stem and leaves, developed *in vitro* [45, 46, 47, 48, 49, 50]. In the present research, micropropagated shoots, with and without adventitious roots, were transferred to *Ex vitro* conditions in a shadehouse with fog irrigation. Both conditions were gradually reduced until plants were established under complete sunlight with a single daily irrigation. Independently from cultivar, all plants transferred to *Ex vitro* conditions fully adapted and survived (100% survival). These results confirm once again that direct transfer of arrow cane shoots from propagule multiplication stage to *Ex vitro* adaptation do not have any effect on plant survival rates compared to transferring of *in vitro* rooted shoots but instead reduces costs and time.

CONCLUSIONS

BAP supply in the medium increased *in vitro* shoot multiplication rates and reduces shoot length for arrow cane micropropagated plants cultivars “Criolla”, “Martinera” and “Costera”. Addition of NAA in the culture medium for root formation increased the number of adventitious roots formation for arrow cane micropropagated plants cultivars “Criolla”, “Martinera” and “Costera”. *In vitro* rooting did not have effect on survival rates of for arrow cane micropropagated plants cultivars “Criolla”, “Martinera” and “Costera” when transferred to *Ex vitro* conditions. The present micropropagation protocol offers the opportunity for large quantity of arrow cane plant production of “Criolla”, “Martinera” and “Costera” cultivars.

REFERENCES

[1] UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). Gynerium sagittatum (Aubl.) P. Beauv. Agricultural Research Service, National Plant Germplasm System. Germplasm Resources Information Network (GRIN-Taxonomy). [online]. 2019. Disponible: https://npgsweb.arsgrin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx?id=18116. Citado 2 Octubre 2019.

[2] KALLIOLA, R., PUHAKKA, M. and SALO, J. Intraspecific variation, and the distribution and ecology of *Gynerium sagittatum* (Poaceae) in the western Amazon. Flora, 186 3(4), 1992, p. 153 – 167. doi: https://doi.org/10.1016/S03672530(17)30531-5.

[3] HERNÁNDEZ, J., ARAMENDIZ, H. y CARDONA, C. Influencia del ácido indolbutírico sobre el enraizamiento de esquejes de caña flecha (*Gynerium sagittatum* Aubl.). Temas Agrarios, 10(1), 2005, p. 5-13, doi: https://doi.org/10.21897/rta.v10i1.626

[4] LÓPEZ, C. and SUÁREZ, I. E. *In vitro* arrow cane (*Gynerium sagitatum* Aubl.) multiplication in double phase medium. Revista de Ciencias Agrícolas, 35(2), 2018, p. 5-13. doi: https://doi.org/10.22267/rcia.183502.86.

[5] SUAREZ, I., ORTIZ, O. and LOPEZ, C. Arrow cane (*Gynerium sagitatum* Aubl.) in vitro rhizome formation and plantlet recovery. Temas Agrarios, 22(1), 2017, p.11-20, DOI: https://doi.org/10.21897/rta.v22i1.911.

[6] SUAREZ, I., PASTRANA, I. RIVERA H. Biotecnología Aplicada a la Caña Flecha (*Gynerium sagitatum* Aubl.). 1 ed. Montería (Colombia): Editorial Universidad de Córdoba, 2013, 72 p.

[7] SUAREZ, I., ARAMENDIZ H. PASTRANA, I. Micropropagación de Caña Flecha (*Gynerium sagittatum* Aubl.). Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín, 62(2), 2009, p. 5135-5143.

[8] PASTRANA, I. y SUÁREZ, I. Producción de plantas de caña flecha (*Gynerium sagittatum*) "Criolla" a través de micropropagación. Temas Agrarios, 14(2), 2009, p. 4-13: doi: https://doi.org/10.21897/rta.v14i2.671.

[9] KANE, M. Micropropagation from pre-existing meristems, Trigiano, R. N., Gray, D. J. Eds. Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Excercises. 2 ed. London (United KImdom): Boca Ratón CRC Press, 1996, 472 p.

[10] MURASHIGE, T. and SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum, 15(3), 1962, p. 473–497.

[11] JOO, S.J., YOON, A.R., KIM, Y.G., MOON, B.C., KOMAKECH, R. and KANG, Y. In vitro propagation of *Trichosanthes kirilowii* Maxim. through nodal segment shoot proliferation. *In Vitro* Cellular & Developmental Biology – Plant, 2019, p. 1-8. doi: https://doi.org/10.1007/s11627019-10010-w.

[12] SINGH, A.J. Efficient Micropropagation Protocol for *Jatropha Curcas* Using Liquid Culture Medium. Journal of crop science and biotechnology. Journal of Crop Science and Biotechnology, 21(1), 2018, p. 89-94. doi: https://doi.org/10.1007/s12892017-0004-0.

[13] SAFARPOUR, M., SINNIAH, U.R., SUBRAMANIAM, S. and SWAMY, M.K. A novel technique for *Musa acuminata* Colla 'Grand Naine' (AAA) micropropagation through transverse sectioning of the shoot apex. *In Vitro* Cellular & Developmental Biology Plant, 53(3), 2017, p. 226-238. doi: https://doi.org/10.1007/s11627017-9809-6.

[14] AGUILAR, J. y RODRÍGUEZ, J. Micropropagación y aclimatación de Maguey Pitzometl (*Agave marmorata* Roezl) en la Mixteca Poblana. Revista Colombiana de Biotecnología, 20(2), 2018, p. 124-131. doi: https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v20n2.77084.

[15] NUNES, S., SOUSA, D., PEREIRA, V.T., CORREIA, S., MARUM, L., SANTOS, C. and DIAS, M.C. Efficient protocol for *in vitro* mass micropropagation of slash pine. In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant, 54(2), 2018, p. 175-183. doi: https://doi.org/10.1007/s11627018-9891-4.

[16] PALIWAL, A., SHEKHAWAT, N.S. and DAGLA, H.R. Micropropagation of *Glossonema varians* (Stocks) Benth. ex Hook.f. -a rare Asclepiadeae of Indian Thar Desert. *In Vitro* Cellular & Developmental Biology Plant, 54(6), 2018, p. 637-641. doi: https://doi.org/10.1007/s11627018-9935-9.

[17] QUIROZ, K.A., BERRIOS, M., CARRASCO, B., RETAMALES, J.B., CALIGARI, P. and GARCÍA, R. Meristem culture and subsequent micropropagation of Chilean strawberry (*Fragaria chiloensis* (L) Duch.). Biological Research, 50(1), 2017, p. 1-11. doi: https://doi.org/10.1186/s40659017-0125-8.

[18] STOCH, W., RODRIGUES, J., SANTOS, E, DE ALMEIDA, L., PASSOS, A. and RALPH, A. Photosynthetic apparatus performance in function of the cytokinins used during the in vitro multiplication of *Aechmea blanchetiana* (Bromeliaceae). Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 133, 2018, p. 339-350. doi: https://doi.org/10.1007/s11240-018-1385-x.

[19] CIVATTI, L.M., MARCHI, M.N., SCHNADELBACH, A.S. and BELLINTANI, M.C. In vitro multiplication and genetic stability of two species of *Micranthocereus Backeb*. (Cactaceae) endemic to Bahia, Brazil. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 131, 2017, p. 537–545. doi: http://dx.doi.org/10.1007/s11240-017-1304-6.

[20] ERGÜL, A., KHABBAZI, S.D., OĞUZ M.Ç., ÖZMEN , C.Y., GÜREL ,S. and GÜREL ,E. In vitro multiplication of wild relatives in genus *Beta* conserves the invaluable threatened germplasms. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 134, 2018, p.169-175. doi: https://doi.org/10.1007/s11240-018-1410-0

[21] SUÁREZ, I. Biotecnología Vegetal Agrícola. Ed. Universidad de Córdoba, (Colombia), 2005, 120 p.

[22] LÁZARO, J.O., MATA, M., GONZÁLEZ, D., ARIAS, S. and REVERCHON, F. *In vitro* propagation of endangered *Mammillaria genus* (Cactaceae) spe-

cies and genetic stability assessment using SSR markers. In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant, 54(5), 2018, p. 518-529. doi: https://doi.org/10.1007/s11627018-9908-z.

[23] STEVENS, M.E. and PIJUT, P.M. Rapid *in vitro* shoot multiplication of the recalcitrant species *Juglans nigra* (L). *In Vitro* Cellular & Developmental Biology Plant, 54(3), 2018, p. 309-317. doi: https://doi.org/10.1007/s11627018-9892-3.

[24] SISUNANDAR., ALKHIKMAH., HUSIN, A., JULIANTO, T., YUNIATY, A., RIVAL, A. and ADKINS, S.W. *Ex vitro* rooting using a mini growth chamber increases root induction and accelerates acclimatization of Kopyor coconut (*Cocos nucifera* L.) embryo culture-derived seedlings. *In Vitro* Cellular & Developmental Biology Plant, 54(5), 2018, p. 508-517. doi: https://doi.org/10.1007/s11627018-9897-y.

[25] AMBROS, E.V., TOLUZAKOVA, S.Y., SHRAINER, L.S., TROFIMOVA, E. G. and NOVIKOVA, T. I. An innovative approach to ex vitro rooting and acclimatization of *Fragaria* × *ananassa* Duch. microshoots using a biogenic silica-and green-tea-catechin-based mechanocomposite. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 54(4), 2018, p. 436-443. doi: https://doi.org/10.1007/s11627018-9894-1.

[26] SISUNANDAR., ALKHIKMAH., HUSIN, A., JULIANTO, T., YUNIATY, A., RIVAL, A. and ADKINS, S. *Ex vitro* rooting using a mini growth chamber increases root induction and accelerates acclimatization of Kopyor coconut (*Cocos nucifera* L.) embryo culture-derived seedlings. In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant, 54, 2018, p. 508-517. doi: https://doi.org/10.1007/s11627-018-9897-y

[27] AMBROS, E., TOLUZAKOVA, S.Y., SHRAINER, L., TROFIMOVA, E. and NOVIKOVA, T. An innovative approach to *ex vitro* rooting and acclimatization of *Fragaria* × *ananassa* Duch. microshoots using a biogenic silica- and green-tea-catechin-based mechanocomposite. *In Vitro* Cellular & Developmental Biology – Plant, 54, 2018, p. 436-443. doi: https://doi.org/10.1007/s11627-018-9894-1.

[28] CASTAÑEDA, O., OGAWA, S., MEDINA, A., CHAVARRIAGA, P. and GOMEZ, M. A simple hydroponic hardening system and the effect of nitrogen source on the acclimation of *in vitro* cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *In Vitro* Cellular & Developmental Biology – Plant, 53(2), 2017, p. 75-85. doi: https://doi.org/10.1007/s11627-016-9796-z

[29] LUCCHESINI, M., PACIFICI, S., MAGGINI, R., PARDOSSI, A. and SODI, A.M. A novel micro-floating culture system for the in vitro rooting of *Echinacea angustifolia* DC: photosynthetic performance and production of caffeic acid derivatives. Plant Cell Tissue and Organ Culture (PCTOC), 136(1), 2019, p. 123-132. doi: https://doi.org/10.1007/s11240-018-1498-2.

[30] LYNCH, J.P. Rightsizing root phenotypes for drought resistance. Journal of Experimental Botany, 69(13), 2018, p. 3279-3292. doi: https://doi.org/10.1093/jxb/ery048.

[31] PHILLIPS, G.C. and GARDA, M. Plant tissue culture media and practices: an overview. *In Vitro* Cellular & Developmental Biology Plant, 55(3), 2019, p. 242-257. doi: https://doi.org/10.1007/s11627019-09983-5.

[32] KODYM, A. and LEEB, C.J. Back to the roots: protocol for the photoautotrophic micropropagation of medicinal Cannabis. Plant Cell Tissue and Organ Culture (PCTOC), 138(2), 2019, p. 399-402. doi: https://doi.org/10.1007/s11240019-01635-1.

[33] TISARUM, R., SAMPHUMPHUNG, T., THEERAWITAYA, C., PROMMEE, W. and CHA-UM, S. *In vitro* photoautotrophic acclimatization, direct transplantation and ex vitro adaptation of rubber tree (*Hevea brasiliensis*). Plant Cell Tissue and Organ Culture (PCTOC), 133(2), 2018, p. 215-223. doi: https://doi.org/10.1007/s11240017-1374-5.

[34] SINGH, R., ANANDHAN, S., GARCÍA, L., RUIZ-MAY, E., NAVA, E. and QUIROZ, F. An efficient protocol for *in vitro* propagation of the wild legume *Cicer microphyllum* Benth. a crop wild relative of chickpea (*Cicer arietinum L.*). In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant, 55, 2019, p. 9-14. doi: https://doi.org/10.1007/s11627-018-09958-y.

[35] NUNES, S., SOUSA, D., TOLENTINO, V., CORREIA, S., MARUM, L., SANTOS, C. and DIAS, M. Efficient protocol for *in vitro* mass micropropagation of slash pine. *In vitro* Cellular & Developmental Biology – Plant, 54, 2018, p.175 -183. doi:10.1007/s11627-018-9891-4.

[36] HARTMANN, H., KESTER, D., DAVIES, F. and GENEVE, R. Hartmann and Kester's plant propagation: Principles and practices. 7th Ed. Saddle River (New Jersey): Pearson, 2002, 880p.

[37] MOTTE, H. and BEECKMAN, T. The evolution of root branching: increasing the level of plasticity. Journal of Experimental Botany, 70(3), 2019, p. 785-793. doi: https://doi.org/10.1093/jxb/ery409.

[38] XUAN, Y.H., KUMAR, V., ZHU, X.F., JE, B.I., KIM, C.M., HUANG, J. and HAN, C.D. IDD10 is Involved in the Interaction between NH_4+ and Auxin Signaling in Rice Roots. Journal of Plant Biology, 61(2), 2018, p. 72-79. doi: https://doi.org/10.1007/s12374017-0423-2.

[39] CHANDRA, S., SETH, S., MISHRA, S., YADAV ,P., GUPTA, A. and PANIGRAHI, J. Genetic homogeneity assessment of in vitro-regenerated plantlets of *Nyctanthes arbor-tristis* L. and comparative evaluation of bioactive metabolites and antioxidant activity. In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant, 56, 2020, p. 72-87. doi: https://doi.org/10.1007/s11627-019-10004-8.

[40] KUMARI, K., LAL, M. and SAXENA, S. Enhanced micropropagation and tiller formation in sugarcane through pretreatment of explants with thidiazuron (TDZ). 3 Biotech, 7, 2017, p. 282. doi: https://doi.org/10.1007/s13205017-0910-7.

[41] BUKHARI, N., SIDDIQUE, I. and PERVEEN, K. Preculturing effect of thidiazuron on *in vitro* shoot multiplication and micropropagation round in *Capparis decidua* (Forsk.) an important multipurpose plant. Acta Biologica Hungarica, 67 (3), 2016, p. 297-304. doi: 10.1556/018.67.2016.3.7.

[42] ACEMI, A., BAYRAK, B., ÇAKIR, M., DEMIRYÜREK, E., GÜN, E., EL GUEDDARI, N. and ÖZEN, F. Comparative analysis of the effects of chitosan and common plant growth regulators on *in vitro* propagation of *Ipomoea purpurea* (L.) Roth from nodal explants. In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plan, 54, 2018. p. 537-44. doi: https://doi.org/10.1007/s11627-018-9915-0.

[43] ADELBERG, J., NAYLORADELBERG, J. and RAPAKA, V. Phenolic foam rooting matrices allows faster transfer and more rapid growth of Echinacea plants in greenhouse. *In Vitro* Cellular & Developmental Biology Plant, 53(6), 2017, p. 546-552. doi: https://doi.org/10.1007/s11627017-9843-4.

[44] GONÇALVES, S., MARTINS, N. and ROMANO A. Physiological traits and oxidative stress markers during acclimatization of micropropagated plants from two endangered *Plantago* species: P. *algarbiensis* Samp. and *P. almogravensis* Franco. In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant, 53(3), 2017, p. 249-255. doi: https://doi.org/10.1007/s11627017-9812-y.

[45] TISARUM, R., SAMPHUMPHUNG, T., THEERAWITAYA, C., PROMMEE, W. and CHA-UM, S. In vitro photoautotrophic acclimatization, direct transplantation and ex vitro adaptation of rubber tree (*Hevea brasiliensis*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 133, 2018, p. 215-223. doi: 10.1007/s11240-017-1374-5.

[46] KUNAKHONNURUK, B., INTHIMA, P. and KONGBANGKERD, A. *In vitro* propagation of *Epipactis flava* Seidenf, an endangered rheophytic orchid: a first study on factors affecting asymbiotic seed germination, seedling development and greenhouse acclimatization. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 135, 2018, p. 419-432. doi: https://doi.org/10.1007/s11240-018-1475-9.

[47] AHMAD , Z., SHAHZAD, A., SHARMA, S. and PARVEEN, S. *Ex vitro* rescue, physiochemical evaluation, secondary metabolite production and assessment of genetic stability using DNA based molecular markers in regenerated plants of *Decalepis salicifolia* (Bedd. ex Hook.f.) Venter. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 132, 2018, p. 497-510. doi: https://doi.org/10.1007/s11240-017-1345-x.

[48] COBO, M., SEPÚLVEDA, B. and TORRES, M. Regeneration of mortiño *(Vaccinium floribundum* Kunth) plants through axillary bud culture. *In Vitro* Cellular & Developmental Biology – Plant, 54, 2018, p.112 -116. doi: https://doi.org/10.1007/s11627-018-9884-3

[49] YÜCESAN, B., BÜYÜKGÖÇMEN, R., MOHAMMED, A., SAMEEULLAH, M., ALTUĞ, C., GÜREL, S. and GÜREL, E. An efficient regeneration system and steviol glycoside analysis of *Stevia rebaudiana* Bertoni, a source of natural high-intensity. In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant, 52, 2016, p. 330–337. doi: https://doi.org/10.1007/s11627-016-9765-6

[50] TEIXEIRA, J., MUSHAROF, M., SHARMA, M., DOBRÁNSZKI, J., CARDOSO, J. and SONGJUN, Z. Acclimatization of *in Vitro*-derived *Dendrobium*. Horticultural Plant Journal, 3(3), 2017,p. 110-124. doi: https://doi.org/10.1016/j.hpj.2017.07.009

BIOTECNOLOGÍA
EN EL SECTOR AGROPECUARIO
Y AGROINDUSTRIAL

· ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA ·

Vol. 18 No 2 · Julio - Diciembre 2020 · ISSN - 1692-3561 · ISSN-e 1909-9959 · DOI: http://dx.doi.org/10.18684

Hidrólisis enzimática del aceite de *Bactris guineensis* con fracciones del látex de *Carica papaya*: estudio del efecto de la temperatura, ph y concentración del sustrato*

Enzimatic hydrolysis of *Bactris guineensis* oil with *Carica papaya* latex fractions: study of the effect of temperature, ph and substrate concentration

Hidólise enzimática do óleo de *Bactris guineensis* com frações de *Barica papaya* latex: estudo do efeito de temperatura, ph e concentração de substratos

MILENA URQUIJO-RODRÍGUEZ[1], MIRIAM FONTALVO-GÓMEZ[2],
ARIELA VELOSO-DE PAULA[3], DARY MENDOZA-MEZA[4]

Historial del Artículo
Recibido para evaluación: 15 de Enero 2020.
Aprobado para publicación: 4 de Mayo 2020.

* Proyecto de investigación de origen: "Aprovechamiento de lipasas y de frutos oleaginosos de origen vegetal provenientes de la región caribe colombiana para la obtención de biocombustibles".Financiación: Universidad del Atlántico, Minciencias Programa de Jóvenes Investigadores e Innovadores por la paz 2017 y Fundação de Amparo á Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, processo n° 2017/11482-7). Culminación: 15 de marzo de 2019.

1 Universidad del Atlántico, Facultad de Ciencias Básicas, Grupo de investigación en Productos Naturales y Bioquímica de Macromoléculas. Ingeniera Química. Puerto Colombia, Colombia. ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9216-9273

2 Universidad del Atlántico, Facultad de Ciencias Básicas, Grupo de investigación en Productos Naturales y Bioquímica de Macromoléculas. Ph.D. Química. Puerto Colombia, Colombia. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1589-8461

RESUMEN

Las lipasas de Carica papaya son biocatalizadores con potencial para la bioconversión de lípidos. Esta investigación estudió la actividad lipolítica (AL) de las fracciones cruda (P_3) y libre de proteasas (CPL-p) del látex de C. papaya sobre el aceite de corozo Bactris guineensis. El látex y el aceite se obtuvieron de residuos agroindustriales. Un diseño central compuesto permitió establecer el efecto de la temperatura (T) y el pH sobre la AL de P_3 y CPL-p; también se determinó la estabilidad térmica, del pH y los parámetros cinéticos. La AL máxima fue 722,43 ± 1,92 U/g (T= 40°C y pH= 9) y 518,65 ± 4,70 U/g (T = 54°C y pH= 8) para P_3 y CPL-p, respectivamente. P_3 presentó mayor afinidad (K_M = 1,3x10^4 ± 1,3x10^3 µM y V_{max} = 18,66 ± 0,47 µmol/min) en comparación con CPL-p (K_M = 2,6x10^4 ± 1,1x10^3 µM y V_{max} = 16,58 ± 0,08 µmol/min); y mayor eficiencia en la hidrólisis, debido al alto contenido de ácidos grasos de cadena mediana (láurico y mirístico > 80%). Se concluye, que P_3 es un biocatalizador eficiente para la bioconversión del aceite de corozo, demostrando que los residuos de estos frutos son recursos valorizables para sus cadenas productivas.

PALABRAS CLAVE:
Ácidos grasos, Actividad lipolítica, Bioconversión, Lipasas vegetales.

ABSTRACT

Carica papaya lipases are biocatalysts with potential for lipid bioconversion. This research studied the lipolitic activity (LA) of the crude powder (P_3) and protease-free (CPL-p) fractions of C. papaya latex on Bactris guineensis (corozo) oil. Latex and oil were obtained from agro-industrial waste. A composite central design allowed to establish the temperature (T) and pH effect on LA of P_3 and CPL-p; thermal, pH stabilities and kinetic parameters were also determined. The maximum LA were 722,43 ± 1,92 U/g (T= 40°C y pH= 9) and 518,65 ± 4,70 U/g (T = 54°C y pH= 8) for P_3 and CPL-p respectively. P_3 showed higher affinity (K_M = 1,3x10^4 ± 1,3x10^3 µM y V_{max} = 18,66 ± 0,47 µmol/min) compared to CPL-p (K_M = 2,6x10^4 ± 1,1x10^3 µM y V_{max} = 16,58 ± 0,08 µmol/min); similarly, greater efficiency in hydrolysis, due to the high content of medium chain fatty acids (lauric and miristic acid > 80%). As a conclusion, the fraction P_3 is an efficient biocatalyst for the bioconversion

KEYWORDS:
Fatty acid, Lipolytic activity, Bioconversion, Vegetable lipases.

PALAVRAS-CHAVE:
Ácidos graxos, Atividade hidrolítica, Bioconversão, Lipases vegetais.

3 Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Departamento de Bioprocesos y Biotecnologia. Ph.D. Biotecnología Industrial. Araraquara, Brasil. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2454-9749

4 Universidad del Atlántico, Facultad de Ciencias Básicas, Grupo de investigación en Productos Naturales y Bioquímica de Macromoléculas. Ph.D. Biotecnología. Puerto Colombia, Colombia. ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0609-6480

Correspondencia: darymendoza@mail.uniatlantico.edu.co

Cómo citar este artículo: MILENA URQUIJO-RODRÍGUEZ, MIRIAM FONTALVO-GÓMEZ, ARIELA VELOSO-DE PAULA, DARY MENDOZA-MEZA. Hidrólisis enzimática del aceite de Bactris guineensis con fracciones del látex de Carica papaya: estudio del efecto de la temperatura, ph y concentración del sustrato Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial,18(2),2020.70-82, DOI:http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(18)70-81

of corozo oil, demonstraring that the residues of these fruits are valuable resources for its production chains.

RESUMO

As lipases de Carica papaya são biocatalisadores com potencial para bioconversão lipídica. Esta pesquisa estudou a atividade lipolítica (AL) das frações bruta (P_3) e livre de protease (CPL-p) do látex de Carica papaya no óleo de Bactris guineensis (corozo). Látex e óleo foram obtidos a partir de resíduos agroindustriais. Um planejamento experimental central composto permitiu estabelecer o efeito da temperatura (T) e pH na atividade de P_3 e CPL-p. A estabilidade térmica, de pH e parâmetros cinéticos também foram determinados. A AL máximo foi 722,43 ± 1,92 U/g (T= 40°C e pH= 9) e 518,65 ± 4,70 U/g (T= 54°C e pH= 8) com P_3 e CPL-p respectivamente. O P_3 apresentou maior afinidade pelo óleo de corozo (K_M = 1,3x10^4 ± 1,3x10^3 µM e V_{max} = 18,66 ± 0,47 µmol/ min) em comparação ao CPL-p (K_M = 2,6x10^4 ± 1,1x10^3 µM e V_{max} = 16,58 ± 0,08 µmol / min). Além disso, a maior eficiência na hidrólise, devido ao alto teor de ácidos graxos de cadeia média (láurico e mirístico > 80%). Conclui-se que a fração P_3 é um biocatalisador eficiente para a bioconversão de óleo de corozo, demostrando que os resíduos dessas frutas são recursos valiosos para suas cadeias produtivas.

INTRODUCCIÓN

Bactris guineensis (L) H.E. Moore 1963 (familia *Arecaceae*) es una palma tropical que crece en la región Caribe Colombiana, El fruto (corozo) es utilizado en la industria de alimentos para elaborar bebidas refrescantes, mermeladas y vinos que se comercializan a nivel local [1]. En esta región, se producen aproximadamente 25.000 toneladas anuales por hectárea del fruto [2], su procesamiento genera una biomasa residual que es desaprovechada generando un impacto ambiental negativo, debido a la inadecuada disposición final en rellenos sanitarios [3]. Gran parte de esa biomasa la constituye la almendra, cuyo contenido de aceite es mayor al 40% [1]. El ácido láurico (C12), principal ácido graso en el aceite de corozo (AC) (aprox. 65%), posee propiedades nutricionales benéficas, como son la regulación de los niveles de colesterol en la sangre [4] y disminución del riesgo de obesidad [5]. Es así, que debido al alto contenido presentado, el AC puede constituirse en una fuente valiosa para la obtención de ácido láurico. Además, el ácido láurico y su monoacilglicérido (1-monolaurilglicerol) presentan actividad antimicrobiana contra un amplio espectro de bacterias gram positivas como *Clostridium difficile*, *Bacillus cereus* y *Sarcina lutea* (9431), entre otras [6]; al igual que contra hongos y virus, como el de la estomatitis vesicular infecciosa [4,5].

Un método para obtener ácidos grasos (AG) libres de gran valor industrial es a través de la hidrólisis de sus aceites, usando métodos enzimáticos con lipasas (EC.3.1.1.3). Las lipasas bacterianas (e.i. *Acinetobacter radioresistens y Staphylococcus caseolyticus*) y fúngicas (e.i. *Rhizopus y Aspergillus*) [7] son las más usadas para la bioconversión de lípidos; no obstante, hay un creciente interés por las lipasas vegetales, debido a su especificidad y estereoselectividad [8].

Las lipasas del látex del fruto de *Carica papaya* L., son muy estudiadas [8, 9, 10]; se encuentran naturalmente inmovilizadas en la matriz polimérica del látex [8]. Actualmente, se reconocen tres fracciones con actividad lipolítica, una cruda (P_3), otra parcialmente purificada libre de proteasas (CPL-p) y la fracción CPL-e que es libre de esterasa. Estas fracciones presentan diferencias en su especificidad por el sustrato y cinética de reacción [9,11] lo que supone la existencia de diferentes tipos de lipasas [8,12].

El uso de las lipasas del látex de *C. papaya* en la hidrólisis de triacilglicéridos (TAG), emerge como un método novedoso en la producción de materias primas crudas para la industria de los alimentos y la agroindustria en general, tales como diacilglicéridos, monoacilglicéridos, glicerol y AG libres [13].

En Colombia, la papaya se cultiva en gran parte del territorio nacional, con una producción aproximada de 116,000 toneladas anuales del fruto [14]; no obstante, existe una baja valorización de este cultivo; por tanto, la obtención de sub-productos de valor agregado, como las lipasas del látex, se constituiría en una oportunidad para fortalecer su cadena productiva.

En esta investigación se estudió el efecto de las variables de reacción, temperatura, pH y concentración de sustrato en la hidrólisis enzimática del AC usando como biocatalizador las fracciones P_3 y CPL-p del látex de *C. papaya*.

MÉTODO

Extracción y caracterización del aceite de corozo *B. guineensis*

Los frutos del corozo obtenidos en fruteras cercanas al campus de la Universidad del Atlántico (10°59'32'' N y 74°57'10'' W), se secaron naturalmente a 30°C y 75% de humedad relativa durante 5 días. Se extrajeron las almendras y luego se pulverizaron en un molino de martillos para obtener una harina con tamaño de partícula de 500 micras. El aceite se obtuvo mediante extracción sólido-líquido con n-hexano 98% pureza (JT Baker), en un extractor soxhlet de 100 mL. Las extracciones se realizaron con 50 g de harina de corozo, 100 mL de n-hexano y 3 h de extracción. El AC obtenido fue parcialmente refinado mediante un proceso de desgomado, procedimiento descrito por Paisan [15].

El perfil de AG del AC y del aceite de referencia (oliva) (AO) Marca Carbonell ®, fueron determinados mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM), de acuerdo con los protocolos descritos por la International Organization for Standardization ISO 5509 [16] e ISO 5508 [17]. Los resultados se expresaron en cantidades relativas (% p/p). El análisis se realizó en un cromatógrafo de gases TRACE 1310 equipado con una columna de acero inoxidable Rtx-1614® (15 m de longitud, 0,25 mm de diámetro interno y 0,1 µm de espesor), usando Helio como gas portador. Las condiciones de operación del equipo fueron: velocidad de flujo del gas de 1,5 mL/min, rango temperatura de 330-360°C; el gradiente de temperatura se inició en 100°C durante 4 min, luego se incrementó hasta 160°C a razón de 7°C/min durante 2 min; el incremento se mantuvo hasta una temperatura de 220°C durante 20 min. El volumen de inyección del aceite fue de 1 µL, con modo de inyección tipo Split. El sistema de detección consistió en un MS/MS TSQ™8000 Evo Triple Quadrupolo con temperatura lineal de transferencia de 300°C, fuente de iones a 200°C, modo de ionización por impacto de iones y rango de masas 50-400 masa/carga en modo de adquisición Full Scam. Se utilizó el software integrador (Xcalibur) para el procesamiento de los datos y como estándar FAME® 0053.

Obtención de fracciones del látex de *C. papaya*

El látex de *C. papaya* se recolectó durante los meses de julio y diciembre (época de lluvia), en cultivos localizados en el municipio de Sabanalarga, Atlántico (10°37'48'' N y 74°55'25'' W) al norte de Colombia (32°C y 84% humedad relativa), de acuerdo con el procedimiento descrito por Ortega *et al*. [18]. Los frutos seleccionados fueron los clasificados con grado de maduración 1 (fruto verde) y como no aptos para la comercialización, debido a la presencia de arrugas, deformaciones, ablandamiento o daños ocasionados por plagas e insectos (manchas, mordeduras, chupones) de acuerdo al "Protocolo de buenas prácticas para pos cosecha de papaya (*Carica papaya* L.)", razón por la que se consideran un residuo agroindustrial [19]. Para la obtención del látex, se realizaron incisiones longitudinales al pericarpio del fruto con una profundidad de 2 a 3 mm [10]. El látex recogido se secó en frío (5°C), en capas de 3 mm durante 5 días, obteniéndose una pasta dura, que fue pulverizada mediante maceración en mortero. El polvo fino resultante, correspondiente a P_3 se almacenó a -20°C. La fracción CPL-p se obtuvo a partir de P_3, mediante lavados con agua destilada a 4°C (cinco lavados), seguidos de centrifugación a 10.000 rpm a 4°C durante 20 min [10,18] en un equipo Thermo Scientific, modelo Legend X1R. El precipitado insoluble en agua (fracción CPL-p) se liofilizó en un equipo SYCLON-18N a -48°C y 0,098 mbar, durante 72 horas. Ambas fracciones (P_3 y CPL-p) se almacenaron a -20°C hasta su posterior uso.

Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sultafo sódico (SDS-PAGE)

Las fracciones P_3 y CPL-p se caracterizaron mediante SDS-PAGE con un equipo Miniprotein Vertical QNX-700 (C.B.S. Scientific). Se prepararon dos geles, un gel de separación del 12% T y un gel concentrador del 4% C, según protocolo descrito por Sambrook y Russell [18]. Las muestras se sembraron en cada pozo (20 µL) a concentraciones de 5,0-2,5-1,25 mg/mL. El corrido electroforético se hizo a 120 V por 3 h; posteriormente, los geles se tiñeron con azul de Coomasie R-250 (Merck., S.A) durante 12 horas, luego se decoloraron en una solución de ácido acético al 10% v/v y se visualizaron en un equipo UVP Imaging Sys EC3410 LMS-26 97-0279-01 (Bio-Rad). Para determinar el peso mole-

cular de las proteínas presentes en las muestras se corrió un marcador de peso molecular preteñido Precision Plus Protein™ Kaleidoscope™ (Bio-Rad., UDA).

Influencia de la temperatura y el pH en la AL de P_3 y CPL-p

Diseño experimental. Un diseño de superficie de respuesta central compuesto con una estrella creado con el software Statgraphics Centurion XVI, fue aplicado para estudiar el efecto de la T y el pH sobre la AL de las fracciones del látex de *C. papaya* (P_3 y CPL-p) en dos tipos de sustratos: AC y AO. Las variables y niveles del diseño experimental se presentan en el Cuadro 1. El diseño arrojó 12 combinaciones de experimentos o corridas para cada fracción (P_3 y CPL-p), las cuales se realizaron por triplicado, para un total de 36 corridas (Cuadro 4).

Actividad lipolítica. Se empleó el método de titulación de AG libres para medir la AL en solución acuosa de P_3 y CPL-p. Inicialmente se preparó una emulsión compuesta por 1,25 g de AC; 1,25 g de agua destilada; 2 mL de solución tampón (de acuerdo al pH) y 0,125 g de Triton X-100 (Merck., S.A). También se preparó una emulsión con AO, para la cual se reemplazó el detergente Triton X-100 con goma arábiga (Merck., S.A) (7% p/p respecto a la cantidad de agua). El AO se usó como referencia debido a su contenido mayoritario de ácido oleico (C18:1), lo que evita que la enzima tenga preferencia por un ácido graso en específico [21].

La hidrólisis del aceite emulsificado se realizó en frascos erlenmeyer de 125 mL en un baño de maría con control de temperatura y movimiento recíproco Dubnoff TPA-304 (Ethik Technology). La velocidad de agitación se mantuvo constante en 200 rpm. Después de 10 min de agitación se agregó a la emulsión 0,05 g de la enzima. La mezcla se mantuvo en agitación constante durante 5 min, luego se agregó 10 mL de una solución de etanol: acetona: agua (1:1:1 v/v/v) para detener la reacción. Para la titulación de los AG libres se adicionaron a la mezcla de reacción 10 mL de KOH 0,05 M y tres gotas del indicador fenolftaleína; la valoración se realizó con una solución estandarizada de HCl 0,05 M; además se incluyó un blanco de reacción por tratamiento (emulsión sin enzima). La AL de la lipasa fue calculada utilizando la ecuación 1:

$$AL\ (U/g) = \frac{(v_b - v_a)\ x\ M\ x\ 1000}{t\ x\ m_s} \qquad \text{(Ec. 1)}$$

Donde V_b y V_a son el volumen de HCl (mL) gastado en el blanco y en el tratamiento respectivamente; M es la molaridad del HCl; t es el tiempo de incubación en (min) y m_s es la masa seca de la lipasa en (g). La AL también se expresó en actividad relativa A_r, de acuerdo a la ecuación 2.

$$Ar\ (\%) = \frac{AL}{ALmáx} * 100 \qquad \text{(Ec. 2)}$$

Donde AL (U/g) es la actividad alcanzada en cada ensayo y ALmáx (U/g) es la actividad más alta.

Efecto de la T y pH sobre la estabilidad de P_3 y CPL-p

Esta prueba tuvo como propósito identificar los valores de temperatura y pH a los cuales se logra mayor estabilidad en la AL de las fracciones P_3 y CPL-p. Estas pruebas se realizaron con AO. Para determinar la estabilidad térmica, se mezclaron 0,05 g de cada fracción (P_3 y CPL-p) con 2 mL de tampón Tris-HCl 0,1M (pH 9). La incubación se realizó a diferentes tiempos (0 min, 5 min, 30 min, 60 min y 24 h) y rangos de temperatura (30, 40, 50 y 60°C). Finalizado el tiempo de incubación, se adicionaron 2,5 mL de la emulsión del aceite. La AL de cada tratamiento se midió a 37°C según la metodología descrita en la sección anterior. La estabilidad de P_3 y CPL-p a diferentes valores de pH se determinó mediante incubación de 0,05 g de P_3 y CPL-p con 2 mL del correspondiente tampón de acuerdo con el pH (Cuadro 2). La incubación se realizó a temperatura constante de 30°C, durante diferentes

Cuadro 1. Diseño de experimento central compuesto con una estrella con sus variables y niveles.

Variables	Niveles		
T (°C)	26	40	54
pH*	8	9	10

* El pH se ajustó con: Tris-HCl 0,1 M (pH 8-9) y $NaHCO_3^-$/$K_2CO_3^{-2}$ 0,1M (pH 10).

Cuadro 2. Composición de los tampones utilizados.

Tampón	pH
CH_3COOH/CH_3COO^- (0,1 M)	4-5
H_2PO_4/HPO_4^{-2} (0,1 M)	6-7
Tris-HCl (0,1 M)	8-9
$NaHCO_3^-$/K2CO_3^{-2} (0,1 M)	10

tiempos (0 min, 5 min, 30 min, 60 min y 24 h). La AL se midió a 37°C usando la metodología descrita.

Determinación de los parámetros cinéticos de Michaelis-Menten

Los parámetros cinéticos de las reacciones catalizadas por P_3 y CPL-p se ajustaron al modelo de Michaelis-Menten, el cual predice el comportamiento de la cinética de las lipasas de *C. papaya*. Este modelo relaciona la velocidad de una reacción enzimática con la concentración del sustrato y permite medir los parámetros K_M, V_{max}, K_{cat} y la relación K_{cat}/K_M, los cuales son constantes específicas para cada enzima en condiciones definidas. Los parámetros cinéticos K_M (constante de Michaelis), V_{max} (velocidad de reacción alcanzada cuando la enzima se encuentra saturada por el sustrato) se determinaron a partir del ajuste de los datos experimentales mediante un procedimiento de regresión no lineal utilizando el software OriginLab Pro 8; para el cálculo de la K_{cat} (número de moléculas de sustrato que cada sitio activo de la enzima convierte por unidad de tiempo) se partió de la concentración total de enzima de $3{,}91x10^{-4}$ M, calculada con base en el peso molecular obtenido por SDS-PAGE, utilizando la ecuación 3. Se prepararon diferentes concentraciones de sustrato (AC y AO) variando la proporción de AG totales en la emulsión entre 5,0-70% p/p ($3x10^4$ -$5x10^5$ µM). Las hidrólisis se realizaron a las condiciones de pH y temperatura más estables, determinadas en la sección anterior. Las velocidades iniciales de la reacción de hidrólisis fueron determinadas a partir de los resultados de la AL.

$$Kcat = \frac{V_{max}}{[E]_{total}} \qquad \text{(Ec. 3)}$$

Donde V_{max} es la velocidad máxima alcanzada por la enzima y , es la concentración total de la enzima.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos en los diseños experimentales se analizaron en el software Statgraphics Centurion XVI. La significancia estadística de los datos fue determinada a partir del análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95%, así mismo se usó la metodología de superficie de respuesta para determinar los valores de pH y T óptimos para la hidrólisis de P_3 y CPL-p. Las gráficas de superficie fueron elaboradas usando el software OriginLab Pro 8.

RESULTADOS

Extracción y caracterización del aceite de corozo *B. guineensis*

El rendimiento de extracción fue de 39,99 ± 0,05% p/p; resultado similar al descrito en un estudio previo (39,35% p/p), utilizando n-hexano [1]. Los compuestos mayoritarios presentes en el aceite correspondieron a AGs de cadena mediana (C12:0 y C14:0), con una composición de 85,92 ± 0,21%; mientras que los AGs de cadena larga (C16:0 y C18:1) correspondieron al 14,10 ± 0,21% (Cuadro 3). En cuanto al grado de insaturación, un 93,05 ± 0,45% de los AGs fueron saturados; el ácido oleico (C18:1) fue el único ácido graso insaturado presente en el aceite (7,0 ± 0,40%). Basado en el perfil de AGs (Cuadro 3) se calculó la masa molar del AC, obteniendo un valor de 687,60 ± 0,47 g/mol.

Los resultados del perfil de AG del AO, demostraron que los compuestos mayoritarios corresponden a AG de cadena larga (C18:1 y C16:0) con una composición de 73,73 ± 0,20% y 15,04 ± 0,20% respectivamente (Cuadro 3).

Obtención y caracterización electroforética de P_3 y CPL-p

El látex de *C. papaya* se obtuvo de árboles cultivados en fincas de la zona rural del municipio de Sabanalarga, en el departamento del Atlántico. El rendimiento

Cuadro 3. Perfil de ácidos grasos de los aceites de corozo y de oliva.

Ácidos Grasos	AC*		AO*	
	t_R**	(% p/p)***	t_R**	(% p/p)***
Láurico (C12:0)	5,34	64,20±1,1	5,28	0,28±0,3
Mirístico (C14:0)	8,24	21,75±1,3	8,19	0,12±0,4
Oleico (C18:1)	13,27	7,00±0,4	13,28	73,73±0,2
Palmítico (C16:0)	11,04	5,75±0,2	11,01	15,04±0,2
Esteárico (C18:0)	13,64	1,35±0,1	13,61	3,62±0,1
Linoleico (C18:2)	-	-	13,14	6,25±0,3
Araquidónico (C20:4)	-	-	15,01	0,73±0,2
Palmitoleico (C16:1Δ9)	-	-	10,60	0,23±0,4
Tridecanoico (C13:0)	-	-	6,72	0,01±0,3

*AC: aceite de corozo; AO: aceite de oliva
**Tiempo de retención (min)
***Cantidad relativa (media ± DE dos réplicas)

de obtención de la fracción P_3 fue de 23,23 ± 1,14% p/p (respecto al látex fresco); mientras que para la fracción CPL-p fue de 9,29 ± 2,76% p/p. El análisis electroforético arrojó una banda de peso molecular cercano a 29 kDa, la cual podría corresponder a la lipasa del látex de *C. papaya*.

Influencia de la temperatura y del pH en la AL de P_3 y CPL-p

La máxima AL de la fracción P_3, usando AC, fue de 722,43 ± 1,92 U/g a 40°C y pH 9; con la fracción CPL-p fue de 518,65 ± 4,70 U/g a 54°C y pH 8. Cuando se usó AO, se obtuvo una AL máxima con la fracción P_3 de 615,06 ± 19,53 U/g a 54°C y pH= 8; mientras que con la fracción CPL-p fue de 385,42 ± 8,30 U/g a 60°C y pH 9 (Cuadro 4). Se observó mayor AL de P_3 y CPL-p usando AC, con excepción de la corrida 3 para la fracción P_3 y las corridas 1 y 6 para la fracción CPL-p, donde la actividad fue mayor con el AO.

La mayor selectividad de ambas fracciones por el AC podría explicarse por el alto contenido de AG de cadena mediana (64,20% C12 y 21,75% C14) que contiene. Este resultado es consistente con estudios previos, donde P_3 mostró selectividad más alta por AG de cadena corta como la tri-butirina (C4) y mediana como la trioctanoina (C8), comparada con el AO [7, 22]. Otra característica de las lipasas del látex de *C. papaya* es la estereoselectividad por las posiciones sn-1 y sn-3 (sn1/3) de los TAG. Se ha establecido que en los aceites de algunas palmas, los AG de cadena mediana se encuentran usualmente esterificados en las posiciones sn1/3, esta característica favorecería la selectividad de las lipasas de *C. papaya* por este tipo de aceites. Por ejemplo, el aceite de la palma de coco posee 54,3% de ácido láurico (C12) en las posiciones sn1/3 [23,24], mientras que el aceite de semilla de palma africana (palm kernel oil) posee 51,41% de C12 en las posiciones sn1/3 [23]. Al igual que en los aceites de estas palmas, el AC está compuesto principalmente por AG saturados de cadena mediana, que se encuentran usualmente esterificados en las posiciones sn1/3 del glicerol [23,24], esta característica favorecería la selectividad de P_3 y CPL-p por este tipo de sustratos.

El ANOVA de los resultados mostró que la T influye significativamente en la AL de P_3 (ANOVA: Razón-F = 113,35; valor-*p* = 0,0000) y CPL-p (ANOVA: Razón-F= 57,64; valor-*p*= 0,0000) con el AC. El pH también mostró efecto significativo en la AL de P_3 (ANOVA: Razón-F= 25,76; valor-*p*= 0,0001) y CPL-p (ANOVA: Razón-F= 26,65; valor-*p*= 0,0001); así mismo, se observó efecto significativo de la interacción T-pH para ambas fracciones (valor-*p* < 0,005) con este sustrato.

Los gráficos de superficie de respuesta muestran que T > 40°C, causan disminución de la AL de P_3 sobre el AC (Figura 1a); mientras que la fracción CPL-p mostró mayor tolerancia a T > 40°C, alcanzándose la T óptima a 50°C (Figura 1b).

El efecto de la temperatura sobre la actividad de las enzimas es bastante complejo, ya que a medida que

Cuadro 4. Resultados del diseño experimental de la AL (U/g) de las fracciones P_3 y CPL-p.

No	Variables		AL* (U/g)			
			P_3		CPL-p	
	T (°C)	pH	AO	AC	AO	AC
1	26	8	405,81 ± 6,55	639,84 ± 13,30	338,83 ± 5,62	219,21 ± 0,29
2	26	10	257,02 ± 1,03	474,85 ± 3,07	226,38 ± 8,51	282,84 ± 1,47
3	54	8	615,06± 19,53	411,90 ± 6,16	337,55 ± 1,40	518,65 ± 4,70
4	54	10	214,50± 6,89	404,93 ± 13,74	223,09 ± 7,34	318,97 ± 12,30
5	40	7,6	342,18 ± 4,89	617,30 ± 5,81	223,94 ± 6,76	418,64 ± 3,01
6	40	10,4	331,02 ± 8,12	517,44 ± 11,95	228,52 ± 7,09	209,86 ± 8,37
7	20	9	414,00 ± 0,56	565,81 ± 5,45	232,33 ± 5,73	238,14 ± 8,95
8	60	9	446,94 ± 2,46	311,92 ± 2,10	385,42 ± 8,30	497,13 ± 12,27
9	40	9	449,63 ± 5,31	701,27 ± 9,16	352,72 ± 0,01	285,35 ± 9,15
10	40	9	539,82 ± 7,02	697,48 ± 3,69	350,89 ± 4,86	331,85 ± 9,72
11	40	9	490,58 ± 12,92	623,58 ± 12,09	328,08 ± 4,59	436,57 ± 9,44
12	40	9	489,20 ± 4,63	722,43 ± 1,92	300,35 ± 3,22	343,97 ± 1,42

*valores medios ± DE de tres réplicas

esta incrementa, también lo hace la energía cinética de las moléculas y por lo tanto, la velocidad de reacción, alcanzando la temperatura donde la actividad es máxima (T óptima); después de este punto ocurre una inactivación progresiva causada por la desnaturalización de la enzima, resultando en la pérdida completa de la actividad [25].

Para el caso del látex de *C. papaya* se observó que las fracciones P_3 y CPL-p presentaron T óptimas distintas, esto había sido descrito previamente [8,9], reportando los mismos valores óptimos observados en el presente estudio (40°C para P_3 y 50°C para CPL-p), lo cual supone la existencia de por lo menos dos tipos de lipasas en el látex.

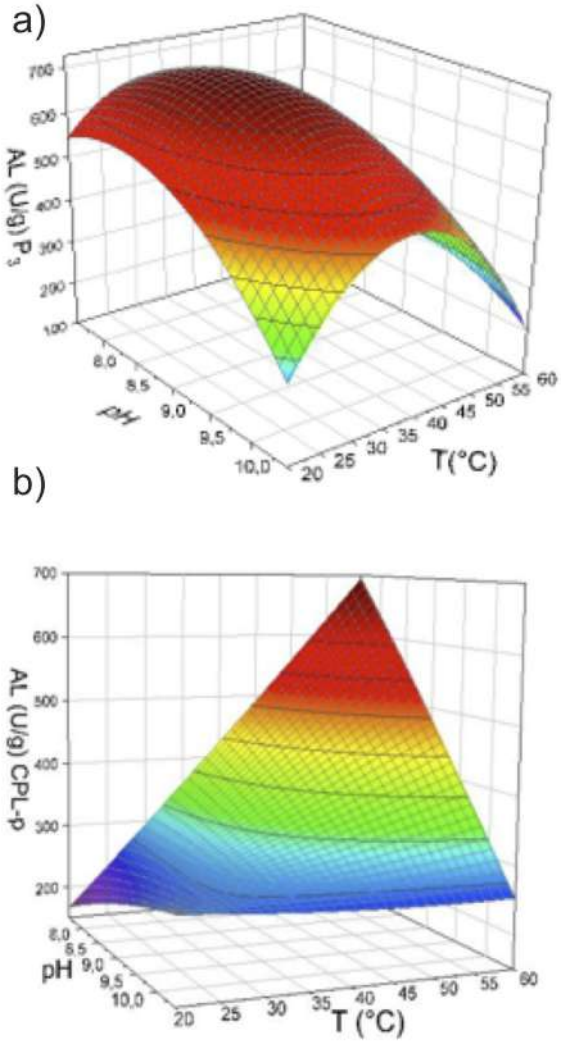
Respecto al pH, la AL de P_3 sobre el AC disminuyó a pH > 9,0 (Figura 1a); en el caso de CPL-p, la AL más alta se obtuvo a pH = 8 (Figura 1b). Para ambas fracciones, la actividad incrementó a partir de pH = 7,5 y decayó significativamente a pH > 9.

Estos resultados son consistentes con los reportados por Rivera *et al*. [10], quienes determinaron un pH óptimo de 8,5 con P_3 y pH óptimo de 9 para CPL-p, lo que indica la presencia de más de una lipasa en el látex de *C. papaya*. La importancia del pH del medio sobre la actividad de las enzimas es ampliamente reconocida, encontrándose valores de pH donde la actividad es más alta (pH óptimo).

El pH del medio influye en el estado de ionización de las cadenas laterales de los aminoácidos y por tanto, en la estabilidad de los enlaces iónicos que contribuyen a mantener la conformación del sitio activo [26]; adicionalmente, el pH del medio también puede influir en las velocidades de reacción ya que este parámetro es muy sensible a los valores de pKa (constante de ionización) de los aminoácidos directamente involucrados en la catálisis [26, 27,28].

De la misma forma, el efecto significativo de la interacción T–pH sobre la AL de P_3 y CPL-p podría ser explicado con base en la sensibilidad de los pKa de las cadenas laterales de los aminoácidos a la temperatura; por ejemplo se ha determinado que aminoácidos básicos exhiben cambios relativamente grandes en su carga debido a la temperatura. Dado que los residuos ionizables de las cadenas laterales de los aminoácidos son importantes para mantener la conformación del sitio activo, un cambio de pKa

Figura 1. Superficie de respuesta para la AL de a) P_3, b) CPL-p, usando AC.



impulsado por la temperatura puede tener un efecto directo significativo sobre la catálisis enzimática [29].

El ANOVA de los resultados con el AO, mostró que el pH tiene un efecto significativo en la actividad de P_3 (ANOVA: Razón-F= 16,16; valor-*p*= 0,0009) y CPL-*p* (ANOVA: Razón-F = 6,74; valor-*p* = 0,0188). La T tuvo efecto significativo en la actividad de CPL-p (ANOVA: Razón-F= 6,23; valor-*p*= 0,0231); pero no en la actividad de P_3 (ANOVA: Razón-F=2,30; valor-*p*=0,1475), esto puede atribuirse, a que P3 posee una composición química más compleja, donde además de las lipasas, existen otras enzimas solubles y macromoléculas en la matriz, dificultando la medición del efecto real

de la temperatura sobre la actividad catalítica de las lipasas [30]. Además, se observó un efecto cuadrático del pH sobre P_3 (ANOVA: Razón-F= 16,77; valor-*p*= 0,0008) y CPL-p (ANOVA: Razón-F= 17,71; valor-*p*= 0,0006). La interacción T-pH sólo afectó a la fracción P_3 (ANOVA: Razón-F= 6,42; valor-p= 0,0215).

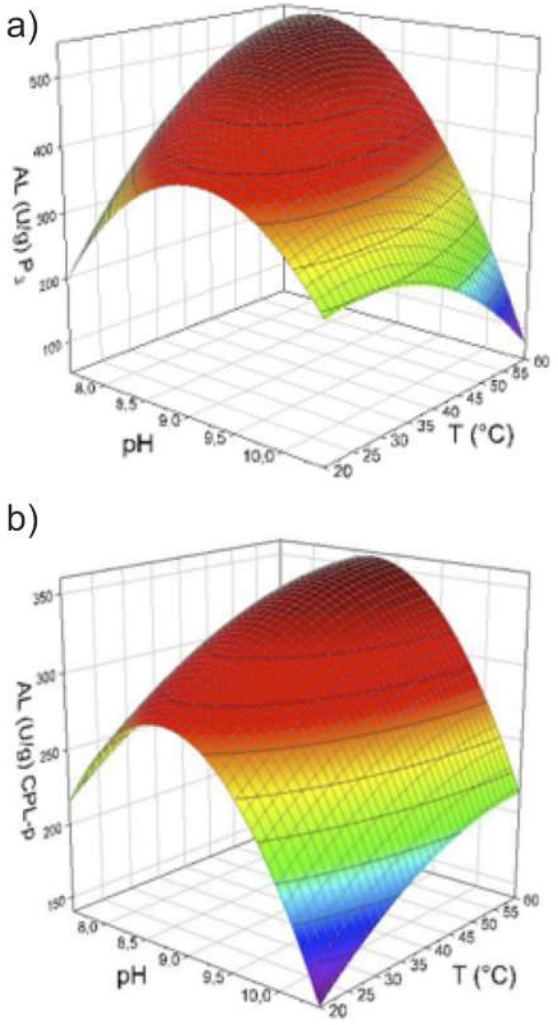
Los gráficos de superficie de respuesta para AO (Figura 2) muestran el efecto de curvatura del pH sobre la AL de las fracciones P_3 y CPL-p, obteniéndose pH óptimos de 8 y 8,7 respectivamente. Por el contrario, no se observó un efecto marcado de curvatura en el rango de T evaluadas, razón por la cual fue difícil establecer una T óptima a través del modelo de superficie de respuesta, para este sustrato. A pesar de esto, se pudo observar que la AL de P_3 disminuye progresivamente a partir de 30°C hasta llegar a la actividad más baja a los 60°C (Figura 2a). En el caso de CPL-p se observó un comportamiento contrario, con un aumento progresivo de la AL a partir de 20°C (Figura 2b).

Efecto de la T y pH sobre la estabilidad de P_3 y CPL-p

Los resultados de los ensayos de estabilidad térmica de P_3 y CPL-p, muestran que la AL decae significativamente luego de 5 min de incubación (valor *p* < 0,0327), en todos los valores de T evaluados. La fracción P_3 mostró disminución del 22,67% y 13,66% de la actividad a 30°C y 40°C, respectivamente; sin embargo, la actividad fue significativamente menor a 50°C (30,58%) y 60°C (56,61%). Los resultados con CPL-p mostraron una menor reducción de la AL en comparación con P_3 (4,43% entre 30 - 40°C; 13,65% a 50°C y 35,13% a 60°C). Después de 24 h de incubación, la actividad de ambas fracciones continuó disminuyendo, observándose una reducción de hasta el 48,74% de la actividad para P_3 a 50°C y de 41,42% en la actividad de CPL-p a 50°C. Estos resultados confirman que la fracción CPL-p posee mayor estabilidad térmica, particularmente entre 30°C y 40°C. Una posible explicación, es que CPL-p se encuentra inmovilizada en la matriz insoluble del látex, lo cual le proporciona mayor estabilidad [8].

Los ensayos de estabilidad de las fracciones P_3 y CPL-p en los pH estudiados mostraron mayor estabilidad a pH 9 entre 5 - 60 min de incubación. Después de 24 horas de incubación, las actividades de P_3 y CPL-p decayeron un 21,27 y 39,36% de su valor inicial.

Figura 2. Superficie de respuesta para la AL de a) P_3, b) CPL-p, usando AO.



Determinación de los parámetros cinéticos de Michaelis-Menten

Para determinar los parámetros cinéticos de las fracciones P_3 y CPL-p, las reacciones lipolíticas se llevaron a cabo a los valores de pH y temperatura más estables (T= 40°C y pH=9).

Las Figuras 3 y 4 presentan la cinética de la hidrólisis de ambos sustratos, catalizada por la lipasa presente en la fracción P_3 y CPL-p del látex de *C. papaya*. La velocidad máxima (V_{max}) de reacción con el AC (18,66 ± 0,5 µmol/min) fue significativamente menor a la obtenida con el sustrato AO (32,30 ± 0,6 µmol/min) (Cuadro 5), del mismo modo, se evidenció que con

CPL-p la V_{max} con AC (16,58 ± 0,1) fue menor a la obtenida con AO (20,16 ± 0,3); esta se alcanza cuando la enzima se encuentra saturada por su sustrato, por lo que un aumento en la concentración del sustrato después de este punto no ocasionará incremento en la velocidad de reacción.

La constante de Michaelis-Menten (K_M) fue otro parámetro evaluado, esta es una medida de la afinidad de la enzima por el sustrato, y corresponde a la concentración del sustrato en la cual la velocidad de reacción es igual a la mitad de la V_{max} [13].

Para el caso de P_3, el valor del K_M para el sustrato AC ($1{,}3x10^4 \pm 1{,}3x10^3$ µM) fue 5,54 veces menor al obtenido con el sustrato AO ($7{,}2x10^4 \pm 5{,}4x10^3$) (Cuadro 5), lo cual indica que la lipasa en P_3 presenta mayor afinidad por el AC. Resultados similares fueron obtenidos en la cinética de reacción de la lipasa presente en la fracción CPL-p de *C. papaya* (Figura 4), obteniéndose valores de V_{max} y K_M que son 1,22 y 2,85 veces menores en el AC (V_{max} = 16,58 ± 0,1 µmol/min; K_M = $2{,}6x10^4 \pm 1{,}1x10^3$ comparado con el AO (V_{max} = 20,16 ± 0,3 µmol/min; K_M = $7{,}4x10^4 \pm 5{,}9x10^3$ (Cuadro 5).

Para establecer la eficiencia de las lipasas presentes en las fracciones P_3 y CPL-p se calculó el valor de la K_{cat} (número de recambio) y la relación de la K_{cat}/K_M (Cuadro 5).

La fracción P_3 presentó la relación K_{cat}/K_M más alta cuando el sustrato utilizado fue AC ($8{,}6x10^{-4} \pm 7x10^{-5}$ $\mu M^{-1}. min^{-1}$), mientras que la relación más baja la presentó la fracción CPL-p con AO (5,38 veces menor). Estos resultados indican que P_3 posee la mayor eficiencia catalítica a 40°C y pH = 9 y confirma la afinidad de esta fracción por el AC, lo cual podría estar relacionado con la mayor composición de este aceite en AG de cadena mediana como los ácidos láurico (64,20 ± 1,1%) y mirístico (21,75 ± 1,3%). Así mismo, esto confirma lo reportado en otros estudios, donde la fracción cruda posee alta AL en TAG de cadena corta y media, comparado con TAG de cadena larga, como es el caso de la mayoría de las lipasas [9].

Figura 3. Efecto de la concentración del sustrato en la hidrólisis de AC usando P_3 y CPL-p.

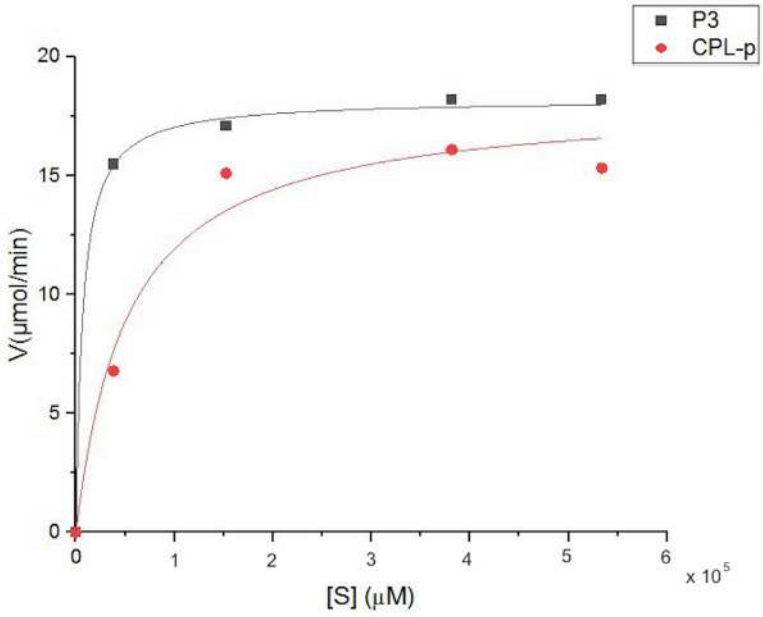
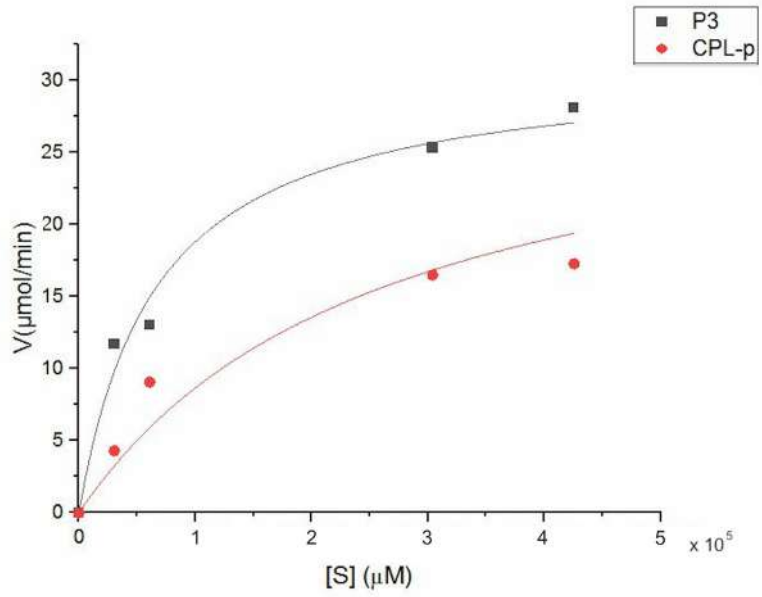


Figura 4. Efecto de la concentración del sustrato en la hidrólisis de AO, usando P_3 y CPL-p.



Cuadro 5. Parámetros cinéticos de las fracciones P_3 y CPL-p.

Fracción	S*	V_{max} * (µmol/min)	K_M ** (µM)
P_3	AC	18,66±0,5	$1,3x10^4±1,3x10^3$
	AO	32,30±0,6	$7,2x10^4±5,4x10^3$
CPL-p	AC	16,58±0,1	$2,6x10^4±1,1x10^3$
	AO	20,16 ± 0,3	$7,4x10^4± 5,9x10^3$
Fracción	**S***	**K_{cat} ** (min^{-1})**	**K_{cat}/K_M ** ($\mu M^{-1} min^{-1}$)**
P_3	AC	10,85 ± 0,3	$8,6x10^{-4}±7x10^{-5}$
	AO	18,78 ± 0,3	$2,6x10^{-4} ±2x10^{-5}$
CPL-p	AC	9,64 ± 0,1	$3,8x10^{-4} ±1x10^{-5}$
	AO	11,72 ± 0,2	$1,6x10^{-4} ±1x10^{-5}$

* S = Sustrato
**Valores de la media ± desviación estándar de tres réplicas.

CONCLUSIONES

En esta investigación se determinó la capacidad hidrolítica de las fracciones P_3 y CPL-p sobre los AG presentes en el AC, evidenciando que P_3 posee mayor AL comparada con CPL-p. Además, la temperatura y el pH afectan de manera significativa la AL de ambas fracciones, presentando diferentes valores de T y pH óptimos. Según los valores de Km obtenidos, P_3 presentó mayor afinidad por el AC en comparación con CPL-p, debido a la alta composición de AG de cadena mediana que contiene y a la estereoselectividad de las lipasas por esa clase de AGs. Los frutos verdes no comercializables de *C. papaya* y los residuos de la almendra del corozo tienen un enorme potencial para ser revalorizados mediante el aprovechamiento de estas materias primas no convencionales, con el propósito de fortalecer las cadenas productivas de estos cultivos en el país.

AGRADECIMIENTOS

Universidad del Atlántico (7a Convocatoria Interna, fortalecimiento de grupos de investigación); Colciencias programa Jóvenes Investigadores 2017; Fundação de Amparo á Pesquisa do Estado de São Paulo FAPESP proceso nº 2017/11482-7.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

REFERENCIAS

[1] POLO, L., FONTALVO, M. y MENDOZA, D. Producción de biodiesel mediante transesterificación enzimática de aceite extraído de residuos de la industria de alimentos. Prospectiva, 16(1), 2018, p. 26-33. doi: https//:doi.org/10.15665/rp.v16i1.1164.

[2] ÁRDILA, B. y ÁRDILA, J. Industrialización del proceso de extracción de pulpa y aceite de palma de corozo en las veredas del Banco Magdalena [Tesis especialista Gestión de Proyectos en Ingeniería]. Bogotá (Colombia): Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Facultad de Ingeniería, 2017, 27 p.

[3] PEÑARANDA, L., MONTENEGRO, S. y GIRALDO, P. Aprovechamiento de residuos agroindustriales en Colombia. Revista de Investigación Agraria y Ambiental, 8(2), 2017, p. 141-150.

[4] DAYRIT, F.M. The properties of lauric acid and their significance in coconut oil. JAOCS, 92(1), 2015, p. 1-15. doi: https//:doi.org/10.1007/s11746-014-2562-7.

[5] SUNG, M.H., LIAO, F.H. and CHIEN, Y.W. Medium chain triglycerides lower blood lipids and body weight in Streptozotocin-Induced type 2 diabetes rats. Nutrients, 10(8), 2018, p. 1-11. doi: https//:doi.org/10.3390/nu10080963.

[6] PONPHAIBOON, J. *et al.* Optimization and comparison of GC-FID and HPLC-ELSD methods for determination of lauric acid, mono-, di-, and trilaurins in modified coconut oil. Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, 1099, 2018, p. 110-116. doi: https//:doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.09.023.

[7] SINGH, R.S., SINGH, H. and PANDEY, A. PANDEY, A. Microbial En: Advances in enzyme technology. Microbial Enzymes-an Overview. 1 ed. Amsterdam, (Netherlands): Elsevier, 2019, p. 1-40: doi: https//:-doi.org/10.1016/B978-0-444-64114-4.00001-7.

[8] GUTIERREZ-ORTEGA, A. *et al.* Identification, cloning and expression of a new GDSL lipase from *Carica papaya.* Process Biochemistry, 55, 2017, p. 70-76. doi: https//:doi.org/10.1016/j.procbio.2017.01.027.

[9] RIVERA, I. y SANDOVAL, G. Caracterización de diversas fracciones del látex *Carica papaya* como biocatalizadores en la hidrólisis de triglicéridos. Grasas y Aceites, 65(1), 2014, p. 1-8. doi: https//:doi.org/10.3989/gya.049313.

[10] RIVERA, I., MATEOS, J.C. and SANDOVAL, G. En: Lipases and phospholipases. Methods in molecular biology (methods and protocols) plant lipases:

partial purification of *Carica papaya* lipase. 1 ed. New York (USA): Human press, 2012, p. 115-122.

[11] RIVERA, I., GUTIÉRREZ-ORTEGA, A. and SANDOVAL, G. En: Lipases and phospholipases. Functional expression of plant lipases: the case of CpLip1 from Carica papaya. 1 ed. New York (USA): Human press, 2018, p. 169-178.

[12] RIVERA, I. *et al*. Functional expression, extracellular production, purification, structure modeling and biochemical characterization of *Carica papaya* lipase 1. Process Biochemistry, 56, 2017, p. 109-116. doi: https//:doi.org/10.1016/j.procbio.2017.02.009.

[13] ZARAI, Z. *et al.* Characterization of monoacylglycerols and diacylglycerols rich in polyunsaturated fatty acids produced by hydrolysis of *Musteleus mustelus* liver oil catalyzed by an immobilized bacterial lipase. Journal of Chromatography A, 2019, p. 1-44. doi: https//:doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460692.

[14] COLOMBIA. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. Cadena productiva papaya-área, producción y rendimiento. Bogotá (Colombia): 2019.

[15] PAISAN, S., CHETPATTANANONDH, P. and CHONGKHONG, S. Assesment of water degumming and acid degumming of mixed alga oil. Journal of Environmental Chemical Engineering, 5(5), 2017, p. 5115-5123. doi: https//:doi.org/10.1016/j.jece.2017.09.045.

[16] ESPAÑA. INTERNATIONAL ORGANIZATION OF STANDARDIZATION. Animal and vegetable fats and oils-preparation of methyl esters of fatty acids. Madrid (España): 2000.

[17] ESPAÑA. INTERNATIONAL ORGANIZATION OF STANDARDIZATION. Animal and vegetable fats and oils-analysis by gas chromatography of methyl esters of fatty acids. Madrid (España): 1990.

[18] ORTEGA, V., FONTALVO, M. y MENDOZA, D. Comparación de diferentes fracciones del látex de *Carica papaya L*., y Novozyme 435 en la metanólisis del aceite de canola. Revista de Ciencias, 22(1), 2018, p. 75-90. doi: https//:doi.org/10.25100/rc.v22i1.7102.

[19] COLOMBIA. GOBERNACIÓN DEL TOLIMA. Protocolo de buenas prácticas para poscosecha de papaya *Carica papaya L*. Ibagué (Colombia): 2017.

[20] SAMBROOK, J. and RUSSELL, D. SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis of proteins. CSH Protocols, 4, 2006. doi: https//:doi.org/10.1101/pdb.prot4540.

[21] SALHI, A. *et al.* Characterization of all the lipolytic activities in pancreatin and comparison with porcine and human pancreactic juices. Biochimie, 169, 2019, p. 106-120. doi: https//:doi.org/10.1016/j.biochi.2019.07.004.

[22] VILLENEUVE, P. *et al. Carica papaya* latex lipase: sn-3 stereoselectivity or short-chain selectivity? Model chiral triglycerides are removing the ambiguity. Journal of the American Oil Chemists Society, 72(6), 1995, p. 753-755. doi: https//:doi.org/10.1007/BF02635668.

[23] SILALAHI, J. *et al.* Composition of fatty acid and identification of lauric acid position in coconut and palm kernel oils. Indonesian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 1(2), 2018, p. 1-8. doi: https//:doi.org/10.32734/idjpcr.v1i2.605.

[24] NGUYEN, T.A.V. *et al.* Hydrolysis activity of virgin coconut oil using lipase from different sources. Scientifica, 2018, p. 1-6. doi: https//:doi.org/10.1155/2018/9120942.

[25] KLINGAMAN, C.A. *et al.* HPLC-based kinetics assay facilitates analysis of system with multiple reaction products and thermal enzyme denaturation. Analytical Biochemistry, 516, 2017, p. 37-47. doi: https//:doi.org/10.1016/j.ab.2016.10.010.

[26] NIELSEN, J.E. and MCCAMMON, J.A. Calculating pka values in enzyme active sites. Protein Science, 12(9), 2003, p. 1894-1901. doi: https//:doi.org/10.1110/ps.03114903.

[27] WANG, C.H. *et al.* Enhanced acidic adaptation of *Bacillus subtilis* Ca-independent alpha-amylase by rational engineering of pKa values. Biochemical Engineering Journal, 139, 2018, p. 146-153. doi: https//:doi.org/10.1016/j.bej.2018.08.015.

[28] ZHAN, X. *et al.* Effect of the isoelectric point of pH-responsive lignin-based amphoteric surfactant on the enzymatic hydrolysis of lignocellulose. Bioresource Technology, 283, 2019, p. 112-119. doi: https//:doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.026.

[28] JONES, H. *et al.* A complete thermodynamic analysis of enzyme turnover links the free energy landscape to enzyme catalysis. The FEBS Journal, 284(17), 2017, p. 2829-2842. doi: https//:doi.org/10.1111/febs.14152.

[30] HERLET, J. *et al.* A new method to evaluate temperature vs pH activity profiles for biotechnological relevant enzymes. Biotechnology for Biofuels, 10(234), 2017, p. 2-12. doi: https//:doi.org/10.1186/s13068-017-0923-9.

BIOTECNOLOGÍA EN EL SECTOR AGROPECUARIO Y AGROINDUSTRIAL

· ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA ·

Vol. 18 No 2 · Julio - Diciembre 2020 · ISSN - 1692-3561 · ISSN-e 1909-9959 · DOI: http://dx.doi.org/10.18684

Actividad antioxidante e influencia del periodo climático sobre el contenido de polifenoles totales en *Merremia aegyptia* *

Antioxidant activity and seasonal influence on total polyphenols content in *Merremia aegyptia*

Atividade antioxidante e influência do período climático sobre o conteúdo de polifenóis totais em *Merremia aegyptia*

JOSÉ ALBERTO SALGADO-CHÁVEZ[1], ANDERSON ENRIQUE PALACIO-VALENCIA[2], NELSON OSVALDO VALERO-VALERO[3]

Historial del Artículo

Recibido para evaluación: 28 de Enero 2020.

Aprobado para publicación: 4 de Mayo 2020.

* Proyecto de investigación de orígen: "Evaluación del potencial antioxidante de dos especies forrajeras (*Ipomoea trifida* (Kunth) G. Don. y *Merremia aegyptia* (L.) Urban) presentes en el departamento de La Guajira (Colombia)". Finaciación: Universidad de La Guajira. Culminación: agosto de 2018.

1 Universidad de La Guajira, Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas, Grupo de Investigación Biotecnología. M.Sc. Biotecnología. Riohacha, Colombia. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8056-0096.

2 Universidad de La Guajira, Programa de Biología, Grupo de Investigación Biotecnología. Riohacha, Colombia. ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1505-0599.

3 Universidad de La Guajira, Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas, Grupo de Investigación DESTACAR. Dr. Ciencias Agropecuarias. Riohacha, Colombia. ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9186-6245.

Correspondencia: jasalgado@uniguajira.edu.co

Cómo citar este artículo: JOSÉ ALBERTO SALGADO-CHÁVEZ, ANDERSON ENRIQUE PALACIO-VALENCIA, PALACIO-VALENCIA, NELSON OSVALDO VALERO-VALERO. Actividad antioxidante e influencia del periodo climático sobre el contenido de polifenoles totales en *Merremia aegyptia*. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial,18(2),2020.82-93, DOI:http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(18)82-93

RESUMEN

Merremia aegyptia (Convolvulaceae) no se ve afectada por la aridez que presenta la mayor parte del territorio guajiro (La Guajira, Colombia). Sin embargo, ha sido subestimada y considerada arvense al desconocerse sus propiedades medicinales y otros posibles usos. Así, con la presente investigación se pretendió establecer la influencia de los periodos climáticos y la fenología sobre la producción de polifenoles en dicha especie y estimar el potencial antioxidante de sus extractos. Se tomaron muestras de tejido foliar durante un año y se sometieron a extracción con metanol, la concentración de polifenoles totales fue establecida mediante el método de Folin-Ciacolteau y se correlacionó con la precipitación y temperatura mensual. Además, se estimó el porcentaje de inhibición de los extractos sobre el radical DPPH. Los resultados obtenidos indicaron variación en la concentración mensual de polifenoles totales, siendo enero de 2018 el mes donde se registró la mayor concentración (6,03%). Adicionalmente, los extractos presentaron mayor actividad antioxidante (85,15%) que el ácido ascórbico (38,65%). Se concluyó que la disponibilidad de agua en el suelo afecta la producción de polifenoles en M. aegyptia y que esta especie representa un recurso vegetal susceptible de ser cultivado y explotado bajo las condiciones ambientales de La Guajira.

PALABRAS CLAVE:
Bioprospección, Metabolitos secundarios, Convolvulaceae, Precipitación pluvial, Fenología.

ABSTRACT

Merremia aegyptia (Convolvulaceae) is not affected by the predominant aridity in most of guajiro territory (La Guajira, Colombia). However, this species has been underestimated and considered weed since its medicinal properties and other possible uses are unknown. Thus, the present investigation was tried to establish the influence of seasons and the phenology on the production of polyphenols in M. aegyptia and to estimate the antioxidant potential of its extracts. Foliar tissue samples were taken for one year and subjected to methanol extraction, total polyphenol concentration was established by Folin-Ciacolteau method and correlated with monthly precipitation and temperature. In addition the percentage of inhibition of its leaf extracts on the DPPH radical was estimated. Results suggest variation in monthly concentration of total polyphenols, obtaining the highest concentration in January 2018 (6,03%). Furthermore, the extracts have a higher antioxidant activity (85,15%) than ascorbic acid (38,65%). It was concluded that the availability of water in soil affects the production of polyphenols in M. aegyptia and that this species represents a plant resource capable of being cultivated and exploited under the environmental conditions of La Guajira.

KEY WORDS:
Bioprospection, Secundary metabolites, Convolvulaceae, Rain, Phenology.

RESUMO

Merremia aegyptia (Convolvulaceae) não é afetada pela aridez da maior parte do território guajiro (La Guajira, Colômbia). Porém tem sido subestimada e considerada como erva daninha pelo que nao são conhecidas suas propriedades medicinais e outros usos possíveis. Nesse sentido, a presente investigação procurou-se estabelecer a influência dos períodos climáticos e a fenologia na produção de polifenóis nessa espécie e estimar o potencial

PALAVRAS CHAVE:
Bioprospecção, Metabolitos secundários, Convolvulaceae, Chuvas, Fenologia.

antioxidante de seus extratos. Amostras do tecido foliar foram colhidas por um ano e submetidas à extração de metanol e, a concentração de polifenóis totais foi estabelecida pelo método de Folin-Ciacolteau e correlacionada com precipitação e temperatura mensais, além da porcentagem de inibição da extratos sobre o radical DPPH. Os resultados obtidos indicaram variação na concentração mensal de polifenóis totais, sendo janeiro de 2018 o mês em que a maior concentração foi registrada (6,03%); além disso, os extratos apresentaram maior atividade antioxidante (85,15%) que o ácido ascórbico (38,65%). Concluiu-se que a disponibilidade de água no solo afeta a produção de polifenóis em M. aegyptia e que essa espécie representa um recurso vegetal capaz de ser cultivado e explorado nas condições ambientais do estado La Guajira.

INTRODUCCIÓN

Muchos de los metabolitos secundarios que producen las plantas presentan actividad biológica, por lo tanto se pueden usar con fines medicinales [1-4]; es así como han hecho parte de la historia de, quizá, todos los grupos étnicos. Actualmente muchas comunidades, indistintamente de si pertenecen a un grupo étnico determinado o no, utilizan las plantas para el tratamiento de una amplia diversidad de dolencias, enfermedades o para controlar los síntomas asociados a las mismas. Pese a que en el departamento de La Guajira (Colombia) la comunidad Wayúu y su legado tienen una alta influencia como resultado de sus prácticas culturales, el conocimiento y utilización de especies vegetales con fines medicinales está disminuyendo, debido, por lo menos en parte, al poco conocimiento de su diversidad biológica. Adicionalmente, los trabajos etnobotánicos son escasos, lo que a su vez limita la proyección de utilización de la biodiversidad vegetal en beneficio de la población del departamento, la región y el mundo.

Históricamente todas las preparaciones medicinales han derivado de especies vegetales [5], ya sea utilizando partes de la planta o extractos crudos de las mismas. Hoy día, muchos medicamentos son desarrollados a partir de plantas que presentan bioactividad y en la mayoría de los casos se requiere el aislamiento de los mismos y su posterior modificación. En la medicina moderna, las plantas son usadas como fuente directa de agentes terapéuticos, modelos para nuevos compuestos sintéticos y como marcadores taxonómicos para el descubrimiento de nuevos compuestos [6]. Las batatillas (Convolvulaceae) son plantas forrajeras que podrían aprovecharse en la obtención de sustancias bioactivas [7-10]; no obstante, a estas plantas se les considera hierbas invasoras de terrenos no ocupados e incluso han sido reportadas como arvenses y nocivas para el ganado [11-13], desestimando su valor ecológico, nutricional o medicinal.

La obtención de nuevas sustancias para el tratamiento de diversas enfermedades es limitada y la información básica para la elaboración de fármacos menos costosos y con menos efectos secundarios es aún escasa y requiere de la evaluación de materiales que puedan producir de manera sostenida grandes cantidades de compuestos activos de manera controlada. A pesar de que existen metodologías para la extracción y cuantificación de polifenoles a partir de distintos órganos vegetales [14-20] la concentración de este tipo de sustancias depende mucho de la variedad, la fenología, la localización geográfica y la época de colecta, además el contenido de metabolitos secundarios es variable entre una planta y otra, aunque pertenezcan a la misma variedad [6, 21]. En este sentido, varias especies del género Merremia han sido objeto de investigación en relación con el contenido de polifenoles y su potencial antioxidante, tal es el caso de *M. borneensis* Merr. [22], *M. hederacea* (Burm. f.) Hallier f., *M. gangitica* (L.) Cufo. [23], *M. emarginata* (Burm. F.) Hall. F. [24], *M. mammosa* (Lour.) Hallier f. [25] y *M. umbellata* (L.) H. Hallier [26]. Así mismo, el uso tradicional de *M. aegyptia* como antidiabético, cicatrizante, antimicrobiano y antitumoral ha sido reportado [6], lo cual puede estar relacionado con su contenido de polifenoles.

La concentración de fenoles en tejidos vegetales se ha utilizado como indicador del grado de resistencia al estrés [27] y específicamente a los polifenoles se les ha atribuido propiedades medicinales entre las que se destacan su actividad antialergénica, antioxidante, anticancerígena, antihiperglicémica, antimicrobiana y antiinflamatoria [28-32], esto indica la necesidad de conocer los beneficios de la biodiversidad vegetal presente en el territorio guajiro con miras a un mejor aprovechamiento, y aunque una revisión bibliográfica podría mejorar el conocimiento sobre la utilización de las especies vegetales presentes en la región, la proyección de futuras investigaciones y la obtención de bioproductos de interés comercial sólo se logrará con la realización de trabajos que permitan

identificar los metabolitos que estas especies producen y qué factores ambientales influyen sobre la producción de este tipo de sustancias. La especie objeto de estudio de la presente investigación tiene la ventaja adicional de estar totalmente adaptada a ecosistemas áridos [33, 34], lo que implica disponibilidad de material para trabajar, en caso de comprobarse la alta producción de sustancias bioactivas bajo las condiciones ambientales de La Guajira.

Con la presente investigación se buscó estimar el potencial antioxidante de los extractos foliares de *M. aegyptia* y determinar las variaciones en la concentración de polifenoles atendiendo a los periodos climáticos regentes en región Caribe colombiana y a la fenología de la especie. La información generada soporta las bases para proponer el cultivo de *M. aegyptia*, así como la posibilidad de estimar la mejor época de cosecha considerando el contenido de polifenoles en las hojas y de esta manera aprovechar la disponibilidad de suelos que por su aridez no permiten el establecimiento de cultivos convencionales.

MÉTODO

Muestreo y definición de los periodos climáticos

Se tomaron muestras de plantas de *M. aegyptia*, visiblemente sanas y sin signos de herbivoría que crecían en estado silvestre en un área urbana del municipio de Riohacha (La Guajira), en las coordenadas 11°32'15,7" de latitud Norte y 72°53'36,7" de longitud Oeste, con una temperatura promedio de 29,24 ± 1,31°C y humedad relativa de 72,75 ± 4,11%. Las muestras consistieron de hojas procedentes de la parte media de los tallos, las cuales fueron tomadas mensualmente durante un año, en el periodo comprendido entre septiembre de 2017 y agosto de 2018. Con el fin de establecer la concentración de polifenoles en otros órganos, en el mes de marzo de 2018 se colectaron flores completas (incluían todos los órganos florales) y frutos maduros, en perfecto estado, procedentes de las plantas objeto de estudio. Posterior a la colecta, las muestras se trasladaron inmediatamente al Laboratorio de Calidad Ambiental de la Universidad de La Guajira (Riohacha, Colombia), donde fueron procesadas para la obtención de extractos vegetales.

Durante el periodo de estudio se registraron los cambios fenológicos que presentaron las plantas objeto de estudio y se establecieron tres estadíos fenológicos: Crecimiento vegetativo (ausencia de estructuras reproductivas), Floración (desde la aparición de las primeras yemas florales hasta la aparición de los primeros frutos) y Fructificación (a partir de la aparición de los primeros frutos). Los periodos climáticos fueron definidos utilizando los reportes históricos y los datos climatológicos (precipitación y temperatura) correspondientes al periodo evaluado en la presente investigación, publicados por el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales IDEAM [35].

Adicionalmente, se tomaron por duplicado muestras del horizonte A del suelo adyacente a las plantas y se hicieron determinaciones de los siguientes parámetros: densidad aparente (método núcleo), textura (Boyucos), humedad gravimétrica (gravimetría), estructura (manual), retención de humedad a 0,33 atm (plato de Richards), pH (potenciométrico), conductividad eléctrica (conductímetro); siguiendo los protocolos de la sección de física de suelos del laboratorio de Ciencias Ambientales de la Universidad de La Guajira. Al finalizar el muestreo las raíces de las plantas evaluadas fueron extraídas y medidas en miras a asociar las estrategias adaptativas de la especie para superar el déficit hídrico con el contenido de polifenoles.

Obtención de los extractos foliares

Hojas procedentes de tres plantas de *M. aegyptia* fueron secadas en horno durante 48 h a 40°C, posteriormente se maceraron independientemente en nitrógeno líquido a temperatura de laboratorio (24 ± 1°C), por aproximadamente 5 min, hasta obtener un polvo fino. Se pesó 1 g de cada pulverizado y se les adicionó 10 mL de metanol al 96%, se dejó actuar por 2 horas y se filtró utilizando papel filtro Whattman N°4, siguiendo la metodología descrita en trabajos previos [36]. Los extractos así obtenidos fueron utilizados en los ensayos posteriores.

Cuantificación de polifenoles totales

La cuantificación de polifenoles se hizo de acuerdo con lo establecido por la IAEA [37], utilizando un espectrofotómetro UV-Vis Hach DR 5000. Los límites de detección y cuantificación del equipo fueron estimados como se describe en la guía tripartita armonizada de la International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use [38], mediante el

método basado en la desviación estándar del blanco y la pendiente de una curva de calibrado de ácido gálico construida para tal fin.

Se tomaron tres alícuotas de 21 µL de cada extracto y se depositaron en tubos de ensayo, de manera independiente se les adicionaron agua destilada hasta un volumen de 1,25 mL, se les adicionó 625 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu, se dejaron reposar por 10 minutos y luego se les adicionaron 3,125 mL de solución de Na_2CO_3 al 20%. La mezcla en los tubos de ensayo fue agitada en vortex hasta homogenizar, después de dos horas se midió la absorbancia a 760 nm. Los valores de absorbancia se utilizaron para establecer la concentración de polifenoles totales utilizando la ecuación de la curva de calibración ($y = 0,0458x + 0,0092$; $R^2 = 0,9998$) y el contenido de estas sustancias se expresó en porcentaje sobre una base de masa seca (1 g de tejido pulverizado), como equivalente de ácido gálico (%EAG). Los órganos reproductivos fueron procesaron de manera similar al tejido foliar.

Actividad antioxidante

La actividad antioxidante de los extractos se determinó mediante el método del DPPH [1], como se describe a continuación. Se tomaron cinco alícuotas de 100 µL de cada extracto y se mezclaron, independientemente, con 3,9 mL de una solución de 1,1-Difenil-2-picrílhidrazilo (DPPH) a una concentración de 60 µmol, recién preparada en metanol al 96%; la mezcla se incubó a temperatura de laboratorio (24 ± 1°C) en la oscuridad y se midió la absorbancia a 515 nm a los 0 y 30 minutos de reacción. Se utilizó metanol al 96% como control negativo y soluciones de ácido ascórbico a la misma concentración de polifenoles totales estimada en los extractos como control positivo. Los porcentajes de inhibición del radical DPPH se calcularon de acuerdo con la ecuación 1[39]:

$$\% \, Inhibición = \frac{Abs_{DPPH} - Abs_{muestra}}{Abs_{DPPH}} \qquad \text{(Ec. 1)}$$

Dónde: Abs_{DPPH} es la absorbancia del control negativo a t = 0 minutos y $Abs_{muestra}$ es la absorbancia de las muestras a t = 30 minutos.

Procesamiento de datos y análisis de la información

Todos los ensayos se ajustaron a un diseño completamente aleatorizado. Los datos correspondientes a la concentración mensual de polifenoles y actividad antioxidante fueron tabulados y graficados en Microsoft Excel®, analizados con ANAVA y las medias fueron separadas mediante el test de Duncan. La relación entre la fenología y el contenido de polifenoles se estableció comparando las variaciones en la concentración mensual de estas sustancias contra el estadío fenológico de las plantas en el mismo periodo; por su parte, la concentración mensual de polifenoles fue correlacionada con la temperatura media mensual y las precipitaciones mediante el coeficiente de correlación de Pearson. Todos los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el paquete de análisis estadístico SAS® v. University.

RESULTADOS

Fenología de las plantas, características del suelo y periodos climáticos

Durante el periodo de estudio las plantas evaluadas presentaron la siguiente fenología: Crecimiento vegetativo, de septiembre a mediados de diciembre de 2017; Floración, mediados de diciembre de 2017 hasta mediados de enero de 2018. El estadío de Fructificación se dio desde mediados de enero de 2018 y se prolongó con la presencia simultánea de flores durante el resto del tiempo contemplado en la investigación (agosto de 2018). Los cambios fenológicos coinciden con los descritos para dicha especie [34], resaltando que esta planta, propia de ambientes secos, florece y fructifica mayoritariamente durante los meses de octubre a enero y en menor grado en otros meses del año por influencia de las precipitaciones. Sin embargo, no fue posible establecer la relación entre el contenido de polifenoles y la fenología de las plantas, ya que la concentración de polifenoles varió indistintamente del estadio reproductivo de las plantas, por lo que se consideró que la producción de este tipo de sustancias se ve afectada mayoritariamente por las variables ambientales y no por el estadio fenológico.

El análisis del suelo adyacente a las plantas reveló una densidad de 1,45 g/cm^3, lo que indica un alto grado de compactación que puede conllevar a dificultades para la circulación del agua y el desarrollo de raíces; la

estructura blocosa angular con desarrollo moderado a fuerte y bloque de tamaño medio de 19 mm es típica en suelos donde la actividad biológica y la materia orgánica no tienen gran influencia como factor formador; la textura franco limosa con contenidos de arcilla de 26,5%, limo del 37%, y arena del 36,55 es coherente con el grado de estructura presente y la baja conductividad y retención hídrica, reflejada en una humedad gravimétrica del 4,96% que indica un déficit hídrico alto y la baja capacidad de retención de humedad a 0,33 atm (11,3%); también, se evidenció alcalinidad (pH 8,48) y baja conductividad eléctrica (1156 µS). Las características predominantes son congruentes con lo reportado para los suelos de la zona [40] y en su conjunto estos parámetros edáficos pueden representar condiciones estresantes para el desarrollo vegetal, más aún bajo las condiciones climáticas predominantes. Por su parte, las raíces de las plantas utilizadas durante la investigación tuvieron una longitud promedio de 163,9 cm (±40,46 cm) y se extendieron hasta una profundidad de 75,5 cm (±14,08 cm).

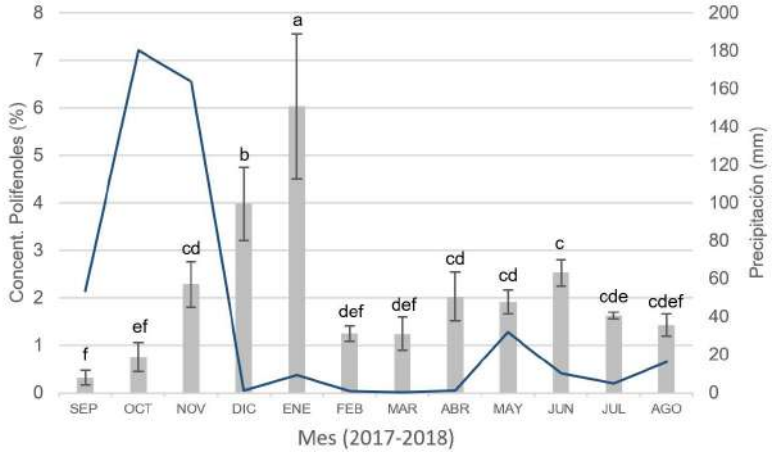
En cuanto a los periodos climáticos, hubo correspondencia entre el régimen de lluvias evidenciado durante el periodo evaluado y los registros históricos [35], presentándose dos periodos lluviosos: el primero se extendió desde el mes de septiembre hasta noviembre de 2017, siendo octubre y noviembre los meses con mayores precipitaciones (180 y 164 mm, respectivamente) con algunas lluvias esporádicas en el mes de diciembre. Durante este primer periodo se obtuvo un acumulado de 399 mm, concentrando la mayor precipitación del año. El segundo periodo de lluvias se dio entre los meses de abril a junio de 2018, siendo las lluvias menos intensas y abundantes (43,7 mm en total). Los periodos secos se dieron durante los meses de enero, febrero, marzo, julio y agosto de 2018, destacándose por precipitaciones muy bajas (entre 0,5 mm en el mes de marzo de 2018 y 16,3 mm en el mes de agosto del mismo año) y temperaturas más altas durante los meses de julio y agosto (31,22 ± 0,01°C). No obstante lo anterior, se resalta que el terreno adyacente al sitio donde crecieron las plantas objeto de estudio permaneció inundado por varios meses (octubre de 2017 a enero de 2018), evento que fue atribuido a las características físicas del suelo, las cuales dificultaron la conductividad hidráulica que permitiera la percolación del agua del período lluvioso (septiembre – noviembre de 2017), lo que pudo haber influido en la concentración de polifenoles en algunos meses de la temporada seca.

Concentración de polifenoles totales en los extractos foliares

El límite de detección del espectrofotómetro utilizado fue estimado en 0,41 ppm y el límite de cuantificación en 1,24 ppm.

Los resultados obtenidos evidenciaron que la concentración de polifenoles en *M. aegyptia* varían de un mes a otro durante todo el año y el análisis estadístico de los datos corroboró la existencia de diferencias significativas en el comportamiento de esta variable durante el periodo evaluado (p< 0,0001). Se registró un incremento paulatino en la producción de polifenoles totales desde los meses de septiembre de 2017 (0,32% EAG) a enero de 2018 (6,03% EAG); posteriormente se evidenció un descenso en la concentración de estas sustancias durante los meses de febrero y marzo de 2018 (1,24% EAG en ambos meses), seguido de un leve aumento durante los meses de

Figura 1. Variación mensual del contenido promedio de polifenoles totales (%) en M. aegyptia (barras ± la desviación estándar). La línea continua muestra la precipitación mensual (mm).



Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre el contenido de polifenoles (α = 0,05).

abril a junio de 2018 (2,02 a 2,52% EAG), disminuyendo nuevamente durante los meses de julio y agosto (1,62 y 1,42% EAG, respectivamente) (figura 1).

Debido a que en los meses de diciembre de 2017 y enero de 2018 se evidenció la mayor concentración de las sustancias de interés (siendo estos parte de uno de los periodos secos del año y se esperaba que la concentración de polifenoles en las plantas evaluadas disminuyera), no se encontró correlación significativa entre el contenido de polifenoles y el régimen de lluvias (r= -0,2676; p=0,4004). Aun así, varios trabajos de investigación señalan la relación existente entre estas dos variables y se considera coherente con los resultados de la presente investigación teniendo en cuenta que había agua acumulada en el suelo durante los primeros meses del periodo seco. De igual manera, no se evidenció correlación entre la temperatura mensual promedio y la concentración mensual de polifenoles (r= -0,1836; p=0,5678).

El incremento en el contenido de polifenoles desde el mes de noviembre de 2017 hasta enero de 2018 se atribuyen, por un lado, a las lluvias relativamente frecuentes durante los meses de septiembre a noviembre de 2017, así como a la inundación del área colindante con el sitio donde crecían las plantas, la cual se mantuvo desde el mes de octubre de 2017 hasta entrado el año 2018, posiblemente como consecuencia de las características físicas del suelo. Como se indicó en párrafos anteriores, los meses de diciembre a febrero corresponden históricamente al periodo seco; sin embargo, el alto contenido de polifenoles en estos meses se considera que estuvo influenciado por la acumulación de agua en la superficie del suelo y su lenta infiltración como consecuencia de la compactación del mismo. Sumado a su poca estructura (debida a la falta de materia orgánica), los bloques que conforman este suelo presentaron resistencia a romperse y tuvieron un grado fuerte de desarrollo, características que dificultan la capacidad de las raíces de las plantas para explorar horizontalmente; no obstante, las raíces presentaron una longitud considerable y una penetración suficiente como para acceder al agua contenida en estratos bajos del suelo, lo cual proporcionó mayor cantidad de agua a estas plantas, incrementado la producción de polifenoles.

Se ha descrito el efecto de la cantidad de agua disponible para las plantas sobre la producción de polifenoles en *Camellia sinensis* L. [41], encontrando que el aumento en el contenido de agua en el suelo tiene una relación directamente proporcional con la concentración de polifenoles, variando desde 12% en suelos con el menor potencial hídrico (14% de contenido de agua) hasta 25% en los suelos con mayor potencial hídrico (38% de contenido de agua). Estos hallazgos fueron soportados en el hecho de que al ser el agua uno de los insumos de la fotosíntesis, afecta la producción de sustancias orgánicas en la planta, entre estas los metabolitos secundarios. Los resultados en mención coinciden con los obtenidos en *Olea europaea* L. *Cv. Cobrançosa* (un genotipo bien adaptado a ambientes con bajo suministro anual de agua), donde se evidenció que la deficiencia de agua disminuye el contenido de polifenoles, siendo muy evidente en condiciones de secano (disminución en el contenido de polifenoles totales de 61,3 a 15,7 mg EAG g^{-1}) [42].

Los menores contenidos de polifenoles en *M. aegyptia* durante los meses de septiembre-octubre de 2017 y febrero-marzo de 2018 sugieren una respuesta a la falta de agua en los meses de sequía que los precedieron (julio – agosto y diciembre-enero, respectivamente), disminuyendo la producción de compuestos fenólicos. Así mismo, el incremento en la concentración de estas sustancias en los meses de abril a junio de 2018 coincide con las lluvias registradas en este periodo. La influencia de la variación estacional sobre el contenido de polifenoles en hojas de *I. batatas* ha sido establecida [43], hallando que la concentración de éstos disminuye durante el verano e incrementaba nuevamente después de dicha estación. Así mismo, se halló una concentración promedio de polifenoles de 6,9%, lo cual contrasta con lo encontrado en la presente investigación al obtenerse una producción promedio de 2,11% EAG en *M. aegyptia.* No obstante, en el trabajo anteriormente citado no se correlacionó la disponibilidad de agua para las plantas con la producción de polifenoles, en su lugar se encontró que esta variable se correlacionaba directamente (y de forma negativa) con la temperatura ambiental, lo cual difiere con los resultados de la presente investigación, donde no se evidenció correlación entre estas variables.

M. aegyptia es una especie adaptada a condiciones de aridez, por tanto se esperaba que mantuviera altos contenidos de polifenoles como estrategia contra el estrés ambiental, como ha sido evidenciado en *Achillea pachycephala* y *Sesamum indicum* [44, 45], donde se encontró que la concentración de polifenoles incrementa a medida que las plantas se exponen

a mayores niveles de estrés hídrico. Por otro lado, en *Brassica rapa* [46] se encontró que el estrés hídrico disminuye la concentración de polifenoles de forma leve, lo cual deja en evidencia que el genotipo influye sobre esta respuesta fisiológica. Los trabajos realizados sobre las especies anteriormente citadas reportan que los flavonoides decrecen bajo condiciones de estrés, mientras que los ácidos caféico y clorogénico incrementan, coincidiendo con los resultados obtenidos en *Cynara cardunculus* [47].

Se ha establecido que el estrés hídrico incrementa el contenido de polifenoles totales en *Amaranthus tricolor*, (una especie adaptada a dicho estrés) [48] y existen reportes de la producción variable de polifenoles en especies que crecen en un ecosistema árido de Brasil; oscilando entre 2,5% (*Macroptilium lathyroides* (L) Urban) y 22,0% (*Stylosanthes humilis* Kunth) [49], lo que supone la influencia del genotipo y las adaptaciones al estrés sobre el comportamiento de esta variable. También se reporta una producción de polifenoles de 6,1% en *M. aegyptia*, valor similar al encontrado en el presente trabajo para esta especie en el mes de enero de 2018 bajo las condiciones ambientales de La Guajira; sin embargo, debe tenerse en cuenta que los datos tomados en los trabajos aquí citados son puntuales y no consideran una línea de tiempo, lo que no permite evidenciar variaciones en el contenido de estas sustancias. Así, la diferencia en el contenido de polifenoles durante el resto del año puede deberse a las variaciones en las condiciones ambientales a las que estuvieron sometidas las plantas y corresponden con los periodos climáticos.

El contenido de polifenoles totales en seis genotipos de *I. batatas* fue analizado, encontrando que la concentración de éstos fluctuó entre 12,18 y 16,17% [14]. Posteriormente, se indicó que en esta misma especie el contenido de polifenoles varía entre 6,3 y 13,5% (dependiendo del genotipo) [36], valores que distan de los hallados en el presente trabajo; no obstante, debe resaltarse que *M. aegyptia* crece abundantemente en suelos marginales del territorio guajiro, por lo que aun así representa un buen insumo para la producción de antioxidantes que merece ser estudiada a fondo con fines de aprovechamiento. Además, las propiedades medicinales de *M. aegyptia* y otras especies relacionadas han sido reportadas, destacándose su utilización como antimicrobiano, diurético, tratamiento de quemaduras en la piel y trastornos del hígado [2, 50, 51], bioactividad que también ha sido asociada con la presencia de polifenoles.

La concentración promedio de polifenoles en flores fue de 7,4% (±1,05), mientras que la concentración de estas sustancias en los frutos estuvo por debajo del límite de detección del equipo. En relación con la concentración de polifenoles en tejido foliar en el mes de marzo de 2017 (1,24 ±0,34%), las flores presentaron contenido de polifenoles 5,94 veces superior. La diferencia en el contenido de polifenoles en hojas y flores sugieren que los polifenoles producidos en las hojas son traslocados a las flores donde desempeñarán funciones relacionadas con la atracción de polinizadores o evitar la florivoría [52, 53]. A su vez, la mayor concentración de polifenoles en flores explicaría, en parte, los valores marcadamente más bajos de estas sustancias en las hojas durante los estadios de floración y fructificación.

Actividad antioxidante

Los resultados de la presente investigación mostraron que la capacidad antioxidante de los extractos foliares de *M. aegyptia* (85,15%) es superior a la del ácido ascórbico (38,65%), lo cual es atribuido a la concentración de polifenoles en los mismos. El análisis estadístico de los datos permitió establecer diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de inhibición del radical DPPH para las sustancias evaluadas ($p < 0,0001$) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Actividad antioxidante de extractos de *M. aegyptia* sobre una solución de DPPH (60 µmolar). Los valores en cada celda representan la media de cada tratamiento ± la desviación estándar.

MUESTRA	ABS 0'	ABS 30'	% INHIBICIÓN 30'
Extracto *M. aegyptia* (38,93 ppm)	0,110 ± 0,006	0,103 ± 0,006	85,15 ± 0,79 a
Ác. Ascórbico (38,93 ppm)	0,428 ± 0,002	0,427 ± 0,002	38,65 ± 0,28 b
Met-OH 96%	0,696 ± 0,000	0,695 ± 0,001	0,215 ± 0,10

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre los porcentajes de inhibición de las sustancias evaluadas sobre el radical DPPH ($\alpha = 0,05$).

Los resultados tabulados en el Cuadro 1 son similares a los obtenidos en trabajos previos [23], donde se reporta la inhibición del radical DPPH en un 60,31% utilizando extractos foliares de *M. gangitica*, haciendo énfasis en que la actividad antioxidante de los extractos fue superior a aquella obtenida con soluciones de ácido ascórbico a 100 µg mL^{-1}, lo cual fue relacionado con la concentración de polifenoles en los extractos. Así mismo, se ha obtenido correlación positiva alta (R^2=0,907) entre la concentración de polifenoles en extractos foliares de *I. batatas* y la actividad antioxidante de los mismos [36], lo que coincide con otros reportes [39, 54, 55, 56], donde se señala la relación entre un mayor contenido de compuestos fenólicos y la alta actividad antioxidante de extractos vegetales. Por otra parte, la relación directa entre el contenido de derivados de ácidos fenólicos y flavonoides con la actividad antioxidante de extractos crudos de *M. borneensis ha sido argumentada* (hasta un 80% de inhibición del radical DPPH, utilizando 100 µg de extracto) [22].

No obstante lo anterior, se hace necesario conocer el tipo y concentración individual de los compuestos fenólicos presentes en los extractos más que la concentración total de éstos, ya que este grupo de sustancias es bastante amplio y varios autores [1, 43, 57] han señalado la presencia de derivados del ácido cafeoilquinico, ácido gálico, ácido cinámico, ácido ferúlico, eriocitrina, hesperidina, ácido rosmarínico y metil-rosmarenato en extractos vegetales, todos ellos con diferente potencial antioxidante. De igual manera, se ha encontrado diferencias en la actividad antioxidante al evaluar fracciones de los extractos de *M. borneensis* [22], lo que refuerza la idea anterior. Por otro lado, se encontró que en *I. batatas* la composición y concentración de polifenoles individuales varía entre genotipos de la misma [14], lo cual podría presentarse a nivel individual y que también es susceptible de estar influenciado por variables ambientales.

Aunque algunos autores consideran que los polifenoles son las sustancias con las mayores propiedades antioxidantes en organismos vegetales [36, 58], otros reconocen que estos compuestos no son los únicos fitoconstituyentes en un extracto vegetal que pueden inhibir radicales libres [39]. Sobre este hecho, se ha señalado que aparte de los polifenoles, la vitamina E, el ß-caroteno y la luteína pueden contribuir a la inhibición de radicales libres en extractos foliares de *I. batatas* [36], por lo que no podría descartarse que otras sustancias presentes en los extractos de *M. aegyptia* hayan contribuido a los resultados obtenidos. Sin embargo, también debe considerarse que la actividad antioxidante de los extractos vegetales (y por extensión el de otras sustancias) puede estar influenciada por los diferentes mecanismos de inhibición de radicales libres que presentan las sustancias que los constituyen, asociados con algunas variables como peso molecular, número de anillos aromáticos y naturaleza de la sustitución de grupos hidroxilo [28]. Adicionalmente, se ha reportado a los ácidos cafeoilquínicos como los compuestos con mayor concentración en las hojas de *I. batatas* y que esta varía entre periodos climáticos [43], lo que influye sobre la capacidad que tienen los extractos de inhibir radicales libres, dejando en evidencia que la época en que se cosechen las hojas para obtener los extractos definirá, por lo menos en parte, el grado de actividad antioxidante de los mismos.

CONCLUSIONES

M. aegyptia constituye una fuente potencial de polifenoles y la disponibilidad de agua para las plantas de esta especie (y no la fenología, ni la temperatura) determina la concentración de este tipo de sustancias, por lo que la época del año (considerando específicamente las precipitaciones) o la saturación de agua que tenga el suelo son factores a tener en cuenta al momento de planear la cosecha de las plantas si se pretende su aprovechamiento industrial. Así mismo, se requiere la cuantificación individual de polifenoles para garantizar que la extracción se realice en el momento donde aquellos que presenten mayor actividad antioxidante estén presentes en concentraciones relativamente altas.

REFERENCIAS

[1] HAMDY, M., ATEF, M., SELIM, K. and IBRAHIM, K. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. Industrial Crops and Products, 43, 2013, p. 827– 831. doi: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.08.029.

[2] JOSHI, R., AGARWAL, S. and PATNI, V. Evaluation of anti-microbial activity of in vitro and in vivo plant parts of *Merremia Dissecta* and *Merremia Aegyptia*. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 6(6), 2015, p. 2477-2483. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.6(6).2477-83.

[3] TUNGMUNNITHUM, D., THONGBOONYOU, A., PHOLBOON, A. and YANGSABAI, A. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An Overview. Medicines (Basel, Switzerland), 5(3), 93, 2018. doi: https://doi.org/10.3390/medicines5030093.

[4] HUSSEIN, R. and EL-ANSSARY, A. En: Herbal Medicine. Plants secondary metabolites: the key drivers of the pharmacological actions of medicinal plants. London (United Kingdom): Intechopen Limited, 2018, p. 11–30. doi: 10.5772/intechopen.76139.

[5] CATALANO, E. En: Studies in Natural Products Chemistry. Chapter 3 - Nanotechnology-Based Drug Delivery of Natural Compounds and Phytochemicals for the Treatment of Cancer and Other Diseases. Cambridge (United States): Elsevier, 2019, p. 91-123. doi: https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64185-4.00003-4.

[6] OMOTAYO, F. and BOROKINI, T. Comparative phytochemical and ethnomedicinal survey of selected medicinal plants in Nigeria. Scientific Research and Essays, 7(9), 2012, p. 989-999. doi: 10.5897/SRE09.525.

[7] AMBIKA, A. and NAIR, S. Wound healing activity of Plants from the Convolvulaceae family. Advances in Wound Care, 8(1), 2019, p. 28-37. doi:10.1089/wound.2017.0781.

[8] JOSHI, R., MEENA, R. and PATNI, V. Comparative phytochemical analysis of bioactive constituents present in in vitro and in vivo plant parts of *Merremia aegyptia* and *Merremia dissecta*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 7(1), 2018, p. 679-684. doi: http://dx.doi.org/10.22271/phyto.

[9] CHEN, G., LU, Y., YANG, M., LI, J. and FAN, B. Medicinal uses, pharmacology, and phytochemistry of Convolvulaceae plants with central nervous system efficacies: A systematic review. Phytotherapy Research, 32(5), 2018, p. 823–864. doi:10.1002/ptr.6031.

[10] SALEHI, B. *et al*. Convolvulus plant—A comprehensive review from phytochemical composition to pharmacy. Phytotherapy Research, 34(2), 2019, p. 237-431. doi:10.1002/ptr.6540.

[11] PACHECO, D. *et al*. Reconocimiento de malezas presentes en el huerto de guayabo (*Psidium guajava* L.) tipo Criolla Roja, del Centro Frutícola del Zulia, Municipio Mara, Venezuela. Revista UDO Agrícola, 9(1), 2009, p. 141-147.

[12] BIDÓIA, V. Estratégias de manejo químico para controle de *Mucuna aterrima*, *Ricinus communis*, *Merremia aegyptia*, *Ipomoea hederifolia* e *Ipomoea quamoclit* e sua seletividade no plantio da cana-de-açúcar [Mestre em Agronomia (Produção Vegetal)]. Jaboticabal (Brasil): Universidade Estadual Paulista – UNESP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2019, 72 p.

[13] BRITO, L. *et al*. Spontaneous and experimental poisoning by *Merremia macrocalyx* (Convolvulaceae) in cattle. Pesquisa Veterinária Brasileira, 39(7), 2019, p. 447-453. doi: https://doi.org/10.1590/1678-5150-pvb-6335.

[14] ISLAM, I., SHAIKH, A. and SHAHIDUL, I. Antioxidative and antimutagenic potentials of phytochemicals from *Ipomoea batatas* (L) Lam. Internacional Journal of Cancer Research, 5(3), 2009, p. 83-94. doi: 10.3923/ijcr.2009.83.94.

[15] KOCZKA, N., STEFANOVITS-BÁNYAI, É. and OMBÓDI, A. Total polyphenol content and antioxidant capacity of rosehips of some Rosa species. Medicines, 5(3), 2018, 84. doi:10.3390/medicines5030084.

[16] ZHANG, H. *et al*. Effect of solvents on polyphenol recovery and antioxidant activity of isolates of Asparagus Officinalis roots from Chinese and New Zealand cultivars. International Journal of Food Science & Technology, 53(10), 2018, p. 2369-2377. doi:10.1111/ijfs.13829.

[17] ABDELOUHAB, K. *et al*. Comparative study of the polyphenol content related-antioxidant and anti-inflammatory activities of methanolic extracts from different parts of *Hertia cheirifolia*. International Journal of Pharmaceutical Research, 11(4), 2019, p. 209-215. doi: https://doi.org/10.31838/ijpr/2019.11.04.034.

[18] BAZZICALUPO, M. *et al*. Polyphenol characterization and skin-preserving properties of hydroalcoholic flower extract from *Himantoglossum robertianum* (Orchidaceae). Plants, 8(11), 2019, 502. doi: 10.3390/plants8110502.

[19] GULCIN, I. *et al*. Anticholinergic, antidiabetic and antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts: polyphenol contents analysis by LC-MS/MS. International Journal of Food Properties, 22(1), 2019, p. 1511-1526. doi: 10.1080/10942912.2019.1656232.

[20] SHAWON, R. *et al*. Influence of drought stress on bioactive compounds, antioxidant enzymes and glucosinolate contents of Chinese cabbage (*Brassica rapa*). Food Chemistry, 308, 125657, 2020. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125657.

[21] ZHANG, C., SUEN, C., YANG, C. and QUEK, S. Antioxidant capacity and major polyphenol composition of teas as affected by geographical location, plantation elevation and leaf grade. Food Chemistry, 244, 2018, p. 109–119. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.09.126.

[22] HOSSAIN, M.A. and SHAH, M.D. A study on the total phenols content and antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of endemic plant *Merremia borneensis*. Arabian Journal of Chemistry, 8, 2015, p. 66–71. doi: https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.01.007.

[23] KARNAN, R. and SUBRAMANI, K. Antioxidant properties of certain South Indian medicinal plants. Journal of Medicinal Plants Studies, 3(2), 2015, p. 58-60. doi: https://doi.org/10.22271/plants.

[24] KUMAR, P.R. Application of HPLC and ESI-MS techniques in the analysis of phenolic acids and flavonoids from green leafy vegetables (GLVs). Journal of Pharmaceutical Analysis, 7, 2017, p. 349–364. doi: 10.1016/j.jpha.2017.06.005.

[25] RATNADEWI, A. *et al*. Revealing anti-diabetic potency of medicinal plants of Meru Betiri National Park, Jember – Indonesia. Arabian Journal of Chemistry, 13(1), 2018, p. 1831-1836. doi:10.1016/j.arabjc.2018.01.017.

[26] KAVERY, K. and JEYABALAN, G. Optimization of extraction method and profiling of plant phenolic compounds of *Merremia umbellata* (hallier. f.) through RP-HPLC. Global Journal for Research Analysis, 8(7), 2019, p. 146-147. doi: https://www.doi.org/10.36106/GJRA.

[27] SHARMA, A. *et al*. Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. Molecules, 24(13), 2452, 2019. doi: https://doi.org/10.3390/molecules24132452.

[28] KHAN, R., KHAN, M., SAHREEN, S. and AHMED, M. Evaluation of phenolic contents and antioxidant activity of various solvent extracts of *Sonchus asper* (L.) Hill. Chemistry Central Journal, 6, 2012, p. 12. doi: 10.1186/1752-153X-6-12.

[29] AJIBOYE, B. *et al*. Anti-Hyperglycemic and anti-Inflammatory activities of polyphenolic-Rich extract of *Syzygium cumini* Linn leaves in alloxan-induced diabetic rats. Journal of Evidence-Based Integrative Medicine, 23, 2018, p. 1-8. doi: 10.1177/2515690X18770630.

[30] TAY, Y. *et al*. Inhibition of carbohydrate hydrolysing enzymes, antioxidant activity and polyphenolic content of Beilschmiedia species extracts. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering [online]. 2020. Disponible: https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/716/1/012007 [citado 18 de febrero de 2020].

[31] NATUNGNUY, K., CHAREONSAP, P. and POEAIM, S. Biological activities of the methanolic extracts from two varieties of *Dimocarpus longan* seeds. International Journal of Agricultural Technology, 14(7), 2018, p. 1505-1514.

[32] AL-DABBAGH, B. *et al*. Antioxidant and anticancer activities of *Trigonella foenum-graecum*, *Cassia acutifolia and Rhazya stricta*. BMC Complementary and Alternative Medicine, 18(1), 2018, p. 240. doi: https://doi.org/10.1186/s12906-018-2285-7.

[33] NETO, F. *et al*. Otimização agroeconômica da cenoura fertilizada com diferentes doses de jitirana. Revista Ciência Agronômica, 45(2), 2014, p. 305-311. doi: 10.1590/S1806-66902014000200011.

[34] CABI, current year. Merremia aegyptia. In: Invasive Species Compendium. Wallingford, UK: CAB International. [online]. 2019. Disponible: https://www.cabi.org/isc/datasheet/119828 [citado 11 de abril de 2020].

[35] COLOMBIA. INSTITUTO DE HIDROLOGÍA, METEOROLOGÍA Y ESTUDIOS AMBIENTALES (IDEAM). Cartas climatológicas mensuales, Aeropuerto Almirante Padilla (Riohacha). Subdirección de meteorología [online]. 2018. Disponible: http://bart.ideam.gov.co/cliciu/rioha/tabla.htm. [citado 28 de enero de 2018].

[36] NAGAI, M. *et al*. Sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves suppressed oxidation of low density lipoprotein (LDL) in vitro and in human subjects. Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition, 48(3), 2011, p. 203–208. doi: 10.3164/jcbn.10-84.

[37] AUSTRIA. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (IAEA). Quantification of tannins in tree foliage. FAO/IAEA working document. Viena (Austria): 2000, 26 p.

[38] INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE. ICH Harmonised Tripartite Guideline, validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1). Current *Step 4* version, Parent Guideline dated 27 October 1994 (Complementary Guideline on Methodology dated 6 November 1996 incorporated in November 2005). Unión Europea: 2005, 17 p.

[39] FARRUKH, A., IQBAL, A. and ZAFAR, M. Antioxidant and free radical scavenging properties of twelve traditionally used indian medicinal plants. Turkish Journal of Biology, 30, 2006, p. 177-183.

[40] COLOMBIA. INSTITUTO GEOGRÁFICO AGUSTÍN CODAZI (IGAC). Estudio semidetallado de suelos y zonificación de tierras en la media y baja Guajira: escala 1:25.000 (No. AUD 708). Bogotá (Colombia): IGAC, 2012, 810 p.

[41] CHERUIYOT, E. *et al*. Polyphenols as potential indicators for drought tolerance in tea (*Camellia sinensis* L.). Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 71(9), 2007, p. 2190-2197. doi: 10.1271/bbb.70156.

[42] MACHADO, M. *et al*. Polyphenolic compounds, antioxidant activity and L-phenylalanine ammonia-lyase activity during ripening of olive cv. "Cobrançosa" under different irrigation regimes. Food Research International, 51, 2013, p. 412–421. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.056.

[43] KOBAYASHI, T., KURATA, R. and KAI, Y. Seasonal variation in the yield and polyphenol content of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) Foliage. The Horticulture Journal, 88(2), 2019, p. 270–275. doi: 10.2503/hortj.UTD-025.

[44] GHARIBI, S. *et al*. The effect of drought stress on polyphenolic compounds and expression of flavonoid biosynthesis related genes in *Achillea pachycephala*. Rech.f. Phytochemistry, 162, 2019, p. 90-98. doi: 10.1016/j.phytochem.2019.03.004.

[45] KERMANI, S. *et al*. Drought stress influenced sesamin and sesamolin content and polyphenolic components in sesame (*Sesamum indicum* L.) populations with contrasting seed coat colors. Food Chemistry, 289, 2019, p. 360-368. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.03.004.

[46] KU, Y. *et al*. Antioxidant capacities and polyphenols in autumn-growing cultivar of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. pekinensis cv. Bulam Plus). European Food Research and Technology, 2019. doi: 10.1007/s00217-019-03294-0.

[47] NOURAEI, S., RAHIMMALEK, M. and SAEIDI, G. Variation in polyphenolic composition, antioxidants and physiological characteristics of globe artichoke *(Cynara cardunculus* var. scolymus Hayek L.) as affected by drought stress. Scientia Horticulturae, 233, 2018, p. 378-385. doi: 10.1016/j.scienta.2017.12.060.

[48] SARKER, U. and OBA, S. Response of nutrients, minerals, antioxidant leaf pigments, vitamins, polyphenol, flavonoid and antioxidant activity in selected vegetable amaranth under four soil water content. Food Chemistry, 252, 2018, p. 72–83. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.01.097.

[49] SILVA, D. *et al*. Chemical composition of Caatinga potential forages species. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 18, 2015, p. 267 – 272.

[50] ANGAPPAN, R., ANANTH, D. and THILAGAR, S. Diuretic effect of chlorogenic acid from traditional medicinal plant *Merremia emarginata* (Burm. F.) and its by product hippuric acid. Clinical Phytoscience, 4, 2018, p. 29. doi: https://doi.org/10.1186/s40816-018-0088-5.

[51] JEYADEVI, R., ANANTH, D. and SIVASUDHA, T. Hepatoprotective and antioxidant activity of *Ipomoea staphylina* Linn. Clinical Phytoscience, 5(18), 2019. doi: https://doi.org/10.1186/s40816-019-0112-4

[52] MITHÖFER, A., BOLAND, W. and MAFFEI, M. Chemical ecology of plant-insect interactions. Annual Plant Reviews Online, 34, 2018, p. 261–291. doi:10.1002/9781119312994.

[53] WAKABAYASHI, K., OGURO, M., ITAGAKI, T. and SAKAI, S. Floral-induced and constitutive defense against florivory: a comparison of chemical traits in 12 herb species. Plant Ecology, 219(8), 2018, p. 985–997. doi: https://doi.org/10.1007/s11258-018-0851-1.

[54] MURUKAN, G. and MURUGAN, K. Comparison of phenolic acids and antioxidant activities of young and mature leaves of *Tectona grandis* L F. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 11(1), 2018, p. 60-66. doi: 10.22159/ajpcr.2018.v11i1.19430.

[55] ABDELKEBIR, R., NAJJAA, H., BEN ARFA, A. and MOHAMED, N. Phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial activities of *Erodium glaucophyllum* (L.) L'Hérit. Journal of Biomedical Sciencies, 7(4) 2018. doi: 10.4172/2254-609X.100092.

[56] SURYANTI, V. *et al*. Identification of active compounds and antioxidant activity of teak (*Tectona grandis*) leaves. Biodiversitas, 21(3), 2020, p. 946-952. doi: 10.13057/biodiv/d210313.

[57] SMERIGLIO, A. *et al*. Antioxidant and cytoprotective activities of an ancient Mediterranean citrus (*Citrus lumia* Risso) albedo extract: microscopic observations and polyphenol characterization. Food Chemistry, 279(1), 2019, p. 347-355. doi:10.1016/j.foodchem.2018.11.138.

[58] GÜLÇIN, I. *et al*. Sage (*Salvia pilifera*): determination of its polyphenol contents, anticholinergic, antidiabetic and antioxidant activities. Journal of Food Measurement and Characterization, 2019. doi:10.1007/s11694-019-00127-2.

BIOTECNOLOGÍA EN EL SECTOR AGROPECUARIO Y AGROINDUSTRIAL

· ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA ·

Vol. 18 No 2 · Julio - Diciembre 2020 · ISSN - 1692-3561 · ISSN-e 1909-9959 · DOI: http://dx.doi.org/10.18684

Transformación electroquímica de un andisol en relación con la dinámica del fósforo*

Electrochemical transformation of an andisol in relation to the dynamics of phosphorus

Transformacáo eletroquímica de um andisol em relacáo à dinâmica da fosforia

DARWIN FERNANDO ACOSTA[1], YENNY MARITZA CAMACHO-TORRES[1], CAMILO ANDRÉS LÓPEZ-BARÓN[1], GERMÁN EDUARDO CELY-REYES[2], PABLO ANTONIO SERRANO CELY[2]

Historial del Artículo
Recibido para evaluación: 20 de Febrero 2020.
Aprobado para publicación: 6 de Mayo 2020.

* Proyecto de investigación de orígen: "Estudio de Génesis y Caracterización de suelos Tierra Negra (Ventaquemada) Boyacá". Financiación: Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia UPTC. Culminación: Febrero de 2019.

1 Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Escuela de Posgrados, Grupo de investigación en Desarrollo y Producción Agraria Sostenible GIPSO. Ing. Agrónomo, Estudiante maestría en Ciencias Agrarias. Tunja, Colombia. ORCID: 0000-0002-6618-8777, ORCID: 0000-0001-8668-6274, ORCID: 0000-0001-5632-0562

2 Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Grupo de investigación en Desarrollo y Producción Agraria Sostenible GIPSO. Ph.D. en Agrociencias. Tunja, Colombia. https://orcid.org/0000-0001-6312-3575, orcid.org/0000-0002-1270-3024

Correspondencia: yennymaritza.camacho@uptc.edu.co

Cómo citar este artículo: DARWIN FERNANDO ACOSTA, YENNY MARITZA CAMACHO-TORRES, CAMILO ANDRÉS LÓPEZ-BARÓN, GERMAN EDUARDO CELY-REYES, PABLO ANTONIO SERRANO CELY. Transformación electroquímica de un andisol en relación con la dinámica del fósforo. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial,18(2),2020.94-102, DOI:http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(18)94-102

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol. 18 No 2 · Julio - Diciembre 2020

RESUMEN

La mayoría de suelos empleados para la agricultura difieren en sus propiedades físicas químicas y biológicas, la participación de cada una de éstas determina la fertilidad natural que posee el suelo para el establecimiento de cultivos. Actualmente, se desconoce la importancia de entender las propiedades electroquímicas de los suelos como parámetros de fertilidad, en donde la determinación de variables como Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) y puntos de Carga Cero (PCC), promoverían información valiosa para el adecuado manejo y calibración de planes de fertilidad. Uno de los parámetros fundamentales para identificar suelos de carga variable o permanente es la determinación del PCC, identificado como el valor de pH en el cual tanto cargas positivas como negativas se igualan; esta investigación evalúo el efecto diferentes dosis de cal viva sobre algunas propiedades fisicoquímicas del suelo motivo de estudio, dichas dosis fueron aplicadas a bandejas con cantidades conocidas de suelo. Según los resultados obtenidos respecto a la dinámica del fósforo se concluye que el valor de pH óptimo para la solubilidad del mismo se encuentra en un intervalo de 6,3 a 6,6, y el valor de PCC para el suelo evaluado muestra un valor de 4,67 indicando que las cargas variables predominan sobre las permanentes. Así mismo se define una CICE de 4,7 y un fosforo soluble que fluctúa de manera importante a partir de la aplicación de CaCO3 que se diferencia del fósforo disponible por que reporta su mayor nivel con la aplicación de 4,5 Mg ha-1 de CaCO3.

PALABRAS CLAVE:
Punto de carga cero, Carga variable, Capacidad de intercambio catiónico.

ABSTRACT

Most of the soils for agriculture differ in their chemical, physical and biological properties the participation of each one of these determines the natural fertility that has the soil for the establishment of crops. The importance of understanding the electrochemical properties of soils as fertility parameters is currently unknown, where the determination of variables such as cation exchange capacity (CEC) and Point Zero (PCC) will promote the proper management and calibration of fertility plans. One of the key parameters to identify soils variable load or permanent load is the determination of the PCC, identified as the pH value in which both positive and negative charges are equal; therefore if natural state soil has a pH above the PCC will have a predominance of negative or high CIC charges, contrary to that if this same submit a pH value below to PCC generating high anion exchange capacity (CIA) or strong presence of positive charges. This research sought to transform the positive charges of organo-mineral complex to negative by limin different techniques, applied to trays with known amounts of soil. According to the results obtained regarding phosphorus dynamics, it is concluded that the optimum pH value for its solubility is in a range of 6,3 to 6,6, and the PCC value for the soil evaluated shows a value of 4 indicating that variable loads prevail over permanent ones. Likewise, a CICE of 4,7 is defined and a soluble phosphorus that fluctuates significantly from the application of CaCO3 that differs from the available phosphorus because it reports its highest level with the application of 4,5 Mg ha-1 of CaCO3.

KEY WORDS:
Zero point load, Variable load, Cation exchange capacity.

PALAVRAS-CHAVE:
Ponto de carga zero, Carga variável, Capacidade de troca.

RESUMO

A maioria dos solos utilizados para agricultura diferem em suas propriedades físico-químicas e biológicas, a participação de cada um deles determina a fertilidade natural que tem cada um deles possui para o estabelecimento de culturas. Atualmente, não se sabe a importância de que e o entendimento das propriedades eletroquímicas dos solos como parâmetros de fertilidade, onde a determinação de variáveis como Capacidade de Troca Cação (CIC) e Pontos de Carga Zero (PCC), promoveria o gerenciamento e calibração adequados de planos de fertilidade Um dos parâmetros fundamentais para identificar solos de carga variável ou permanente é a determinação do PCC, identificado como o valor de pH no qual as cargas positivas e negativas são equalizadas; Esta pesquisa buscou transformar as cargas positivas do complexo órgão-mineral em cargas negativas por meio de diferentes técnicas de calagem, aplicadas em bandejas com quantidades conhecidas de solo De acordo com os resultados obtidos em relação à dinâmica do fósforo, conclui-se que o valor ótimo de pH para sua solubilidade está na faixa de 6,3 a 6,6, e o valor de PCC para o solo avaliado mostra um valor de 4,67 indicando que as cargas variáveis prevalecem sobre as permanentes. Da mesma forma, é definido um CICE de 4,7 e um fósforo solúvel que flutua significativamente da aplicação de CaCO3, que difere do fósforo disponível porque relata seu nível mais alto com a aplicação de 4,5 Mg ha-1 de CaCO3.

INTRODUCCIÓN

Los suelos Andisoles se caracterizan por poseer una fuerte afinidad a la retención de fosfatos debida a la alta composición de materiales amorfos y complejos órgano-minerales de aluminio (Al) y Hierro (Fe) que limitan el desarrollo vegetal [1]. Los suelos con propiedades ándicas en Colombia se encuentran ubicados en la región Andina y cubren alrededor de 4,5% del territorio nacional [2], se caracterizan por presentar un contenido de carbono menor al 25% (en peso) retención de fosfatos mayor o igual al 85% , contenido de Al y Fe mayor o igual al 2% y CIC variable [3]. Este fenómeno genera altos costos respecto a la utilización de fertilizantes fosfóricos en los diferentes sistemas de producción agrícola establecidos en el país. El fósforo es uno de los elementos primarios que más requieren las plantas; este puede limitar la producción debido a su alta reactividad, situación que le permite interactuar químicamente con la materia orgánica y la superficie mineral de los coloides y formas activas de ciertos cationes de la solución del suelo [4].

Una de las mayores limitantes de producción en suelos andisoles es el alto contenido de arcillas amorfas y sesquióxidos de hierro y aluminio; considerados como materiales de carga variable, es decir, que tanto la capacidad de intercambio catiónico (CIC) como aniónico (CIA) están influenciadas por cambios de pH [5] y la fuerza iónica de la solución [6]. Por lo anterior, para este tipo de suelos y según sus porcentajes materiales amorfos se ha definido el punto de carga cero (PCC) como el valor de pH en el cual el complejo órgano-mineral del suelo se encuentra en equilibrio electrostático igualando cargas positivas y negativas. Los cambios por aumento o disminución respecto al pH, tomando como referencia el PCC, generan predominio de cargas negativas (valor de pH superior al PCC) y positivas (valor de pH inferior al PCC), considerando estas últimas como una de las mayores limitantes respecto a la dinámica del fósforo en este tipo de suelos, ocasionadas por la alta adsorción de fosfatos en el complejo órgano mineral [7]. Es importante tener en cuenta que dentro de la clasificación de suelos a nivel de orden son muy pocos los que presentan cargas variables destacándose suelos oxisoles, ultisoles y andisoles [8].

El aluminio (Al^{3+}) es el responsable en gran parte, de la retención de fosfatos en suelos ácidos a través de mecanismos de adsorción, precipitación e hidrólisis [1]; otra de las grandes limitantes respecto a la disponibilidad de fósforo es que la fracción de humus en andisoles forma fácilmente complejos con metales como el Al^{+3} y en un medio normalmente acido los grupos hidroxilo combinados con este metal acomplejado, forman ligandos con $H_2PO_4^-$ y $HPO_4^=$ [9]. Así mismo, la acumulación de materia orgánica (M.O.) es mayor en suelos andisoles localizados a mayor altitud [10,11], debido a la baja taza de mineralización (> 2.000 msnm); investigaciones realizadas en suelos Andisoles de Ecuador y Colombia pertenecientes al trópico alto, permiten concluir que la fijación de fósforo está estrechamente relacionada con el contenido de M.O. en el suelo, por la alta presencia de complejos humus-Al y escaso contenido de bases [2,12]

Otra de las limitantes en el manejo de suelos andisoles es que los altos porcentajes de materia orgánica poseen una elevada capacidad buffer la cual dificulta el aumento del pH por medio de la aplica-

ción enmiendas. Aún más si se tiene en cuenta que la eficiencia de un encalado está en función de otras variables como las características pedogenéticas de suelo y las condiciones climáticas de la zona [13]. A partir de esto, se considera que para aumentar el pH en una unidad en un suelo andisol es necesario incorporar entre 15 y 20 ton ha^{-1} de carbonato de calcio puro transformado a materiales comerciales [14], sin embargo, es necesario tener en cuenta que esta dosis genera inestabilidad física del suelo por causa de un sobre encalado. El aporte excesivo de materiales encalantes puede provocar una retención y /o fijación de micro elementos por un desbalance iónico, o una acelerada transformación de la M.O que podría modificar la biota del suelo e insolubilizar algunos elementos [12]. Por lo tanto, es necesario realizar pruebas de incubación para determinar las dosis y materiales encalantes más eficientes para aumentar el pH del suelo, controlando que no se altere su estabilidad y tampoco se condicione la disponibilidad de los nutrientes a disposición de la planta [5].

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar diferentes dosis de cal viva sobre algunas propiedades fisicoquímicas del suelo donde se determinó el PCC en un suelo andisol de Boyacá, a partir del método de titulación salina [15], teniendo en cuenta que la incorporación de materiales encalantes contribuye y favorece el incremento de bases intercambiables permitiendo la corrección química, el incremento de pH y la disminución en el porcentaje de saturación de Al^{3+} [13].

MÉTODO

El desarrollo del estudio se dio en sector tierra negra del municipio de Ventaquemada, departamento de Boyacá, coordenadas N 5°26”13” y W 73°27”21”, piso térmico esta entre frio y paramo con temperaturas que oscilan entre 13°C y 16°C y una altitud promedio de 2630 m.s.n.m., precipitaciones cercanas a los 2645 mm/año [16].

Selección, muestreo y descripción del suelo estudiado

Para escoger el sitio de muestreo se realizaron visitas exploratorias realizando cajuelas de observación y pruebas de campo para determinar la presencia de materiales amorfos (test de Fieldes Perrot) a partir de antecedentes de caracterización de suelos y estudios realizados por el Instituto Geográfico Agustín Codazzi [17] para suelos con propiedades ándicas pertenecientes a la zona de Tierra Negra, Boyacá.

A partir de la identificación de las características mencionadas, se delimitó una zona de 18 hectáreas ubicadas en inmediaciones del municipio de Ventaquemada que de acuerdo a los análisis previos y en correspondencia a información reportada por el IGAC que relaciona el contenido de carbono orgánico superior al 6% y epipedón mayor a 50 cm en paisajes de montaña y altiplanicie de climas frio y muy frio con régimen de humedad údico. Una vez determinado el sitio de muestreo, se tomaron muestras a 20 cm de profundidad, evitando la disturbación de las muestras que puedan interferir en la obtención de resultados. El total de las muestras fueron llevadas al laboratorio de suelos de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia UPTC donde se realizaron los análisis fisicoquímicos correspondientes al desarrollo de esta investigación, posterior a ello se clasificó taxonómicamente a nivel de subgrupo el suelo estudiado identificándolo como un *Tipyc melanudands* según las Claves para la Taxonomía de Suelos [18].

Teniendo en cuenta las propiedades físico químicas más relevantes que poseen los suelos andisoles como Densidad Aparente (Da) cercana a 0,8 g/cm^3, alto poder buffer, alta retención de fósforo, contenido de aluminio activo, baja saturación y acidez desde muy fuertemente acida en horizonte superficiales a moderadamente acida en horizontes profundos [19]. Se realiza análisis fisicoquímico del suelo con la aplicación de los siguientes procedimientos; textura calculo a partir de Bouyoucos, materia orgánica por método de titulación Walkley – Black, pH por método potenciómetro, relación suelo-agua, Ca, Na, Mg, K por absorción atómica, determinación de acidez intercambiable por método de KCl 1N y la capacidad de intercambio catiónico efectiva CICE obtenido a partir de la suma de las bases intercambiables.

Determinación del PCC

La determinación del PCC como eje central de la investigación se llevó a cabo por medio del método de titulación salina [8,15] el cual se describe a continuación:

- Se depositaron 4 g de suelo en un frasco de 100 mL, replicándolo 6 veces.

- Luego se adicionaron 20 mL de agua desionizada y HCl o NaOH a una concentración 0,1 N, en cada uno de los seis frascos hasta obtener pH aproximados de 3, 4, 5, 6, 7 y 8, agitando constantemente. Posteriormente, cada frasco se llevó a un volumen final de 40 mL adicionando agua des ionizada.

- Después se dejó que el suelo se equilibrara durante 4 días a temperatura ambiente, agitando ocasionalmente y se midió el pH en equilibrio (pH1).

- Luego de que se equilibró el pH, se adicionó 1 mL de NaCl 2N y se agitó recíprocamente por 3 horas inmediatamente después se midió el valor del pH (pH2).

- Para cada frasco, se calculó el valor de delta de pH de acuerdo a las ecuaciones 1 y 2.

$$\Delta pH = pH2 - pH1 \quad \text{(Ec. 1)}$$

Se graficó Δ pH (x) vs pH1 (y)
En la gráfica se determinó
Δ pH = 0 Que correspondió al PCC. (Ec.2)

Donde PCC corresponde con el valor de pH que no varía con la concentración salina. Este procedimiento se realizó por tres veces y se utilizaron los valores promedios para realizar la gráfica.

Pruebas de incubación

En esta fase de la investigación el suelo evaluado se sometió a pruebas de incubación en invernadero, consistente en la adición de dosis crecientes de carbonatos de calcio $CaCO_3$ expresadas como equivalente químico (EQ) a dosis constantes de suelos [20]; teniendo como unidades experimentales bandejas en las cuales se depositaron las muestras de suelo extraídas en campo, suministrando en cada bandeja 2 kg de suelo.

Cada una de las bandejas sometidas al estudio recibió la dosis indicada de acuerdo con el tratamiento, para lo cual fue necesario realizar una mezcla homogénea del suelo y el material de encalado, teniendo en cuenta mantener una temperatura de 25°C así como el suelo a capacidad de campo. El suelo en estudio recibió dosis crecientes de dolomita calcinada (60,9% CaO + 32,2% MgO) en equivalencia de gramos según la densidad del suelo y la definición de dosis en Mg ha^{-1}, con el fin de valorar la capacidad del material para aumentar el pH a valores superiores al PCC. Teniendo en cuenta las alteraciones sufridas por el material a partir de su origen así como las condiciones bajo las cuales se somete al proceso de calcinación se trabaja con una dolomita comercial que garantiza mínima variación en el material.

Una vez realizados los montajes, cada unidad experimental se llevó a capacidad de campo y se sellaron manteniéndolos a una temperatura promedio de 25°C, se tomaron lecturas a los 30 días después de la incubación con el fin de evaluar la reactividad química de diferentes dosis de dolomita calcinada, en términos de lo ocurrido a las variables analizadas (pH, CICE, P soluble, P disponible y concentración de bases intercambiables).

La trasformación de dosis de $CaCO_3$ en dolomita calcinada se realizó teniendo en cuenta el equivalente químico (EQ) de la dolomita calcinada, el cual se determinó a partir de la suma de la participación porcentual de sus componentes químicos, cada uno de ellos multiplicado por el valor unitario correspondiente a $EQCaCO_3$ de la sustancia pura [14], arrojando un valor de 170; para el equivalente granulométrico (EG) este se ajustó a 100; según los EQ y EG de la dolomita calcinada usada en el experimento donde 588 kg de dolomita calcinada equivalen a 1000 Kg de $CaCO_3$.

Diseño experimental

El diseño experimental fue un completamente al azar (DCA), con tres réplicas por cada tratamiento (cuadro 1), para un total de 30 unidades experimentales. Los datos obtenidos se analizaron individualmente para ser sometidos a pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas, posteriormente se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) junto con una prueba de

Cuadro 1. Definición de tratamientos (pruebas de incubación).

Tratamientos	Dosis de $CaCO_3$ (Mg ha^{-1})
T_1	0
T_2	1,5
T_3	3
T_4	4,5
T_5	6
T_6	9
T_7	12
T_8	15
T_9	18
T_{10}	24

Tukey al 5% empleando el programa estadístico SAS v. 9.2e (Institute Inc., Cary, NC).para determinar diferencias significativas entre tratamientos.

RESULTADOS

A partir de las propiedades fisicoquímicas representativas de los Andisoles en comparación con las condiciones del suelo en estudio (cuadro 2) se muestra una posible intervención agrícola, dada la baja acidez intercambiable y mediana concentración de Ca^{2+}, que puede obedecer a la posible incorporación de materiales con contenidos de calcio.

Punto de Carga Cero

A partir de la aplicación del método de titulación salina y teniendo en cuenta los resultados obtenidos en cada una de las réplicas desarrolladas, se encontró en el proceso de obtención de pH en equilibrio, una fuerte capacidad buffer por parte de los suelos [21] posiblemente por un alto contenido de materia orgánica presente en el suelo evaluado (18,70%).

El valor de PCC para este Andisol resulta relativamente bajo por el alto contenido de materia orgánica que con sus grupos funcionales disminuye el pH del suelo [7], que presenta una alta CIC o un posible predominio de cargas positivas con respecto a las negativas en el complejo coloidal orgánico, diferente a lo que puede suceder con materiales coloidales amorfos de origen mineral (alófana y sesquióxidos de Fe y Al) los cuales presentan valores de PCC superiores a 6,5 [22] (figura 1).

Cuadro 2: Resultados del análisis fisicoquímico del suelo.

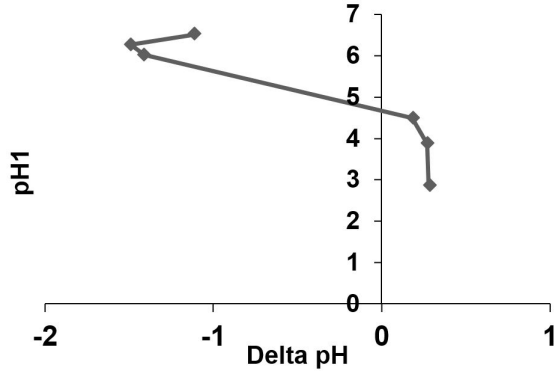
Parámetro	Resultado	Unidad
Tex	Franco Limoso 10-65-25	NA
Da	0,9	(g cm^{-3})
pH	5,0	NA
M.O.	18,70	(%)
P disp.	11,6	(mg kg^{-})
P sol.	1,83	(mg kg^{-})
A.I.	1,7	cmol kg^{-1} suelo
Al^{3+}	1,4	
Ca^{2+}	2,56	
Mg^{2+}	0,26	
K^{+}	0,39	
Na^{+}	0,09	
CICE	4,7	

Curvas de Encalamiento

Los resultados de las curvas de encalamiento en términos de lo ocurrido a las variables estudiadas reflejaron una condición característica de los suelos andisoles, representada en su alta capacidad buffer la cual muestra que son necesarias del orden de 10 a 12 ton ha^{-1} de $CaCO_3$ puro transformado a dolomita calcinada para aumentar en una unidad el pH [14] (figura 2), pero en contraste para este tipo de suelo solo se requieren del orden de 3 a 4 ton ha^{-1} de $CaCO_3$ para neutralizar total o parcialmente el aluminio intercambiable de Al (figura 2).

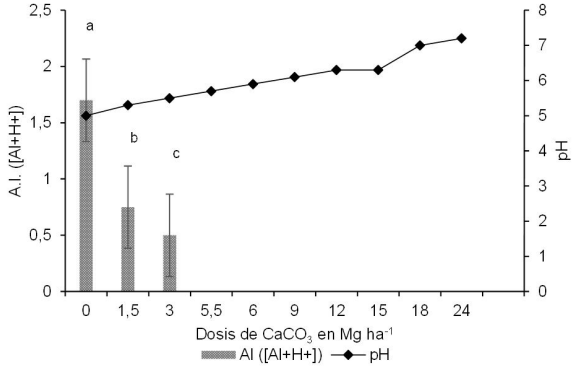
Respecto a la concentración de Ca^{2+} y Mg^{2+} se encontró un aumento significativo en función de la cantidad

Figura 1. Valor de PCC de un *Typic melanudands*, Tierra Negra, Boyacá.



El valor de PCC corresponde a 4,67 según la intercepción de la curva en la recta.

Figura 2. Comportamiento del pH frente a aplicación de tratamientos en*Typic melanudands*, Tierra Negra, Boyacá.

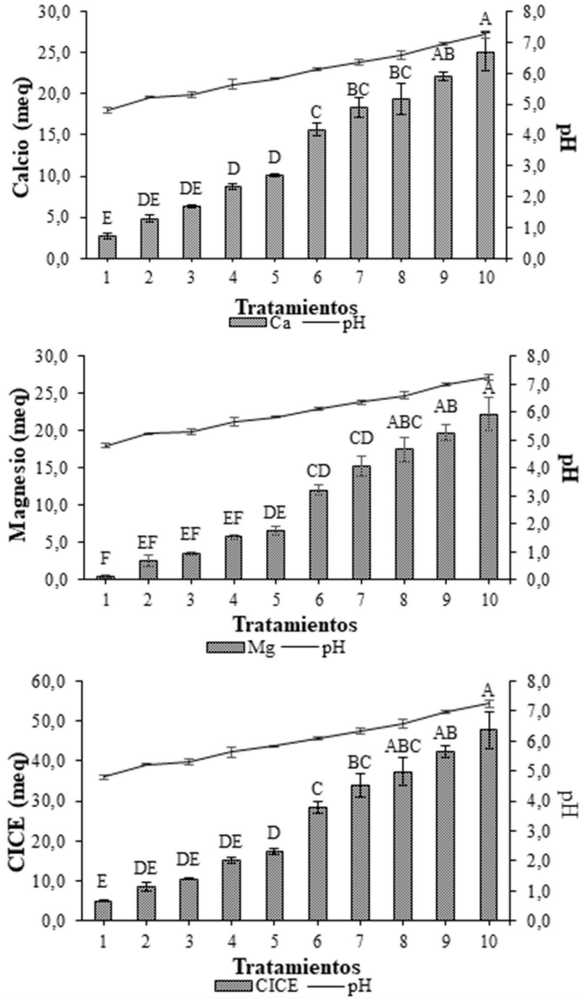


Efecto de la aplicación de dosis crecientes de $CaCO_3$ en Mg ha^{-1} transformadas a dolomita calcinada en el cambio de pH, respecto neutralización de la acidez intercambiable (Al^{3+} + H^{+}).

de dosis de Cal, lo que indica que de acuerdo a la composición se mantiene de manera coherente el aporte de Ca^{2+} y Mg^{2+} por parte del material (figura 3 a y b).

Según los datos anteriores, la aplicación de 1 ton ha^{-1} de dolomita calcinada daría un aporte en concentración en meq 100 g^{-1} para calcio y magnesio de 1,2 y 0,89 respectivamente. Situación que ocasiona un incremento de la capacidad de intercambio catiónico efectiva (CICE) originada por el aumento de Ca y Mg intercambiables [14], a partir de pH superiores a 5,5.

Figura 3. Comportamiento de Ca, Mg y CICE a partir de la aplicación de dolomita calcinada



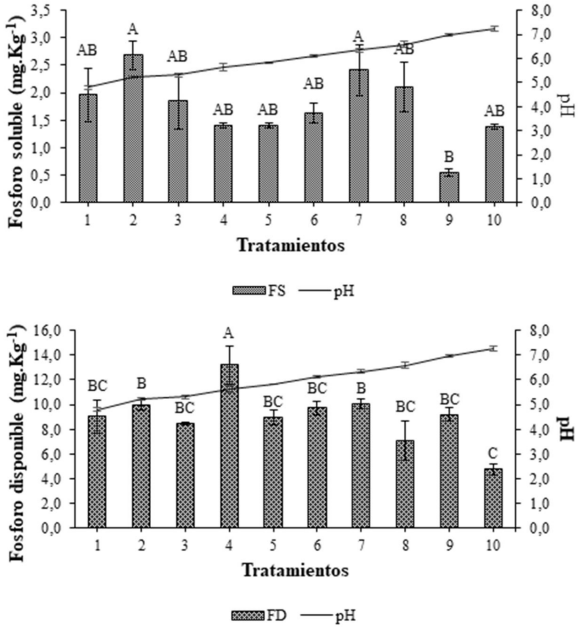
Promedios con letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de Tukey (P≤0,05), barras verticales indican error estándar (n=3).

Dinámica del fósforo en función del P disponible y el P soluble

Según los datos obtenidos respecto a P disponible y soluble es importante referirse la dinámica del fósforo y los valores de pH que se puedan presentar en el suelo, lo que permite relacionar el aumento del pH con un fenómeno de desorción del fósforo por parte del complejo organomineral al aumentar su solubilidad [8] (Figura 4-5 a); pero el aumento en solubilidad solo se evidencia con valores de pH cercanos a 6,3 puesto que por encima de este valor la solubilidad decrece, posiblemente por los enlaces covalentes y formas precipitadas de Ca^{2+} y P (fosfatos cálcicos) [1] que se estima están relacionados con los incrementos en la concentración de Ca^{2+}. Lo anterior confirma que la concentración de óxidos de Fe y Al a pH menores de 5,5 intensifican la proporción de P adsorbido o fijado [1].

Al revisar el comportamiento del fósforo disponible se encuentran fluctuaciones del elemento hasta valores de pH cercanos a 5,6. lo que permite inferir que

Figura 4. Dinámica del fósforo soluble y disponible, en un suelo Andisol por la aplicación de dosis de dolomita.



Tratamientos con letras distintas presentan diferencias significativas según la prueba de Tukey (P ≤ 0,05), barras verticales indican error estándar (n=3).

el P de intercambio o disponible en la fraccion organomineral disminuye al incrementar los contenidos de calcio los cuales evidencian la posible formacion de fosfatos calcicos en el suelo. (Figura 4, b).

CONCLUSIONES

El PCC para el suelo evaluado muestra un valor de 4,67 indicando la presencia de un suelo de carga variable que domina sobre las cargas permanentes, y que puede estar relacionado con la presencia de un alto porcentaje de materia orgánica que ocasiona efecto buffer dentro del suelo.

La neutralización total o parcial de la acidez intercambiable para el suelo del estudio se puede lograr a partir de cantidades equivalentes a 3 y 4,5 ton ha^{-1} de $CaCO_3$ transformadas a dolomita calcinada.

Según los resultados obtenidos respecto a la dinámica del fósforo se concluye que el valor de pH óptimo para la solubilidad del mismo se encuentra en un intervalo de 6,3 a 6,6, rango por debajo del cual la disponibilidad del fosforo se ve comprometida.

La capacidad de intercambio catiónico CICE, mostro un incremento gradual de su concentración relacionado con el aumento de los niveles de Mg y Ca a partir de la aplicación del $CaCO_3$.

AGRADECIMIENTOS

A todo el equipo de trabajo del Laboratorio de suelos de la Universidad Pedagógica y tecnológica de Colombia así como casa de vidrio donde se desarrollaron los respectivos ensayos.

REFERENCIAS

[1] BAYUELO, J., OCHOA, I., DE LA CRUZ, E. y MURAOKA, T. Efecto del uso del suelo en las formas y disponibilidad de fósforo de un Andisol de la Meseta P'urhépecha, Michoacán. Terra Latinoamericana, 37 (1), 2019, p. 35-44. doi: https://doi.org/10.28940/tl.v37i1.367

[2] CALLEJAS, V., CISNERO, C. y CAICEDO, L. Capacidad solubilizadora de fosfato de alumnio por hongos rizosfericos aislados de un Andisol Colombiano. Entramado, 14 (2), 2018, p. 218-227. doi: https://doi.org/10.18041/1900-3803/entramado.2.4745

[3] PEREZ, N., JARAMILLO, D., RUIZ, O. y PARRA, L. Caracterización de un Andisol de la cuenca alta de la quebrada Santa Elena, Oriente Antioqueño, Colombia. Revista de la facultad de ciencias Universidad Nacional de Colombia, 6(1), 2017, p. 24-38. doi: 10.15446/rev.fac.cienc.v6n1.60628

[4] CISNEROS, C., SÁNCHEZ, M. y MENJIVAR, J. Efecto de las bacterias solubilizadoras de fosfatos sobre el desarrollo plántulas de Café. Agronomía Mesoamericana, 28(1), 2017, p. 149-158. doi: https://doi:10.15517/am.v28i1.22021

[5] GUTIERREZ, N. y RESTREPO, F. Evaluación de correctivos de acidez en un Andisol cultivado con Aguacate "Hass". Suelos Ecuatoriales, Sociedad Colombiana de la ciencia del suelo, 49(1 y 2), 2019, p. 38-44.

[6] SADEGHIAN, K.S. y ZAPATA, H.R. Propiedades relacionadas con la adsorción de cationes intercambiables en algunos suelos de la zona cafetera de Colombia. Cenicafé, 63 (2), 2012, p. 79-89.

[7] CRUZ, H. y GEISSERT, K.D. Carga Eléctrica del Andosoles del Cofre de Perote, Veracruz, México.Terra V, 18(2), 2000, p. 115-124.

[8] PORTA, J., LOPEZ-ACEVEDO, M. y POCH, R. En: Edafolog**ía.** Uso y protección de suelos. 4 ed. Madrid (España): Ediciones Mundi-prensa, 2013, p. 608.

[9] ZHU, J., LI, M. and WHELAN, M. Phosphorus activators contribute to legacy phosphorus availability in agricultural soils. Science of the Total Environment, 612, 2018, p. 522-537. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.095

[10] ECHEVARRÍA, N., JARAMILLO, D., RUIZ, O. y PARRA, L., Caracterización de un Andisol de la cuenca alta de la quebrada Santa Elena, oriente Antioqueño Colombia. Revista de la facultad de Ciencias Universidad Nacional de Colombia, 6(1), 2017, p. 24-38. doi: 10.15446/rev.fac.cienc.v6n1.60628

[11] ECHEVARRÍA, N., JARAMILLO, D., RUIZ, O. y PARRA, L., Caracterización óptica de la materia orgánica de un Andisol del oriente Antioqueño, Colombia. Revista de la facultad de Ciencias Universidad Nacional de Colombia, 7(1), 2018, p. 40-55. doi: https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v7n1.68243

[12] DIAZ, V. y SADEGHIAN, S. Adsorción de fósforo en suelos de la zona cafetera de Colombia. Cenicafe, 69 (2), 2018, p. 7-16.

[13] ROSAS-PATIÑO, G., PUENTES-PARAMO, Y. y MENJIVAR-FLOREZ, J. Relación entre pH y la disponibilidad de nutrientes para cacao en un entisol de la Amazonia colombiana. Corpoica, Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 18(3), 2017, p. 529-541. doi: https://doi.org/10.21930/rcta.vol18_num3_art:742

[14] CASTRO, H. y GOMEZ, M. En: Ciencia del Suelo Principios basicos. Fertilidad de suelos y fertilizantes. 2 ed. Bogota (Colombia): Sociedad colombiana de la ciencia del suelo, 2013, p. 213-298.

[15] SAKURAY, K., OHDATE, Y. and KYUMA, K. Comparison of salt titration and potentiometric titration methods for the determination of Zero Point of Charge (ZPC). Soil Science and Plant Nutrition, 2012, p. 71-182. doi: 10.1080/00380768.1989.10434740

[16] COLOMBIA. CORPORACION AUTONOMA REGIONAL DE CHIVOR (CORPOCHIVOR), Esquema de ordenamiento territorial Ventaquemada. Boyacá (Colombia): 2001, 35p.

[17] COLOMBIA. DEPARTAMENTO ADMINISTRATIVO NACIONAL DE ESTADISTICA (DANE), INSTITUTO GEOGRAFICO AGUSTIN CODAZZI (IGAC). Estudio General de suelos y zonificación de tierras del departamento de Boyacá. Bogotá (Colombia): 2005, 95 p.

[18] DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA DE LOS ESTADOS UNIDOS (USDA): Claves para la taxonomía de suelos. Decima Segunda edición. Montecillo (Estado de México): 2014, 95p.

[19] SÁNCHEZ, J. y RUBIANO, Y. Procesos específicos de formación de Andisoles Alfiles y Ultisoles en Colombia. Revista EIA, 12(2), 2015, p. 85-97. doi: http:/dx.doi.org/10.14508/reia.2015.11.E2.85-97

[20] CASTRO, H. y GUERRERO, J. Evaluación de materiales de encalado mediante pruebas de incubación en un Oxisol de la altillanura colombiana. Revista de Ciencias Agrícolas, 34(2), 2018, p. 14-26. doi: 10.15446/rev.fac.cienc.v6n1.60628

[21] PINOCHET, T., RAMIREZ, F. y SUAREZ, D. Variación de la capacita tampón en suelos derivados de cenizas volcánicas. Agricultura Técnica. 65(1), 2005, p. 55-54. doi: http://dx.doi.org/10.4067/S0365-28072005000100006

[22] SPOSITO, G. The Surface Chemistry of Natural Particles in Ions at the Particle Aqueous Solution Interface. 1 ed. Oxford (Inglaterra) Oxford University Press. 2004. 35-57p.

BIOTECNOLOGÍA
EN EL SECTOR AGROPECUARIO
Y AGROINDUSTRIAL

· ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA ·

Vol. 18 No 2 · Julio - Diciembre 2020 · ISSN - 1692-3561 · ISSN-e 1909-9959 · DOI: http://dx.doi.org/10.18684

Caracterización agromorfológica de cebada (*Hordeum vulgare* L.) en el Municipio de Chivatá Boyacá, Colombia*

Agromorphological characterization of barley (*Hordeum vulgare* L.) in the Municipality of Chivatá Boyacá, Colombia

Caracterização agromorfológica de cevada (*Hordeum vulgare* L.) no Município de Chivatá Boyacá, Colombia

YURANI VELASCO-LAITON[1], WILLIAM SANA-PULIDO[2], ANA MORILLO-CORONADO[3]

Historial del Artículo
Recibido para evaluación: 27 de Febrero 2020.
Aprobado para publicación: 4 de Mayo 2020.

* Proyecto de investigación de orígen: para opta por el título de ingeniero agrónomo, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Financiación: Fenalce sede Tunja. Culminación: 16 de septiembre de 2018.

1 Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Facultad Ciencias Agropecuarias. Ingeniero Agrónomo, Tunja, Colombia. http://orcid.org/0000-0003-3125-0697
2 Federación Nacional de Cerealeros (FENALCE). Ingeniero Agrónomo, Tunja, Colombia https://orcid.org/0000-0001-8443-4022
3 Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Facultad Ciencias Agropecuarias, Grupo CIDE, Docente Asociado UPTC, Tunja, Colombia. http://orcid.org/0000-0003-3125-0697

Correspondencia: ana.morillo@uptc.edu.co

Cómo citar este artículo: YURANI VELASCO-LAITON, WILLIAM SANA-PULIDO, ANA MORILLO-CORONADO. Caracterización agromorfológica de cebada (Hordeum vulgare L.) en el Municipio de Chivatá Boyacá, Colombia. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial,18(2),2020.103-117, DOI:http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(18)103-116

CC BY NC ND

RESUMEN

La cebada es uno de los cereales más importantes a nivel mundial. En Boyacá, Colombia, sus áreas de siembra han disminuido, entre otras causas, por la falta de materiales genéticos sobresalientes. Esta investigación tuvo como objetivo caracterizar morfoagronómicamente 83 accesiones de la colección base de germoplasma de FENALCE, en Chivatá, Colombia. Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar y los descriptores del IPGR. Se obtuvo que el color de la aurícula, forma de la arista y hábito de crecimiento no mostraron alta variabilidad, contrario a los rasgos asociados al rendimiento y la reacción a roya (Puccinia spp.). Los cuatro primeros componentes explicaron más del 70% de la variación. En el grupo uno se encontraron las accesiones con características agronómicas deseables: MALTERA 2, MALTERA 5, CB CUCHUQ 163, CB CUCHU L 128, CB XVII MISE 6, CB 195 COS -01-03, CB 117 SULBATE, CB 52 ONSLON, CB 143 PM - 17 X POLA, CB 92 PAX, CB 125 BONANZA, CB 197 COPELAND, CB 184 (PTRIN), CB 84 JUBILANT, CB 38 ROMANTIK, CEBADA L12 NAR, CB CUCHUQ 66, CEBADA L1 5B NAR y CB 221 556-564, las cuales pueden ser tenidas en cuenta en programas de mejoramiento genético en Boyacá.

PALABRAS CLAVE:
Cereal, Descriptor, Diversidad, Variación morfológica.

ABSTRACT

Barley is one of the most important cereals worldwide. In Boyacá, Colombia, its planting areas have decreased, among other causes, due to the lack of outstanding genetic materials. This research aimed was to characterize morphoagronomically 83 accessions from the FENALCE germplasm base collection, in Chivatá, Colombia. A completely randomized block design and the IPGR descriptors were used. It was found that the color of the auricle, the shape of the awn and the growth habit did not show high variability, contrary to the traits associated with yield and the reaction to rust (Puccinia spp.). The first four components explained more than 70% of the variation. In group one, accessions with desirable agronomic characteristics were found: MALTERA 2, MALTERA 5, CB CUCHUQ 163, CB CUCHU L 128, CB XVII MISE 6, CB 195 COS -01-03, CB 117 SULBATE, CB 52 ONSLON, CB 143 PM - 17 X POLA, CB 92 PAX, CB 125 BONANZA, CB 197 COPELAND, CB 184 (PTRIN), CB 84 JUBILANT, CB 38 ROMANTIK, CEBADA L12 NAR, CB CUCHUQ 66, CEBADA L1 5B NAR and CB 221 556-564, which can be taken into account in genetic improvement programs in Boyacá.

KEYWORDS:
Cereal, Descriptor, Diversity, Morphological variation.

RESUMO

A cevada é um dos cereais mais importantes do mundo. Em Boyacá, Colômbia, suas áreas de plantio diminuíram, entre outras causas, devido à falta de materiais genéticos em circulação. O objetivo desta pesquisa foi caracterizar morfoagonomicamente 83 acessos da coleção de bases de germoplasma FENALCE, em Chivatá, Colômbia. O delineamento experimental foi em blocos casualizados e os descritores IPGR. Verificou-se que a cor do átrio, a forma da crista e o hábito de crescimento não apresentaram alta variabilidade, ao contrário das características associadas ao desempenho e à reação à ferrugem (Puccinia

PALAVRAS-CHAVE:
Cereal, Descritor, Diversidade, Variação morfológica.

spp.). Os quatro primeiros componentes explicaram mais de 70% da variação. No grupo um, foram encontrados acessos com características agronômicas desejáveis: MALTERA 2, MALTERA 5, CB CUCHUQ 163, CB CUCHU L 128, CB XVII MISE 6, CB 195 COS -01-03, CB 117 SULBATE, CB 52 ONSLON, CB 143 PM - 17 X POLA, CB 92 PAX, CB 125 BONANZA, CB 197 COPELAND, CB 184 (PTRIN), CB 84 JUBILANT, CB 38 ROMANTIK, CEBADA L12 NAR, CB CUCHUQ 66, CEBADA L1 5B NAR e CB 221 556-564, que podem ser levados em consideração nos programas de melhoramento genético em Boyacá.

INTRODUCCIÓN

La cebada (*Hordeum vulgare* L.) es una planta diploide (2n = 2x = 14 cromosomas), monoica y autógama, perteneciente a la familia Poaceae, originaria de Asia y ocupa el 9,4% de la superficie total de cereales cultivados en el mundo, aportando un 7,8% de la producción total [1,2,3]. Se encuentra representada por dos ecovariedades: *distichum*, también conocida como cebada cervecera, y *vulgare*, nominada cebada forageira. Debido a su amplia adaptación agroecológica se cultiva comúnmente en zonas templadas, como cultivo de verano, y en zonas tropicales, como cultivo de invierno. Es rica en nutrientes porque tiene una alta concentración de carbohidratos, una concentración moderada de proteínas, un alto contenido de fibra dietética, especialmente β-glucano, y es una buena fuente de fósforo y potasio [4]. Es un cereal multipropósito que se utiliza para la alimentación animal y humana en variedad de formas como cebada perlada, harinas, copos, semolina y malta, en la producción de etanol o como cultivo asociado [5].

En Colombia se reporta que, durante el año 2017, se sembraron de este cereal 2.957 ha con una producción de 5.510 toneladas, siendo los principales departamentos productores Cundinamarca, Nariño y Boyacá [3]. El 10% de la producción nacional está destinada a los molinos de perlado y producción harinera (consumo humano), un 5% se vende a los agricultores como semilla, y el 85 % restante es utilizado por la industria cervecera y maltera [2]. Esa es la materia prima fundamental para la elaboración de cerveza, influyendo notablemente en la mayoría de sus características como cuerpo, sabor y aroma; esta bebida representa un 75% del gasto de los hogares colombianos en licores, con un consumo per cápita de 44 L/año siendo el tercer país con mayor consumo después de Brasil y México, moviendo alrededor de $21,6 billones por año [2].

El proceso de domesticación de la cebada durante siglos ha influenciado su genética, acumulando gradualmente características importantes como raquis fuerte, espigas de seis carreras, cariópside desnuda, número, forma, tamaño y viabilidad de la semilla, reducción de la dormancia, entre otras, obteniendo como resultado aquellas variedades locales que exhiben patrones abundantes de variación para caracteres cualitativos y cuantitativos y una amplia adaptación agroecológica a diferentes tipos de estrés bióticos y abióticos [6]. En efecto, se han realizado una gran cantidad de estudios sobre la diversidad genética en la cebada cultivada y silvestre. Éstos, son una herramienta importante que ayuda al mejoramiento de cultivos en la identificación de diversas líneas parentales para la hibridación y para introgresar genes deseables dentro de germoplasma élite [7,8].

El estudio de los recursos genéticos de cebada con base en sus características morfoagronómicas, bioquímicas y moleculares es todavía una herramienta importante para el manejo de las colecciones de germoplasma de cultivos ya que han permitido la identificación de duplicados, el establecimiento de colecciones núcleo, investigar las relaciones entre las variedades locales y sus especies silvestre y priorizar el material para su uso en programas de mejoramiento [9,10,11].

Caracterizar un germoplasma básicamente, significa identificar y describir las diferencias entre las accesiones. Además de la información sobre el origen del material (datos de pasaporte), normalmente también se consideran las diferencias relacionadas con el rendimiento agrícola de las accesiones, así como las botánicas relacionadas con los descriptores específicos de cada taxón [12].

Estudios de caracterización agromorfológica de germoplasma de cebada en diferentes regiones del mundo, han demostrado la existencia de variabilidad genética en distintas características asociadas al rendimiento del grano. Así, en el estudio de la evaluación de las características agromorfólogicas de 20 accesiones de cebada de la colección núcleo del banco de germoplasma de Albania, encontraron variabilidad en las características altura de la planta, longitud de la espiga, densidad de la espiga, cubrimiento del grano y peso de 1000 granos [13]. Resultados que fueron corroborados en otros estudios [5,7] quienes al evaluar 2.517 accesiones de cebada del Instituto de Investigación Agrícola de la Zona de Transición de Eskisehir, en Turquía, encontraron una

serie de similitudes y diferencias fenotípicas entre los materiales de varios países, así como la existencia de una gran diversidad que se extiende entre y dentro del germoplasma de todo el mundo. Este cultivar ofrece una rica fuente de recurso genético para los mejoradores, para que desarrollen variedades mejor adaptadas a diferentes zonas agroclimáticas del mundo. Otros estudios han demostrado la influencia de los factores ambientales, ya sea de tipo espacial o temporal, influyendo en la expresión de las características morfológicas evaluadas y como estos factores pueden influir positiva o negativamente en el rendimiento de los materiales [14, 15, 16].

Con base en los resultados obtenidos en este tipo de investigaciones, se han podido obtener ganancias cualitativas y cuantitativas significativas, haciendo así más eficiente el proceso de selección y evaluación de materiales dentro de los esquemas que buscan la identificación de las mejores combinaciones parentales para generar poblaciones segregantes. A nivel internacional, también se ha evaluado el efecto de las mutaciones puntuales mediante la técnica TILLING (Targeting Induced Local Lesions IN Genoma) como una estrategia de premejoramiento y generación de poblaciones mutantes altamente variables para las características de interés [17].

En Colombia, se siembran los cuatro tipos de cebada, que resultan de la combinación del número de carreras en la espiga y la persistencia de las glumillas del grano: las de dos y seis carreras, cada una con granos desnudos y cubiertos. El objetivo principal del fitomejoramiento en cereales menores en el país, ha sido el obtener genotipos con adecuados rendimientos de grano, resistentes a las enfermedades, especialmente la roya (*Puccinia* spp.), y con una buena calidad [9]. El rendimiento es quizá la parte más importante, ya que determina que se siembre o no un genotipo dado, por parte de los agricultores. Estudios realizados demostraron el efecto diferencial de los componentes de rendimiento en materiales de cebada de dos y seis carreras, siendo de gran utilidad para la selección en campo y orientar las hibridaciones [9]. Por otra parte, la evaluación agronómica de nueve genotipos promisorios de cebada en el convenio FENALCE (Federación Nacional de Cultivadores de Cereales y Leguminosas) y Bavaria S.A. en la región alto-andina de Cundinamarca y Boyacá, permitió identificar dos genotipos promisorios de seis hileras y tres de dos [18].

Dentro de este contexto, el objetivo de esta investigación fue caracterizar morfoagronómicamente, en Chivatá, Colombia, 83 accesiones de cebada procedentes de la colección de Fenalce en las regionales de Nariño y Boyacá y explorar fuentes de variación para su uso futuro en programas de mejoramiento y conservación de cebada.

MÉTODO

Material Vegetal

Se evaluaron 83 accesiones de cebada (*H. vulgare*) de la colección base de cereales de FENALCE Boyacá, procedentes de las regionales de Nariño y Boyacá (Cuadro 1).

Localización

Para la evaluación morfoagronómica de las accesiones de cebada, éstas se establecieron en la finca La Vega de Agro Chivata, ubicada en la vereda la Siatoca del municipio de Chivatá Boyacá, ubicado a 2.811 m.s.n.m, latitud 5° 33’ 28,3422” N y 73° 14’ 30,894” W. Su temperatura promedio oscila entre los 11,4°C y 14,7°C, con una humedad relativa del 82% y precipitación promedio de 1000 mm anuales, con suelos arcillo-arenosos [19].

Implementación y conducción del experimento

Para la siembra se tomó un lote que anteriormente había sido cultivado con papa, por lo cual no requirió de desmalezado, se utilizó un surcador manual para establecer los surcos a 20 cm de distancia entre sí, con una densidad de siembra de 80 Kg/ha. Se realizó control cultural y químico para las malezas de hoja ancha y angosta. No se realizó control de enfermedades, debido a que uno de los objetivos del trabajo fue evaluar el grado de resistencia o susceptibilidad a patógenos como la roya. La cosecha y la trilla se realizaron de forma manual, para conservar la pureza genética de cada uno de los materiales, mientras que el secado del material se realizó a temperatura ambiente bajo techo.

El diseño experimental fue de bloques completamente al azar, en donde los tratamientos corresponden a cada una de las accesiones evaluadas; con cuatro repeticiones cada una. La unidad experimen-

Cuadro 1. Accesiones evaluadas de la colección base de cereales de Fenalce.

N°	Accesión	N°	Accesión
1	CB 186 TROPICAL -1	43	CB 23 ALEXIS
2	CB 3 I3 S1 09A	44	CB 202 NEMESIA
3	CB 1 TD 1 UPTC- 09 A	45	CB 30 PODOLGKIJ 8
4	CB XVII MISE 6	46	CB 155 BUSHE
5	L,2 TDR MELTALFE	47	CB 152 (110 112 TERM) SAN 17 A
6	CB - 7 T,D 25 UPTC -09 A	48	CB 205 PROPINO
7	CB METEALFE BY -09B	49	CB 3 NN (237)
8	CEB 1A SEL TROP1 I 39	50	CB 141 IRACA
9	CB -7 TD 39 UPTC -09 A	51	CB 221 556-564
10	CEB CC 3A 51-09 H	52	CB 167 (1102- 2 TREM)
11	CB 195 COS -01-03	53	CB 57 PCR- 91- 5B- 99
12	CB 117 SULBATE	54	CB 109 TX OID 265
13	CB 52 ONSLON	55	CB 10 MESTERNHAZI 153
14	CB 143 PM - 17 X POLA	56	NN 64 (233)
15	CB 180 BOHTIR	57	CB 137 IRACA
16	CB 92 PAX	58	CB 220 BRS BORMA
17	CB 125 BONANZA	59	CB 120 YANALA
18	CB 197 COPELAND	60	CB 173 TIPPER
19	CB 217 BRS GRETA	61	CB 139 IRACA
20	CB 175 TALLON	62	CB 118 POLA
21	CB 144 IRACA	63	CB 158 BUSHELL XP
22	CB 172ZARJAN/ 8D	64	CB 243 IRACA
23	CB 255 IRACA	65	CB 218 BRS 195
24	CB 138 IRACA 3 X POLA - S11	66	162 X PM POLA
25	CB 196 CO3 -12-21	67	CB TROPICAL I ORG I9 35 SI 09A
26	CB 83 TERNO	68	87 IRACA SLADKO
27	CB 241 IRACA	69	CEBADA L11 NAR
28	231 NN 165	70	CEBADA L14 5B NAR
29	CB 184 (PTRIN)	71	CEBADA L3 5B NAR
30	CB 110 - TXOLP 274	72	CEBADA L9 NAR
31	CB 188 LAISA	73	CEBADA L2 5B NAR
32	CB 165 PM - 3 POLA	74	CEBADA L1 5B NAR
33	CB 138 BORUN	75	CEBADA L13 CB NAR
34	CB 225 TROPICAL -2	76	CEBADA L12 NAR
35	CB 210 SANTUARIO	77	CB ESPERANZA NAR
36	CB 5 bcardiniijal	78	CB L5 5B NAR
37	CB 191 BOUCLIN	79	MALTERA 2
38	CB 84 JUBILANT	80	MALTERA 5
39	CB 240 POWER	81	CB CUCHUQ 163
40	CB 38 ROMANTIK	82	CB CUCHUQ 66
41	135 IRACA	83	CB CUCHU L 128
42	CB 100 BONUS		

tal se estableció de manera aleatoria, que corresponde a cuatro surcos de cada material separados 0,20 m de distancia con una longitud entre surco de 5 m (longitud del surco 25 m). Se evaluaron 10 plantas al azar por cada material.

Caracterización Morfoagronómica

Una vez establecidas las accesiones en campo, se realizó la caracterización morfoagronómica empleando los descriptores y algunas variables de rendimiento agronómico [18,20]:

Hábito de crecimiento (HC). Se determinó de manera visual, a los 60 días después de emergencia, usando la escala: 1: erecto, 2: semierecto y 3: rastrero.

Vigor de la planta (VP). Se estimó de manera visual, calificando en escala de 1-9, considerando el porcentaje de germinación de las plantas y crecimiento homogéneo de la parcela, siendo 1 la menor calificación.

Color de aurícula. Se determinó visualmente cuando las plantas se encontraban en floración, tomando como referencia la hoja bandera, de acuerdo con la escala: 1: verde, 2: morado pálido, 3: morado y 4: morado oscuro.

Daño por enfermedades foliares. Se evaluó durante el ciclo del cultivo hasta grano lechoso, adoptando la escala: 0: no enfermedad y 5: espiga completamente negra por la presencia de patógenos foliares.

Días a espigamiento (DE). Se determinó considerando los días desde la siembra hasta el momento cuando más del 50% de las espigas, sobresalen más del 50% de la hoja bandera.

Altura de la planta (AP). Se midió, previo a la cosecha, tomando la altura desde el suelo hasta la espiga, sin considerar las aristas.

Porcentaje de volcamiento (PDV). Se evaluó durante la madurez del cultivo, de manera visual, estimando el grado de volcamiento.

Longitud de la espiga (LE). Se realizó la medición desde la base de la espiga hasta el ápice, sin considerar la longitud de la arista.

Número de hileras por espiga. Se determinó mediante observación directa, en la etapa de espigamiento a madurez: 1: dos filas, 2: tres a cinco filas y 3: seis filas.

Precocidad (P). Se tomó como días transcurridos desde la siembra hasta el punto de cosecha: 1: precoz (menos de 95 días), 2: semiprecoz (95-105 días), 3: semitardía (106-115 días) y 4: tardía (más de 115 días).

Porcentaje de roya foliar (*Puccinia* spp.)

Porcentaje de roya en espiga (*Puccinia* spp.). Se determinó durante el espigamiento y grano en estado lechoso, midiendo la incidencia en porcentaje (%).

Calificación de roya (*Puccinia* spp.). Se determinó durante el espigamiento y grano en estado lechoso. Usando la escala de Cobb, modificada por [18], la cual mide la incidencia en porcentaje (%) y la reacción como R: Resistente, MR: Moderadamente Resistente; MS: Moderadamente Susceptible y S: Susceptible.

Número de macollas por planta (NMP). Se evaluó al final del ciclo del cultivo, utilizando la escala: 1: escaso (menos de 4), 2: regular (4-6) y 3: abundante (más de 6).

Número de macollas efectivas (ME). Se determinó el número de macollas con espigas por planta, durante el proceso de maduración y secado.

Forma de la arista de la lema. Se realizó al momento en el que el grano llegó a secado, utilizando la escala 1: sin aristas, 2: arista corta, 3: arista larga, 4: arista en forma de capucha sésil y 5: arista en forma de capucha alargada.

Número de granos por espiga (NG). Se midió en el período de cosecha realizando desgrane en cada planta.

Tamaño del grano (TG). Después de cosecha se tomaron 10 granos de cada repetición, y con un calibrador en sentido longitudinal se midió expresando en milímetros, según la escala: 1: pequeño (≤ 5 mm), 2: intermedio (6 a 9 mm) y 3: largo (≥1 0 mm).

Peso de mil semillas (PMS). La medición de esta variable se realizó durante la cosecha, tomando al azar 1000 granos de cada parcela y pesándolos en una balanza de precisión.

Rendimiento: Con base en las características de peso y la humedad del grano. De la producción total de cada unidad experimental, se determinó en g/parcela al 15% de humedad.

Análisis de la Información

Con los datos obtenidos de la caracterización morfoagronómica se realizó un análisis multivariado usando el programa estadístico InfoStat versión 2018. Se realizó la prueba de Bartlett para asegurar la homogeneidad en los datos tomados para posteriormente generar la matriz de correlaciones y se hizo el análisis de componentes principales, para determinar las características más discriminantes dentro del conjunto

de variables evaluadas [21]. Los componentes principales se graficaron en un plano bidimensional. Con el paquete estadístico NTSYSpc® se realizó el análisis de conglomerados jerárquicos mediante la matriz de distancias taxonómicas medias entre caracteres cualitativos y cuantitativos y el algoritmo por agrupamiento (UPGMA), para ello se aplica la distancia euclidiana al cuadrado y el algoritmo de enlace completo.

RESULTADOS

En la evaluación de las características cualitativas, el hábito de crecimiento determina el grado de dificultad en las labores de cosecha, y los materiales erectos facilitan las labores agronómicas e igualmente materiales no erectos tienen una tendencia al volcamiento [9].

En este estudio se encontró que todas las accesiones presentaron un crecimiento erecto, excepto 231 NN 165, CB 165 PM - 3 POLA y CB 225 TROPICAL-2, las cuales mostraron inclinación en el desarrollo de su tallo, es decir, un crecimiento semi-erecto. Aspecto que concuerda con los resultados encontrados al evaluar 136 accesiones de cebada del INIAP en Quito, Perú, en donde encontraron que no hubo diferencias significativas en estas variables [22].

En la característica de color de la aurícula se pudo observar que el 82% de las accesiones presentaron un color verde y el 18% restante morado pálido, mostrando poca variabilidad de esta característica en las accesiones evaluadas. Sin embargo, este es un rasgo que normalmente se utiliza para la diferenciación de germoplasma de cebada [5,12]. En cuanto a la forma de la arista de la lema, se presentó en tres categorías: cortas, en capucha sésil y larga, siendo esta última la que predominó en las accesiones evaluadas (78%). En otras investigaciones, esta característica ha mostrado ser un carácter altamente variable y que permite la discriminación del germoplasma de cebada [5,6,16].

En la variable precocidad no se encontraron diferencias entre las accesiones ya que todas tuvieron un punto superior de cosecha a los 115 días que, según la escala utilizada por [18], son materiales de tipo tardío, por lo cual es necesario establecer estrategias de mejoramiento que conduzcan a obtener materiales de ciclos cortos. Los mejoradores generalmente prestan atención a la precocidad en sus procesos de selección, especialmente en áreas con regímenes de precipitaciones impredecibles, aunque se considera que los cultivos de ciclo tardío tienen un mayor rendimiento al tener un período de madurez tan largo; esto no significa que las accesiones tardías siempre vayan a producir los mayores rendimientos en condiciones favorables, por otro lado se reporta que las variedades tempranas presentan resistencia a ciertas enfermedades [5,7,15].

La calificación de royas (*Puccinia* spp.) es una variable de interés para la caracterización de las accesiones de cebada, ya que esta se manifiesta desde los primeros estados vegetativos de la planta y puede ir aumentando considerablemente de acuerdo a la reacción de cada material [9,12]. Por tal razón, se presenta alta variabilidad para esta característica, en donde 55 materiales fueron moderadamente resistentes (66%) y 28 moderadamente susceptible, entre éstos últimos CB 57 PCR- 91- 5B- 99, CB 109 TX OID 265, CB 10 MESTERNHAZI 153, CB 83 TERNO, CB 110-TXOLP 274 fueron los que presentaron un alto porcentaje de roya en planta y espiga, por lo cual podrían ser descartados para programas de mejoramiento genético en cebada. En otros estudios, se han encontrado reacciones diferentes a roya en la evaluación de germoplasma de cebada en la región alto andina de los departamentos de Cundinamarca y Boyacá, siendo las líneas 163 y 161 las que mostraron mayor resistencia [18]. Los materiales que muestran menor reacción al ataque de royas son de preferencia para el mercado, debido a que esta enfermedad se considera limitante en el cultivo, reduciendo la tasa fotosintética y, por ende, el rendimiento del material.

El 54% de las accesiones presentaron daño foliar grado 2, donde la afección se considera medianamente leve. Las accesiones 87 IRACA SLADKO, 162 X PM POLA, CB 137 IRACA, CB 152 (110 112 TERM) SAN 17 A, CB 100 BONUS, CB 225 TROPICAL -2, CB 5 bcardiniijal y CB XVII MISE 6 presentaron los valores más bajos de daño foliar, siendo una característica deseable, al ser más resistentes o tolerantes al daño foliar no se verá afectada de igual manera, el área foliar, traduciéndose en una mayor tasa fotosintética, más desarrollo y crecimiento y, por ende, mayores rendimientos.

En relación con la variable número de macollas por planta, el 16% de las accesiones presentaron menos de 4 macollas (escaso), el 40% tuvo entre 4 y 6 (regular) y el 28% más de 6 macollas (abundante). Las que presentaron mayor número de macollas en este estudio fueron MALTERA 2, MALTERA 5, CB XVII

MISE 6, CB 117 SULBATE, CB 172 ZARJAN/ 8D, CB 138 IRACA 3 X POLA - S11, CB 184 (PTRIN), CB 84 JUBILANT, CB 141 IRACA y 162 X PM POLA. Estas pueden ser consideradas en programas de mejoramiento genético, ya que esta es una característica estrechamente correlacionada con el rendimiento. Otra característica asociada al rendimiento es el tamaño del grano, donde el 31% de las accesiones tuvieron un tamaño de grano mayor (≥10 mm). Además, esta variable presenta una correlación positiva con el peso de 1.000 semillas que también muestra un incremento en estas accesiones [6,9,13].

El número de carreras o filas por espiga es una variable morfológica ligada al rendimiento de las plantas, pues algunos materiales de 6 carreras cuentan con mayor número de granos por espiga lo que determinaría una mayor cosecha. Sin embargo, se deben tener en cuenta otras variables asociadas puesto que genotipos con espigas de dos carreras de variedades comerciales (Metcalfe, Tropical 1) produjeron un mayor número de macollas efectivas y granos más pesados frente a materiales de 6 carreras (Andina, 128) [9,23]. Para las 83 accesiones evaluadas se encuentra que la cantidad de cebada de dos carreras es similar a las cebadas de seis carreras, esto coincide con lo reportado en otros estudios en donde se encontraron promedios para número de filas por espiga entre 2,11 a 6 [22]. En la evaluación de 57 accesiones en las Islas Canarias, a excepción de las variedades CBT01080 y CBT01321, todos los materiales presentaron seis filas o carreras por espiga [16]. Los materiales de dos carreras son utilizados en la industria maltera, mientras los de 6 se utilizan en su mayoría en la industria harinera, por lo tanto, los resultados indican la posibilidad de cultivar cebada de uso en las industrias, tanto harinera como maltera en el departamento de Boyacá [18].

En general, en la evaluación de los caracteres cualitativos se encontró que algunas variables como color de aurícula, forma de arista y hábito de crecimiento no mostraron alta variabilidad. La variable reacción a roya nos indica que hay materiales moderadamente resistentes con los cuales se pueden ampliar nuevos estudios. En cuanto a número de macollas, los materiales que presentan mayor número deben ser tenidos en cuenta, debido a que un mayor número de macollas mayor rendimiento se tendrá. Se obtuvo un tamaño de grano adecuado en las accesiones similar al presentado en variedades comerciales, además algunas accesiones presentaron un tamaño de grano superior lo cual es importante tener en cuenta ya que es un componente de rendimiento. El número de carreras por espiga influye en el rendimiento, pero no es la única variable que lo afecta, el estudio mostró valores muy similares para materiales de 2 o de 6 carreras, resultados que concuerdan con la evaluación de germoplasma de cebada tanto a nivel internacional como nacional [10,15,18].

Para los descriptores cuantitativos (Cuadro 2) se encontró un coeficiente de variación mayor al 30% para las características volcamiento, número de macollas efectivas, número de granos por espiga, infestación de roya a nivel foliar, y rendimiento, representando la variabilidad más alta, mientras que características como altura de la planta, longitud de la espiga, peso de mil semillas, días a espigamiento, roya en espiga y vigor presentaron un coeficiente menor al 30%. La diversidad genética es la suma de características genéticas dentro de cualquier especie y género, la cual es necesaria para el éxito de cualquier programa de mejoramiento. El coeficiente de variación (CV) es un indicador de diversidad donde valores por encima de un 10% se considera que hay gran diversidad en la característica evaluada [5]. Los resultados encontrados en este estudio, muestran que las accesiones exhiben rasgos comunes entre ellas, características como el número de días a espigamiento se relaciona con la precocidad, siendo la mayoría de los materiales de ciclo vegetativo tardío y no se presentan cambios en el resultado de días aparición de la espiga. En la evaluación de germoplasma de cebada en India, encontraron los mayores valores de coeficiente de variación para las características correlacionadas con el rendimiento y que características como altura de la planta fueron las menos divergentes [10].

Para la variable volcamiento, el resultado de 43,37% se debe a que algunas accesiones no presentaron esta característica, mientras que otras como el CB 152 (110 112 TERM) SAN 17 A (15%), CB 155 BUSHE (20%) CB 165 PM-3 POLA (20%) y CB 225 TROPICAL-2 (10%), si presentaron volcamiento. Esta es una característica no deseable en materiales de cebada, ya que indica que el tallo no tiene la capacidad de soportar el peso de la espiga o corrientes de viento, por lo general, se asocia con la longitud del tallo; sin embargo, también se presenta en materiales de longitud promedio, por lo que deben ser descartados en programas de mejoramiento genético [18].

Cuadro 2. Estadística descriptiva para los caracteres cuantitativos de 83 accesiones de cebada.

Variable	Media	Desviación Estándar	Coeficiente Variación
Vigor de la planta	6,77	0,87	12,91
Altura de la planta	61,55	13,14	21,35
Días a espigamiento	93,58	12,22	13,06
Volcamiento (%)	1,08	4,69	43,37
Longitud de la espiga	7,03	1,42	20,17
Roya foliar (*Puccinia* spp.)	31,99	22,87	31,5
Roya en espiga (*Puccinia* spp.)	9,29	10,87	11,02
Número de macollas efectivas	5,39	2,25	41,7
Número de granos por espiga	40,31	16,52	40,98
Peso de mil semillas	69,16	8,95	12,95
Rendimiento	1617,07	858,03	53,06

En cuanto a la variable infestación de royas a nivel foliar y en espiga se obtuvo un porcentaje superior al 100%, esto se debe a resultados altamente contrastantes donde se observan materiales con porcentaje de infestación de roya inferior al 20% como MALTERA 2, MALTERA 5, CB CUCHUQ 163, CB CUCHUQ 66, CB CUCHU L128, CB ESPERANZA NAR y CB L5 5B NAR, mientras que otros materiales como CB 57 PCR- 91- 5B- 99, CB 109 TX OID 265, CB 10 MESTERNHAZI 153, CB 83 TERNO y CB 110 - TXOLP 274, alcanzaron valores del 90% de infestación, mostrando así alta susceptibilidad en la escala.

La roya (*Puccinia* spp.) es uno de los problemas fitosanitarios más limitantes del cultivo, debido a la amplia distribución del patógeno, su agresividad e impacto económico. Aunque este hongo puede controlarse mediante la aplicación oportuna de fungicidas, se debe hacer énfasis en el mejoramiento de la resistencia (identificación de individuos resistentes) como una alternativa rentable, ambiental y amigable para el consumidor [24,25] por lo que los materiales con menores porcentajes de infestación, pueden ser una alternativa económicamente rentable para los agricultores del país.

La variable rendimiento presentó un coeficiente del 53,06% y la media para esta variable fue de 1617,07 kg/ha. Esto se debe a que algunos materiales tuvieron rendimientos altos 4444,32 (CB 184 PTRIN) y otros muy bajos con 208,78 kg/ha (CB 188 LAISA). Se ha encontrado que el rendimiento puede verse afectado por condiciones sanitarias [19]. Por lo tanto, los materiales en este ensayo que presentan rendimientos altos y baja reacción a roya son de importancia para futuras investigaciones tendientes a la identificación de materiales élite.

El caracter número de macollas efectivas, es una variable útil para estimar el rendimiento de los materiales. En este estudio se encontró que el 16% de los materiales presentaron menos de 4 macollas (escaso), el 40% en un rango de 4-6 (regular) y el 28% más de 6 macollas (abundante). Los materiales que presentan mayor número de macollas en este ensayo son MALTERA 2, MALTERA 5, CB XVII MISE 6, CB 117 SULBATE, CB 172 ZARJAN/ 8D, CB 138 IRACA 3 X POLA - S11, CB 184 (PTRIN), CB 84 JUBILANT, CB 141 IRACA y 162 X PM POLA. Resultados contrarios a los reportados por [18], en donde los genotipos de cebada evaluados presentaron en promedio 4,5 macollas y [9] en la evaluación de 12 genotipos de cebada seis con espigas de seis carreras y los restantes de dos carreras, en donde las cebadas de dos carreras, registraron un mayor número de macollas con respecto a las de seis, cuya diferencia de 0,44 fue altamente significativa, lo cual también ya había sido reportado en otros estudios de caracterización morfoagronómica de *hordeum* [16,25]. Estos resultados demuestran que el macollamiento está influenciado por las características del genotipo, condiciones del terreno, densidad de siembra, rotación de cultivos, fotoperíodo, entre otros [9,16,18,25].

Por otro lado, las variables peso de mil semillas, días a espigamiento y vigor muestran los valores más bajos de cv 20%, ya que sus mediciones dan resultados similares en todas las accesiones. El vigor tiene relación con la homogeneidad de la parcela y germinación de la misma, siendo deseable un valor alto en esta variable. Para días a espigamiento, se tienen un valor promedio de 93 días, clasificando a las accesiones de ciclo tardío, mientras que otros materiales evaluados presentaban un promedio de 76 a 80 días [22].

La variable peso de mil semillas se encontró en un rango de 40,5 a 70,4 g, con una media de 69,16, mostrando así una baja dispersión de los datos, resultados superiores a los reportados por [13] al evaluar el patrón de diversidad morfológi-

ca en la colección base de cebada de Albania (rango 40.5 a 54.3; promedio 48,71). En la evaluación de 10 genotipos de cebada en México en cinco fechas de siembra y dos ciclos agrícolas, encontraron que los cultivares en ambientes contrastantes muestran rendimientos de semillas diferentes, pues la mayoría presenta adaptaciones específicas a condiciones ambientales determinadas [26]; en cebada el cultivar tiene una función importante en el rendimiento de semilla y las características agronómicas, como el potencial de rendimiento, macollas por planta y calidad física de la semilla, permiten mejorar la estabilidad del rendimiento [27]. La fecha de siembra es un aspecto importante en el manejo agronómico del cultivo de cebada, porque está directamente relacionada con la calidad industrial del grano [28]. Se encontraron diferencias altamente significativas, en efecto el peso de 1000 semillas fue mayor en las cebadas de dos carreras, con una diferencia de 5,37g [9], resultados similares a los encontrados en este estudio han sido reportados por [10,11,12,25].

Las accesiones evaluadas presentaron una altura promedio de 69,16 cm. En otros estudios realizados se encontró una altura comprendida en un rango entre 69,3 y 84,3 cm [18], resultados similares a los reportados en este estudio, en donde el promedio para la altura de la planta fue de 69,16 cm.

En cuanto a la variable longitud de espiga en la evaluación de las 83 accesiones de cebada, se encontró una media de 7,03 cm, resultados similares a los reportados en estudios de germoplasma en el país [18]. Esta variable influye en el rendimiento en cosecha debido a la relación con el número de granos por espiga. Por otra parte, las accesiones CEBADA L12 NAR, CB CUCHUQ 66, CEBADA L1 5B NAR, CB 221 556-564 y CB 165 PM - 3 POLA, presentan valores superiores a 50 granos por espiga, mientras que en los trabajos de [9] obtuvieron un máximo de 25 granos por espiga para la variedad Explorer.

El análisis de componentes principales sobre las correlaciones de rasgos morfológicos y agronómicos cuantitativos, identificó las variaciones de los componentes principales y la proporción de la varianza total explicada por cada factor (Cuadro 3).

Los cuatros primeros componentes explican más del 70% de la variación total, lo cual es aceptable para la caracterización de colecciones de germoplasma [13]. Las características con la ponderación más significativa dentro de los PC se pueden utilizar como marcadores cuantitativos para la evaluación y caracterización del germoplasma de cereales [13]. En el primer componente las variables que mayor aporte hicieron a la varianza total observada fueron roya foliar (0,76), roya en espiga (0,7), altura de la planta (0,61) y días a espigamiento (0,6). Para el segundo componente, las variables altura de la planta (0,58) y peso de mil semillas (0,65) y en el tercero, se encuentran las variables número de macollas efectivas (0,57) y rendimiento (0,73). Estos resultados concuerdan con las investigaciones realizadas anteriormente en caracterizaciones morfoagronómicas en cebada [8,10,14]. En éstas, la variabilidad se encontró en las características morfológicas de la planta en general, seguidas por los rasgos asociados a rendimiento.

En la Figura 1 se observa la dispersión de los materiales. En los cuadrantes I y II se agrupan la mayoría de las variables, en el II, se ubican la mayor parte de las accesiones indicando poca variabilidad para el peso de mil semillas, macollas efectivas, vigor y volcamiento.

Cuadro 3. Componentes principales (CP) obtenidos en la caracterización de 83 accesiones de cebada.

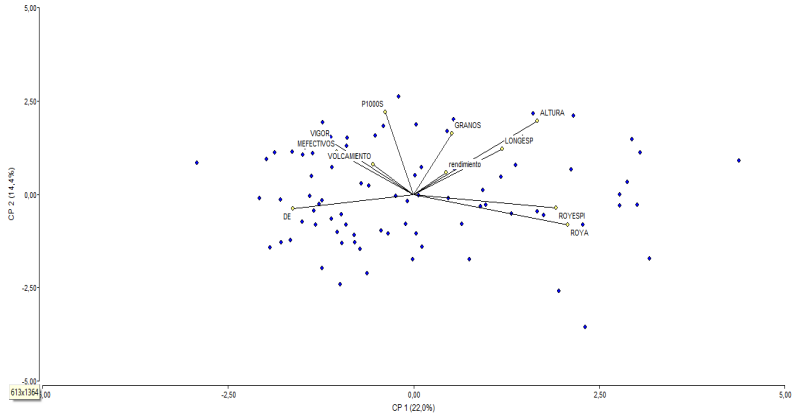
Variable	CP 1	CP 2	CP 3	CP 4
Vigor de la planta	-0,41	0,42	-0,02	-0,36
Altura de la planta	0,61	0,58	-0,06	-0,05
Días a espigamiento	-0,6	-0,11	0,47	-0,01
Volcamiento	-0,2	0,23	0,06	0,72
Longitud de la espiga	0,44	0,36	0,16	-0,27
Roya foliar (*Puccinia* spp.)	0,76	-0,24	0,23	0,08
Roya en espiga (*Puccinia* spp.)	0,7	-0,11	0,3	0,15
Número de macollas efectivas	-0,38	0,34	0,57	0,33
Número de granos por espiga	0,19	0,48	-0,25	0,52
Peso de mil semillas	-0,14	0,65	-0,13	-0,27
Rendimiento	0,16	0,17	0,73	-0,22

La caracterización reveló una amplia variación entre las variedades locales de cebada en casi todas las características morfológicas (rasgos cualitativos y cuantitativos) estudiados como se indica en el cuadro 3. Esto puede explicarse por la evolución del germoplasma de cebada, lo que sugiere niveles significativos de variación, en respuesta a la presión de selección [6]. Los estudios sobre el germoplasma de las especies, han demostrado el valor y la importancia de los caracteres agromorfológicos, con relevancia directa para los agricultores y mejoradores en el establecimiento de estrategias para la conservación y para estimar la diversidad del germoplasma y para describir el nivel de discriminación de las variedades. También han mostrado cómo los agricultores seleccionan los cultivares de maíz (*Zea mays* L.), dependiendo de sus caracteres agromorfológicos [29]. Del mismo modo, se ha evidenciado cómo la combinación de métodos etnobotánicos con análisis genéticos puede dar una idea de cómo se mantiene y gestiona la diversidad genética de los cultivos. Estos valores descriptivos de los caracteres morfológicos son genéticamente heredables y, por lo tanto, deben ser considerados a la hora de evaluar la diversidad genética en las plantas [5,13,16].

El dendrograma basado en las distancias euclidianas discriminó a las accesiones en tres grupos basados en las características morfoagronómicas más representativas (Figura 2). En el grupo I a una distancia de 6 se encuentra el 27% de las accesiones evaluadas, siendo las características más representativas de este grupo, peso de 1000 semillas, tamaño de grano, como la reacción a royas y porcentaje de roya en hoja y espiga y sobresaliendo las accesiones: MALTERA 2, MALTERA 5, CB CUCHUQ 163, CB CUCHU L 128, CB XVII MISE 6, CB 195 COS -01-03, CB 117 SULBATE, CB 52 ONSLON, CB 143 PM - 17 X POLA, CB 92 PAX, CB 125 BONANZA, CB 197 COPELAND, CB 184 (PTRIN), CB 84 JUBILANT, CB 38 ROMANTIK.

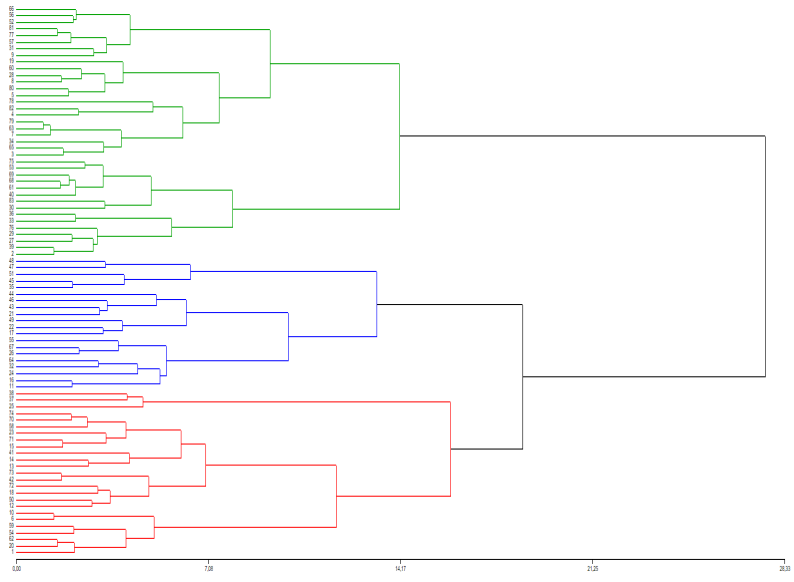
Por el contrario, en el grupo II se encuentran las accesiones que presentaron susceptibilidad a la roya, daño foliar y alto porcentaje de infestación de roya tanto en hojas como espigas (CB 143 PM - 17 X POLA, CB 241 IRACA, CB 188 LAISA, CB 202 NEMESIA, CB 57 PCR- 91- 5B- 99, CB 10 MESTERNHAZI 153, NN 64 (233), CB 220 BRS BORMA).

Figura 1. Distribucion de variables morfologicas y agronomicas analizadas en 83 accesiones de cebada.



ALTURA: Altura de la planta; **DE:** Días a espigamiento; **LONGESP:** Longitud de la espiga; **ROYA:** Roya foliar; **ROYESPI:** Roya en espiga; **MEFECTIVA:** Número macollas efectivas; **GRANOS:** Número de granos por espiga; **P100S:** Peso de mil semillas.

Figura 2. Dendrograma obtenido mediante el análisis de clasificación de 83 accesiones de cebada.



El tercer grupo está conformado por las accesiones que presentaron similares peso de 1000 semillas, tamaño de grano, reacción a roya, caracterizándose porque la mayoría de estas accesiones no presentó roya a nivel de la espiga pero si a nivel foliar, en este grupo se encuentran a las accesiones CB 155 BUSHE, CB 152 (110 112 TERM) SAN 17 A , CB 225 TROPICAL -2 , 162 X PM POLA, CB 100 BONUS, CB 30 PODOLGKIJ 8, mientras materiales como CEBADA L3 5B NAR, CEBADA L9 NAR, CEBADA L13 CB NAR a pesar de presentar reacciones diferentes tiene porcentajes de infestación similares.

Se pudo observar que el patrón de agrupamiento obtenido mostró una asociación con el rendimiento agronómico de las accesiones, indicando que la clasificación puede ayudar a discriminar y seleccionar las accesiones para esta característica. En términos generales, de acuerdo con la evaluación morfoagronómica realizada en las accesiones de cebada en el municipio de Chivatá Boyacá, se puedo observar variabilidad en la expresión fenotípica de las características, especialmente aquellas variables cuantitativas, relacionadas con el rendimiento y que las accesiones MALTERA 2, MALTERA 5, CB CUCHUQ 163, CB CUCHU L 128, CB XVII MISE 6, CB 195 COS -01-03, CB 117 SULBATE, CB 52 ONSLON, CB 143 PM - 17 X POLA, CB 92 PAX, CB 125 BONANZA, CB 197 COPELAND, CB 184 (PTRIN), CB 84 JUBILANT, CB 38 ROMANTIK, CEBADA L12 NAR, CB CUCHUQ 66, CEBADA L1 5B NAR y CB 221 556-564, muestran características deseables para poder ser incluidos en programas de mejoramiento que busquen la identificación de materiales élite para el consumo humano, animal y para la industria maltera [9,18].

CONCLUSIONES

En la evaluación morfoagronómica del germoplasma de cebada se encontró que las características asociadas a rendimiento, como número de macollas por planta, número de granos por espiga, número de espigas, peso de 1000 semillas al igual que la calificación de las royas fueron altamente variables en todas las accesiones evaluadas, en tanto que características como el color de la aurícula, forma de la arista y hábito de crecimiento no mostraron mucha variabilidad.

Se identificaron accesiones con características agronómicas deseables, las cuales pueden ser tenidas en cuenta en programas de mejoramiento genético que busquen la obtención de materiales con altos rendimientos, resistencia a roya y adaptados a las condiciones locales.

REFERENCIAS

[1] BRASSAC, J. and BLATTNER, FR. Species level phylogeny and polyploid relationships in *Hordeum* (Poaceae) inferred by next-generation sequencing and in silico cloning of multiple nuclear loci. Systematic Biology, 64(5), 2015, p. 792–808. doi: https://doi.org/10.1093/sysbio/syv035.

[2] VANEGAS, H., SIERRA, M., DUARTE, C., VARGAS, H. y MANTILLA, H. Coyuntura cerealista y de leguminosas. El cerealista, 126(59), 2018, p. 43-47.

[3] AGRONET. Cifras agropecuarias [on line]. 2019. Disponible: www.agronet.gov.vo [citado 18 de junio de 2019].

[4] LAHOUAR, L., GHRAIRI, F., EL AREM, A., MEDIMAGH, S., EL FELAH, M., BEN SALEM, H. and ACHOUR, L. Biochemical composition and nutritional evaluation of barley rihane (*Hordeum vulgare* L.). African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 14(1), 2017, p.310-317. doi: https://doi.org/10.21010/ajtcam.v14i1.33.

[5] KARAGOZ, A., ÖZBEK, K., AKAR, T., ERGÜN, N., AYDOGÄN, S. and SAYIM, Í. Agro-morphological variation among an ancient world barley. Journal of Agricultural Sciences, 23(1), 2017, p. 444-452.

[6] ALLEL, D., BEN-AMAR, A., LAMINE, M. and ABDELLY, C. Relatationships and genetic structure of north African barley (*Hordeum vulgare* L.) germplasm revealed by morphological and molecular markers: Biogeographical considerations. South African Journal of Botany, 112(1), 2017, p. 1-10. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2017.05.005.

[7] AMABILE, R., FALEIRO, F., CAPETTINI, F., PEIXOTO, J. and MENESES R. Genetic variability in elite barley genotypes based on the agromorphological characteristics evaluated under irrigated system. Ciencia e Agrotecnologia, 41(2), 2017, p. 147-158. doi: https://doi.org/10.1590/1413-70542017412010116.

[8] GURCAN, K., DEMIREL, F., TEKIN, M., DEMIREL, S. and TANER, A. Molecular and agro-morphological characterization of ancient wheat landraces of Turkey. BMC Plant Biology, 17(1), 2017, p. 155-165. doi: https://dx.doi.org/10.1186%2Fs12870-017-1133-0.

[9] RÍOS, D., BRITTO, R. y DELGADO, H. Evaluación del rendimiento y sus componentes en

genotipos de cebada (*Hordeum vulgare* L.) diferenciados por su tipo de espiga y grano. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, 14(2), 2011, p. 55-63. doi: https://doi.org/10.31910/rudca.v14.n2.2011.775.

[10] BANJAREY, P., KUMAR, P., VERMA, S., TIKLE, A., MALIK, R., SARKER, A. and VERMA, R. Comparative analysis of agromorphological and molecular variations in huskless barley (*Hordeum vulgare* L.) under central agroclimatic zone of India. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 6(12), 2017, p. 2821-2829. doi: https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.612.328.

[11] IVANIZS, L., FARKAS, A., LINC, G., LÁNG, M. and M.I. Molecular cytogenetic and morphological characterization of two wheat-barley translocation lines. PloS ONE, 13 (6): e0198758. doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198758.

[12] JAMALI, S., MOHAMMADI, S. and SADEGHZADEH, B. Association mapping for morphological traits relevant to registration of barley varieties. Spanish Journal of Agricultural Research, 15(4), 2017, p. 1-13. doi: https://doi.org/10.5424/sjar/2017154-10494.

[13] XHULAJ, D., HOBDARY, V. and ELEZI, F. Evaluation of morphological diversity pattern in the Albanian barley (*Hordeum vulgare* L.) base collection. Albanian Journal Agricultural Sciences, 1(1), 2018, p. 22-29.

[14] SAMAH, A., FARID, M. and KARIMA, A. Morphological and molecular characterization of some Egyptian barley cultivars under calcareous soil conditions. Milddle East Journal of Agriculture, 7(2), 2018, p. 408-420.

[15] POUDYAL, C., PATHAK, S., RAJ OJHA, B. and MARAHATTA, S. Agromorphological variability of barley under normal and late sown conditions in Chitwan, Nepal. Journal of Nepal Agricultural Research Council, 5(1), 2019, p. 43-52. doi: https://doi.org/10.3126/jnarc.v5i1.23803.

[16] HAGENBLAD, J., LEINO, M., HERNÁNDEZ, G. and MORALES, D. Morphological and genetic characterization of barley (*Hordeum vulgare* L.) landraces in the Canary islands. Genetic Resources Crop Evolution, 66(1), 2019, p. 465.480. doi: https://doi.org/10.1007/s10722-018-0726-2.489().,

[17] SZURMAN, M., ZBIESZZYK, J., MARZEC, M., JELONEK, J., CHMIELEWSKA, B., KUROWSKA, M., KROK, M. and HORTILLUS. A rich and renewable source of induced mutations for forward/reverse genetics and pre-breending programs in barley (*Hordeum vulgare* L.). Frontiers in Plant Science, 9(1), 2018, p. 1-16. doi: https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00216.

[18] DUARTE, J., AVENDAÑO, D., DÍAZ, C., RÍOS, H. y UBAQUE, H. Informe de resultados de las pruebas de evaluación agronómica de nueve (9) líneas promisorias de cebada (*Hordeum vulgare* l.) fnc-bav 1, fnc-bav 2, fnc-bav 3, fnc-bav 4, fnc-bav 5, l-160, l-161, l-163, l-166 y metcalfe, para la región altoandina de Cundinamarca y Boyacá. Cota (Colombia); Fenalce, 4(1), 2014, p. 90-99.

[19] VALENZUELA, I. y TORRENTE, A. Ciencia del suelo principios básicos. Física de suelos. 2 ed. Bogotá (Colombia): Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo, 2013, p. 143-207.

[20] INTERNATIONAL PLANT GENETIC RESOURCES INSTITUTE (IPGRI). Descriptors for barley (*Hordeum vulgare* L.). International Plant Genetic Resources Institute. Rome (Italy): 1994.

[21] DI RIENZO, J., CASANOVES, F., BALZARINI, M., GONZÁLEZ, L., TABLADA, M. y ROBLEDO, C. Manual Manejo InfoStat, FCA [online]. 2015. Disponible: http:// https://www.infostat.com.ar/ [citado 11 de septiembre de 2019].

[22] GUAÑUNA, G., GARÓFALO, J. y PONCE, L. Estudio de la variabilidad fenotípica de 82 accesiones de trigo y 136 de cebada de la colección del INIAP. Quito, Ecuador. Agronomía, 1(2), 2014, p. 45-54.

[23] TERZI, V., TUMINO, G., PAGANI, D., RIZZA, F., GHIZZONI, R., MORCIA, C. and MICHELE, A. Barley developmental mutants: the high road to understand the cereal spike morphology. Diversity, 9(2), 2017, p. 2-16. doi: https://doi.org/10.3390/d9020021.

[24] GONZÁLEZ, M., ZAMORA, M. y HUERTA, R. y SOLANO-HERNÁNDEZ, S. Eficacia de tres fungicidas para controlar roya de la hoja en cebada maltera. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 4(8), 2013, p.1237-1250.

[25] VATTER, T., MAURER, A., PEROVIC, D., KOPAHNKE, D., PILLEN, K. and ORDON, F. Identification of QTL conferring resistance to stripe rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *hordei*) and leaf rust (*Puccinia hordei*) in barley using nested association mapping (NAM). PLoS ONE 13(1): e0191666. doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191666.

[25] YADAV, R., GAUTAM, S., PALIKHEY, E., JOSHI, B., GHIMIRE, K., GURUNG, R., ADHIKARI, A., PUDASAINI, N. and DHAKAL, R. Agro-morphological diversity of Nepalese naked barley landraces. Agriculture & Food Security, 7(1), 2028, p. 86-98. doi: https://doi.org/10.1186/s40066-018-0238-5.

[26] PÉREZ, J., ZAMORA, M., MEJÍA, J., HERNÁNDEZ, A. y HERNÁNDEZ, S. Evaluación de 10 genotipos de cebada (*Hordeum vulgare* L.) en cinco fechas de siembra y dos ciclos agrícolas. Agrociencias, 50(2), 2016, p. 201-2013.

[27] FRIEDT, W., HORSLEY, R.D., HARVEY, B. L., POULSEN, D. M., LANCE, R., CECCARELLI, S. and CARPETTINI, F. En Barley: production, improvement and uses: Barley breeding, history, progress, objectives and technology. 1 ed. Miami (USA): Blackwell Publishing, 2011, p. 160-220.

[28] O'DONOVAN, J., TURKINGTON, T., EDNEY, M., JUSKIW, P., MCKENZIE, R., HARKER, K., CLAYTON, G., LAFOND, G., GRANT, C., BRANDT, S., JOHNSON, E., MAY, W. and SMITH, E. Effect of seedling date and seedling rate on malting barley production in western Canada. Canadian Journal of Plant Science, 92(2), 2012, p. 321-330. doi: http://dx.doi.org/10.4141/cjps2011-130.

[29] MOUSSA, O., BIL-ASSANOU, I., MAHAMANE, A., MAMANE, S. and ZAMAN-ALLAH, M. Agro-morphological evaluation of three exotic maize genotypes (*Zea mays* L.) in the Sahelian context: Prospectives for improving local production. International Journal of Pure & Applied Bioscience, 7(2), 2019, p. 1-9. doi: http://dx.doi.org/10.18782/2320-7051.7305

BIOTECNOLOGÍA
EN EL SECTOR AGROPECUARIO
Y AGROINDUSTRIAL

· ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA ·

Vol. 18 No 2 · Julio - Diciembre 2020 · ISSN - 1692-3561 · ISSN-e 1909-9959 · DOI: http://dx.doi.org/10.18684

Discriminative and descriptive sensory analysis of guacamole dressing made from "Hass" avocado powder*

Análisis sensorial discriminativo y descriptivo de guacamole a base de polvo de aguacate "Hass"

Análise sensorial discriminativa e descritiva do molho de guacamole feito de abacate em pó "Hass"

MISAEL CORTÉS-RODRÍGUEZ[1], FRANCY STEPHANIE ORREGO-VARGAS[2], JUAN DIEGO TORRES-OQUENDO[3]

Historial del Artículo
Recibido para evaluación: 1 de Enero 2019.
Aprobado para publicación: 4 de Mayo 2020.

* Research project: "*Development and industrial production of functional foods from avocado (Persea americana* Mill*) Hass variety: a path towards improving the competitiveness of the chain*". Financing: The Ministry of Science Technology and Innovation, Minciencias, Colombia. Ended: June 5 of 2017.

1 Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación de Alimentos Funcionales (GAF). PhD. Ingeniería de Alimentos. Medellín, Colombia. ORCID 0000-0003-3407-1635

2 Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación de Alimentos Funcionales (GAF). MSc. Ciencia y tecnología de alimentos. Medellín, Colombia. ORCID 0000-0001-8270-6039

3 Universidad de Antioquia. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, PhD. Tecnología de Alimentos. Medellín, Colombia. ORCID 0002-6286-6470

Correspondencia: mcortesro@unal.edu.co

CC BY NC ND

ABSTRACT

The guacamole is a product based on avocado very desirable in world gastronomy. The aim of this study was to select a formulation of guacamole prepared with avocado powder and fresh avocado (G_{AP+FA}) from sensory methodologies. Initially, a discriminative ranking analysis was performed, which allowed to select the best overall quality formulation and subsequently a descriptive analysis was performed by a multidimensional approach to the selected G_{PA+AF} and commercial guacamole obtained with fresh avocado (G_{AF}), where descriptors of appearance, color, flavor and texture were evaluated. Trained panelists were used, who evaluated 15 formulations obtained from the variables: dry solids of guacamole ($DS_{Guacamole}$) (30,30–25,25–20,20%), dry solids provided by AF (DS_{AF}) (0-25-50%) and lime color (0–0,015–0,030%). The discriminative methodology selected two formulations: 1) $DS_{Guacamole}$ = 25,25%, DS_{FA} = 25% and lime color = 0,015% (F_2) and 2) $DS_{Guacamole}$ = 30,30%, DS_{FA} = 50% and lime color = 0,030% (F_{16}). According to the greater similarity with the G_{FA} sample, regarding the contribution of $DS_{Guacamole}$ and higher content of dry solids provided by the AP (DS_{AP}), F_2 formula was selected for the descriptive test, which provided descriptors with desirable characteristics by consumers of Tex-Mex products.

KEYWORDS:
Sauce, Salad dressing, Overall quality, Sensory profile.

RESÚMEN

El guacamole es un producto a base de aguacate muy apetecido en la gastronomía mundial. El objetivo de este estudio fue seleccionar una formulación de guacamole preparada con polvo de aguacate y aguacate fresco (G_{PA+AF}) a partir de metodologías sensoriales. Inicialmente, se realizó un análisis discriminativo tipo ranking, el cual permitió seleccionar la formulación de mejor calidad general y posteriormente se realizó un análisis descriptivo por aproximación multidimensional al G_{PA+AF} seleccionado y a un guacamole comercial obtenido con aguacate fresco (G_{AF}), donde se evaluaron descriptores de apariencia, color, sabor y textura. Se utilizaron panelistas entrenados, los cuales evaluaron 15 formulaciones obtenidas a partir de las variables: sólidos secos del guacamole ($SS_{Guacamole}$) (30,3–25,25-20,2%), sólidos secos aportados por AF (SS_{AF}) (0–25-50%) y color lima (0–0,015-0,030%). Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente usando la prueba de Friedman. El análisis discriminativo seleccionó dos formulaciones: 1) $SS_{Guacamole}$ = 25,25%, SS_{AF} = 25% y color lima = 0,015% (F_2) y 2) $SS_{Guacamole}$ = 30,30%, SS_{AF} = 50% y color lima = 0,030% (F_{16}). Debido a la mayor similitud con el G_{AF} en cuanto al aporte de $SS_{Guacamole}$ y al mayor contenido de sólidos secos aportados por el PA (SS_{PA}), la formula F_2 fue seleccionada para la prueba descriptiva, la cual proporcionó descriptores con características deseadas por los consumidores de productos Tex-mex.

PALABRA CLAVE:
Salsa, Aderezo para ensaladas, Calidad general, Perfil sensorial.

PALAVRAS-CHAVE:
Molho, Molho para salada, Qualidade geral, Perfil sensorial.

Cómo citar este artículo: MISAEL-CORTÉS RODRÍGUEZ, FRANCY STEPHANIE-ORREGO VARGAS, JUAN DIEGO-TORRES OQUENDO. Discriminative and descriptive sensory analysis of guacamole dressing made from "Hass" avocado powder. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial,18(2),2020.117-126, DOI:http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(18)117-125

RESUMO

O Guacamole é um produto a base de abacate que é muito popular na culinária mundial. O objetivo deste estudo foi selecionar uma formulação de guacamole preparada com pó abacate e abacate fresco (G_{PA+AF}) de metodologias sensoriais. Inicialmente, foi realizada uma análise de classificação discriminativa, que permitiu a seleção da melhor formulação de qualidade geral e posteriormente, uma análise descritiva por aproximação multidimensional do G_{PA+AF} selecionado e um guacamole comercial obtido com abacate fresco (G_{AF}), onde os descritores de aparência, cor, sabor e textura foram avaliados. Utilizou-se panelistas treinados, que avaliaram 15 formulações obtidas a partir das variáveis: sólidos secos do guacamole ($SS_{Guacamole}$) (30,30–25,25 –20,20%), sólidos secos fornecidos pelo AF (SS_{AF}) (0–25-50%) e cor de lima (0–0,015-0,030%) e a análise estatística foi realizada a partir do teste de Friedman. A análise discriminativa selecionou duas formulações: 1) $SS_{Guacamole}$ = 25,25%, SS_{AF} = 25% e cor lima = 0,015% (F_2) e 2) $SS_{Guacamole}$ = 30,30%, SS_{AF} = 50% e cor lima = 0,030% (F_{16}). Devido a maior semelhança com o G_{AF} enquanto ao aporte do $SS_{Guacamole}$ e maior teor de sólidos secos fornecido pelo PA (SS_{PA}), a fórmula F_2 foi selecionada para o teste descritivo, que forneceu aos descritores as características desejadas pelos consumidores de Produtos Tex-mex.

INTRODUCTION

Sauces and salad dressings have been part of the human diet for thousands of years ago, they are used to flavor food, moisturizing and masking various culinary preparations [1]. Guacamole, making part of the Mexican dishes that mostly fit the range of "spicy dishes" is classified among the sauces and salad dressings, this category is extended to any product that has in its composition a high amount of Spice-flavored [2]. According to the Colombian technical guide [3], a food sensory analysis is an examination of physical and chemical attributes of a product that are perceived by the senses, allowing to know quantitative and qualitative properties of the food by trained panelists, and still fundamental for the development of new products with greater acceptance by consumers [4].

The main sensory characteristics that are taken into account to assess the quality and sensory shelf life of a sauce and salad dressings are attributes such as color, flavor, consistency, appearance, texture and overall quality [5]. The texture is one of the major qualitative parameters that can be seen by the senses of touch, sight, and hearing; It is related to the rheological properties and structure of foods [6]. The appearance or visual impression is the outward appearance that foods show, as the resulting expression of color, size, shape and quality status of food [7]. The taste and smell are perceived by chemoreceptors that can receive specific notes of taste and smell (taste + smell) for each food, like spicy attributes of dressings and sauces [8]. The pulp of ripe avocado which avocado is made with is characterized by having excellent sensory attributes, such as bright green moist creamy texture [9] and attributes of flavor as floral, herbal, green, sweet and oily, among others.

The aim of this study was to select by sensory methodologies a guacamole formulation made from avocado powder (AP) and fresh avocado (FA) (G_{AP+FA}), with quality attributes similar to a commercial guacamole made from 100% fresh avocado (G_{FA}).

METHOD

This research was carried out in the Laboratory of Sensory Food Analysis at the University of Antioquia. The average environmental conditions were 24.8 °C and 51% relative humidity.

Materials

Avocado powder (AP) was obtained by spray drying, according to the methodology described by Marulanda *et al.* (2018) [10]. For AP, avocado "Hass" (*Persea americana* Mill) from the eastern region of Antioquia was used; also, red onion (*Allium cepa* L.), paprika (*Capsicum annuum*), coriander (*Coriandrum sativum*), garlic (*Allium sativum*) and additives in the following categories: preservatives (sodium benzoate and potassium sorbate), antioxidants (Butyl hydroxytoluene and sodium erythorbate), acidulants (citric acid) and hydrocolloids like rubber xanthan were used.

Guacamole preparation

The formulation of the G_{AP+FA} was prepared to reconstitute the AP at 50% of the water of the formulation, using a blender Kitchen Aid Artizana 194 rpm (position 6) for 4 min; then vegetables, spices, and

additives previously disintegrated with the remaining water were added and stirred for 2 min.

Fifteen formulations obtained by combining the variables: dry solids of guacamole ($DS_{Guacamole}$) (30,30 – 25,25 – 20,20%), dry solids provided by AF (DS_{AF}) (0 – 25 - 50%) and lime color (0 – 0,015 – 0,030%) were evaluated. The statistical analysis was performed from the Friedman test.

The dependent variable was: sensory general quality of $G_{PA+AF.}$ First a discriminative test (ranking methodology), later, the sample with a best general quality was compere with a G_{AF} through a descriptive test (sensory profile by multidimensional approximation, where descriptors of appearance, color, flavor and texture were evaluated).

General conditions for discriminative and descriptive trials

The trials were conducted in the Laboratory of Sensory Analysis of Food of Universidad de Antioquia, by means of a trained panel with and age range between 25 and 55 years, of male and female gender. Relative humidity conditions were recorded in the area of testing, at the beginning and end of the study. Cubicles separated and fitted according to regulations and white light were used. The regulatory framework for sensory analysis [3, 11, 12] was taken into account.

Discriminative sensory analysis

15 formulations were evaluated, with the participation of 7 trained judges, which were identified according to experimental design and in addition, a test code for each sample was designated. The formulas were strategically organized based on the guacamole soluble solids ($DS_{Guacamole}$) in three groups with an E_1, E_2, and E_3 delivery order. For each of these groups, it was conducted the methodology of ranking test, according to the general quality [13] and it was selected the one with the highest score of each group, in cases in which equal scores were obtained a pairwise comparison test [14] was carried out. Finally, a fourth group comprised of samples with the highest scores of the other three groups was submitted to the last ranking test, to choose the best formulation of the whole 15 samples collection. General quality analysis having the G_{FA} as the pattern was considered.

Statistical analysis

For the four groups of formulas the Friedman test (F_{test}) was applied (equation 1) to establish significant differences among the samples graded with respect to the overall quality, this considering that if $F_{test} > F$, it is concluded that there are consistent differences between the ranks order. In case of finding minimum significant difference according to the Friedman test, it should be carried out a test of minimum significant difference (MSD) (equation 2). A null hypothesis where there is a significant difference between the sums of ranks of samples and an alternative hypothesis where there is a significant difference between the sums of ranks of samples are proposed.

$$F_{test} = \frac{12}{j \cdot p\,(p+1)}\left[R_1^2 + R_2^2 + R_3^2 + R_4^2\right] - 3\,j\,(p'' + 1) \quad \text{(Eq. 1)}$$

Where: j =7 judges; R= sum of ranks for each sample; p" = number of samples.

$$MSD = z * \sqrt{\frac{j\ p''\ (p''+1)}{6}} \quad \text{(Eq. 2)}$$

Where: z = 1,96; j = 7 judges; p" = 5; significance level: 5%. If the absolute value of the difference between the sums of ranks of two products is equal to or greater than the MSD, it is concluded that the two products have received significantly different ranks.

Descriptive sensory analysis

The descriptive test was performed with the participation of 6 trained judges, who identified and selected sensory descriptors which enable the establishment of a sensory profile by a multidimensional approach for (G_{FA}) and (G_{AP+FA}) products, this last being selected throughout the discrimination analysis. Following the NTC 3932/1996 [14], it was initially performed a selection of descriptors in terms of appearance, smell, taste, and aroma of G_{FA} and G_{AP+FA}, then an assortment of the most representative descriptors was obtained by means of a group consensus, finally an intensity evaluation of the of each of these descriptors on an individual basis was carried out. The result of the entire assessment gives rise to a sensory profile and an overall quality of each product. Statistics were analyzed by using the Friedman test method.

Microstructural analysis

The micrographics of G_{AP+FA} y G_{FA} were performed on a optical compound microscope Nicon E200, the samples were put in the slides, and lenses in 10X.

RESULTS

Discriminative analysis

The conditions of temperature and relative humidity recorded during the sessions of sensory evaluation for the 15 formulations were: for the session 1: 25,2–25,9°C (±0,1°C) and 41,0–52,0% (±1,0%); and for the session 2: 23,0–25,0°C (±0,1°C) and 55,0–56,0% (±1,0%) respectively.

Table 1 describes the general quality of the guacamole formulations evaluated. The order from highest to lowest in terms of the overall quality of the four-valued groups was as follows:

- Group 1 (F_{16}, F_{19}, F_1, F_9, F_{14}): The *Friedman test* established minimum differences between these samples, therefore the test (MSD) was carried out, in which minimal differences between the samples of higher score were not found, then, a consensus was achieved among panelists on choosing F_{16} formula as the one with the greatest balance in smell and taste, also, soft, viscous and pasty texture attributes. Results: F_{test}: 9,90 F*=9,11 and MSD = 11,59.

- Group 2 (F_2, F_3, F_{17}, F_8, F_{13}) significant differences with the Friedman test were found among these formulas, also, MSD test was performed, which no minimum significant difference among samples with highest scores was found. Then a pairwise comparison between F_2 and F_3 was performed. In terms of overall quality sample, F_2 was chosen by its greatest balance in smell and taste, fleshy, doughy and viscose texture. Results: F_{test}: 14,51, F*=9,11 and MSD = 11,59.

- Group 3 (F_5, F_4, F_6, F_{18}, F_{10}), no significant difference during the Friedman test were found, so F_4 was selected by consensus among panelists on organoleptic attributes appointing out this formula as the one with the best slightly viscous texture, spicy and with more balance in taste and smell. Results: F_{test}: 8,57 and F*= 9,11.

- Group 4 (F_2, F_{16}, F_4) significant differences with the Friedman test were found among these formulas, also, MSD test was performed, which no minimum significant difference among samples with highest scores was found. Then a pairwise comparison between

Table 1. General quality of guacamole formulations.

Sample	$DS_{Guacamole}$ (%)	DS_{FA} (%)	Lime color (%)	Code	Delivery order	Sum of ranges (General quality)
Standard or commercial sample	25,25	25	0	422	Initial	Initial
F_1	30,30	50	0	791	E_1	23
F_9	20,20	50	0,030	219	E_1	17
F_{14}	20,20	50	0,000	922	E_1	12
F_{19}	25,25	50	0,015	123	E_1	24
F_{16}	30,30	50	0,030	179	E_1	29
F_2	25,25	25	0,015	871	E_2	28
F_3	30,30	25	0,015	21	E_2	27
F_8	25,25	25	0	500	E_2	17
F_{13}	20,20	25	0,015	313	E_2	9
F_{17}	25,25	25	0,030	944	E_2	24
F_4	30,30	0	0,030	611	E_3	26
F_5	30,30	0	0	532	E_3	27
F_6	25,25	0	0,015	111	E_3	23
F_{10}	20,20	0	0	305	E_3	14
F_{18}	20,20	0	0,030	549	E_3	15

F_2 and F_{16} was performed. It was concluded, by the panelists, that both formulas have the greatest quality characteristics scores, and that there are no significant differences between them. Results: F_{test}: 225,0, F*=9,11 and MSD = 7,33.

The comparison of F_2 and F_{16} formulations in terms of increased use of AP was determining the relationship between DS_{AP} and DS_{FA} (DS_{AP}/DS_{FA}), which was 2,594 and 0,831, respectively. This result evidence that F_2 formulation ($DS_{Guacamole}$ = 25,25%, DS_{FA} = 25,0% and lime color = 0,015%) favors a greater use of the AP in the formulation. Now, by similarity with the commercial standard (G_{FA}) as to the contribution of $DS_{Guacamole}$ and greater representation in the DS_{AP} (%), was selected F_2 (G_{AP+FA}) to the descriptive test.

Descriptive test

Sensory analysis by multidimensional approach was performed to G_{FA} and G_{AP+FA} in a session with room conditions of initial temperature = 24,7°C and final 25,4°C, initial relative humidity of 55% and 60% at the end. The sensory descriptors obtained for G_{FA} and G_{AP+FA} based on parameters of appearance, color, flavor, texture, are set out in table 2 and figure 1.

Table 2. Quality descriptors for G_{FA} y G_{AP+FA} products (*p<0,05).

Descriptor	G_{FA}	G_{AP+FA}	Valor p
Bright appearance	4,0	4,0	1,000
Spice presence appearance	3,3	3,5	0,317
Appearance of color homogeneity	4,3	4,5	0,317
Lumpy appearance	1,0	1,3	0,317
Avocado odor	4,0	3,5	0,083
Odor Salty	2,0	2,0	1,000
Odor Sweet	1,0	1,3	1,000
Odor Herbal	3,0	2,8	0,083
Odor acid	2,5	2,3	0,180
Odor Alliaceous	2,3	3,0	0,025*
Odor spicy	3,0	3,5	0,180
Odor chemical	1,0	1,0	0,554
Odor oily	1,0	2,0	0,045*
Sweet taste	1,8	1,8	0,180
Acid flavor	3,0	3,0	1,000
Oily flavor	3,0	3,8	0,143
Salty flavor	3,0	2,8	0,317
Bitter taste	1,3	1,8	1,000
Green flavor	2,0	2,0	0,563
Herbal flavor	2,8	2,3	0,647
Avocado flavor	3,8	4,0	0,564
Alliaceous flavor	2,5	3,0	0,025*
Spices flavor	3,0	3,3	0,317
Astringent taste	2,0	2,0	1,000
Spicy taste	2,0	2,3	0,317
Chemical flavor	1,0	1,3	0,083
Soft texture	3,3	3,3	0,317
Oil texture	2,5	3,3	0,103
Viscous texture	3,0	3,0	0,157
Fibrous texture	2,3	1,5	0,103
Overall Quality	3,0	2,0	0,083

For appearance and texture descriptors, it can be seen that no significant differences (p>0,05) were found. In descriptors evaluated for odor and taste, only attributes oily smell, alliaceum smell and alliaceum taste presented significant statistical differences (p<0,05). Attributes found for the guacamoles were the presence of spices, bright appearance and lumpy appearance among others. The spicy appearance, taste, and odor are typical of Mexican, Indian and some Asians sauces and dressings (Sheldrake, 2003). The lumpy appearance and fibrous texture are characteristic attributes of the guacamole, desired by the modern consumer that is also related to a more natural product. The homogeneity of the color appearance was given by the visualization of spice particles with their respective chromaticities, within the green bright avocado matrix [16]. Bright appearance of F_2 is consistent with the oil content of avocado, which comprised the dispersed phase in the guacamole dressing; this descriptor was also been evidenced in dressings like mayonnaise [17].

Oily smell presented significant statistical difference (p<0,05) where G_{PA+FA} acquired the highest score, which could be attributed to the physical form of the oil drops in G_{AP+FA} inducing a greater perception of oily smell [18]. On the one hand, the raw material AP consists of droplets of oil

below 50µ diameter which occupy a greater surface area in G_{AP+FA}. On the other hand, the FA presents bigger drops of oil (millimetric) with considerable space between them as shown in the images of figure 2. The oily texture descriptor did not present significant statistical differences ($p > 0,05$) with respect to the two products. This parameter is characteristic of the oil emulsions in water, where the oily phase is responsible for providing attributes desired by the consumer as a creamy, soft, nutty and buttery flavor [9].

Alliaceous odor and taste attributes presented significant statistical differences ($p<0,05$) regarding both products, which is characteristic of the spiced garlic, that, in this case, was not expected (G_{PA+AF} presented the highest score), since both products have the same spice proportion. This effect could be associated with the lower fat content of G_{PA+AF} (28,9% db) versus G_{FA} (55,8% db), due to the ability of the lipid fraction to capture or enhance flavors depending on the food matrix. First, the fat can form a barrier between taste compounds and taste receptors, resulting in a decrease in the intensity of the perceived flavor, this being a masking effect. Second, fat can increase the concentration of water-soluble flavor compounds in the aqueous phase, creating a mass with a greater flavor intensity (enhancer effect) [19].

There were no significant statistical differences ($p>0,05$) in the attributes of avocado taste and odor, with respect to both products. The result of great importance taking into account that PA is obtained with the spray drying technology that involves high temperatures, also several investigations have reported the loss of volatile compounds in avocado submitted to global warming [20]. Some of the common descriptors between the two products like green (unripe), herbal and spicy odor and taste, showed no significant statistical differences ($p>0,05$), which correlates with avocado characteristic flavor volatile

Figure 1. Sensory profile by a multidimensional approach for samples G_{FA} and $G_{AP}+F_{A}$.

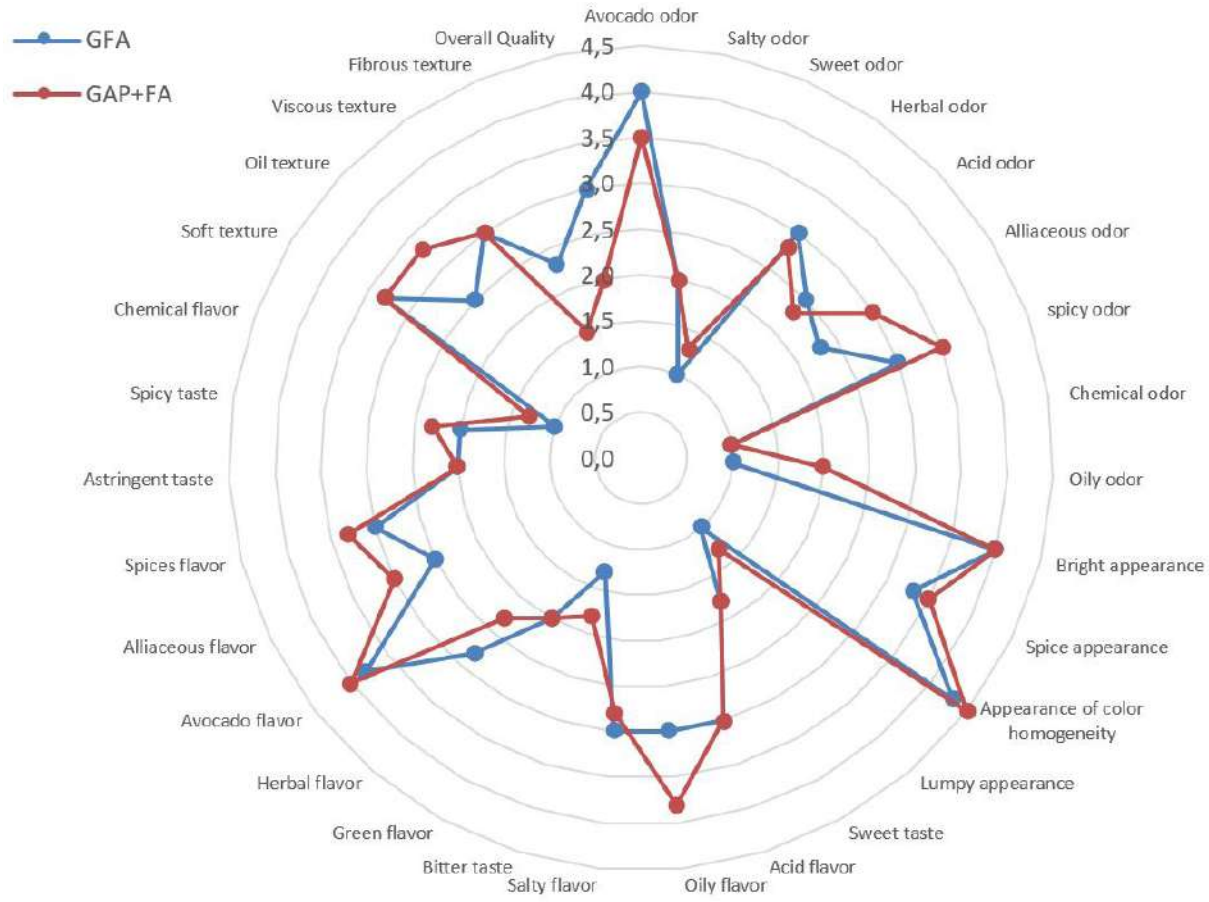
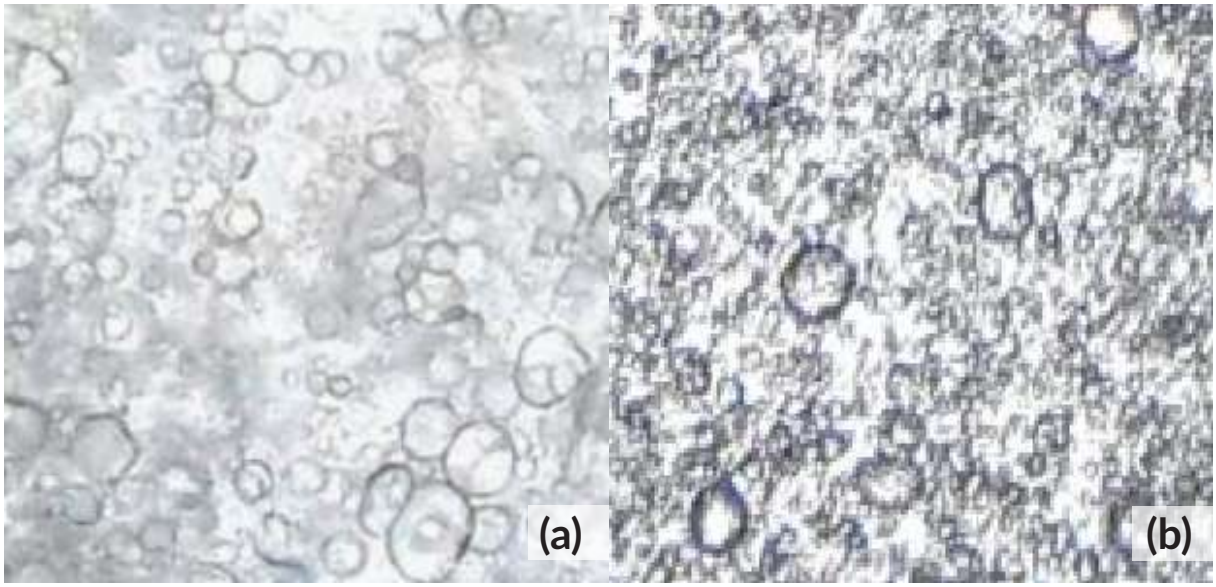


Figure 2. Micrographs of G_{AP+FA} (a) y G_{FA} (b) by an optical microscope with lenses 10X.



compounds as Hexanal and E-2-Hexanal, found in the investigation of [21] in avocado pulp. Finally, the overall quality that corresponds to the global appreciation of the panelists regarding the quality of the products, did not present significant statistical differences (p>0,05) among.

CONCLUSIONS

The selected formulation through the sensory-discriminative analysis was F_2 by its greatest balance in smell and taste, pulpy, pasty and viscous texture, being the G_{AP+FA} made with $DS_{Guacamole}$: 25,25%, DS_{FA}: 25% and lime color: 0,015%. The descriptive sensory analysis for G_{FA} and G_{AP+FA} did not show statistically significant differences based on odor and taste of avocado. It was possible to potentiate the spicy flavor of Tex-Mex products in the two products. Attributes obtained to assess sensory guacamole products serve as a reference for research where required sensory understanding and evaluating quality in salad dressings and sauces made of avocado.

REFERENCES

[1] GARCÍA-CASAL, M. and PEÑA-ROSAS, J. Sauces, spices, and condiments: definitions, potentialbenefits, consumption patterns, and global markets. Annals of the New York Academy of Sciences, 1379(1), 2016, p. 3-16. doi: https://doi.org/10.1111/nyas.13045

[2] ARAUJO, R.G. *et al.* Avocado by-products: Nutritional and functional properties. Trends in Food Science & Technology, 80, 2018, p. 51-60. doi: https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.027

[3] INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS (ICONTEC). Guía técnica colombiana (GTC) 165, Análisis sensorial. Metodología. Guía general. Bogotá (Colombia): 2014, p. 26.

[4] YU, P., MEI YIN LOW, M.Y. and ZHOU, W. Design of experiments and regression modelling in food flavour and sensory analysis: A review. Trends in Food Science & Technology, 71, 2018, p. 202-215. doi: https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.013

[5] BORTNOWSKA, G. *et al*. Effects of waxy rice and tapioca starches on the physicochemical and sensory properties of white sauces enriched with functional fibre. Food Chemistry, 202, 2016, p. 31–39. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.077

[6] LANDIM, A.P.M., BARBOSA, M.I.M.J. and JÚNIOR, J.L.B.. Influence of osmotic dehydration on bioactive compounds, antioxidant capacity, color and texture of fruits and vegetables: a review. Ciência Rural, 46(10), 2016, p. 1714-1722. doi: http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20150534

[7] ROMÁN, L., REGUILÓN, M.P. and GÓMEZ, M. Physicochemical characteristics of sauce model systems: Influence of particle size and extruded

flour source. Journal of Food Engineering, 219, 2018, p. 93–100. doi: https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.09.024

[8] MAMEDE, M.E.D.O. and BENASSI, M.D.T. Efficiency assessment of Flash Profiling and Ranking Descriptive Analysis : a comparative study with star fruit-powdered flavored drink. Journal of Food Science and Technology, 36(2), 2016, p. 195-203. doi: http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.0003

[9] ZÜGE, L.C.B. *et al*. Use of avocado phospholipids as emulsifier. LWT - Food Science and Technology, 79, 2017, p. 42–51. doi: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.013

[10] MARULANDA, A., RUIZ-RUIZ, M.P. and CORTES-RODRIGUEZ, M. Influence of spray drying process on the quality of avocado powder: a functional food with great industrial potential. Vitae 25(1), 2018, p. 37-48. doi: http://dx.doi.org/10.17533/udea.vitae.v25n1a05

[11] INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS (ICONTEC). Norma Técnica Colombiana (NTC) 3501, Análisis sensorial. Vocabulario. Bogotá (Colombia): 2012, 24 p.

[12] INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS (ICONTEC). Guía técnica colombiana (GTC) 226, Análisis sensorial. Guía general para el diseño de cuartos de prueba. Bogotá (Colombia): 2012, 21 p.

[13] INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS (ICONTEC). Norma Técnica Colombiana (NTC) 3930. Análisis sensorial. Metodología. Ordenamiento de acuerdo con un criterio específico (ranking). Bogotá (Colombia): 2015, 24 p.

[14] INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS (ICONTEC). Norma Técnica Colombiana (NTC) 2680. Análisis sensorial. Metodología. Prueba de comparación pareada. Bogotá (Colombia): 2013, 27 p.

[15] INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS (ICONTEC). Norma Técnica Colombiana (NTC) 3932. Análisis sensorial. Identificación y selección de descriptores para establecer un perfil sensorial por una aproximación multidimensional. Bogotá (Colombia): 1996, 31 p.

[16] HURTADO-FERNÁNDEZ, E., FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. and CARRASCO-PANCORBO, A. En: Exotic Fruits. Avocado fruit— Persea americana. 1 ed. Amsterdam (Netherlands): Elsevier Inc., 2018, p. 37–48. doi: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00001-0

[17] ORTIZ-VIEDMA, J. *et al*. Textural, flow and viscoelastic properties of Hass avocado (*Persea americana* Mill.) during ripening under refrigeration conditions. Journal of Food Engineering, 219, 2018, p. 62–70. doi: https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.09.014

[18] DANTAS, D. *et al*. Influence of spray drying conditions on the properties of avocado powder drink. Food Chemistry, 266, 2018, p. 284–291. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.016

[19] APPELQVIST, I.A.M. *et al*. Impact of model fat emulsions on sensory perception using repeated spoon to spoon ingestion. Physiology & Behavior, 160, 2016, p. 80-86. doi: doi:10.1016/j.physbeh.2016.03.035

[20] FUENTES-CAMPO, A. *et al*. In vitro and in vivo inhibition of Hass avocado polyphenol oxidase enzymatic browning by paeonol, β-cyclodextrin, and paeonol:β-cyclodextrin inclusion complex. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2018, In Press. doi: https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2018.11.009

[21] GARCÍA-ROJAS, M. *et al*. Biosynthesis of fatty acids-derived volatiles in 'Hass' avocado is modulated by ethylene and storage conditions during ripening. Scientia Horticulturae, 202, 2016, p. 91-98. doi: https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.02.024

BIOTECNOLOGÍA EN EL SECTOR AGROPECUARIO Y AGROINDUSTRIAL

· ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA ·

Vol. 18 No 2 · Julio - Diciembre 2020 · ISSN - 1692-3561 · ISSN-e 1909-9959 · DOI: http://dx.doi.org/10.18684

Análisis composicional de la pupa de gusano de seda *(Bombyx mori* L.)*

Compositional analysis of silk worm pupae *(Bombyx mori* L.)

Análise composicional da pupa do bicho-da-seda *(Bombyx mori* L.)

CONNIE MITCHELLE GRISALES-MUÑOZ[1], FREDY JAVIER LOPEZ-MOLINA[2]

Historial del Artículo

Recibido para evaluación: 1 de Enero 2019.

Aprobado para publicación: 1 de Mayo 2020.

* Proyecto de investigación de orígen: "Desarrollo Tecnológico para la obtención de productos orgánicos e innovadores de seda natural". Financiación. Sistema General de Regalías. Culminación: diciembre de 2020.

1 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación Sistemas Integrados de Producción Agropecuaria, Forestal y Acuícola (SISINPRO). Ingeniera Agropecuaria. Popayán, Colombia. Orcid: http://orcid.org/0000-0003-4702-0706

2 Universidad del Cauca, Departamento de Ciencias Agropecuarias, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación Sistemas Integrados de Producción Agropecuaria, Forestal y Acuícola (SISINPRO). M Sc. Ciencias Agrarias. Popayán, Colombia. Orcid: http://orcid.org/0000-0002-4414-1417

Correspondencia: conniegrisales@unicauca.edu.co

Cómo citar este artículo: CONNIE MITCHELLE GRISALES-MUÑOZ, FREDY JAVIER LOPEZ-MOLINA. Análisis composicional de la pupa de gusano de seda (Bombyx mori L.). Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial,18(2),2020.126-134, DOI:http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(18)126-134

RESUMEN

La sericultura en el Departamento del Cauca se encuentra en una dinámica constante que busca fortalecer distintos eslabones de su cadena productiva. En el proceso de devanado del capullo se genera la pupa de gusano de seda como subproducto, el cual no es aprovechado de manera eficiente. Con el objeto de evaluar la pupa y harina de gusano de seda, como fuentes alternativas de inclusión en dietas para la nutrición animal, se realizó el análisis composicional de materia seca (%MSA), humedad (%HR), cenizas (%CNZ), proteína bruta (%PB), extracto etéreo (%EE), quitina (%QTN) y la digestibilidad in vitro de la materia seca (%DivMS). Para ello, se utilizaron pupas frescas (PGS) y harina de pupa (PGSh), suministradas por sericultores asociados a CORSEDA. Los resultados efectuados en base seca arrojaron valores de PB de 50,05 y 51,73%; EE 41,36 y 37,62%; QTN 2,47 y 5,49%, para pupa y harina respectivamente. En términos de la digestibilidad de la materia seca, la pupa tuvo un mejor comportamiento con 84,73 contra 77,45% respecto a la harina. El perfil nutricional de la pupa fresca y la harina permitió determinar que son materias primas potenciales para ser utilizadas en la formulación de balanceados para la industria animal.

PALABRAS CLAVE:
Insectos útiles, Composición química, Nutrientes, Harina animal.

ABSTRACT

The sericulture in Cauca department is a constant dynamic looking for strengthening different tiers of its productive chain. In the process of winding the cocoon, the pupa of the silkworm is generated as a by-product, which has not been accurately exploited. In order to evaluate the pupa and silkworm meal, as alternative sources to include in diets for animal nutrition, the compositional analysis was made from dry matter (%MSA), humidity (%HR), ash (%CNZ), crude protein (%PB), ether extract (%EE), chitin (%QTN) and in vitro digestibility of dry matter (% DivMS). For this purpose, we used fresh pupae (PGS) and pupal meal (PGSh), supplied by CORSEDA's farmers. The dry base results showed values of PB 50,05 and 51,73%; EE 41,36 and 37,62%; QTN 2,47 and 5,49%, for pupa and meal respectively. In terms of the digestibility of the dry matter, the pupa had a better performance with 84,73 against 77,45% corresponding to meal. The nutritional profile of the fresh pupa and meal allowed to determine that they are potential raw materials to be used in the formulation of balanced food for the animal industry.

KEYWORDS:
Useful insects, Chemical composition, Nutrients, Animal flour.

RESUMO

A sericultura no Departamento de Cauca, está em constante dinâmica em busca do fortalecimento de diferentes elos de sua cadeia produtiva. No processo de enrolamento do casulo, a pupa do bicho-da-seda é gerada como um subproduto, que não é usado de forma eficiente. A fim de avaliar a pupa de bicho da seda e farinha, como fontes alternativas para inclusão em dietas de alimentos para animais, a análise da composição foi realizada: matéria seca (%MSA), humidade (%HR), cinzas (%CNZ), proteína bruta (%PB), extrato etéreo (%EE), quitina (%QTN) e digestibilidade in vitro da matéria seca (%DivMS). Para este propósito, pupas frescas (PGS) e farelo de pupa (PGSh) foram usadas, for-

PALAVRAS CHAVE:
Insetos uteis, Composição química, Nutrientes, Farinha animal.

necidas pelos agricultores da CORSEDA. Os resultados da base seca mostraram valores de PB de 50,05 e 51,73%; EE 41,36 e 37,62%; QTN 2,47 e 5,49%, para pupa e farinha, respectivamente. Em termos de digestibilidade da matéria seca, a pupa teve um melhor desempenho com 84,73 contra 77,45% com relação à farinha. O perfil nutricional das pupas e farinhas frescas, permite determinar que são matérias-primas potenciais, a serem utilizadas na formulação de balanceamento para a indústria animal.

INTRODUCCIÓN

Debido a su gran adaptabilidad y amplia distribución, la clase insecta conforma la mayor diversidad y biomasa del planeta, constituyendo cuatro quintas partes del reino animal [1].

Los insectos poseen un alto valor nutritivo, representado principalmente por una fuente de excelente calidad de proteínas y vitaminas, además de que generan gran cantidad de beneficios de carácter ambiental y sanitario, por lo que se consideran como una materia prima alternativa para la industria alimentaria humana y animal [2,3], sin embargo, poco se ha promovido su uso para este fin [1].

En este sentido, la harina de insectos podría reemplazar potencialmente entre el 25 y el 100% de la harina de soya o de pescado en alimentos para animales [4]; cinco especies de insectos son las más utilizadas en alimentación animal: la mosca soldado negro, gusano de la harina, grillos, gusanos de mosca doméstica y gusanos de seda; esta preferencia se debe a que los buenos niveles de aminoácidos esenciales presentes en las harinas de insectos, con contenidos más altos de como lisina, metionina y leucina, comparados con la harina de soya y de pescado. Son también una buena fuente de ácidos grasos, proporcionando un equilibrio nutricional entre proteína y energía para la alimentación de animales de granja [4, 5].

La sericultura en Colombia se enmarca en tres componentes básicos de la cadena, que comprenden la fase agrícola con el cultivo de morera *Morus sp*, una fase pecuaria con la cría del gusano de seda *Bombyx mori* L. para la producción de capullos a partir de los cuales se obtiene la seda, y una fase artesanal o agroindustrial para la obtención de filamentos, tejidos y prendas [6].

La pupa de gusano de seda es uno de los principales subproductos generados en la cadena sericola. Su uso ha sido investigado desde 1926 en áreas del conocimiento como la genética, bioquímica, biología molecular, ciencias agrícolas, biológicas y medicina. Los países con mayor participación en la investigación pertenecen al continente asiático, destacándose Japón, China e India, mientras que el aprovechamiento industrial es de amplio espectro en la industria farmacéutica, médica, cosmética y como una herramienta biotecnológica, y potencialmente en la alimentación humana y animal [7].

Debido al incremento en la demanda de proteína de origen animal, aunado al incremento en los costos de la alimentación y a los problemas relacionados con el abastecimiento de materias primas de calidad para la formulación de alimentos balanceados, se hace necesario investigar alternativas de alimentación viables que puedan suplir la escasez de recursos alimenticios. En este sentido, el objetivo del estudio fue determinar la calidad composicional de la pupa fresca y de la harina, en términos de su análisis proximal, digestibilidad in vitro, porcentaje de quitina y nivel de energía, que permita conocer la proporción de los elementos y macromoléculas que los integran y, con ello, inferir su uso potencial en la alimentación animal.

MÉTODO

Localización

La investigación se desarrolló en las instalaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad del Cauca (Colombia), a una altura de 1733 msnm, temperatura media de 19°C y precipitación de 1.800 mm anuales.

Material experimental

Se utilizaron pupas frescas obtenidas después del devanado del capullo de seda, con un peso promedio de 2 g y 5 cm de longitud, y harina de pupa con 8% de humedad, previamente procesada y almacenada al vacío durante un periodo aproximado de 6 meses. Las pupas fueron suministradas por CORSEDA (Corporación para el Desarrollo de la Sericultura del Cauca) provenientes de diferentes unidades de producción serícolas del departamento.

Obtención de la pupa fresca (PGS)

Una vez se sometió el capullo al proceso de devanado para obtener la seda, quedó como remanente el forro de la pupa (21 a 23% de seda no devanable), el cual, para ser removido sin alterar su estructura física, se sometió a un proceso de cocción en agua a 90°C durante 45 min, lo que facilitó el rompimiento del hilo permitiendo la liberación de la pupa. Para garantizar su conservación, se sometieron a temperaturas de congelación (-25°C).

Obtención de la harina de pupa de gusano de seda (PGSh)

Para la fabricación de la harina, las pupas seleccionadas (20 kg) se secaron en un horno deshidratador de alimentos con flujo de aire mixto a 65°C durante 5 h, para conseguir una humedad final entre 8 y 10% que permitió triturarlas en un molino de tornillo eléctrico. Finalmente, la harina resultante fue empacada al vacío y almacenada durante 6 meses a una temperatura de –25°C.

Análisis de laboratorio

Se seleccionó una muestra representativa de 200 g de pupa (PGS) y harina (PGSh), respectivamente, para su análisis químico y con ello determinar la calidad nutricional de esta materia prima. En el cuadro 1 se muestran los métodos empleados para determinar la composición nutricional en base seca de la pupa y la harina [8], los cuales se efectuaron por duplicado en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. La energía se determinó con respecto al aporte calórico de la proteína bruta, extracto etéreo y carbohidratos [9], utilizando la siguiente expresión:

$$EB(kcal/kg) = 5{,}66 * PB + 9{,}43 * EE + 4{,}1 * CHOS \quad \text{(Ec. 1)}$$

La determinación del porcentaje de quitina se realizó químicamente por digestión ácida y alcalina, para finalmente aplicar la expresión 2:

$$\%\, QTN = \frac{masa\ final}{masa\ inicial} * \frac{muestra\ inicial}{\%MS\ analítica} * 100 \quad \text{(Ec. 2)}$$

Con respecto a la digestibilidad *in vitro* de la materia seca para monogástricos, se aplicó la expresión 3:

$$\%DivMS = \frac{(peso\ muestra - MS)residuos}{peso\ muestra - MS} * 100 \quad \text{(Ec. 3)}$$

RESULTADOS

Análisis composicional

En el cuadro 2 se muestran los resultados promedio del análisis composicional de la pupa y la harina, en donde se evidencian diferencias significativas ($p<0{,}05$) en el contenido de nutrientes presentes en las dos muestras comparadas, en tanto que materia seca y cenizas no se presentaron diferencias.

Proteína. Con respecto a los valores de proteína bruta, se observa que superan el 50%, con valores de 51,73 y 50,05% para la harina y pupa fresca, respectivamente. En términos del valor promedio de este nutriente, otros estudios reportan valores de proteína cruda para *B. mori* de 49,3 [6] y 51,1% [10], similares a lo obtenido en este ensayo, y superiores a lo reportado por Rodríguez *et al*. [1], con valores de 46,87% de proteína verdadera. Con respecto a otras especies, estudios reportan niveles de proteína cruda que oscilan entre 55 y 70% en base seca para 11 insectos comestibles en diferentes localidades de México [11].

Cuadro 1. Métodos empleados para el análisis químico y composicional de la pupa (PGS) y harina (PGSh).

Método		Referencia
Materia seca	Secado de la materia prima a 105°C durante 24 h	AOAC, 1990
Cenizas	Calcinación en mufla a 600°C durante 24 h	AOAC, 1990
Proteína	Método Kjeldahl	Kjeldahl, 1983
Extracto etéreo	Método SOXHLET	AOAC, 1990
Quitina	Método químico (digestión acida y alcalina)	Van Soest & Wine, 1975
Extracto libre de nitrógeno	Método matemático por diferencia	
Energía bruta	Método matemático	
Digestibilidad in vitro	Método Pre-cecal	Parr, 1941

Cuadro 2. Análisis proximal y significancia estadística, de la pupa (PGS) y la harina (PGSh), de gusano de seda *Bombyx mori L*, en base seca.

Análisis (%)	Base Seca % (PGS)	DS	BaseSeca% (PGSh)	DS	Sig (p< 0,05)*
Materia Seca	95,13	1,520	94,4	0,077	0,563
Proteína Cruda	50,05	0,445	51,73	0,261	0,044
Extracto Etéreo	41,36	0,127	37,62	0,657	0,016
Quitina	2,47	0,388	5,49	0,261	0,012
Cenizas	3,42	0,091	3,36	0,014	0,491
Extracto Libre de Nitrógeno	2,7	0,162	1,8	0,120	0,025

DS; Desviación Estándar.
*La probabilidad del estadístico es inferior a 0,05, por lo que se puede inferir, que existen diferencias en todos los componentes a excepción de la materia seca y cenizas.

En términos del grado de digestibilidad de proteína en pepsina al 0,2%, se reporta un valor de 79,46%, lo cual permite inferir su alto potencial para el uso en la alimentación, tanto animal como humana [1, 10].

En este análisis no se realizó el perfil de aminoácidos presentes, sin embargo, se resaltan investigaciones [7,10] que reportan la presencia de 18 aminoácidos, de los cuales sobresalen el ácido glutámico y aspártico con un valor mayor a 10 g/100 g de proteína; siguen en orden de importancia la arginina, leucina, tirosina, fenilalanina, lisina, alanina y valina, con contenidos entre 10 y 5 g/100 g; la threonina, serina, prolina, glicina, histidina, metionina e isoleucina que están presentes entre 1 y 5 g en 100 g, mientras que el ácido cistéico y cisteína, están presenten en menos de un 1 g sobre 100 g de la proteína [6].

En este contexto, los aminoácidos se clasifican como esenciales y no esenciales, siendo los primeros los que más participan en la construcción de proteína muscular y por lo tanto a ganancia de peso en la mayoría de los animales [12]. En particular, las especies menores requieren de los 8 aminoácidos esenciales (Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Triptófano, Fenilalanina, Treonina y Valina) [13], los cuales son condicionantes en la mayoría de los procesos metabólicos y se traducen en mejoras de los parámetros productivos en los animales.

La pupa de gusano de seda presentó valores de 4,16, 9,22, 5,32, 3,20, 0, 5,50, 4,61 y 6,23 de los aminoácidos mencionados anteriormente, sobre el 100% de la proteína. Contrastando estos valores con otras materias primas de uso común en la industria alimentaria, como la harina de pescado (54% PB) que contiene 3,81, 6,45, 6,10, 2,36, 0,81, 3,75, 4,03 y 4,74 respectivamente [14], se puede observar el potencial de este material para el uso en dietas para la alimentación animal. Otras investigaciones concluyeron que, en el caso particular de los pollos de engorde, se requieren altas cantidades de aminoácidos, en especial lisina y metionina, de lo contrario sus parámetros productivos se verán seriamente afectados. Para suplir esta exigencia nutricional, los balanceados para animales requieren utilizar materias primas de origen animal y vegetal con alta cantidad de aminoácidos, lo que permitiría en cierta medida, hacer un aporte importante de estos nutrimentos [13]; sin embargo, los altos costos de producción, debido principalmente a la dependencia de materias primas proteicas importadas para la producción de alimentos balanceados como la harina de pescado, hacen que las industrias pecuarias se vean seriamente afectadas en su rentabilidad [15]. En este contexto, son varios los autores [16, 17] que tratan de identificar subproductos industriales de origen animal, como los ensilados de residuos pesqueros en alimentación de especies menores, con el objeto de encontrar alternativas de alimentación no convencional, que den un uso eficiente a los subproductos generados y que, a su vez, permitan en cierta medida, disminuir los costos de producción.

Extracto etéreo. Se encontró que la pupa tiene mayor contenido de grasas (41,36%) que la harina (37,62%). En este aspecto, se han encontrado reportes inferiores de 20,63 y 26,99% para pupa [1, 7] y 16,3 y 34,4% para larva de *B. mori*, respectivamente [1].

Las grasas presentes en la harina de pupa representan más de la tercera parte de la composición química total, lo que denota la calidad de esta materia prima como fuente energética. En efecto, estudios [1, 17, 18] reportan que los insectos contienen una mayor cantidad de ácidos mono insaturados y poliinsaturados.

Si se analiza la relación entre el contenido proteínico y el perfil lipídico, en especial la concentración de ácidos insaturados, resulta valioso el uso potencial de la harina en la fabricación de balanceados, ya que se favorece la relación energética/proteica, permitiendo que el animal emplee los lípidos como fuente de energía sin generar gastos proteicos innecesarios, que aumentarían los costos de producción y contaminación por la formación de exudados nitrogenados [19].

Por otra parte, son varios los estudios que tratan de evaluar diferentes alternativas nutricionales en alimentación de especies menores, buscando fuentes energéticas y proteicas de bajo costo o disponibles en la región, que permitan disminuir los costos de producción sin que se afecten los parámetros productivos [20, 21].

Quitina. En relación a los carbohidratos estructurales, la quitina y la fibra cruda, componen la estructura externa o exoesqueleto de los insectos, formando un complejo polisacárido de alto peso molecular [22, 23].

En términos de los valores presentes en la cutícula de la pupa, se evidencia un contenido de quitina en la harina y pupa de 5,49 y 2,47%, respectivamente. Por otra parte, en determinaciones anteriores independientes en muestras de harina de pupa, se encontraron resultados de fibra cruda de 2,41 y 2,72%.

El contenido de fibra en la harina es menor al 3%, lo que favorece su utilización en raciones animales, ya que una alta concentración de fibra en piensos para nutrición animal en monogástricos, produce un incremento en el consumo para adquirir los niveles de energía digerible necesaria para el crecimiento y mantenimiento [24] y, a la vez, puede afectar parámetros de digestibilidad en la dieta [25].

Cenizas. Los valores de cenizas son similares para ambas muestras, encontrando valores de 3,36 y 3,42% entre harina y pupa respectivamente. Los minerales son esenciales para desarrollar diversas funciones en el organismo, actuando como catalizadores de reacciones metabólicas; este contenido debe tenerse en cuenta cuando se pretende dar un aprovechamiento a la especie, como suplemento en la fortificación de piensos para consumo animal [26] y en alimentación humana [27].

Energía. El balance óptimo de energía y proteína en la dieta es importante, ya que un exceso o deficiencia genera un retraso en la tasa de crecimiento. Si hay deficiencias energéticas, el organismo hará uso de la proteína, disminuyendo el aporte de este nutriente para la síntesis de tejidos. Por el contrario, un exceso de energía genera que el animal sacie su apetito, antes de ingerir una cantidad suficiente de proteína para satisfacer la tasa de crecimiento [28].

En estudios realizados anteriormente con bomba calorimétrica en muestras de pupa de gusano de seda, en los laboratorios Aval Químico y en el de Bromatología y Abonos Orgánicos de la Universidad de Nariño, se obtuvieron valores de 6890 y 6920 kcal/kg, respectivamente, los cuales son superiores al realizado por Rodríguez *et al*. [1] que obtuvieron 6.220 kcal/kg de energía bruta; con respecto a esta investigación, los valores calculados por método matemático arrojaron 6.846 y 6.551 kcal/kg para pupa y harina, respectivamente.

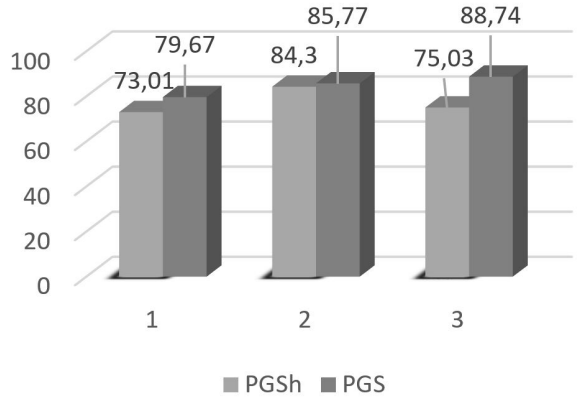
En este sentido, la pupa de gusano de seda posee mayor cantidad de energía bruta que otras materias primas proteicas utilizadas en la nutrición animal, como la harina de carne (3.988 kcal/kg), de pescado (4.040 kcal/kg), de plumas (5.137 kcal/kg), de vísceras (5.219 kcal/kg, de sangre (5.103 kcal/kg), de soya (4.471 kcal/kg) y materias de carácter energético como el gluten de trigo (5.123 kcal/kg) y de maíz (4.977 kcal/kg) [29]. Estas diferencias están dadas principalmente por la alta concentración de grasas presentes en la muestra estudiada, que le brindan un valor energético interesante para la formulación de piensos.

Digestibilidad in vitro. En la medición de este parámetro, se evaluaron tres muestras de cada material y el resultado promedio se reporta en la figura 1.

Se ha planteado la hipótesis de que la matriz de la quitina puede reducir el acceso de quitinasas o proteinasas a sus sustratos, reduciendo así no sólo su digestibilidad, sino también la de los lípidos y proteínas. Esto trae como consecuencia una baja utilización de nutrientes y del rendimiento en el crecimiento de los animales alimentados con esta materia prima [28].

Existen estudios que reportan que los insectos de cuerpo blando como el gusano de seda, contienen menos quitina y son más digestibles que otros [4, 22, 23]. En este estudio se encontró que la digestibilidad de la harina fue menor (77,45% en promedio), debido a la cantidad de carbohidrato estructural representado en el 5,49% de quitina presente en la muestra; en contraste, en la pupa los resultados de digestibilidad son más altos

Figura 1. Promedios de digestibilidad In Vitro de la materia seca, de la harina y pupa de gusano de seda.



(84,73%), con un contenido menor de quitina (2,47%). Si se comparan estos resultados con la harina de pescado, ésta presenta valores de digestibilidad entre 80 a 90%, dependiendo de la fuente utilizada, del valor proteico inicial y del método de fabricación [30].

CONCLUSIONES

En Colombia no existen reportes del aprovechamiento de la pupa de *B. mori* como alternativa para la alimentación animal, ya que la cadena serícola es valorada principalmente para la producción artesanal o agroindustrial de fibras textiles; sin embargo, de acuerdo con los resultados reportados en esta investigación, puede ser utilizada para la alimentación por su alto contenido proteico y energético, características que pueden convertirla en un ingrediente con un alto valor agregado en la industria de los alimentos balanceados.

Las diferencias en contenido de la mayoría de los nutrientes de la harina y la pupa no son significativas, pero es interesante resaltar una mayor presencia de extracto etéreo en la pupa (41,36) que en la harina (37,62), lo que permite inferir que la transformación de la pupa en harina, buscando generar un mayor tiempo de conservación de esta materia prima, es una opción que no altera de manera significativa el perfil de nutrientes y su posterior uso como alimento.

Las proporciones de quitina encontradas influyen directamente sobre la digestibilidad, siendo mayor en la pupa (84,73%) que en la harina (77,45%).

Las características nutricionales presentes hacen que el gusano de seda *B. mori*, ya sea como harina o pupa fresca, pueden ser considerado como una alternativa alimentaria de alto valor biológico, representado principalmente en un buen balance entre el aporte proteico y lipídico.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a CORSEDA por el aporte de la pupa como materia prima; al Laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, por la prestación de sus equipos y personal capacitado; al proyecto "Desarrollo tecnológico para la obtención de productos orgánicos e innovadores de seda natural", convenio entre la Gobernación del Cauca, Universidad del Cauca y Sistema General del Regalías.

REFERENCIAS

[1] RODRÍGUEZ, A., PINO, J., ÁNGELES, S., GARCÍA, BARRÓN, A. y CALLEJAS, J. Valor nutritivo de larvas y pupas de gusano de seda (*Bombyx mori* L.) (Lepidoptera: Bombycidae). Revista Colombiana de Entomología, 42(1), 2016, p. 69–74.

[2] ITALIA. ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). La contribución de los insectos a la seguridad alimentaria, los medios de vida y el medio ambiente ¿Qué es La entomología?. Roma (Italia): I, 2016.

[3] ITALIA. ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). Insectos para alimentación y piensos. 2018. Disponible: http://www.fao.org/edible-insects/en/. [citado 9 octubre de 2018].

[4] HENRY, M., GASCO, L., PICCOLO, G. and FOUNTOULAKI, E. Review on the use of insects in the diet of farmed fish: Past and future. Animal Feed Sciences & Technologies, 203(1), 2016, p. 1–22. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2015.03.001

[5] MAKKAR, H., TRAN, G., HEUZÉ, V. y ANKERS, P. Uso de insectos como alimento para animales. Animal Feed Sciences & Technologies, 197, 2014, p. 1–33. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008

[6] RODRÍGUEZ, A., MONTER, A., MAZA, A., MARTÍNEZ, J., EHSAN, M. y LARA, F. Manual de Sericultura

en Hidalgo: Principios básicos. Hidalgo (México): UPFIM, CONACYT, FOMIX, COCYTEH, 2012.

[7] ANIMANATURALIS. Seda: historia, producción, y alternativas. Anima Naturalis Internacional. 2018. Disponible: https://www.animanaturalis.org/p/seda historia-produccion-y-alternativas [citado 9 octubre de 2018].

[8] LETERME, P. y ESTRADA, F. Análisis de alimentos y forrajes: protocolos de laboratorio. Palmira (Colombia): 2016.

[9] AIRAHUACHO, F. y VERGARA, V. Evaluación de dos niveles de energía digestible en base a los estándares nutricionales del NRC (1995) en dietas de crecimiento para cuyes (*Cavia porcellus* L.). Revista de investigación Veterinaria, 28(2), 2017, p. 255 – 264. doi: http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v28i2.13079

[10] PEREIRA, N., FERRARESE, M., MATSUSHITA, O. and DE SOUZA, N. Proximate composition and fatty acid profile of *Bombyx mori* L. chrysalis toast. Journal of Food Compositionals Analysis, 16(4), 2003, p. 451–457. doi: https://doi.org/10.1016/S0889-1575(03)00016-4

[11] ROSTRO, B., QUINTERO, B., RAMOS, J., PINO, J.M., ÁNGELES, S., GARCÍA, A. y BARRERA, D. Análisis químico y nutricional de tres insectos comestibles de interés comercial en la zona arqueológica del municipio de San Juan Teotihuacán y en Otumba, en el estado de México. Interciencia, 37(12), 2012, p. 914–920.

[12] MORALES, W., RODRÍGUEZ, V. y VERJAN, N. Parámetros productivos y económicos de gallinas ponedoras ISA Brown en segundo ciclo de producción suplementadas con aminoácidos no esenciales. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 29(2), 2018, p. 533. doi: http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v29i2.14481

[13] CHAVEZ, M., BERNAL, J., TÁMBARA, Y., PÉREZ, E. and SÁNCHEZ, A. Essential aminoacid contents of protein hydrolized supplements used in the diet of laying hens. Revista de Producción Animal, 29(2), 2017, p. 73-76.

[14] ROSTAGNO, H., TEIXEIRA, L.F., LOPES, J., GOMES, P.C., FLÁVIA DE OLIVEIRA, R., CLEMENTINO, D., SOARES, A. e DE TOLEDO, S.L.. Tablas brasileñas para aves y cerdos: composición de alimentos y requerimientos nutricionales. 3 ed. Vicosa (Brasil): Universidade Federal de Viçosa, 2011, 259 p.

[15] PEREA, C., GARCÉS, Y., MUÑOZ, L., HOYOS, J. y GÓMEZ, J. Valoración económica del uso de ensilaje de residuos piscícolas en la alimentación de *Oreochromis spp*. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 16(1), 2018, p. 43–51. doi: http://dx.doi.org/10.18684/bsaa.v16n1.623

[16] GÓMEZ, G., ORTIZ, M., PEREA, C. and LOPEZ, F. Evaluación del ensilaje de vísceras de tilapia roja (*Oreochromis* spp) en alimentación de pollos de engorde. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 12(1), 2014, p. 106–114.

[17] PINO, M., RAMOS-ELORDUY, J. y MEDEIROS, C. Los insectos comestibles comercializados en los mercados de Cuautitlán de Romero Rubio, Estado de México, México. Sitientibus Serie. Ciencias Biológicas (Etnobiología), 6, 2006, p. 58–64.

[18] VAN HUIS, A., VAN ITTERBEECK, J., KLUNDER, H., MERTENS, E., HALLORAN, A., MUIR, G. and VANTOMME, P. Edible insects future prospects for food and feed security. Rome (Italy): Wageningen UR FAO Forestry Paper, FAO, 2013, 171, ISSN 0258-6150.

[19] CHEN, H., TIAN, J., WANG, Y, YANG, K., JI, H. and LI, J. Effects of dietary soybean oil replacement by silkworm, (*Bombyx mori* L.), chrysalis oil on growth performance, tissue fatty acid composition, and health status of juvenile jian carp, (*Cyprinus carpio*) var. Jian. Journal of the World Aquaculture Society, 48(3), 2017, p. 453–466. doi: https://doi.org/10.1111/jwas.12373

[20] SANTURINO, C., GARCÍA, J., SIERRA, P., CASTRO, M., CALVO, M. y FONTECHA, J. Los insectos como complemento nutricional de la dieta: fuente de lípidos potencialmente bioactivos. Revista Alimentación, Nutrición y Salud, 23(2), 2016, p. 50-56.

[21] JI, H., ZHANG, J.L., HUANG, J.Q., CHENG, X.F. and LIU, C. Effect of replacement of dietary fish meal with silkworm pupae meal on growth performance, body composition, intestinal protease activity and health status in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). Journal of the Aquaculture Research, 46(5), 2015, p. 1209–1221. doi. https://doi.org/10.1111/are.12276

[22] MONTER, J., TIRADO, J., ZAMUDIO, P., RÍOS, C., ORNELAS, J., SALGADO, R., ESPINOSA, V. y HERNÁNDEZ, F. Extracción y caracterización de propiedades fisicoquímicas, morfológicas y estructurales de quitina y quitosoano de *Brachystola magna* (Girard). Revista Mexicana de Ingeniería Química, 15(3), 2016, p.749-761.

[23] LÓPEZ, M., GIRALDO, G. y MEJÍA-DORIA, C. Evaluación de la capacidad de la quitina, para atrapar grasa. Agronomía Colombiana, 34(1), 2016, p. 2–4. Doi: 10.15446/agron.colomb

[24] SALCEDO, L., NÚÑEZ, E., TORRES, O., ARAGADVAY, M. and YUNGAN, G. Effects physiopathological of secondary compounds in monogastric: A Review. Journal Selva Andina Animal Science, 4(1), 2017, p. 82–92.
[25] NUÑEZ, O. Los costos de la alimentación en la producción pecuaria. Journal Selva Andina Animal Science, 4(2), 2017, p. 93–94.
[26] ANANKWARE, J., PAARECHUGA, K., OSECKRE, E. and OBENGH, D. Insects as Food and Feed: A Review. International Journal of Agricultural Research and Review, 3(1), 2015, p. 143–151.
[27] CARTAY, R. Between shock and disgust: the consumption of insects in the amazon basin. the case of *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera Curculionidae). Revista Colombiana de Antropología, 54(2), 2018, p. 143–159. doi: http://dx.doi.org/10.22380/2539472x.465
[28] MARISCAL, G. y RAMIREZ, E. Determinación de la digestibilidad de la proteína, aminoácidos y energía de canola integral en cerdos en crecimiento. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias, 8(3), 2017, p. 297–304. doi: http://dx.doi.org/10.22319/rmcp.v8i3.4505.
[29] FUNDACIÓN ESPAÑOLA PARA EL DESARROLLO DE LA NUTRICIÓN ANIMAL (FEDNA). Tablas de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. 2010. Disponible https://www.fundacionfedna.org/ingredientes-para-piensos [citado 10, septiembre de 2018].
[30] CALDERON, V., CHURACUTIPA, M., SALAS, A., BARRIGA, M. and ARANIBAR, M. Effect of the inclusion of silage of trout residues in pigs feed and its effect on the productive performance and the taste of meat. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 28(2), 2017, p. 265–274. doi: 10.15381/rivep.v28i2.13055

BIOTECNOLOGÍA
EN EL SECTOR AGROPECUARIO
Y AGROINDUSTRIAL

· ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA ·

Vol. 18 No 2 · Julio - Diciembre 2020 · ISSN - 1692-3561 · ISSN-e 1909-9959 · DOI: http://dx.doi.org/10.18684

Efecto del periodo de recuperación en la producción y calidad nutricional de algunas especies forrajeras*

Effect of the recovery period on the production and nutritional quality of some forage species

Efeito do período de recuperação na produção e qualidade nutricional de algumas espécies forrageiras

DANIA FONSECA-LÓPEZ[1], ISRAEL ALBERTO BOHÓRQUEZ-MASMELA[2],
CARLOS EDUARDO RODRÍGUEZ-MOLANO[3], NELSON JOSÉ VIVAS-QUILA[4]

Historial del Artículo
Recibido para evaluación: 12 de Septiembre 2019.
Aprobado para publicación: 4 de Mayo 2020.

* Proyecto de investigación de orígen: "Evaluación de la respuesta agronómica de algunas especies forrajeras de trópico alto como estrategia hacia una ganadería ecoeficiente". Financiación: Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, VIE convocatoria 781 de 2017 SGI 2405. Culminación: Fecha de finalización: 15 de junio de 2019.

1 Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Grupo de Investigación en Bioquímica Y Nutrición Animal (GIBNA). Investigador, Magister en Ciencias Veterinarias. Tunja, Colombia. http://orcid.org/0000-0003-3877-3730

2 Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Grupo de Investigación en Bioquímica Y Nutrición Animal (GIBNA). Profesor titular, Zootecnista. Tunja, Colombia. https://orcid.org/0000-0003-3905-1449

3 Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Grupo de Investigación en Bioquímica Y Nutrición Animal (GIBNA). Profesor titular, Magister en Ciencias Biológicas. Tunja, Colombia. http://orcid.org/0000-0002-0862-3478

4 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación Nutrición Agropecuaria. Profesor Titular, Doctor en Ciencias Agrarias. Popayán, Colombia. https://orcid.org/0000-0003-0165-2863

CC BY NC ND

RESUMEN

La capacidad que tienen los forrajes para recuperarse del corte permite diseñar estrategias de manejo, por ello, se evaluaron diferentes tiempos de recuperación en temporada seca y de lluvias en Vicia sativa L., Avena sativa L., Trifolium repens L., Trifolium pratense L., Medicago sativa L., y Dactylis glomerata L. en Boyacá (2.700 msnm) en un diseño completamente al azar, con un arreglo factorial 4 x 6 que correspondió a cuatro periodos de recuperación (25, 30, 35 y 40 días) y seis forrajes. Las variables evaluadas fueron producción de materia seca (MS), altura, calidad nutricional, y disponibilidad de N, Ca y P en el suelo al iniciar y al finalizar el ensayo. Los datos fueron analizados con Anova y la prueba de Tukey (p<0,05). Se observó que la producción de forraje (MS) difirió en todas las especies entre los periodos de recuperación y el contenido proteico únicamente en avena, las demás variables no cambiaron estadísticamente. Se concluye que el tiempo óptimo de corte es de 40 días para trébol rojo, vicia y avena; de 35 días para trébol blanco y 30 días para pasto azul y alfalfa.

PALABRAS CLAVE:
Gramíneas, Leguminosas, Forraje verde, Nutrientes, Suelos.

ABSTRACT

The ability of the forages to recover from being cut, allows to design management strategies, therefore different recovery periods in the dry and rainy season were evaluated in Vicia sativa L., Avena sativa L., Trifolium repens L., Trifolium pratense L., Medicago sativa L., y Dactylis glomerata L. in Boyacá (2.700 masl) in a completely random design, with a 4 x 6 factorial arrangement that corresponded to four recovery periods (25, 30, 35 and 40 days) and six forages. The variables evaluated were production of dry matter (MS), height, nutritional quality, and availability of N, Ca and P in the soil at the beginning and end of the test. The data was analyzed with Anova and the Tukey test (P 0,05). It was observed that forage production (DM) differed in all species between recovery periods and protein content only in forage oats, the other variables did not change statistically. It is concluded that the optimal cutting time is 40 days for red clover, Vicia and oats, 35 days for white clover and 30 days for cocksfoot and alfalfa.

KEYWORDS:
Grasses, Legumes, Fresh biomass, Nutrients, Soils.

RESUMO

A capacidade que têm as forragens para recuperar do corte permite desenhar estratégias de manejo, por isso se avaliaram diferentes períodos de recuperação na estação seca e chuvosa em Vicia sativa L., Avena sativa L., Trifolium

PALAVRAS-CHAVE:
Gramínea, Leguminosa, Forragem verde, Nutrient, Solos.

Correspondencia: correodania@gmail.com

Cómo citar este artículo: DANIA FONSECA-LÓPEZ, ISRAEL ALBERTO BOHÓRQUEZ-MASMELA, CARLOS EDUARDO RODRÍGUEZ-MOLANO, NELSON JOSÉ VIVAS-QUILA. Efecto del periodo de recuperación en la producción y calidad nutricional de algunas especies forrajeras. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial,18(2),2020.135-144, DOI:http://dx.doi.org/10.18684/ BSAA(18)135-144

repens L., Trifolium pratense L., Medicago sativa L., y Dactylis glomerata L. em Boyacá (2700 msnm) em um desenho completamente aleatório, com um arranjo fatorial 4 x 6 que correspondeu a quatro períodos de recuperação (25, 30, 35 e 40 dias) e seis forragens. As variáveis avaliadas foram produção de matéria seca (MS), altura, qualidade nutricional, e disponibilidade de N, Ca e P ao iniciar e ao finalizar o ensaio. Os dados foram analisados com Anova e o teste de Tukey (p<0,05). Observou-se que a produção de forragem (DM) diferiu em todas as espécies entre os períodos de recuperação e o teor de proteína apenas na aveia, as demais variáveis não sofreram alterações estatisticamente. Concluise que o tempo ideal de corte é de 40 dias para trevo vermelho, vicia e aveia, 35 dias para trevo branco e 30 dias para cocksfoot e alfafa.

INTRODUCCIÓN

El área ocupada por forrajes en Colombia se ha incrementado desde 1960 por influencia de los pastos introducidos como pasto amargo (*Brachiaria decumbens*), pará (*Brachiaria mutica*) y guinea (*Megathyrsus maximus*) y, en los últimos 50 años, el área destinada a su establecimiento se ha duplicado [1] como consecuencia del mejoramiento genético y liberación de semillas evaluadas en campo por diferentes instituciones de carácter público y privado. En Boyacá, ocupan cerca del 60% del territorio en donde se desarrolla actividad ganadera de lechería, doble propósito y ceba, pero en el ámbito nacional, el departamento es reconocido por su producción lechera debido a su topografía y a su entorno agroecológico [2]. Esta actividad se concentra en municipios ubicados sobre los 2.000 msnm [3] como en la provincia de Sugamuxi (Aquitania, Cuitiva, Firavotba, Iza, Mongui, Tota, Pesca entre otros), provincia Norte (Boavita, Covarachía, San Mateo, Susacon, Tipacoque entre otros), provincia Gutierrez (Chiscas, el Cocuy, Guican, Panqueba entre otros) y provincia de Tundama (Paipa, Floresta, Belen, Busbanzá, Cerinza, Corrales, Santa Rosa de Viterbo entre otros), en donde el forraje con mayor cobertura es kikuyo (*Penisetum clandestinum*) por su rápida propagación, adapatación a la zona y por sus cualidades nutricionales (21,13% MS, 14,47% PC) [4]. Además, otros forrajes de clima frío que suelen encontrarse en los sistemas ganaderos son falsa poa (*Holcus lanatus*), ryegrass (*Lolium* spp), trébol rojo (*Trifolium pratense*), trébol blanco (*Trifolium repens*), avena forrajera (*Avena sativa* L.), azul orchoro (*Dactylis glomerata*), vicia (*Vicia sativa*), alfalfa (*Medicago sativa*) y sauco (*Sambucus nigra* L.) [5]. Estas especies son limitadas por diferentes caracteristicas como humedad, nutrientes, lumiosidad y características del suelo, de modo que estos factores corresponden a condiciones de estrés capaces de ejercer influencia en la respuesta de crecimiento y producción de biomasa en los forrajes, como consecuencia de un efecto directo sobre su metabolismo y fotosíntesis [6] y en la fijación de carbono en materia seca acumulada en las hojas que son el área de captación de la luz [7].

El pastoreo y/o frecuencias de corte tardías o tempranas también repercuten en la calidad nutritiva y producción de forraje, con largos periodos de recuperación se obtiene mayor materia seca de un pasto lignificado que es menos digestible a costa de una reducción considerable en su calidad nutricional y, en el caso contrario, forraje tierno que tiene alto contenido de proteína pero menor producción de biomasa.

El estudio del crecimiento de estas especies en diferentes áreas resulta de importancia económica ya que esto permite adecuar actividades de manejo para lograr una ganadería eco-eficiente [8]. El éxito y la prosperidad de esta actividad está determina por la disponibilidad adecuada y oportuna de alimentos y los forrajes son la fuente más económica para satisfacer las necesidades dietéticas del ganado [9]. Igualmente, el conocimiento del tiempo óptimo para el corte, y las especies con mejor respuesta por zona agroecológica, resultan útiles en condiciones de campo para elegir los mejores cultivares en un sistema productivo en función del lugar y características del suelo. Por ello, el objetivo de este trabajo fue establecer el tiempo óptimo de corte a través de la producción de forraje y valor nutricional de las especies vicia (*Vicia sativa* L.), avena forrajera (*Avena sativa* L.), trébol blanco (*Trifolium repens* L.), trébol rojo (*Trifolium pratense* L.), alfalfa (*Medicago sativa* L.) y azul orchoro (*Dactylis glomerata* L.) y la disponibilidad de nutrientes en el suelo como contribución al conocimiento de la respuesta de crecimiento de forrajes de clima frío.

MÉTODO

El estudio se realizó en la granja experimental La María de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia ubicada a 2700 m.s.n.m. en el departamento de Boyacá en las coordenadas 5°33'7' N y 73°21'23'' W con una temperatura promedio de

13°C. Las especies forrajeras fueron establecidas en parcelas de 2 x 3 m^2 con espacio entre filas de 50 cm, una vez encalado y fertilizado el suelo de acuerdo a los requerimientos de los forrajes y disponibilidad de nutrientes. Este se clasificó como franco arcilloso, y presentó las siguientes características: pH 5,74, 2,55 MO%, 16,2 CIC y 1,2 CE dS m^{-1} (5,67 Ca, 2,64 Mg, 1,12 K, 0,18 Na en Meq 100 g^{-1} de suelo) de acuerdo al análisis reportado por el laboratorio de suelos de la misma universidad, a partir de una muestra representativa (1 Kg) derivada de la mezcla de 24 sub muestras ha^{-1} de suelo tomadas al azar en zigzag.

Las parcelas fueron regadas dos veces por semana durante tres horas y luego de 3 meses de establecimiento se realizó un corte de homogeneidad para iniciar el rebrote (día 0). Los tratamientos evaluados fueron cuatro periodos de recuperación: 25, 30, 35 y 40 días, en las especies vicia (*Vicia sativa* L.*)*, avena forrajera (*Avena sativa* L.*)*, trébol blanco (*Trifolium repens* L.), trébol rojo (*Trifolium pratense* L.), alfalfa (*Medicago sativa L.*) y azul orchoro (*Dactylis glomerata* L.) y se analizó su efecto sobre las variables de respuesta producción de forraje verde, materia seca total, altura, valor nutritivo y disponibilidad de nutrientes en el suelo. Para determinar la producción de forraje en materia seca, que es considerado un parámetro que muestra la adaptabilidad de las especies al medio en el que se están evaluando [10], se realizó un corte de 1 m^2 de pasto en cada parcela con un marco para aforo y luego se hizo un corte de uniformidad según la metodología propuesta por el CIAT [10] de la red internacional de pastos tropicales (RIEPT). El peso de la materia seca (MS) se calculó con la siguiente expresión [10]:

$$\mathrm{MS/m2} = \frac{\mathrm{PF\ x\ ps}}{\mathrm{pf}} \qquad \text{(Ec. 1)}$$

PF: peso fresco de la muestra
pf: peso fresco de la submuestra
ps= peso seco de la submuestra.

Las muestras se secaron (60°C) en una estufa marca Memmert® (Karl Kolb, Schwabach, Alemania) y la humedad (H) se calculó por diferencia [11].

La altura se evaluó de 3 plantas seleccionadas al azar en cada parcela y se midió en centímetros desde el suelo hasta el punto más alto de la planta sin estirarla [10].

Para el análisis nutricional se envió una muestra de 500 g de forraje en sobres de papel puestos dentro de bolsas plásticas individuales al laboratorio AGRILAB compañía limitada, allí se halló en base seca, el contenido de cenizas por incineración a 700°C, extracto etéreo con éter, fibra cruda, proteína total por Kjeldahl, fósforo según la norma NTC 234 y calcio con ácido nítrico de acuerdo a los procedimientos reportados por el laboratorio. Para establecer el tiempo óptimo de corte se hizo la relación entre la producción de biomasa en materia seca y el contenido proteico.

Cada tratamiento tuvo 3 réplicas y cada parcela correspondió a una unidad experimental para un total de 72 parcelas distribuidas en un diseño completamente al azar con un arreglo factorial 4 x 6, donde 4 correspondió a los periodos de recuperación (25, 30, 35 y 40 días) y 6 al número de especies (Vicia, avena forrajera, trébol rojo, trébol blanco, alfalfa y azul orchoro). Los datos obtenidos en los diferentes periodos de recuperación fueron analizados con un Anova y donde hubo diferencias significativas se aplicó la prueba de Tukey ($p<0,05$) en el paquete estadístico SPSS statistics versión 19.

RESULTADOS

Durante el tiempo del ensayo (enero – abril 2019) se observó variación en la temperatura (8,1–22,1°C) y en la pluviosidad (0,2–4,6 mm/d) (Figura 1) en el área de estudio (3.000 msnm). En marzo y abril se presentaron las lluvias más intensas en promedio 3,3 y 4,6 mm/d respectivamente de acuerdo con el reporte de la estación climática de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.

Forraje verde y biomasa en materia seca

No se presentaron diferencias estadísticas ($p=0,05$) en la producción de forraje durante la época de lluvia y seca, lo que se atribuye al uso de riego. Sin embargo, existieron diferencias entre los periodos de recuperación y la producción de forraje verde por especie.

En vicia la mayor producción de forraje verde se observó a los 35 (16,2 ± 4,6 ton ha^{-1}) y 40 días (16,7 ± 1,4 ton ha^{-1}) al igual que en alfalfa (14 ± 1,2 ton ha^{-1}; 14,2 ± 1,2 ton ha^{-1}). En avena forrajera, trébol rojo y azul orchoro, la mayor producción se obtuvo a los 40 días (25,7 ± 3,3 ton ha^{-1}, 14,3 ± 6,3 ton ha^{-1}, 3,62 ± 0,9 ton ha^{-1} respec-

tivamente), mientras que en trébol blanco no se presentaron diferencias a los 40, 35 y 30 días (Figura 2). La producción de materia seca presentó diferencias estadísticas entre los periodos de recuperación (p= 0,05). No obstante, a los 35 y 40 días el forraje (MS) fue mayor en vicia y trébol blanco, mientras que en avena y trébol rojo a los 40 días; y en alfalfa y azul orchoro a los 30, 35 y 40 días sin existir diferencias estadísticas entre estos periodos de recuperación (p= 0,05) (Cuadro 1).

En alfalfa, la producción de materia seca es aproximadamente de 12,2 ton ha^{-1} durante el año [12], en avena de 11,50 a 20,78 ton ha^{-1} en un periodo de corte de 60 a 70 días [9], en azul orchoro de 4,44 a 108 g/planta con variabilidad por genotipo [13] y entre 0,13 ton ha^{-1} y 8,04 ± 0,19 ton ha^{-1} cuando está en mezcla con trébol rojo [14], de modo que los resultados obtenidos alcanzan los rangos reportados, alfalfa con proyección anual de 20,25 ton ha^{-1}, avena 20,1 ton ha^{-1}, azul orchoro 7,92 ton ha^{-1} y vicia 29,2 ton ha^{-1}.

En trébol rojo, los rendimientos de producción de materia seca en el año van desde 3,4 ton ha^{-1} a 13,9 ton ha^{-1} lo que se relaciona con la persistencia de la planta a las condiciones ambientales, manejo, pastoreo y al hábito de crecimiento que, a diferencia del trébol blanco que es estolonífero, crece a partir de meristemas apicales de modo que no hay regeneración de las plantas muertas [15,16], por ello esos resultados son menores a los observados en este trabajo con corte cada 40 días que alcanzan los 2,3 ton ha^{-1} (MS) de modo que se proyectan rendimientos de 20,7 ton ha^{-1}(MS) al año.

Figura 1. Temperatura máxima, temperatura mínima y pluviosidad durante el periodo comprendido entre enero y abril.

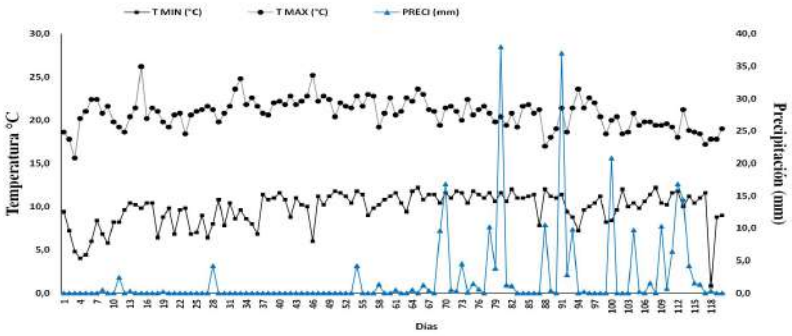
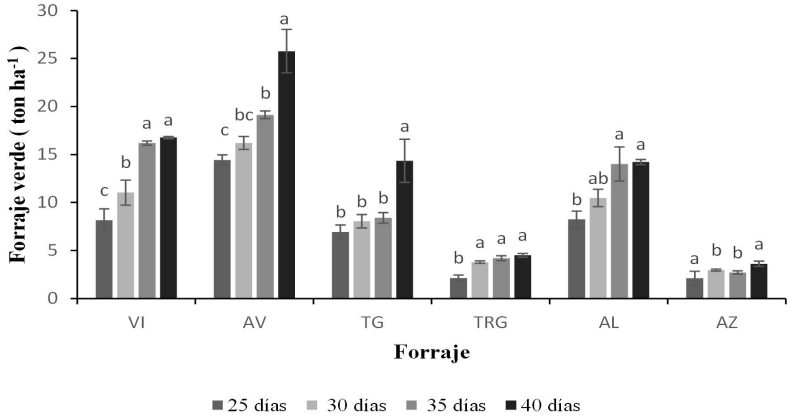


Figura 2. Producción de forraje verde durante los diferentes periodos de recuperación en las especies vicia (Vi), avena forrajera (AV), trébol rojo (TG), trébol blanco (TRG), alfalfa (AL) y azul orchoro (AZ).



Letras distintas indican diferencias significativas por la prueba de Tukey (p= 0,05). Las barras representan el error estándar.

Cuadro 1. Producción de forraje ton ha^{-1} materia seca (MS).

Especie	Periodo de recuperación(Días)			
	25	30	35	40
Vicia sativa L.	1,37 ± 0,1 c	1,9 ± 0,1 b	3,5 ± 0,1 a	3,25 ± 0,1 a
Avena sativa L.	2,61 ± 0,2 c	3,2 ± 0,1 c	4,4 ± 0,1 b	6,7 ± 0,1 a
Trifolium pratense L.	1,37 ± 0,1 b	1,5 ± 0,1 b	1,5 ± 0,2 b	2,3 ± 0,1 a
Trifolium repens L.	0,41 ± 0,2 b	0,67 ± 0,1 b	0,77 ± 0,1 a	0,72 ± 0,2 ab
Medicago sativa L.	1,17 ± 0,1 b	2,38 ± 0,1 a	2,2 ± 0,3 a	2,25 ± 0,2 a
Dactylis glomerata L.	0,4 ± 0,1 b	0,84 ± 0,1 a	0,7 ± 0,1 a	0,88 ± 0,1 a

Letras distintas por especie indican diferencias significativas con la prueba de Tukey (P = 0,05)

Mientras que en trébol blanco con 9 rotaciones al año es decir pastoreos cada 40 días se ha logrado producciones de 13,03 a 14,1 ton ha^{-1} [17] valores superiores a lo obtenido que en el año se aproxima a 6,48 ton ha^{-1} de modo que esta especie no tuvo buen rendimiento bajo las condiciones evaluadas, además, el con-

tenido de materia seca fue menor al reportado de 266 g MS kg[1] de forraje verde [17].

Altura

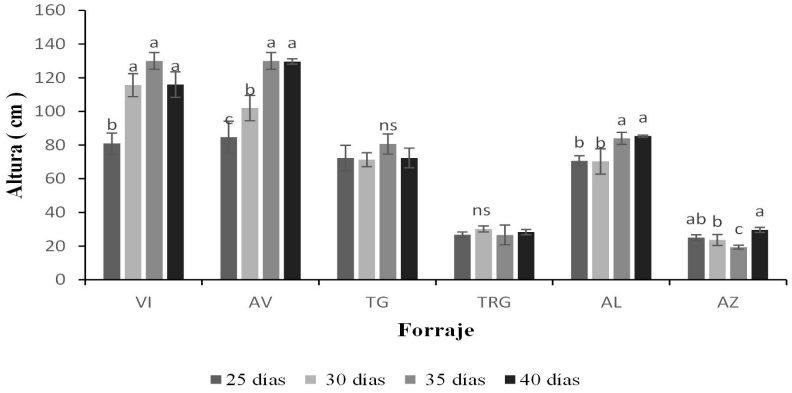
El periodo de recuperación influyó significativamente en la altura alcanzada entre los 25 y 40 días en vicia, avena, alfalfa y pasto azul (p= 0,05) pero no en trébol rojo y blanco. En vicia la altura estuvo entre 81 ± 6,24 y 116 ± 7,5 cm, en avena forrajera de 84,66 ± 9,5 a 129 ± 1,5 cm, en trébol rojo de 72,3 ± 7,5 a 80,6 ± 6,02 cm, en trébol blanco de 26,7 ± 1,5 a 28,3 ± 1,5 cm, en alfalfa de 70,6 ± 3,05 a 85,3 ± 0,5 cm y en azul orchoro de 25,13 ± 1,6 a 29,6 ± 1,5 cm (Figura 3).

Estos resultados coinciden con las alturas reportadas en literatura entre 59,83 y 83,33 cm en alfalfa, 99,9 y 123,8 cm en avena, 56,9 cm en azul orchoro, en trébol rojo hasta 97 cm, en trébol blanco entre 10 y 30 cm y en vicia hasta 120 cm [9,13,18].

Características nutricionales del forraje y químicas del suelo

Se presentaron diferencias estadísticas (p=0,05) en el porcentaje de materia seca entre los periodos de recuperación en todas las especies evaluadas excepto en los tréboles. Para el contenido de proteína solo avena presentó diferencia significativa entre los cortes. El resto de las características nutricionales evaluadas (contenido de cenizas, extracto etéreo, fibra bruta, calcio y fósforo) no cambiaron estadísticamente (Cuadro 2). A los 25 días se presentaron las proteínas más altas excepto para el trébol blanco que fue a los 30 y 35 días, pero

Figura 3. Altura durante diferentes periodos de recuperación en las especies vicia (VI), avena forrajera (AV), trébol rojo (TG), trébol blanco (TRG), alfalfa (AL) y azul orchoro (AZ).



Letras distintas indican diferencias significativas por la prueba de Tukey (P= 0,05). Las barras representan el error estándar.

al relacionar el forraje producido con las características nutricionales se observó que en vicia a los 35 días se obtuvo 0,93 ton ha^{-1} de proteína, es decir 0,12 ton ha^{-1} adicionales que a los 40 días, sin embargo, esta especie por lo general se siembra con avena forrajera que a su vez expresa su mayor potencial a los 40 días de rebrote con 1,23 ton ha^{-1} de proteína, por ello, se debe considerar la siembra por separado de estas especies, y en caso de asociación el corte optimo es cada 40 días.

Esta misma frecuencia se recomienda para trébol rojo que alcanza 0,59 ton ha^{-1} de proteína, lo que a su vez representa 0,21 ton ha^{-1} adicional respecto a los 35 días, y también para alfalfa con 0,58 ton ha^{-1}, aunque es posible realizar cortes a los 30 y 35 días ya que la diferencia no es significativa (0,016 ton ha^{-1}).

En trébol blanco y azul ochoro la mayor producción de proteína en relación con el forraje se obtuvo a los 30 y 35 días respectivamente con un valor aproximado de 1,18 ton ha^{-1} para ambas especies. El rendimiento de este parámetro nutricional por unidad de área se relaciona con la obtención de materia seca, de modo que en trébol rojo se ha encontrado proteínas que oscilan entre 1,6 a 2,9 ton ha^{-1} el primer año y desde 1,1 a 1,9 ton ha^{-1} al cuarto año [15], valores superiores a lo observado en este estudio a diferencia de trébol blanco cuyo contenido proteico fue mayor a 232,4 g kg^{-1} (Ms) con 40 días de corte [17]. Mientras que en alfalfa se estiman de 0,25 a 0,35 ton ha^{-1} de nitrógeno [12] que se encuentra concentrado en un 70% en las hojas [19] en general puede variar entre 22,13 y 27,7% de PC [12,20]. Por otro lado, en avena forrajera es común encontrar de 7,08 a 10,66 % PB [9], en vicia sativa 347 a 374 g kg^{-1} de MS [21] y cuando se realizan mezclas de pasto azul orchoro y trébol blanco entre 17,5 y 22,2% PB [14] calidad nutricional aceptable.

Por otro lado, el pasto contiene minerales esenciales para el ganado, pero sus concentraciones están influenciadas por factores climáticos, del suelo y agronómicos que conducen a situaciones difíciles para la suplementación

Cuadro 2. Características nutricionales durante diferentes periodos de recuperación en las especies vicia (VI), avena forrajera (AV), trébol rojo (TG), trébol blanco (TRG), alfalfa (AL) y azul orchoro (AZ).

Característica	Día	VI	AV	TG	TRG	AL	AZ
H (%)	25	83,1 ± 0,2 a	81,8 ± 0,3 a	80,2 ± 2,7	80,8 ± 1,3	85,7 ± 1,1 a	80,6 ± 1,4 a
	30	82,7 ± 0,1 a	80,3 ± 0,2 a	81,6 ± 0,9	82,1 ± 0,4	77,2 ± 0,3 b	71,3 ± 0,8 b
	35	77,9 ± 0,8 b	76,8 ± 0,8 b	81,7 ± 1,3	81,7 ± 2,4	85,2 ± 0,6 a	73,8 ± 2,5 b
	40	80,5 ± 0,5 c	72,9 ± 0,3 c	83,6 ± 0,8	83,9 ± 0,7	83,1 ± 1,1 a	75,5 ± 1,2 b
MS (%)	25	16,8 ± 0,3 c	18,1 ± 0,3 c	19,8 ± 2,7	19,2 ± 1,3	14,3 ± 1,1 b	19,4 ± 1,4 c
	30	17,2 ± 0,1 b	19,7 ± 0,2 c	18,4 ± 0,9	17,9 ± 0,4	15,7 ± 0,6 b	28,7 ± 0,8 a
	35	19,4 ± 0,5 b	23,2 ± 0,8 b	18,3 ± 1,3	18,3 ± 2,4	15,8 ± 1,5 b	26,1 ± 2,5 b
	40	22,1 ± 0,8 a	27 ± 0,3 a	16,3 ± 0,9	16,1 ± 0,7	22,7 ± 0,4 a	24,5 ± 0,9 b
CE (%)	25	8,6 ± 0,1	8,6 ± 0,1	9,8 ± 0,1	12 ± 1,5	9,1 ± 0,8	9,5 ± 0,8
	30	7,6 ± 0,1	8,5 ± 0,1	7,4 ± 0,6	11,1 ± 0,1	9,1 ± 1,1	10,2 ± 0,7
	35	8,1 ± 0,1	8,6 ± 0,1	9,7 ± 0,7	10,9 ± 0,3	11,8 ± 0,1	10,9 ± 1,1
	40	9,2 ± 0,1	10,7 ± 0,2	10 ± 0,2	9,7 ± 0,1	9,7 ± 0,2	8,7 ± 0,4
EE (%)	25	2,6 ± 0,1	2,1 ± 0,1	2,5 ± 0,2	2,3 ± 0,2	1,7 ± 0,1	2,5 ± 0,8
	30	2,1 ± 0,1	2,4 ± 0,1	1,8 ± 0,1	2,6 ± 0,1	2,2 ± 0,3	2,2 ± 0,4
	35	2,6 ± 0,1	2,6 ± 0,1	1,8 ± 0,2	1,8 ± 0,1	1,7 ± 0,1	2,6 ± 0,1
	40	2,3 ± 0,1	2,1 ± 0,2	2,5 ± 0,1	2,2 ± 0,1	2,3 ± 0,1	2,9 ± 0,6
FB (%)	25	25,2 ± 0,9	19,4 ± 2,2	14,5 ± 0,5	13,6 ± 1,2	20,6 ± 1,6	26,1 ± 0,4
	30	27,5 ± 4,6	20,1 ± 1,2	19 ± 3,1	16,9 ± 4,3	22,1 ± 1,2	26,2 ± 0,2
	35	28,7 ± 2,1	24,3 ± 0,9	14,1 ± 1,7	18,5 ± 0,5	21,9 ± 1,1	25,4 ± 0,5
	40	29,7 ± 1,7	25,2 ± 1,5	16,3 ± 0,5	18,1 ± 1,9	22,2 ± 0,3	25,1 ± 1,5
PB (%)	25	26 ± 0,41	17,8 ± 0,9 a	28,8 ± 2,9	28,9 ± 1,1	26,4 ± 2,5	22,8 ± 2,7
	30	24,8 ± 0,3	13,2 ± 0,4 b	27,6 ± 3,3	30,6 ± 1,1	25,4 ± 1,9	22,3 ± 2,1
	35	23 ± 1,3	12,3 ± 0,5 b	24,6 ± 1,5	30,6 ± 2,3	25,7 ± 0,5	20,5 ± 1,5
	40	22,5 ± 1,5	11,8 ± 0,4 b	24,2 ± 0,9	26,9 ± 0,2	23,4 ± 1,5	19,1 ± 1,2
P (%)	25	0,27 ± 0,1	0,22 ± 0,1	0,35 ± 0,1	0,35 ± 0,1	0,41 ± 0,1	0,22 ± 0,1
	30	0,34 ± 0,1	0,23 ± 0,1	0,27 ± 0,1	0,28 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,1
	35	0,3 ± 0,1	0,39 ± 0,1	0,31 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,26 ± 0,1
	40	0,5 ± 0,5	0,92 ± 0,5	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,69 ± 0,2
Ca (%)	25	0,87 ± 0,1	0,35 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,6 ± 0,1	0,6 ± 0.1
	30	0,9 ± 0,1	0,4 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,2 ± 0,1	2,2 ± 0,5	0,5 ± 0,1
	35	0,98 ± 0,1	0,52 ± 0,2	1,5 ± 0,1	1,1 ± 0,1	2,2 ± 0,4	0,5 ± 0,1
	40	0,93 ± 0,1	0,52 ± 0,1	1,8 ± 0,1	1,2 ± 0,1	2,3 ± 0,4	0,6 ± 0,1

H: humedad, MS: materia seca, CE: cenizas, EE: extracto etéreo, FB: fibra bruta, PB: proteína bruta, P: fósforo, Ca: calcio. Letras diferentes indican diferencias significativas con la prueba de Tukey (P= 0,05).

de minerales de los animales [22], en avena forrajera es común encontrar entre 9,08 y 14,34% de contenido mineral [9] y en alfalfa valores de 0,35 a 0,41 de fosforo (% P) y de 2,43 a 1,96 en calcio (%Ca) [19].

No hubo diferencias significativas entre el contenido de calcio y fosforo en los forrajes, pero, las diferencias numéricas muestran un comportamiento general de disminución respecto al tiempo (Cuadro 3), esto mismo se reporta en trébol rojo en donde el contenido de calcio en el suelo pasó de 1.880 (10 cm) a 1.210 mg kg^{-1} de MS (40 cm) y en fósforo de 37 (10 cm) a 10 mg kg^{-1} de MS (40 cm) [23].

Lo que se debe a la absorción de estos nutrientes por la planta, el calcio para la formación de paredes celulares, como cofactor de algunas enzimas que están involucradas en la hidrólisis de ATP y como segundo mensajero en la regulación metabólica que media los procesos de estrés y desarrollo [6,24,25,26]. Mientras que el fósforo es utilizado por la planta como cofactor durante la fijación de nitrógeno por ello el

Cuadro 3. Características químicas del suelo al comienzo y final del periodo de recuperación.

Característica	Días	VI	AV	TG	TRG	AL	AZ
pH	**0**	6,07	5,48	5,95	6	6,14	5,52
	40	6,05	5,75	5,94	6,06	6,15	5,6
MO (%)	**0**	3,36	2,91	3,47	3,31	3,65	3,54
	40	2,52	2,53	3,38	2,79	3,34	3,19
N (%)	**0**	0,162	0,141	0,168	0,16	0,177	0,183
	40	0,122	0,122	0,163	0,135	0,162	0,102
Ca (mg kg^{-1} MS)	**0**	1500	1340	1390	1460	1380	1350
	40	1260	510	1370	1500	1320	1285
P (mg kg^{-1} MS)	**0**	105	113	107	89,1	105	98,5
	40	79,3	76,5	101	72,6	94,7	72,8

MO: materia orgánica, N: nitrógeno, Ca: calcio, P: fósforo. Vicia (VI), avena forrajera (AV), trébol rojo (TG), trébol blanco (TRG), alfalfa (AL) y azul orchoro (AZ).

requerimiento de fósforo en las leguminosas es más alto, además, influye en el desarrollo de los nódulos, forma la estructura de los ácidos nucleicos, nucleótidos, fosfolípidos y ATP [18]. Aunque no hubo variaciones relevantes en el pH del suelo, las especies evaluadas se adaptaron bien lo que se debe a la resistencia de estos forrajes a condiciones de acidez ligera, excepto la alfalfa, por ello es común que azul orchoro se desarrolle en suelos con pH de 6,8 y contenido de materia orgánica de 1,2% [13,22] al igual que trébol blanco y trébol rojo aunque también pueden desarrollarse a pH de 6,4 y 6,1 respectivamente o en rangos inferiores a pH 5 en suelos compactos pobremente drenados [15,17,27], por ello son especies potenciales en los sistemas ganaderos ya que se adaptan a diferentes condiciones y toleran la presencia de metales pesados como el Pb, además contribuyen a la fertilidad del suelo por la fijación de N_2 en simbiosis con diazótrofos [28].

Como se mencionaba, alfalfa es el único forraje evaluado con condicionamiento de pH en el suelo ya que su desarrollo óptimo se encuentra entre 6,4 y 6,85 [18] y por debajo de 4,8 su crecimiento es difícil y se reduce significativamente [19] aunque puede tolerar rangos de 7,5 a 7,74 [18] de modo que el pH de 6,14 del suelo donde se realizó el trabajo fue aceptable. Este parámetro es importante ya que la neutralidad facilita la disponibilidad de elementos como el P y el K [29] de modo que con rangos de pH similares se ha detectado niveles de P de 61 mg kg^{-1} [19].

CONCLUSIONES

El periodo de recuperación en *Vicia sativa* L., *Avena sativa* L., *Trifolium repens* L., *Trifolium pratense* L., *Medicago sativa* L., y *Dactylis glomerata* L. influye en la producción de biomasa (verde y seca) y en su calidad nutricional con diferencias significativas en el contenido de proteína, que es alto a los 25 días de rebrote y disminuye gradualmente.

En trébol rojo, avena forrajera y vicia se logró una producción óptima de materia seca de 2,3 ton ha^{-1}, 3,25 ton ha^{-1} y 6,7 ton ha^{-1} a los 40 días respectivamente con un contenido proteico de 24,2%, 11,8% y 22,5% por especie.

En alfalfa la mayor producción de forraje se produjo a los 30, 35 y 40 días sin diferencia significativa entre ellos, no obstante se puede sugerir que el momento óptimo de corte es a los 35 días ya que se relaciona con el mayor porcentaje de PB (25,7%).

Trébol blanco presentó la mayor producción de forraje a los 35 días (0,77 ton ha^{-1}) con buen valor de PB (30,6%) por lo que se recomienda esta fecha de corte para pastoreo.

Azul orchoro presentó la mayor producción de forraje a los 30, 35 y 40 días sin existir diferencias estadísticas (0,7 ton ha^{-1}) pero se recomienda realizar pastoreo a los 30 días ya que en este corte se observó la mayor PB (22,3%)

El contenido de calcio y fósforo en las especies no tuvo variación significativa entre periodos de recuperación, sin embargo, en el suelo su contenido se redujo gradualmente por efecto de su absorción e incorporación en la estructura de la planta, esto mismo se observó con el nitrógeno disponible en el suelo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores manifiestan agradecimientos a la Universidad Pedagógica y Tecnológica por la financiación, al semillero del grupo de investigación en Bioquímica y Nutrición Animal (GIBNA) por el apoyo operativo y al grupo de Investigación Nutrición Agropecuaria (NUTRIFACA) de la Universidad del Cauca con el que se realizó alianza.

REFERENCIAS

[1] AUSDAL, S. Pasture, profit, and power: An environmental history of cattle ranching in Colombia. Geoforum, 40(5), 2009. doi:https://doi.org/10.1016/j.geoforum.2008.09.012

[2] DEAQUIZ-MEJIA, J.E., y ZAMBRANO-VARGAS, S.M. Diagnóstico situacional y ambiental de la cadena láctea del Departamento de Boyacá. In Vestigium Ire, 5(1), 2012, p. 37-46.

[3] CARULLA, J.E. y ORTEGA, E. Sistemas de producción lechera en Colombia: retos y oportunidades. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal, 24(2), 2016, p. 83-87

[4] FONSECA-LÓPEZ, D. y BORRAS-SANDOVAL, L.M. Evaluación del efecto de la papa fresca incluida en un alimento para vacas holstein sobre la producción y calidad de la leche. Ciencia y Agricultura, 11(1), 2014, p. 55-65. doi:https://doi.org/10.19053/01228420.3488

[5] RODRÍGUEZ-MOLANO, C., FONSECA-LÓPEZ, D., NIÑO-MONROY, L.E., SALAMANCA-LÓPEZ, A.E., HOYOS-CONCHA, J.L., y OTERO-RAMÍREZ, I.D. Caracterización nutricional y de producción de biomasa *Sambucus peruviana*, *Sambucus nigra* y *Morus alba* en un banco forrajero. Ciencia en Desarrollo, 10(2), 2019. doi:https://doi.org/10.19053/01217488.v10.n2.2019.9098

[6] HASHEM, A., ABD-ALLAH, E., ALQARAWI, A., MALIK, J., WIRTH, S. and EGAMBERDIEVA, D. Role of calcium in AMF-mediated alleviation of the adverse impacts of cadmium stress in *Bassia indica*. Saudi Journal of Biological Sciences, 26(4), 2019, p. 828 - 838. doi:https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.11.003

[7] BAR-EVEN, A. Daring metabolic designs for enhanced plant carbon fixation alternative carboxylation replacing Rubisco. Plant Science, 273, 2018, p. 71-83. doi:https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.12.007

[8] MORALES-VELASCO, S., VIVAS-QUILA, N.J. y TERAN-GOMEZ, V.F. Ganaderia eco-eficiente y la adaptaciónal cambio climatico. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 14(1), 2016, p. 135-144. doi:http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(14)135-145

[9] BILAL, M., AYUB, M., TARIQ, M., TAHIR, M. and NADEEM, M.A. Dry matter yield and forage quality traits of oat (*Avena sativa* L.) under integrative use of microbial and synthetic source of nitrogen. Journal of Saudi Society of Agricultural Sciences, 16(3), 2017, p. 236-241. doi:https://doi.org/10.1016/j.jssas.2015.08.002

[10] COLOMBIA. CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL (CIAT). Manual para la evaluación agronómica. Red internacional de evaluación de pastos tropicales. Cali (Colombia): 1982, 168 p.

[11] FONSECA-LÓPEZ, D., SAAVEDRA-MONTAÑÉZ, G. y RODRÍGUEZ-MOLANO, C.E. Elaboración de un alimento para ganado bovino a base de zanahoria (*Daucus carota* L.) mediante fermentación en estado sólido como una alternativa ecoeficiente. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas, 12(1), 2018, p. 175-182, 2018. doi:https://doi.org/10.17584/rcch.2018v12i1.7416

[12] HELALIA, A.M. and AL-TAHIR, O.A. The influence of irrigation water salinity and fertilizer management on the yield of Alfalfa (*Medicago sativa* L.). Agricultural water Management, 1, 1996, p. 105-114

[13] ZHOURI, L., KALLIDA, R., SHAIMI, N., BARRE, P., FLORENCE, V., GABOUN, F. and FAKIRI, M. Evaluation of cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.) population for drought survival and behavior. Saudi Journal of Biological Sciences, 26(1), 2019, p. 49-56. doi:https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.002

[14] CORSON, M.S., ROTZ, C.A., SKINNER, R.H. and SANDERSON, M.A. Adaptation and evaluation of the integrated farm system model to simulate temperate multiple-species pastures. Agricultural Systems, 94, 2007, p. 502-508. doi:https://doi.org/10.1016/j.agsy.2007.01.003

[15] MARSHALL, H.A., COLLINS, R.P., VALE, J. and LOWE, M. Improved persistence of red clover (*Trifolium pratense* L.) increases the protein supplied by red clover/grass swards grown over four harvest years. European Journal Agronomy, 89, 2017, p. 38-45. doi.https://doi.org/10.1016/j.eja.2017.06.006

[16] NEGRÓN, M., LÓPEZ, I. and DÖRNER, J. Consequences of intensive grazing by dairy cows of contrasting live weights on volcanic ash topsoil structure and pasture dynamics. Soil & Tillage Research, 189, 2018, p. 88-97. doi:https://doi.org/10.1016/j.still.2018.12.025

[17] EGAN, M., GALVIN, N. and HENNESSY, D. Incorporating white clover (*Trifolium repens* L.) into perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) swards receiving varying levels of nitrogen fertilizer : Effects on milk and herbage production. Journal of Dairy Science, 101(4), 2018, p. 3412-3427. doi. https://doi.org/10.1017/S0021859616000952

[18] AL-KAHTANI, S., TAHA, E. and AL-ABDULSALAM, M. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) seed yield in relation to phosphorus fertilization and honeybee pollination. Saudi Journal Biological Sciences, 24(5), 2017, p. 1051-1055. doi:https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.009

[19] MIELMANN, A., BOTHMA, C., HUGO, A. and HUGO, C.J. A comparative study of the chemical composition of lucerne (*Medicago sativa* L.) and spinach beet (*Beta vulgaris* var . cicla L.). South African Journal of Botany, 108(1), 2017, p. 8-14. doi:https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.09.006

[20] CONTRERAS, J.L., CORDERO, A.G., CURASMA, J., THIMOTHÉE, J.A. y DEL SOLAR, J. Influencia ambiental sobre el valor nutritivo de alfalfa (*Medicago sativa* L.) en los andes Peruanos. Compendio de Ciencias Veterinarias, 9(1), 2019, p. 7-14. doi:https://dx.doi.org/10.18004/compend.cienc.vet.2019.09.01.07-14

[21] HUANG, Y., LI, R., COULTER, A., ZHANG, Z. and NAN, Z. Comparative grain chemical composition, ruminal degradation in vivo, and intestinal digestibility in vitro of *Vicia sativa* L. varieties. Animals, 2(2), 2019. doi:https://doi.org/10.3390/ani9050212

[22] SCHLEGEL, P., WYSS, U., ARRIGO, Y. and HESS, H.D. Mineral concentrations of fresh herbage from mixed grassland as influenced by botanical composition, harvest time and growth stage. Animal Feed Science and Technology, 219, 2016, p. 226-233. doi.https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.06.022

[23] NIEMI, R.M., VEPSALAINEN, M., WALLENIUS, K., SIMPANEN, S., ALAKUKKU, L. and PIETOLA, L. Temporal and soil depth-related variation in soil enzyme activities and in root growth of red clover (*Trifolium pratense*) and timothy (*Phleum pratense*) in the field. Applied Soil Ecology, 30, 2005, p. 113-125. doi:https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2005.02.003

[24] YUAN, P., TANAKA, K., DU, L. and POOVAIAH, B. Calcium signaling in plant autoimmunity : a guard model for AtSR1/CAMTA3-mediated immune response. Molecular Plant, 11(5), 2018, p. 637-639, doi.https://doi.org/10.1016 / j.molp.2018.02.014

[25] EDEL, K.H., MARCHADIER, E., BROWNLEE, C., KUDLA, J. and HETHERINGTON, A.M. The evolution of calcium-based signalling in plants. Current Biology, 27, 2017, p. 6-11. e: doi.http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2017.05.020

[26] ZHU, M., YU, J., TANG, W., FAN, S., BAI, M. and CHEN, M. Role of calcium in regulating anthocyanin accumulation in '*Manicure Finger*' grape berries. Scientia Horticulturae, 256, 2019, p. 1-7. https://doi.org/10.1016 / j.scienta.2019.108585

[27] ZARZA, R., REBUFFO, M., LA, A. and BALZARINI, M. Plant density in red clover (*Trifolium pratense* L.) pastures as an early predictor of forage production. European Journal Agronomy, 101, 2018, p. 193-199. doi:https://doi.org/10.1016/j.eja.2018.10.004

[28] MCKENNA, P., CANNON, N., CONWAY, J. and DOOLEY, J. The use of red clover (*Trifolium pratense*) in soil fertility-building : A Review. Field Crops Research, 221, 2018, p. 38-49. doi:https://doi.org/10.1016/j.fcr.2018.02.006

[29] TIBBETT, M., GIL-MARTÍNEZ, M., FRASER, T., GREEN, L. D., DUDDIGAN, S., OLIVEIRA, V. H., RAULUND-RASMUSSEN, K., SIZMUR, T. and DIAZ, A. Long-term acidification of pH neutral grasslands affects soil biodiversity, fertility and function in a heathland restoration. Catena, 180, 2019, p. 401-415. doi:https://doi.org/10.1016/j.catena.2019.03.013

BIOTECNOLOGÍA
EN EL SECTOR AGROPECUARIO
Y AGROINDUSTRIAL

· ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA ·

Vol. 18 No 2 · Julio - Diciembre 2020 · ISSN - 1692-3561 · ISSN-e 1909-9959 · DOI: http://dx.doi.org/10.18684

Efecto microbiológico de recubrimiento modificado por vía ácida sobre el tomate larga vida*

Microbiological effect of coating modified by acid via on the long tomato life

Efeito microbiológico do revestimento de ácido amplificado na vida de longo tomate

NELSY HOYOS-YELA[1], ROCÍO PÉREZ-IMBACHÍ[2], SANDRA PATRICIA PAZ-PEÑA[3], SILVIO ANDRÉS MOSQUERA-SÁNCHEZ[4]

Historial del Artículo
Recibido para evaluación: 22 de Mayo 2019.
Aprobado para publicación: 1 de Mayo 2020.

* Proyecto de investigación de origen: "Efecto de la aplicación de un recubrimiento de almidón de yuca modificado por vía ácida sobre el tomate larga vida (*Solanum lycopersicum*). Financiación: Universidad del Cauca. Culminado el 22 de febrero de 2017.

1 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo Ciencia y Tecnología de Biomoléculas de Interés Agroindustrial (CYTBIA). Ingeniera Agroindustrial. Popayán, Colombia. https://orcid.org/0000-0002-9854-473X

2 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo Ciencia y Tecnología de Biomoléculas de Interés Agroindustrial (CYTBIA). Ingeniera Agroindustrial. Popayán, Colombia. https://orcid.org/0000-0001-7913-6004

3 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo Ciencia y Tecnología de Biomoléculas de Interés Agroindustrial (CYTBIA). Ingeniera Agroindustrial. Popayán, Colombia. https://orcid.org/0000-0002-2448-608X

4 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo Ciencia y Tecnología de Biomoléculas de Interés Agroindustrial (CYTBIA). M.Sc. Ingeniería. Popayán, Colombia. https://orcid.org/0000-0002-7899-854X

Correspondencia: silvioandres@gmail.com

CC BY NC ND

RESUMEN

Se aplicó un recubrimiento elaborado con almidón de yuca modificado por vía ácida, para evaluar el comportamiento pos-cosecha del tomate bajo condiciones ambientales, determinando su efecto sobre las características estructurales del tomate y su acción microbiológica sobre los hongos Colletotrichum sp y Fusarium Sp. La modificación de almidón nativo de yuca variedad SM 707-17 se realizó por adición de ácido cítrico (15% p/p respecto al almidón en base seca) a una suspensión de almidón sometida a condiciones controladas de temperatura y velocidad de agitación. El efecto se comparó con el de la aplicación de otros elaborados con base en almidón modificado enzimáticamente y almidón nativo, siendo T1: muestra testigo; T2: recubrimiento con almidón modificado enzimáticamente; T3: recubrimiento con almidón modificado con ácido cítrico y T4: recubrimiento con almidón nativo. La aplicación se realizó de forma manual con esponja limpia y estéril; los tomates se colocaron en bandejas rotuladas dejando secar por 24 h a temperatura ambiente, a partir de las cuales se inició la medición de las variables crecimiento microbiano y caracterización microscópica del exocarpo del tomate durante 15 días, aplicando un diseño factorial completamente al azar 4x6, que tuvo en cuenta el tipo de muestras relacionadas e independientes; los datos obtenidos se analizaron mediante el software SPSS versión 19 con el cual se encontró que el factor "Recubrimiento" no influyó sobre las variables de respuesta analizadas, a diferencia del factor "Tiempo" que tuvo efecto decisivo sobre las mismas.

PALABRAS CLAVE:
Solanum lycopersicom,
Almidón de yuca,
Ácido cítrico.

KEYWORDS:
Solanum lycopersicom,
Cassava starch,
Citrus acid.

PALAVRAS CHAVE:
Solanum lycopersicom,
Amido de mandioca,
Ácido cítrico.

SUMMARY

A coating elaborated with modified cassava starch was applied by acid route, to evaluate the post-harvest behavior of the tomato under environmental conditions, determining its effect on the microbiological and structural characteristics. The modification of native starch of cassava variety SM 707-17 was carried out by addition of citric acid (15% w/w with respect to starch on dry basis) to a suspension of starch subjected to controlled conditions of temperature and speed of agitation. The effect was compared with that of the application of others elaborated based on enzymatically modified starch and native starch, being T1: control sample; T2: coating with enzymatically modified starch; T3: coating with starch modified with citric acid and T4: coating with native starch. The application was made manually with clean and sterile sponge; The tomatoes were placed in labeled trays, allowing to dry for 24 h at room temperature, from which the microbial growth and microscopic characterization of the tomato exocarp was measured for 15 days, applying a completely randomized 4x6 factorial design that had consider the type of related and independent samples; the data obtained were analyzed using SPSS software version 19, which found that the "Coating" factor did

Cómo citar este artículo: NESLY HOYOS-YELA, ROCÍO PÉREZ-IMBACHÍ, SANDRA PATRICIA PAZ-PEÑA, SILVIO ANDRÉS MOSQUERA-SÁNCHEZ. Efecto microbiológico de recubrimiento modificado por vía ácida sobre el tomate larga vida. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial,18(2),2020.145-155, DOI:http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(18)145-155

not influence the response variables analyzed, unlike the "Time" factor that had a decisive effect on them.

RESUMO

Um revestimento elaborado com fécula de mandioca modificada foi aplicado por via ácida, para avaliar o comportamento pós-colheita do tomate sob condições ambientais, determinando seu efeito sobre as características microbiológicas e estruturais. A modificação do amido nativo da variedade de mandioca SM 707-17 foi realizada pela adição de ácido cítrico (15% p/p em relação ao amido em base seca) a uma suspensão de amido submetida a condições controladas de temperatura e velocidade de agitação. O efeito foi comparado com o da aplicação de outros elaborados com base em amido enzimaticamente modificado e amido nativo, sendo T1: amostra controle; T2: revestimento com amido enzimaticamente modificado; T3: revestimento com amido modificado com ácido cítrico e T4: revestimento com amido nativo. A aplicação foi feita manualmente com esponja limpa e estéril; Tomates foram colocados em bandejas rotuladas deixado a secar durante 24 h à temperatura ambiente, a partir do qual as variáveis de medição do crescimento microbiano e microscópica tomate caracterização exocarp começou durante 15 dias, usando um desenho factorial 4x6 completamente casualizado que tinha considerar o tipo de amostras relacionadas e independentes; os dados obtidos foram analisados no software SPSS versão 19, que constatou que o fator "Coating" não influenciou as variáveis de resposta analisadas, diferentemente do fator "Time" que teve efeito decisivo sobre elas.

INTRODUCCIÓN

El tomate es la hortaliza de mayor consumo en Colombia y abastece el 59% de la población [1], su vida útil está entre 7 y 10 días en condiciones de almacenamiento de 10-12,5°C y 90-95% de Humedad Relativa, aunque tiende a deshidratarse por ser climatérico. La maduración está acompañada por cambios en el sabor, color, aroma, textura y pérdida de firmeza debido a cambios físicos y químicos asociados con la degradación de la pared celular y la solubilización de las pectinas por las enzimas pectinesterasa (PE), poligalacturonasa (PG) y pectatoliasa (PL) [2]. Debido a su manipulación constante e inapropiada desde el momento de cosecha por el empleo de canastillas plásticas para recolección y transporte, pasando por la selección, clasificación y almacenamiento ocurre contaminación del producto (materiales, cantidad, sobre amontonamiento, etc.) y la aparición de magulladuras, abrasiones, impactos, cortaduras, ataque de insectos que favorecen la aparición de enfermedades causadas por hongos y bacterias tales como *Alternaria*, *Botrytis*, *Diploidia*, *Monilia*, *Penicillium*, *Phomopsis*, *Rhizophus*, *Erwinia y Pseudomonas*. Debido a los innumerables elementos que ocasionan pérdidas de calidad, se están generando y usando técnicas y tecnologías pos-cosecha para retrasar la senescencia y mantener la calidad del producto durante un mayor tiempo, como por ejemplo la aplicación de recubrimientos.

Teniendo en cuenta el creciente interés por consumir productos naturales más sanos, seguros y respetuosos con el medio ambiente, se están desarrollando recubrimientos naturales que crean una barrera semipermeable a gases y al vapor de agua al crear una atmósfera modificada que reduce la velocidad de respiración y deshidratación, además de permitir la incorporación de aditivos alimentarios que retardan la aparición de desórdenes fisiológicos [3]. Los recubrimientos deben ser transparentes, estar exentos de sabores, olores extraños, sustancias nocivas para la salud, estables a distintas condiciones de almacenamiento, ser extensibles para que el alimento quede recubierto de forma homogénea y ofrecer resistencia a daños mecánicos leves [4].

El almidón es un componente alimentario utilizado en el mejoramiento de propiedades funcionales y como solución de recubrimiento a partir de materiales como maíz (*Zea mays*) y yuca (*Manihot esculenta* Crantz), entre otros. Las limitaciones del almidón nativo disminuyen su funcionalidad por el grado de ramificación, la relación amilosa-amilopectina, distribución del peso molecular, condiciones de pH, temperatura y presión aplicadas, que afectan las propiedades mecánicas, térmicas, estructurales y de barrera, como la disminución de la resistencia a esfuerzos de corte, descomposición térmica, alto nivel de retrogradación y sinéresis [5]. Por esta razón, se realiza la modificación de sus propiedades por vía química, física o biológica como reticulado (cross-linking) con fosfatos o adipatos, pregelatinización, dextrinación o hidrólisis ácida [6].

Los ácidos orgánicos son utilizados como reguladores de acidez, agentes antimicrobianos o modificadores químicos de propiedades funcionales del almidón; el ácido cítrico actúa como promotor de enlaces cruzados (reticulación) entre las cadenas y mejora las

propiedades mecánicas [7]. Se usó el ácido en la evaluación de un recubrimiento comestible con base en agar y ácido cítrico aplicado en papa fresca, logrando mantener las características sensoriales y de calidad del tubérculo, además de reducir la pérdida de agua con respecto a la muestra testigo después de 25 días de almacenamiento [8].

Se evaluó el efecto de la adición de ácido cítrico en las propiedades de tensión y de barrera en películas elaboradas con base en almidón termoplástico de yuca y su posible acción microbiológica sobre dos hongos causantes de daños en el tomate.

MÉTODO

El proyecto se desarrolló en las instalaciones de la Planta Piloto para el procesamiento de vegetales, Laboratorios de Biotecnología, Reología y Empaques de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad del Cauca y en la Unidad de Microscopía Electrónica ubicada en el Museo de Historia Natural, en la ciudad de Popayán, Colombia, a una altitud de 1.738 msnm, temperatura media de 19°C y Humedad Relativa (H.R) del 77,75%.

Materiales

Se usaron tomates larga vida variedad Indaba en grado 4 de madurez, diámetro ecuatorial promedio de 8 cm y axial de 6 cm, producidos bajo cubierta y cultivados en la finca "El Porvenir" de la vereda Cinco Días, Municipio de Timbío (Cauca), con altura promedio de 1.850 msnm, temperatura media entre 16 y 23°C. Se usó almidón nativo de yuca variedad SM 707-17 proveniente de la rallandería "La Agustina" ubicada en Mondomo (Cauca) y almidón de yuca SM 707-17 modificado enzimáticamente con alpha - amylasa *Bacillus amyloliquefaciens* Ban 240L (Sigma Aldrich), con grado de modificación del 10% de Equivalente de Dextrosa (E.D.) [9].

Se requirió ácido cítrico monohidrato grado analítico con pureza del 99,5%, marca Carlo Herba, para realizar la modificación del almidón de yuca por vía ácida; aceite esencial de limoncillo (*Cymbopogon citratus*) de grado alimentario, por sus propiedades antimicrobianas y antibacteriales; glicerina como plastificante no volátil de bajo peso molecular que mejora la flexibilidad, manejabilidad y habilidad de extensión del recubrimiento [10]; Tween 80, aditivo alimentario con acción surfactante para facilitar o aumentar la emulsividad, dispersión y adherencia del recubrimiento [11].

MÉTODO

Modificación del almidón con ácido cítrico

El almidón en suspensión de 100 g al 40% p/p en base seca se hidrató por 1 hora; se midió pH inicial (5,5) y se llevó a agitación de 175 rpm con temperatura de 52°C en el Shaker Thermo Scientific; cuando la suspensión alcanzó los 52°C, se adicionó ácido cítrico (15%), nuevamente se midió el pH y se colocó en el shaker a las mismas condiciones durante 14 h. Al finalizar este tiempo se ajustó el pH 5,5 por neutralización con NaOH 3N y 1N.

Se transfirieron las suspensiones a tubos falcon para centrifugar a 4500 rpm por 30 min (establecido por preliminares) y obtener el sobrenadante para medir ED en el espectrofotómetro UV marca SHIMADZU 1800 [5], procedimiento seguido para el almidón con 25% p/p en base seca y las concentraciones de ácido cítrico, evaluando por separado las concentraciones de NaOH.

Acondicionamiento del fruto

Se seleccionaron tomates larga vida en estado 4 de madurez, redondos, sanos e inocuos, firmes y jugosos, enteros, con apariencia lisa, sin grietas o quemaduras de sol, sin daños mecánicos o producidos por insectos [12], lavados por inmersión en agua potable y desinfección con solución de hipoclorito de sodio a 5 ppm durante 15 minutos y secados con toalla absorbente [4].

Modificación del almidón

Se obtuvo una suspensión de 100 g usando 25% p/p de almidón en base seca y ácido cítrico grado analítico al 15% p/p en base seca [13] con ayuda del Shaker Thermo Scientific a 52°C, 175 rpm con tiempo de modificación de 14 horas , luego de 14 horas se centrifugó a 4500 rpm por 30 min, se eliminó el sobrenadante y se secó el almidón en el horno, iniciando con una temperatura de 20°C, con aumentos progresivos de 5°C hasta llegar a 45°C (establecido en pruebas preliminares) y humedad de 12% [14].

Preparación y aplicación del recubrimiento

Se realizó una pre-mezcla de los componentes del recubrimiento (agua, glicerol, almidón de yuca, acei-

te esencial, tween 80) a 300 rpm y 40°C, se calentó desde 40 hasta 75°C por 10 min hasta la gelatinización del almidón durante 15 min [15].

Crecimiento microbiano

Se identificaron los especies de hongos que atacan al tomate, realizando 5 aislamientos a partir del fruto contaminado naturalmente, proporcionándole el medio de cultivo. Se cortaron 4 trozos de tejidos de tomate enfermo y sano, de 1 cm^2 de área y de 2 mm de grosor; a cada muestra se le realizaron 4 enjuagues por 1 minuto cada uno, el primero con hipoclorito al 1%, el segundo con etanol al 75%, el tercero y el cuarto con agua destilada estéril. Se secaron en papel absorbente estéril, se sembraron en agar PDA y se incubaron a 25°C por dos días; cuando se observó el crecimiento de los hongos se aislaron 4 muestras de cada caja de Petri en PDA, cortando pequeñas muestras del cultivo de aproximadamente 0,25 mm^2, que se re sembraron en PDA, iterativamente hasta obtener un cultivo puro [16].

Para medir la estructura de la epidermis del tomate recubierto, se utilizó Microscopio Óptico de Alta Resolución (MOAR) Marca Nikon modelo Microphot y un Microscopio Electrónico de Transmisión (MET) Marca JEOL, modelo JEM 1200EX. Las muestras de 5 mm de longitud y 1 mm de grosor se fijaron en glutaraldehído al 6% y paraformaldehído al 4% en Buffer de Fosfato Salino (PBS) [17], con modificaciones.

Se utilizó un diseño factorial 4x6 completamente al azar, donde los factores fueron "Tipo de recubrimiento" con 4 niveles (tratamientos T1 a T4) y "Tiempo" con 6 niveles (Días 0, 3, 6, 9, 12 y 15) denominados PI, D3, D6, D9, D12, D15, respectivamente.

T1= Muestra Testigo (tomate sin recubrir)

T2= Recubrimiento con almidón de yuca modificado enzimáticamente

T3= Recubrimiento con almidón de yuca modificado con ácido cítrico

T4= Recubrimiento con almidón de yuca nativo.

Se realizaron tres réplicas con cuatro repeticiones por cada tratamiento, tomando 30 unidades experimentales por réplica. Los resultados obtenidos fueron evaluados por pruebas paramétricas (ANOVA), no paramétricas y paramétricas con medidas repetidas; con una probabilidad de 95% empleando el software SPSS versión 19.

RESULTADOS

Después del aislamiento, se hizo seguimiento al crecimiento del hongo, observando sus esporas y características específicas macro morfológicas como color, superficie, borde, consistencia, aspecto y desarrollo; también, se caracterizaron los hongos de forma micro morfológica, teniendo en cuenta estructuras reproductivas, presencia de hifas y la formación de esporas, conidias y la forma del micelio que permiten la identificación del hongo que inicia la degradación del fruto.

Características macro morfológicas y descripción microscópica de hongos que inician el deterioro y degradación en el fruto de tomate

Durante este periodo se evaluó la sintomatología por área afectada en los tomates (Cuadro 1) evidenciando que *Colletotrichum* sp. causó mayor daño que *Fusarium* sp., sobre los tejidos del tomate deteriorando el exocarpo, luego en el mesocarpo y con pudrición al final (Día 15) en el endocarpo (Figura 1), apareciendo pequeñas manchas húmedas en el (Día 6), hundidas y de forma circular que se asemejan a las depresiones dejadas por objetos redondos causados por los hongos [16].

En esas colonias crecientes de *Colletotrichum* sp se denota que parte central se ennegrece y endurece ligeramente debido a los acérvulos negros que se desarrollan por debajo de la epidermis del fruto. Y para *Fusarium* sp.,con un micelio generalmente aéreo, abundante, algodonoso y con coloración variable de blanco a rosado durazno [16], con conidióforos variables, escasos y simples o corpulentos cortos con ramificaciones irregulares, conidias hialinas, macroconidias ovoides (Figura 2). Las manchas al pasar el tiempo se hacen numerosas y coalescentes, producen primero el ablandamiento acuoso del fruto y por ultimo su pudrición, que es acelerada por otros microorganismos.

Inhibición de los hongos

Durante los dos primeros días el tratamiento T2 reveló mayor consumo de O_2, mientras que los tratamientos T1 y T4 mantuvieron mayores valores en la

velocidad de respiración a partir del día 3 respecto a los demás tratamientos a causa del incremento en la actividad metabólica [18], este incremento en la variable de respuesta concuerda con los resultados obtenidos por [19], que encontraron incrementos notorios en la tasa de respiración en tomates sin recubrir lo que atribuyen a la difusión libre de gases como O_2 y CO_2; el incremento de la tasa de respiración conduce a la maduración propia del fruto.

Es importante mencionar que al final del estudio, los frutos de todos los tratamientos presentaron diferentes niveles de deterioro, en donde una de las razones por las cuales los recubrimientos probablemente no inhibieron completamente el crecimiento de microorganismos son porque al parecer los hongos que inician el deterioro permanecen en el fruto desde etapas tempranas en el cultivo y que solo se desarrollan por cambios fisiológicos dados por la etapa de maduración; y puede deberse a la escasa adherencia de los recubrimientos sobre los frutos no permitió formar una capa uniforme que restringiera el desarrollo de especies fúngicas como ha sido reportado por [20].

Durante de estudio con el paso del tiempo, el ablandamiento de los frutos, las manchas se extienden hasta alcanzar un porcentaje de infección con el T1 entre 24,36 y 43,43% ya que los tomates no tenían recubrimiento por lo tanto los poros de la epidermis se hacen más suceptibles al ataque por microorganismos [21], en este caso causados por *Colletotrichum* sp., y *Fusarium* sp., con el tratamiento T2 el entre 14,16 y 33,23% de área infectada, presentando menor inhibición de microorganismos, dado que su maduración fue prematura respecto a los demás, lo que se pudo notar de manera cuantitativa en el consumo de O_2 y liberación de CO_2 y de manera cualitativa en la acelerada aparición de hongos, pues en el día 6 ya se habían desarrollado en algunos frutos (Figura 3); a partir de este momento, el hongo evolucionó

Cuadro 1. Resumen de datos de patogenicidad de *Colletotrichum* sp. y *Fusarium* sp., por cada tratamiento utilizado.

Tratamiento	Tiempo de evaluación	Área infectada (cm^2)			Área infectada (%)		
		Max	Med	Min	Max	Med	Min
T1	PI	0	0	0	0	0	0
	D3	12,24	4,896	2,448	24,36	9,75	4,87
	D6	15,02	6,008	3,004	29,90	11,96	5,98
	D9	19,54	7,816	3,908	38,89	15,56	7,78
	D12	20,05	8,02	4,01	39,91	15,96	7,98
	D15	21,82	8,728	4,364	43,43	17,37	8,69
T2	PI	0	0	0	0	0	0
	D3	0	0	0	0	0	0
	D6	7,11	2,85	1,42	14,16	5,66	2,83
	D9	14,41	5,77	2,88	28,69	11,48	5,74
	D12	14,92	5,97	2,98	29,70	11,88	5,94
	D15	16,69	6,68	3,34	33,23	13,29	6,65
T3	PI	0	0	0	0	0	0
	D3	0	0	0	0	0	0
	D6	5,01	2,00	1,00	9,97	3,99	1,99
	D9	12,31	4,92	2,46	24,50	9,80	4,90
	D12	12,82	5,13	2,56	25,51	10,20	5,10
	D15	14,59	5,83	2,92	29,04	11,61	5,81
T4	PI	0	0	0	0	0	0
	D3	0	0	0	0	0	0
	D6	5,97	2,39	1,19	11,89	4,76	2,38
	D9	13,27	5,31	2,65	26,42	10,57	5,28
	D12	13,78	5,51	2,76	27,44	10,97	5,49
	D15	15,55	6,22	3,11	30,96	12,38	6,19

Figura 1. Características macromorfológicas (anverso), microfotografía y aspecto del *Colletotrichum* sp en el fruto.

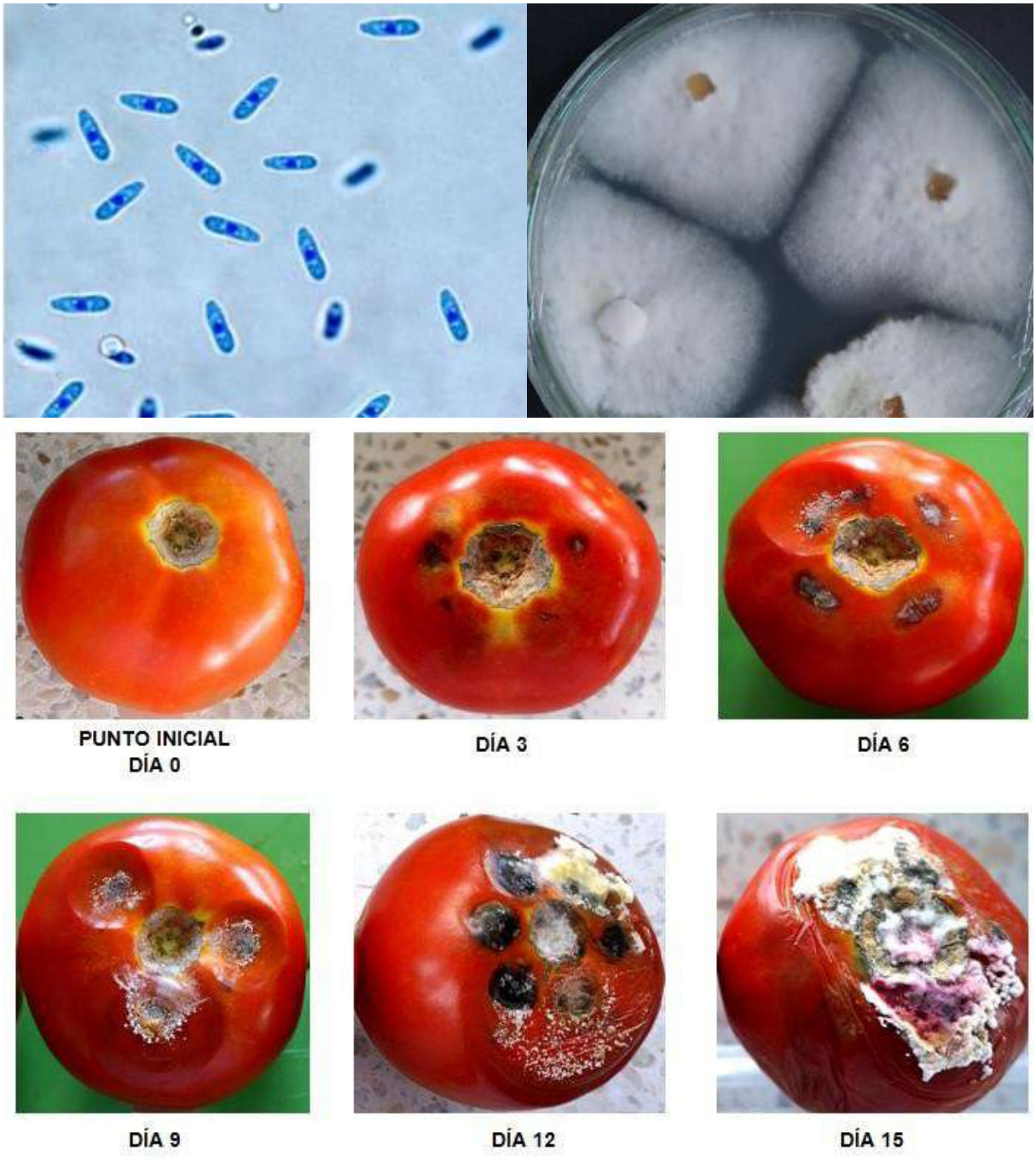
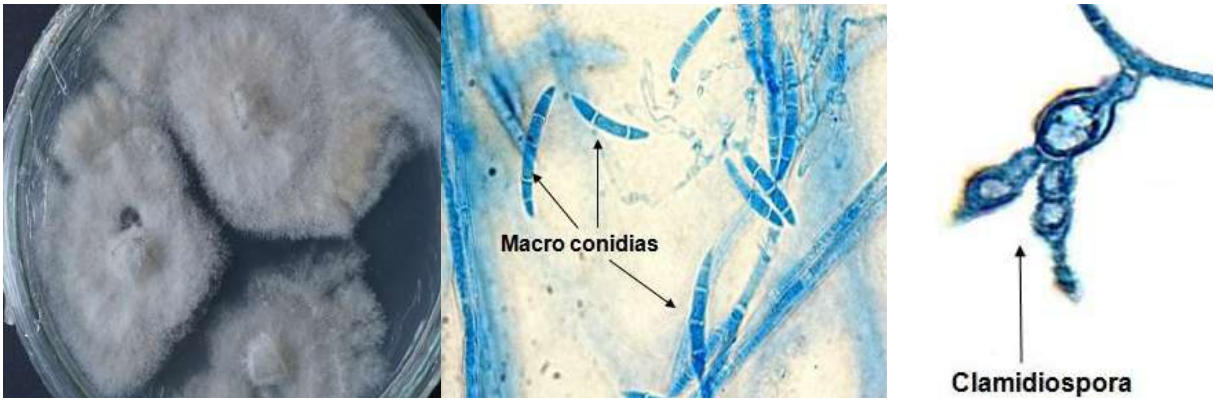


Figura 2. Características macromorfológicas de *Fusarium Sp.* (anverso) y Microfotografía.



hasta desintegrarse en el fruto causando olores desagradables y exudación de líquidos, mientras que los frutos tratados con ácido cítrico fueron atacados tres días después que los otros tratamientos con un porcentaje de área afectada entre 9,97 y 29,04%, puede deberse al potencial inhibitorio del ácido cítrico al degradar en enzimas celulolíticas y pectinolíticas de los hongos [22, 23].

Con el tratamiento el T4 se evidenció un comportamiento similar al de T3, con áreas afectadas entre 4,76 y 12,38%.

Microscopía Óptica de Alta Resolución (MOAR)

La muestra testigo y la recubierta con almidón nativo presentaron cutícula delgada, de color azul agua marina intenso, células epidérmicas achatadas y parénquima con grosor mayor que el de las células epidérmicas, frente a otros cortes de exocarpo a los cuales se les aplicó recubrimiento con almidón modificado enzimáticamente y con ácido cítrico, en los cuales se generó un ensanchamiento de la cutícula del exocarpo [23], y de la capa de colénquima, debido a que la cutícula no es impermeable al presentar porosidades que facilitan el ingreso de compuestos polares y apolares, lo que permite inferir que pequeñas partes acuosas del recubrimiento penetraron la cutícula provocando el ensanchamiento de la células epidérmicas y colenquimatosas [24]. Los tomates a los cuales se les aplicó recubrimiento de almidón modificado con ácido cítrico, presentaron una apariencia con aumento en el tamaño de las células del exocarpo en forma circular frente a las demás muestras (Figura 4).

Figura 3. Observaciones del día 6: a) Testigo y Tratamiento T2, b) Recubrimiento con almidón modificado con ácido cítrico y Recubrimiento con almidón nativo.



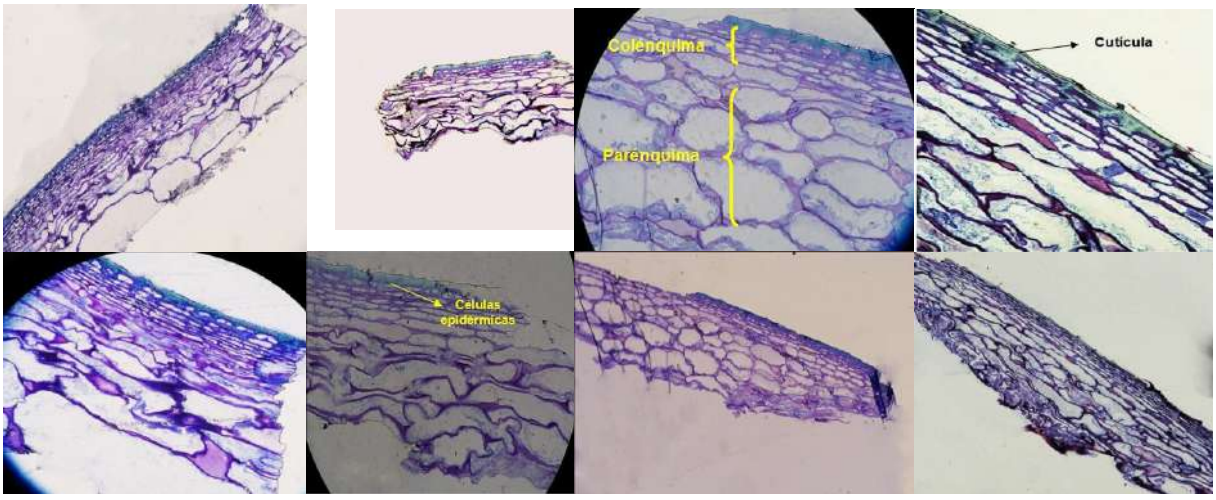
a) Testigo y Tratamiento T2



b) Recubrimiento con almidón modificado con ácido cítrico y recubrimiento con almidón nativo

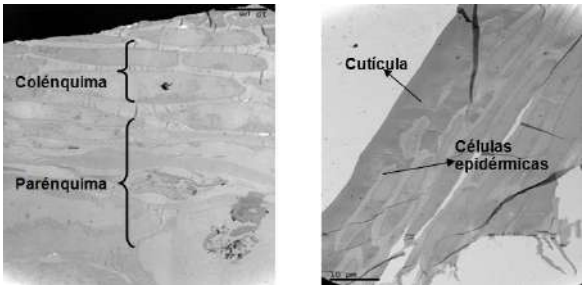
Debido a la falta de estudios que relacionen la introducción de recubrimientos (de almidón de yuca) en células epidérmicas de tomate, se intuye que la modificación (enzimática o por vía ácida), produce una disminución en la viscosidad del almidón, lo que hace más fácil la penetración del recubrimiento hacia el interior de las células epidérmicas [21]. Se encontró una diferencia entre las imágenes del exocarpo de los tratamientos T2 y T3; en este último, la capa de colénquima presentó mayor tamaño con células redondeadas (respecto a T2), lo que significa que a través del mesocarpo se dio una transmisión de componentes presentes en el recubrimiento.

Figura 4. Imágenes del exocarpo del tomate con diversos recubrimientos.

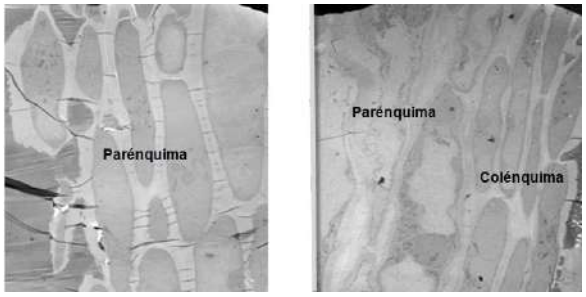


Exocampo y Exocarpo de tomate (T1) | Exocarpo (T2) | Exocarpo (T3) | Exocarpo (T4)

Figura 5. MET del Exocarpo de tomate.



Muestra testigo y con recubrimiento de almidón modificado



Con recubrimiento de almidón modificado con ácido cítrico y con almidón nativo

Microscopía Electrónica de Transmisión (MET)

Se obtuvieron imágenes en las que se pudo apreciar la sección de la cutícula y las células epidémicas, corroborando lo observado en las imágenes de MOAR (Figura 5).

CONCLUSIONES

De forma cualitativa se estableció que los frutos del tratamiento T3 presentaron retraso de 3 días en la maduración y en el ataque por hongos, por lo que se concluye que el ácido cítrico se puede añadir como agente conservante en recubrimientos y no como modificador de almidón para uso en los mismos, dado que se necesita una enorme cantidad para lograr mayor viscosidad.

Con la Microscopía Óptica de Alta Resolución (MOAR) y Microscopía Electrónica de Transmisión (MET), se observaron las diferencias en las células epidérmicas del exocarpo de tomate, siendo el recubrimiento con almidón modificado con ácido cítrico el que produjo mayor ensanchamiento de las células epidérmicas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a la Universidad del Cauca por el uso de instalaciones físicas y por el recurso humano vinculado al proyecto.

REFERENCIAS

[1] ASOCIACIÓN HORTOFRUTÍCOLA DE COLOMBIA (ASOHOFRUCOL). Balance y perspectivas del sector hortofrutícola. Frutas & Hortalizas, 33(12), 2014, p. 11-17.

[2] SAN MARTÍN, C., ORDAZ, V., SÁNCHEZ, P., BERYL, M. y BORGES, L. Calidad de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) producido en hidroponia con diferentes granulometrías de tezontle. Agrociencia, 46(3), p. 243–254.

[3] DUSSAN, S., TORRES, C. y REYES, P. Efecto del recubrimiento comestible sobre los atributos físico-químicos de mango *Tommy atkins* mínimamente procesado y refrigerado. Acta agronómica, 63(3), 2014, p. 1-18. doi:https://doi.org/10.15446/acag.v63n3.40973.

[4] BARCO, P., BURBANO, A.C., MOSQUERA, S.A., VILLADA, H.S. y NAVIA, D.P. Efecto del recubrimiento a base de almidón de yuca modificado sobre la maduración del tomate. Revista Lasallista de Investigación, 8(2), 2011, p. 96–103.

[5] BONILLA, J.R., HOYOS, J.L. y VILLADA, H.S. Modificación enzimática de almidón de yuca *(Manihot esculenta* Crantz*)* para el desarrollo de películas flexibles. Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial, 12(1), 2014, p. 134-143.

[6] GUTIÉRREZ, T., PÉREZ, E., GUZMÁN, R. and FAMÁ, L. Physicochemical and functional properties of native and modified by crosslinking, dark-cush-cush yam (*Dioscorea Trifida*) and cassava (*Manihot Esculenta*) starch. Journal of Polymer and Biopolymer Physics Chemistry, *2*(1), 2014, p. 1–5. doi: https://- 10.12691/jpbpc-2-1-1

[7] GIOPATO, F. Obtenção e caracterização de amido de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) modificado com ácido tartárico [Tesis Mestrado em Tecnologia de Alimentos]. Paraná (Brasil): Universidade Tecnológica Federal do Paraná 2015.

[8] MERCADO, J., MADERA, T. y YOCUPICIO, J. Evaluación de un recubrimiento comestible a base de agar y ácido cítrico. Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, 429, 2015, p. 33–39.

[9] ORDOÑEZ, D., ZÚÑIGA, D., HOYOS, J.L., MOSQUERA, S.A. y MOSQUERA, L.P. Efecto de recubrimiento de almidón de yuca modificado y aceite de tomillo aplicado al pimiento (*Capsicum annuum*). Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 5(5), 2014, p. 795–805.

[10] SÁNCHEZ, D., CONTRERAS, J., NEVÁREZ, G. y AGUILAR, C. Caracterización de películas comestibles a base de extractos pécticos y aceite esencial de limón Mexicano. C y T A , Journal of Food, 13, 2015, p. 16–25. doi:https://doi.org/10.1080/19476337.2014.904929

[11] RIOJAS, H., GORTÁRES, P., MONDACA, I. y BALDERAS, J. Aplicación de Tween 80 y D – Limoneno en la biorremediación de suelo contaminado por hidrocarburos. Ide@s CONCYTEG, 6(71), 2011, p. 571–584.

[12] INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN (ICONTEC). NTC 1103-1 Industrias Alimentarias. Tomate de Mesa. Bogotá (Colombia): 2001.

[13] FALADE, K. and AYETIGBO, O. Effects of annealing, acid hydrolysis and citric acid modifications on physical and functional properties of starches from four yam (*Dioscorea spp*.) cultivars. Food Hydrocolloids, 43, 2015, p. 529–539. doi.https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.07.008

[14] ALVES, T., KLOSOSKI, S. e MONTANHINI, M. Produção e caracterização de amidos de mandioca modificados. Revista Agropecuária Técnica, 36, 2015, p. 58–64.

[15] PAZ, S.P, MOSQUERA S.A. y VILLADA, H.S. Evaluación de la permeabilidad de un recubrimiento elaborado a partir de almidón de yuca nativo y modificado. Vitae, 23(1), 2016, p. 222–225. doi:https://doi.org/10.31910/rudca.v22.n2.2019.1388

[16] SANTACRUZ, C. Caracterización morfológica, patogénica y molecular de especies de *colletotrichum spp*. causantes de la antracnosis del fruto de ají y pimentón *capsicum spp*. en el Valle del Cauca [Tesis Magíster en Ciencias Agrarias]. Palmira (Colombia): Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2013.

[17] PLANA, D., ÁLVAREZ, M., DUEÑAS, F., LARA, R., MOYA, C., FLORIDO, M., y RODRÍGUEZ, J. Caracterización de la mancha solar en frutos de tomate (*Solanum lycopersicum*) cosechados en Cuba. Cultivos Tropicales, 32(3), 2011, p. 36–41.

[18] HERNÁNDEZ, J. Caracterización físico-química y microbiológica del tomate margariteño (*Licopersicum esculentum* var. España) y evaluación de la efectividad de tratamientos de pre-envasado para el incremento de su vida comercial a temperatura ambiente (Tesis Doctoral). Córdoba (España): Universidad de Córdoba, 2013.

[19] JIMÉNEZ, E. y DUQUE, J. Efecto de la inclusión de propóleo en el recubrimeinto de almidón de yuca modificado sobre la bacteria *Erwinia carotovora* causante de la pudrición blanda del tomate de mesa (*Solanum Lycopersicum*) (Tesis Ingeniería Agroindustrial). Popayán (Colombia): Universidad del Cauca, 2016.

[20] NAYAK, S. L., SETHI, S., SHARMA, R. R. & PRAJAPATI, U. (2019). Active Edible Coatings for Fresh Fruits and Vegetables. In Polymers for Agri-Food Applications. Berna (Suiza): Springer Cham, 2019, p. 417-432.

[21] MINUTO, A., GILARDI, G., GULLINO, M.L. and GARIBALDI, A. Increasing severity of attacks of *Colletotrichum coccodes* on grafted tomatoes. Acta horticulturae, 789, p. 101-106. doi:https://doi.org.10.17660/ActaHortic.2008.789.12

[22] ZAHID, N., MAQBOOL, M., ALI, A., SIDDIQUI, Y. and BHATTI, Q.A. Inhibition in production of cellulolytic and pectinolytic enzymes of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from dragon fruit plants in response to submicron chitosan dispersions. Scientia horticulturae, 243, 2019, p. 314-319. doi:https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.08.011

[23] GRANDE TOVAR, C.D., DELGADO-OSPINA, J., NAVIA-PORRAS, D.P., PERALTA-RUIZ, Y., CORDERO, A.P., CASTRO, J.I. and CHAVES-LÓPEZ, C. *Colletotrichum Gloesporioides* inhibition in situ by chitosan-ruta *graveolens* essential oil coatings: effect on microbiological, physicochemical, and organoleptic properties of guava (*Psidium guajava* L.) during room temperature storage. Biomolecules, 2019, 9(9), p. 399. Doi:https://doi.org/10.3390/biom9090399.

[24] BLACK-SOLIS, J., VENTURA-AGUILAR, R.I., CORREA-PACHECO, Z., CORONA-RANGEL, M.L., and BAUTISTA-BAÑOS, S. Preharvest use of biodegradable polyester nets added with cinnamon essential oil and the effect on the storage life of tomatoes and the development of *Alternaria alternata*. Scientia Horticulturae, 245, 2019, p. 65-73. doi: https://doi.org.co/10.1016/j.scienta.2018.10.004

BIOTECNOLOGÍA EN EL SECTOR AGROPECUARIO Y AGROINDUSTRIAL

· ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA ·

Vol. 18 No 2 · Julio - Diciembre 2020 · ISSN - 1692-3561 · ISSN-e 1909-9959 · DOI: http://dx.doi.org/10.18684

Efecto del suministro *in vivo* de *Lactobacillus casei* en la alimentación de *Cavia porcellus**

Efeito do suprimento *in vivo* de *Lactobacillus casei* na alimentação de *Cavia porcellus*

Effect of the *in vivo* supply of *Lactobacillus casei* in the feeding of *Cavia porcellus*

HENRY JURADO-GÁMEZ[1], EDWARD ZAMBRANO-MORA[2], CARLOS CHÁVEZ- VELÁSQUEZ[2]

Historial del Artículo

Recibido para evaluación: 21 de Junio 2019.

Aprobado para publicación: 4 de Mayo 2020.

* Proyecto de Investigación de origen: "Determinación *in vivo* del efecto probiótico de *Lactobacillus casei* microencapsulado mediante la técnica de spray drying, sobre morfología intestinal, respuesta inmunológica, parámetros bioquímicos y productivos del cuy". Financiación: Particular. Culminación: 2019.

1 Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Pecuarias, Departamento de Producción y Procesamiento Animal, Programa de Zootecnia, Grupo de Investigación PROBIOTEC-FORAPIS, Grupo de Investigación en Procesos Biotecnológicos Aplicados a la Producción Animal – Forrales y Apicultura. Ph.D en Ingeniería con Énfasis en Ingeniería de Alimentos. Pasto, Colombia. https://orcid.org/0000-0003-2118-7997

2 Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Pecuarias, Departamento de Salud Animal, Programa de Medicina Veterinaria, Grupo de Investigación PROBIOTEC-FORAPIS. M,Sc. Ciencias Agrarias. Pasto, Nariño. https://orcid.org/0000-0002-8443-2243 y https://orcid.org/0000-0002-5815-4788.

Correspondencia: henryjugam@gmail.com

Cómo citar este artículo: HENRY JURADO-GÁMEZ, EDWARD ZAMBRANO-MORA, CARLOS CHÁVEZ- VELÁSQUEZ. Efecto del suministro in vivo de Lactobacillus casei en la alimentación de Cavia porcellus. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial,18(2),2020.156-165, DOI:http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(18)156-165

RESUMEN

El manejo sanitario de los sistemas de producción se realiza con la adición de antibióticos (APC) en el alimento; sin embargo, estas prácticas han incrementado los problemas de resistencia por parte de las bacterias patógenas. A partir de esto se evaluó el efecto del suministro de L. casei en los parámetros productivos y región gastrointestinal de esta especie. La investigación se realizó en las instalaciones y laboratorios de la Universidad de Nariño y se determinaron parámetros zootécnicos, cuadro hemático, química sanguínea y análisis coprológico. De igual manera, se realizó histología e inmunohistóquimica del intestino delgado de los animales. Se encontró que el suministro de la bacteria mostró parámetros productivos similares a los obtenidos con los tratamientos testigos. Los resultados para química sanguínea y orina presentaron variaciones en cuanto a los datos de referencia, sin embargo, se debe tener en cuenta que los animales utilizados para la evaluación presentan diferencia en cuanto al manejo, dado que la mayoría de reportes se tienen en animales de laboratorio y pocos en sistemas de producción. Además, se observó disminución en la presencia de lesiones gastrointestinales de los animales con suministro de L. casei. Los resultados demostraron la viabilidad del suministro de L. casei en cuyes.

PALABRAS CLAVE:
Probiotico, Inocuidad alimentaria, Salud humana, Salud Animal.

ABSTRACT

The sanitary management of the production systems is carried out with the addition of antibiotics (GPA) in the food. However, these practices have increased resistance problems on the part of pathogenic bacteria. From this, the effect of the supply of L. casei on the productive parameters and gastrointestinal region of this species was evaluated. The research was carried out in the facilities and laboratories of the University of Nariño. Zootechnical parameters, blood count, blood chemistry and coprological analysis were determined. Similarly, histology and immune-histochemistry of the small intestine of the animals was performed. It was found that the bacterial supply showed productive parameters similar to those obtained with the control treatments. The results for blood and urine chemistry showed variations in reference data, however, it should be taken into account that the animals used for the evaluation have a difference in handling, given that the majority of reports are in animals of laboratory and few in production systems. In addition, there was a decrease in the presence of gastrointestinal lesions of animals with a supply of L. casei. The results demonstrated the viability of the supply of L. casei in guinea pigs.

KEYWORDS:
Probiotic, Food safety, Human health, Animal health.

RESUMO

O gerenciamento sanitário dos sistemas de produção é realizado com a adição de antibióticos (APC) nos alimentos; No entanto, essas práticas aumentaram os problemas de resistência por parte das bactérias patogênicas. A partir disso, foi avaliado o efeito do suprimento de L. casei nos parâmetros produtivos e na região gastrointestinal dessa espécie. A pesquisa foi realizada nas instalações e laboratórios da Universidade de Nariño. Parâmetros zootécnicos, hemograma, química sanguínea e análise coprológica foram determinados. Da mesma forma, foi realizada histologia e imuno-histoquímica do intestino delgado dos ani-

PALAVRAS CHAVE:
Probiótico, Segurança Alimentar, Saúde Humana, Saúde Animal.

mais. Verificou-se que o suprimento bacteriano apresentou parâmetros produtivos semelhantes aos obtidos com os tratamentos controle. Os resultados para a química do sangue e da urina mostraram variações nos dados de referência, no entanto, deve-se levar em consideração que os animais utilizados para a avaliação apresentam diferenças no manuseio, uma vez que a maioria dos relatos é em animais de laboratório e poucos em sistemas de produção. Além disso, houve uma diminuição na presença de lesões gastrointestinais de animais com um suprimento de L. casei. Os resultados demonstraram a viabilidade do suprimento de L. casei em porquinhos-da-índia.

INTRODUCCIÓN

El uso indiscriminado de antibióticos promotores de crecimiento (APC) en los sistemas de producción animal ha incrementado la resistencia de bacterias patógenas intestinales, lo que provoca problemas sanitarios [1]. Las bacterias, como todos los seres vivos, tienen la capacidad de adaptarse a los cambios en el ambiente para mejorar su supervivencia. Junto a lo anterior, el ciclo biológico de las bacterias es corto, lo que eleva la probabilidad de presentar mutaciones que favorecen la resistencia [2]. Por otra parte, se ha observado que los microorganismos tienen la facultad de transmitir genes resistentes a otras especies bacterianas, lo que incrementa el problema [3].

Para evitar estas dificultades, las investigaciones se han enfocado en el uso de microorganismos que crean antagonismo con bacterias patógenas [4]. Dentro de este grupo, se encuentran las bacterias ácido lácticas (BAL), que se han estudiado de manera amplia en los seres humanos y algunas especies animales [5]. Al respecto, *Lactobacillus casei* ha mostrado efectividad en el control de bacterias patógenas y se ha descubierto que su antagonismo es producto de mecanismos como la disminución del pH del ambiente por la producción de ácido láctico, la producción de bacteriocinas, exclusión competitiva, y la estimulación del sistema inmune del huésped [4-6]. Todos estos mecanismos demuestran que *L. casei* es una bacteria con alto potencial para el manejo como microorganismo probiótico.

Sin embargo, el estudio de estos microrganismos en el cuy (*Cavia porcellus*) es escaso y falta mucho por comprender sobre la forma como interactúan con esta especie [7]. Al respecto, Aviles-Esquivel *et al.* [8] mencionan que el cuy es un animal herbívoro no rumiante, que se cría en la región andina de américa del sur como fuente de proteína. Se indica que el cuy se ha constituido en una especie productiva de alto rendimiento en los algunos países suramericanos, que ayuda a la seguridad alimentaria de zonas marginadas y con alto índice de pobreza [9].

De acuerdo a lo anterior, el objetivo de esta investigación fue determinar los efectos del suministro de *L. casei* en los parámetros productivos e histológicos del cuy (*Cavia porcellus*).

MÉTODO

Los experimentos fueron aprobados por el comité de ética de la Universidad de Nariño y los procedimientos se realizaron teniendo en cuenta las normas de bienestar animal de la República de Colombia.

Los análisis se realizaron en el laboratorio de investigación PROBIOTEC-FORAPIS, él área de cátedra y servicio de patología veterinaria de la clínica veterinaria Carlos Martínez Hoyos, el bioterio y laboratorios especializados de la Universidad de Nariño (Pasto, Colombia), situado entre los 2,500 y 2.800 msnm, tiene una precipitación de 980 mm, temperatura de 13,1°C y humedad relativa promedias del 73%, respectivamente. De igual manera, se utilizó el servicio de microscopia electrónica de la Universidad Nacional, Sede de Medellín (Colombia).

Se usó la cepa comercial Lactobacillus casei ATCC® 11456. Se ajustó el inóculo, y se realizaron pruebas de resistencia a pH de 7,5 y 9, siguiendo los procedimientos descritos por Jurado-Gámez et al.[10].

Para el ensayo *in vivo* se utilizaron 110 cuyes machos destetos (14 días de edad) de línea mejorada provenientes de una explotación particular tecnificada de cuyes del municipio de Tuquerres (Nariño, Colombia), con un peso promedio de 300± 0,5 g; los animales se distribuyeron en 4 tratamientos con 10 réplicas por tratamiento y 3 animales por réplica. Los tratamientos evaluados fueron: T1 alimento balanceado, forraje y agua destilada; T2 alimento balanceado, forraje y *L. casei*; T3 forraje y agua destilada; T4 forraje y *L. casei*. Los animales tuvieron un periodo de adaptación de cinco días, y el ensayo tuvo una duración de 40 días. El alimento balanceado no tuvo aditivos promotores de crecimiento y el agua destilada se usó como excipiente (placebo) en los tratamientos T1 y T4.

El inóculo (*L. casei*) se suministró de forma oral mediante un gotero, a razón de 5 mL/animal/día distribuido en dos tomas (2,0 mL cada suministro), la primera a las 7:00 am y la segunda a las 5:00 pm. Se utilizó una concentración de 1 x 10^9 UFC/mL en el inóculo. Para la dieta con suplemento se suministró 310 g de forraje y 30 g de alimento balanceado, y para los tratamientos con solo forraje, este se incrementó 50 g para un total de 320 g día.

Al final de la investigación, los animales fueron sacrificados mediante la administración intravenosa de Pentobarbital sódico (390 mg/mL) y difenilhidantoína sódica (50 mg/mL) a una dosis de 1 mL/kg peso. Se realizó evaluación macroscópica de los animales siguiendo la técnica de necropsia estandarizada por el laboratorio de patología de la Universidad de Nariño [11]. Se tomaron muestras del tracto gastrointestinal y se colocaron en formol buferado al 10% para fijación por 24 horas, luego se realizó el corte de duodeno, yeyuno e íleon y se ubicaron en cassettes para inclusión de tejidos debidamente rotulados; se les realizó inclusión en parafina y coloración de hematoxilina y eosina. Este procedimiento se realizó en las instalaciones de la fundación hospital San Pedro de Pasto (Colombia). De igual manera, se determinó el contenido de ácido láctico en la carne de cuy.

Se determinaron las variables productivas consumo de materia seca (CMS), ganancia de peso (GP) y conversión alimenticia (CA). De las muestras de sangre se determinó cuadro hemático, nitrógeno ureico (BUN) y creatinina, finalmente, se realizó análisis coprológico. La muestra de sangre fue obtenida por punción intracardiaca y las muestras de heces fueron tomadas directamente del colon al momento del sacrificio.

Los micropreparados de Hematoxilina y Eosina (H/E) de rutina se describieron y evaluaron histológicamente mediante visualización a través de microscopia óptica; para esto se tuvo como referencia histológica a Scundamure [12] y para la descripción de alteraciones microscópicas a Jubb *et al*. [13].

Las tinciones diferenciales fueron Tinción de Gram para identificación de bacterias Gram positivas y/o negativas; y ácido peryódico de Schiff (PAS) para detección de glucógeno y carbohidratos. Estas láminas se realizaron en la Corporación de patología veterinaria Corpavet® en la ciudad de Bogotá, Colombia.

Para precisar los hallazgos se emplearon marcadores monoclonales inmuno-histoquímicos de uso en humanos CD3 y CD79a a los bloques de parafina del tracto gastrointestinal de los animales para evaluar la expresión de linfocitos T y B del tejido linfoide asociado al intestino GALT.

Las muestras de los segmentos conservadas en glutaraldheido al 5% fueron analizadas en el Laboratorio de Microscopia electrónica de barrido de la Universidad Nacional, sede Medellín utilizando el protocolo para el procesamiento de este tipo de muestras definido por dicho Laboratorio.

La cepa láctica fue microencapsulada de acuerdo con lo descrito por Rodríguez *et al*. [14]; para ello, la bacteria se suspendió al 20% p/v (60 g de Maltodextrina y 60 g de Inulina en 280 mL de Inóculo bacteriano previamente ajustado) en relación 1:1 p/p la cual se agitó hasta homogenizar.

Se utilizó el equipo de secado por aspersión Secador Spray Bilon 6000s®, con una temperatura de entrada de 170°C y una temperatura de salida en un rango de 65 a 67°C con ciclo completo de 2 horas y 30 minutos. El material microencapsulado se empaquetó en recipientes oscuros de plástico previamente esterilizados y se almacenaron a temperatura ambiente (20 ± 2°C).

Las pruebas de resistencia a diferentes pH se evaluaron mediante un diseño irrestrictamente al azar. Los parámetros productivos, la química sanguínea y el hematocrito fueron analizadas mediante análisis de varianza con el procedimiento PROC GLM del paquete estadístico SAS University [15]. El peso inicial se incluyó como covariable para consumo de materia seca. La comparación de medias se realizó con el procedimiento LSMEANS a un nivel de significancia del 5%.

Para la caracterización microscópica, histoquímica e inmunohistoquímica del tracto gastrointestinal se empleó estadística descriptiva y registro fotográfico del proceso.

RESULTADOS

Los resultados mostraron que la bacteria fue resistente a pH básico, con un mayor crecimiento a pH 9 ($p< 0,05$; figura 1).

El suministro de agua destilada y el inóculo no mostraron problemas al momento de suministrarlos. Los resultados para consumo, ganancia de peso y conversión alimenticia se pueden observar en el cuadro 1.

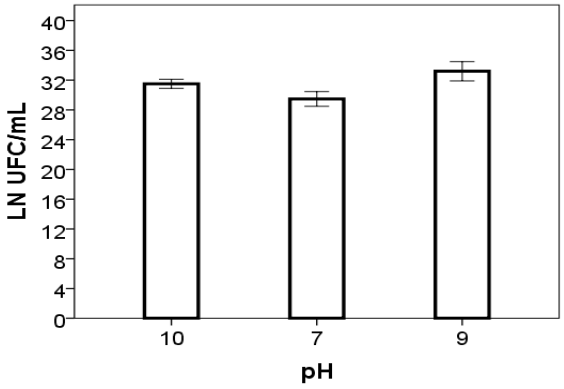
Los valores indican que no hay diferencias en el CMS (p>0,05). La ganancia de peso fue menor para los tratamientos T3 y T4 (p< 0,05), mientras que la conversión alimenticia fue mas alta para el tratamiento T3 (p<0,05).

Los resultados del hemograma se observan en el cuadro 2. No hubo diferencia para el contenido de hematocritos (p> 0,05), mientras que los leucocitos y las proteínas totales fueron mayores en el T2 (p< 0,05); en cuanto a las plaquetas, se observa que T2 muestra el menor valor y los tratamientos T1 y T3 los valores más altos (p<0,05); los neutrófilos fueron menores para el T3 y los linfocitos fueron menores en el T4 y mayores en el T3 (p<0,05).

En el cuadro 2 se indican los resultados de BUN y creatinina. Se usaron como referencia los valores determinados por Washington y Van Hoosier [16]. El valor de creatinina fue diferente para el tratamiento T2 (p<0,05), tratamiento que presentó valores inferiores a los de referencia; los otros valores no difirieron y se encuentran dentro del rango reportado. En cuanto a BUN, los valores encontrados fueron similares (p> 0,05), pero mayores a los de referencia.

Las características macroscópicas del coprológico mostraron valores normales para la especie con coloración marrón oscura, consistencia líquida, presencia de moco y no se observaron parásitos. Para las características microscópicas (cuadro 2), los resultados fueron positivos para la presencia de Isoporas en los tratamientos T1 y T2 y positivo en T3 para tropozoitos ciliados.

Figura 1. Resistencia a diferente pH.



Cuadro 1. Valores de consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia en cuyes.

	T1	T2	T3	T4
CMS (g)	1940,2 ±23,10[a]	2011,03 ±24,09[a]	2140,4 ±22,99[a]	2148,5 ±32,5[a]
GP (g)	397,6 ±20,3[a]	402,4 ±10,4[a]	273,0 ±15,2[b]	311,1 ±13,2[b]
CA	4,9 ±0,03[b]	5,01 ±0,04[b]	6,95 ±0,02[a]	6,13 ±0,02[ab]

CMS: consumo de materia seca, GP: ganancia de peso, CA: conversión alimenticia.

Cuadro 2. Hematocrito y Parámetros bioquímicos en el cuy.

Analito	REF.	T1	T2	T3	T4
Hematocrito %	**35 – 45**	47,5±1,23[a]	51±1,34[a]	47,5±1,07[a]	55,5±2,34[a]
Leucocitos x 10^3 /µL	**7 – 14**	3,1±0,45[b]	11±1,23[a]	3,15±0,56[b]	2,1±0,78[b]
Plaquetas x 10^6/µL	**250 – 850**	410±16[a]	103±19[c]	441±25[a]	309±72[b]
Proteínas totales g/dL[1]	**4,6 - 6,2**	5,2±0,45[b]	6,4±0,35[a]	5,4±0,61[b]	5,5±0,34[b]
Neutrófilos seg. %	**20 – 60**	30±1,23[a]	29±2,03[a]	17,3±1,56[c]	32±1,38[a]
Linfocitos %	**30 – 80**	65±2,34[b]	67±3,02[b]	79,5±3,17[a]	59,5±3,22[c]
Monocitos %	**2 – 20**	0,1±0,01[b]	1,0±0,19[b]	0,2±0,01[b]	0,4±0,01[b]
Eosinofilos %	**0 – 5**	0	0	0	0
Basófilos %	**0 – 1**	0	0	0	0
Absoluto (linfocitos)	**3000 – 8000**	2245[b]	8260[a]	2590[b]	1310[b]
Creatinina (mg/dL)	**0,6-2,2**	0,7± 0,01[a]	0,1± 0,01[b]	0,5± 0,01[b]	0,5± 0,01[b]
BUN	**9-32**	32,9[a]	51,9[a]	39,2[a]	35,7[a]
Trichomonadida	**--**	N	N	N	N
Isospora spp	**--**	P	P	N	N
Balantidium coli	**--**	N	N	P	N

Las placas teñidas no mostraron lesiones representativas en los tratamientos con *L. caseí*, pero si se observaron lesiones en los tratamientos control (figura 2).

En la Figura 3A se presenta los tejidos de duodeno. Esta tinción fue positiva para todos los tratamientos y su capa presentaba mayor grosor y fue más evidente que en los controles.

En la Figura 3B se indica la marcación para linfocitos T (CD3). Inicialmente la imagen (B1) corresponde al control y la (B2) al segmento íleon del tratamiento 4 con fuerte inmunomarcación.

En la figura 3C se observa la marcación de linfocitos B (CD79). En la imagen (C1) del control positivo y la (C2) de duodeno, se aprecia fuerte inmunomarcación para linfocitos B. Se evidenció la presencia de ácido láctico en la carne de cuyes suplementados con cepas probióticas, con valores de 0,96 y 1,42 mg/g de carne; mientras que en los animales control no fue detectado.

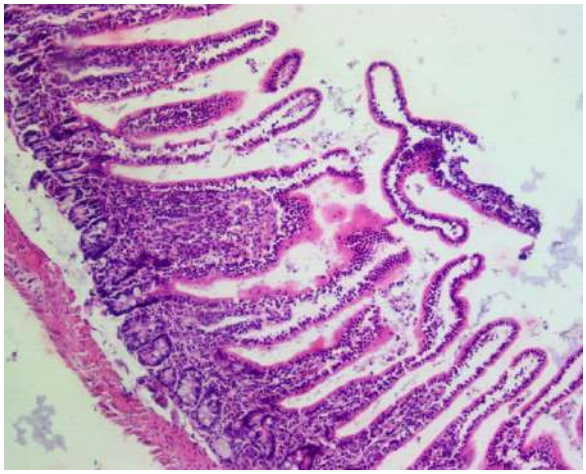
Otros hallazgos

En la Figura 3E se presenta la morfología del parasito *Balantidium coli*, el cual fue observado durante el análisis de las láminas de Hematoxilina y Eosina sobre todo en el colon. Este parásito se identificó en los tratamientos 1 y 3 los cuales no recibieron *Lactobacillus casei*. Los resultados de la microencapsulación se observa en la figura 3F, lo que indica que la bacteria fue microencapsulada de manera efectiva.

Los microorganismos candidatos a probiótico deben tener la capacidad de resistir los cambios en el pH del tracto gastrointestinal [17]. La zona del estómago presenta pH muy bajo, de alrededor de 3, lo que imposibilita el crecimiento microbiano y se constituye en una barrera efectiva para invasores bacterianos [18]. Sin embargo, los análisis realizados en otros estudios *in vitro* han demostrado que *L. casei* tiene la capacidad de resistir estos pH tan bajos [10]. Al respecto, Subramanian et al. [19] manifiestan que las BAL disponen de mecanismos para regular la concentración de hidronios en el interior de la **célula**, que les permite disminuir su contenido y con ello evitar la acidez de su medio intracelular.

Dado que el estómago no es la única barrera en el tracto gastrointestinal, la porción del intestino delgado presenta valores de pH alcalinos, que alcanzan

Figura 2. Enteritis crónica moderada.

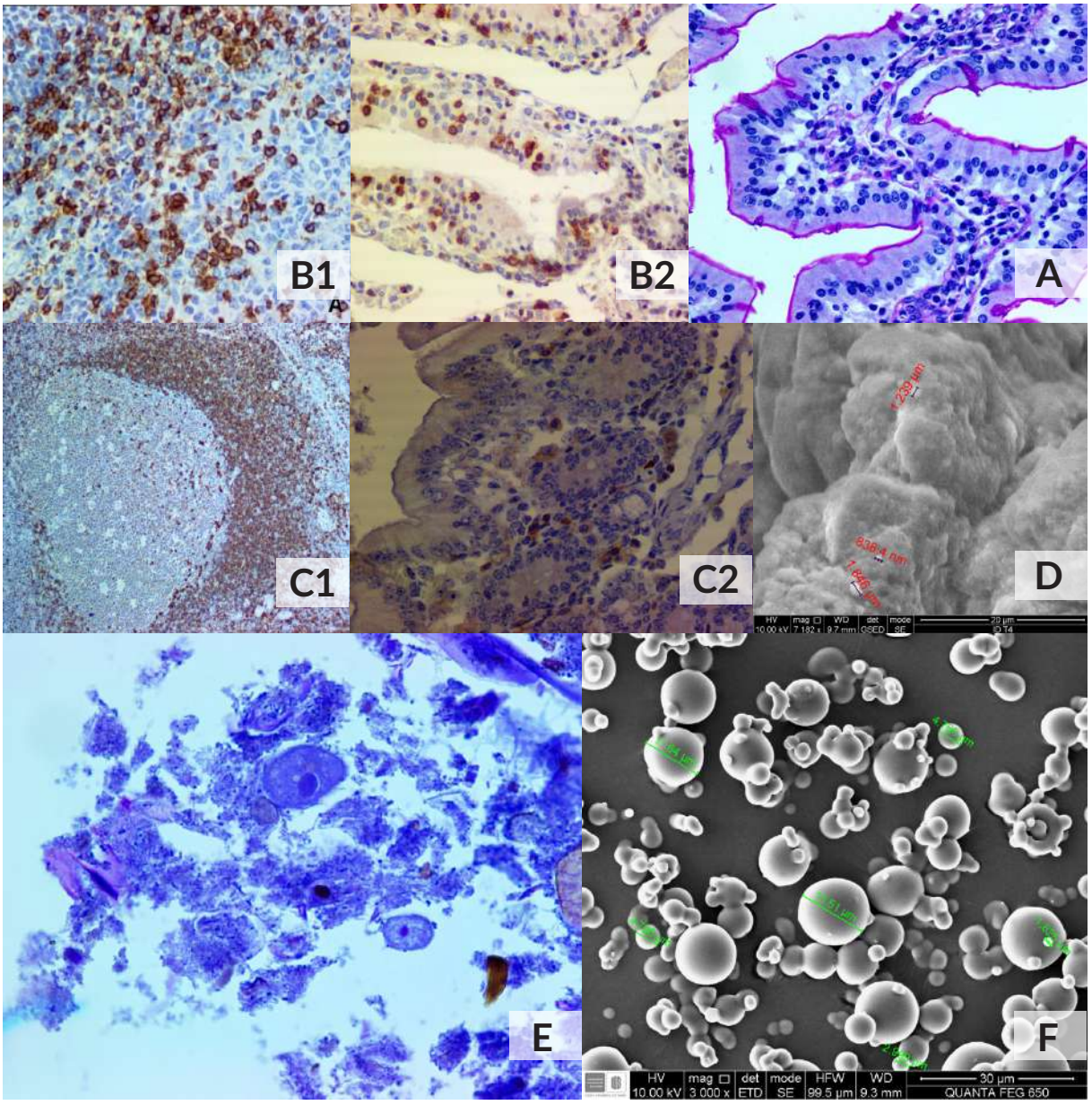


valores de 10; esto se convierte en un problema para la sobrevivencia de las bacterias probióticas [20]. La evaluación de diferentes pH alcalinos demostró buena viabilidad de *L. casei* a estas concentraciones. Al respecto, Aliaga *et al.* [21] indican que el intestino del cuy llega a presentar un valor de pH alrededor de 8 que es inferior a pH 10 evaluado en esta investigación, lo que posibilita la sobrevivencia de *L. casei* en esta zona, que le permitiría competir con otros organismos presentes en el tracto gastrointestinal del cuy [22]. Liu *et al.* [23] indican que un crecimiento de 1 x 10^9 UFC/mL (20,72 Ln UFC/mL) es adecuado para colonizar el tracto gastrointestinal; al respecto, los valores encontrados en los distintos pH demuestran que la cepa tolera estas condiciones. Sin embargo, el crecimiento a pH 9 fue mayor, lo que indica que a estas condiciones, la cepa tiene mayores probabilidades de sobrevivencia.

En cuanto al consumo, Guevara y Carcelén [24] encontraron valores similares con el suministró de Lactobacillus y levadura. Por otra parte, Sáez-Lara *et al.* [25] indican que los probióticos no alteran la ingesta de los animales, corroborando los resultados encontrados. Aunque en otras especies, se ha observado una mejora en el consumo de los animales [26, 27], todavía no existe un consenso al respecto, por lo que falta mayor información para tener resultados concluyentes [28,30].

Los resultados para la ganancia de peso se deben al alimento balanceado, ya que los tratamientos T3 y T4 recibieron solo forraje. Al respecto, Caicedo *et al.* [9] mencionan que el cuy tiene un mayor rendimiento productivo cuando la dieta de forraje es enriquecida con el suministro de alimento balanceado, factor que

Figura 3. Tinciones de inmunohistoquímica, Alcian Blue y diferenciadoras para el intestino delgado; microfotografías del tejido intestinal de *Cavia porcellus;* y microencapsulado de *Lactobacillus casei*.



A: tinción de células caliciformes; B1: marcación linfocitos T (testigo); B2: marcación linfocitos T (ileon T4); C1: marcación linfocitos B (testigo); C2: marcación linfocitos B (duodeno T4); D: microencapsulación; E: parásito *Balantidium coli* (colon T1); F: tamaño y forma del microencapsulado.

explica las diferencias encontradas entre tratamientos. Sin embargo, todos los valores son similares a los reportados por Ramos *et al.* [31], lo que indica que no se alteró de manera significativa el parámetro bajo las condiciones evaluadas. Para la conversión alimenticia, los resultados son similares a la GP y se pueden explicar bajo el mismo fenómeno [32].

Los hallazgos histológicos muestran que *L. casei* se adhirió al tracto digestivo y muestra características de agente controlador de organismos patógenos. Los trabajos de Gamboa *et al.* [33] y Santarmaki *et al.* [34] mencionan que esta característica es muy importante para evaluar cepas bacterianas con fines probióticos. Entre los mecanismos antagónicos se ha observado

que *L. casei* produce bacteriocinas que tienen diferentes formas de acción [35], algunas afectan directamente la membrana celular de otros microorganismo, otras inhiben procesos metabólicos vitales para la célula y, en la mayoría de los casos, las BAL pueden disminuir el pH del medio con la producción de ácido láctico [36]; todos estos mecanismos pueden regular el crecimiento de otros microorganismo y crear una barreras protectoras para el organismo huésped [37].

De igual manera, los hallazgos en el análisis coprológico mostraron una disminución de parásitos como consecuencia de la acción inhibitorio de *L. casei*. Sin embargo, falta conocer mucho sobre los mecanismos de acción con este tipo de parásitos, para identificar que realmente los efectos observados son consecuencia de los tratamientos evaluados [38].

La inmunomarcación observada puede ser una respuesta al daño tisular generado por las lesiones encontradas en los tejidos, un probable crecimiento bacteriano o una reacción con el medio de cultivo suministrado. Estos resultados indican que para el caso de los cuyes, el suministro de una dieta líquida alteró las condiciones gastrointestinales de los animales. Al respecto, los estudios realizados por Bustios *et al*. [39] revelan que en especies que tienen un bajo consumo de agua de bebida y que suplen sus requerimientos de este importante nutriente a través de los alimentos consumidos, pueden presentar alteraciones en el tracto digestivo como consecuencia del suministro de una sustancia (agua), cuando estos no se encuentran adaptados a este tipo de suministro.

CONCLUSIONES

El suministro de *Lactobacillus casei* en cuyes (*Cavia porcellus*) no afecta los parámetros productivos de consumo de alimento y ganancias de peso, pero si mejora la conversión alimenticia de los animales alimentados solo con forraje; lo anterior demuestra que el suministro de la bacteria láctica puede ser una alternativa al uso de antibióticos en los sistemas de producción. La inmuno histoquímica y la tinción Alcian Blue demostraron ser una herramienta útil para determinar lesiones en cuy. Sin embargo, se debe continuar con la evaluación de la cantidad de inóculo a suministrar.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al grupo de investigación PROBIOTEC-FORAPIS del Departamento de Producción y Procesamiento Animal, Programa de Zootecnia de la Universidad de Nariño. Los resultados son el trabajo realizado por un estudiante de la Maestría en Ciencia Agrarias de la Universidad de Nariño.

REFERENCIAS

[1] MUND, M.D., KHAN, U.H., TAHIR, U., MUSTAFA, B.E. and FAYYAZ, A. Antimicrobial drug residues in poultry products and implications on public health: A review. International Journal of Food Properties, 20(7), 2017, p. 1433-1446. doi:https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1212874

[2] KOCH, B.J., HUNGATE, B.A. and PRICE, L.B. Food-animal production and the spread of antibiotic resistance: the role of ecology. Frontiers in Ecology and the Environment, 15(6), 2017, p. 309-318. https://doi.org/10.1002/fee.1505

[3] NKUKWANA, T.T. Global poultry production: Current impact and future outlook on the South African poultry industry. South African Journal of Animal Science, 48(5), 2018, p. 869-884. doi: 10.4314/sajas.v48i5.7

[4] ORTIZ-RIVERA, Y., SÁNCHEZ-VEGA, R., GUTIÉRREZ-MÉNDEZ, N., LEÓN-FÉLIX, J., ACOSTA-MUÑIZ, C. and SEPULVEDA, D.R. Production of reuterin in a fermented milk product by *Lactobacillus reuteri*: Inhibition of pathogens, spoilage microorganisms, and lactic acid bacteria. Journal of dairy science, 100(6), 2017, p. 4258-4268. doi: 10.3168/jds.2016-11534.

[5] CAMPANA, R., VAN HEMERT, S. and BAFFONE, W. Strain-specific probiotic properties of lactic acid bacteria and their interference with human intestinal pathogensinvasion. Gut pathogens, 9(1), 2017, p. 12. doi: 10.1186/s13099-017-0162-4.

[6] LEMME-DUMIT, J.M., POLTI, M.A., PERDIGON, G. and GALDEANO, C.M. Probiotic bacteria cell walls stimulate the activity of the intestinal epithelial cells and macrophage functionality. Beneficial microbes, 9(1), 2018, p. 153-164. doi: 10.3920/BM2016.0220.

[7] REN, X., ZHU, Y., GAMALLAT, Y., MA, S., CHIWALA, G., MEYIAH, A. and XIN, Y. *E. coli* O124 K72 alters the intestinal barrier and the tight junctions

proteins of guinea pig intestine. Biomedicine & Pharmacotherapy, 94, 2017, p. 468-473. doi: 10.1016/j.biopha.2017.07.123

[8] ÁVILES-ESQUIVEL, D., MARTÍNEZ, A., LANDI, V., ÁLVAREZ, L., STEMMER, A., GÓMEZ-URVIOLA, N. y DELGADO, J. Caracterización genética del cuy doméstico en América del Sur usando marcadores moleculares. Trópical and subtropical Agroecosystems, 21, 2018, p. 1-10.

[9] CAYCEDO-VALLEJO, A., ZAMORA-BURBANO, A., ECHEVERRY-POTOSI, S., ENRIQUEZ-CHAMORRO, R., ORTEGA-DAVID, E. y BURGOS-VELASCO, M. Producción de cuyes. 1 ed. Pasto (Colombia): Editorial Universidad de Nariño, 2011, 220 p.

[10] JURADO-GÁMEZ, H. and FAJARDO-ARGOTI, C. Determination of the probiotic in vitro effect of *Lactobacillus gasseri* on a *Staphylococcus epidermidis* strain. Biosalud, 16(2), 2017, p. 53-69. doi:http://dx.doi.org/10.17151/biosa.2017.16.2.6

[11] ASTAIZA-MARTÍNEZ, J., BENAVIDES-MELO, J., CHAVES-VELÁSQUEZ, C., ARCINIEGAS-RIVERA, A. y QUIROZ-MORAN, C.L. Estandarización de la técnica de necropsia en cuyes (*Cavia porcellus*) en la Universidad de Nariño. Revista Investigación Pecuaria, 2(2), 2014, p. 79-83.

[13] JUBB, KENNEDY and PALMER. Pathology of Domestic Animals. 6 ed. Washington (USA): Elsevier, Inc. 2016, 670 p.

[14] RODRÍGUEZ-BARONA, S., GIRALDO, G. y MONTES, L. Encapsulación de alimentos probióticos mediante liofilización en presencia de prebióticos. Información tecnológica, 27(6), 2016, p. 135-144.

[15] CODY, R. An introduction to SAS university edition. 1 ed. Chicago (USA): SAS Institute, 2018, 880 p.

[16] WASHINGTON, M.I. and VAN-HOOSIER, G. Capítulo 3. Clinical Biochemistry and Hematology. En: The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster and Other Rodents. 1 ed. Boston (USA): Academic Press, 2012, p. 94-96.

[17] WANG, C., CUI, Y. and QU, X. Mechanisms and improvement of acid resistance in lactic acid bacteria. Archives of microbiology, 200(2), 2018, p. 195-201. doi: 10.1007/s00203-017-1446-2.

[18] YASUTOMI, E., HOSHI, N., ADACHI, S., OTSUKA, T., KONG, L., KU, Y. and OOI, M. Proton pump inhibitors increase the susceptibility of mice to oral infection with enteropathogenic bacteria. Digestive diseases and sciences, 63(4), 2018, p. 881-889. doi: 10.1007/s10620-017-4905-3.

[19] SUBRAMANIAM, R., THIRUMAL, V., CHISTOSERDOV, A., BAJPAI, R., BADER, J. and POPOVIC, M. High-density cultivation in the production of microbial products. Chemical and biochemical engineering quarterly, 32(4), 2018, p. 451-464. doi:https://doi.org/10.15255/CABEQ.2018.1394

[20] CROWLEY, E.J., KING, J.M., WILKINSON, T., WORGAN, H.J., HUSON, K.M., ROSE, M.T. and MCEWAN, N.R. Comparison of the microbial population in rabbits and guinea pigs by next generation sequencing. PloS one, 12(2), 2017, p. e0165779. doi:https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165779

[21] ALIAGA, L., MONCAYO, R., RICO, E. y CAYCEDO, A. Producción de cuyes. 1 ed. Lima (Perú): UCSS, 2009, 760 p.

[22] DOMINGOS, I., VELLANO, I.H., MORAES, A.C., ALTARUGIO, R., FILHO, A., OKAMOTO, A.S. and TRENTO, G.D. Measurement of in vitro Inhibition by *Lactobacillus spp*. against Salmonella Heidelberg. International Journal of Poultry Science, 17, 2018, p. 184-188. doi: 10.3923/ijps.2018.184.188

[23] LIU, C., ZHU, Q., CHANG, J., YIN, Q., SONG, A., LI, Z. and LU, F. Effects of *Lactobacillus casei* and *Enterococcus faecalis* on growth performance, immune function and gut microbiota of suckling piglets. Archives of animal nutrition, 71(2), 2017, p. 120-133. doi: 10.1080/1745039X.2017.1283824

[24] GUEVARA, J. y CARCELÉN, F. Efecto de la suplementación de probióticos sobre los parámetros productivos de cuyes. Revista Peruana de Química e Ingeniería Química, 17(2), 2014, p. 71. Doi:http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v30i2.16071

[25] SAES-LARA, M., ROBLES-SÁNCHEZ, C., RUÍZ-OJEDA, F., PLAZA-DÍAZ, J. and GIL, A. Effects of probiotics and synbiotics on obesity, insulin resistance syndrome, Type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease: A Review of human clinical trials. International Journal of Molecular Science, 17, 2016, p. 928. doi: 10.3390/ijms17060928.

[26] ADHIKARI, P.A. and KIM, W.K. Overview of prebiotics and probiotics: focus on performance, gut health and immunity–a review. Annals of animal science, 17(4), 2017, p. 949-966. doi:https://doi.org/10.1515/aoas-2016-0092

[27] YUAN, L., CHANG, J., YIN, Q., LU, M., DI, Y., WANG, P. and LU, F. Fermented soybean meal improves the growth performance, nutrient digestibility, and microbial flora in piglets. Animal Nutrition, 3(1), 2017, p. 19-24. doi:https://doi.org/10.1016/j.aninu.2016.11.003

[28] MAHFUZ, S.U., NAHAR, M.J., MO, C., GANFU, Z., ZHONGJUN, L. and HUI, S. Inclusion of probiotic on chicken performance and immunity: A review. International Journal of Poultry Science, 16, 2017, p. 328-35. doi: 10.3923/ijps.2017.328.335

[29] DOWARAH, R., VERMA, A.K. and AGARWAL, N. The use of Lactobacillus as an alternative of antibiotic growth promoters in pigs: a review. Animal Nutrition, 3(1), 2017, p. 1-6. doi:https://doi.org/10.1016/j.aninu.2016.11.002

[30] CHEN, H.J., YANG, W.Y. and WANG, C.Y. The review on the function of intestinal flora and the regulatory effects of probiotics on the intestinal health of rabbits. Memorias 2nd International Conference on Biological Sciences and Technology (BST 2017). Atlantis (USA): University Atlantis, 2017 p. 34-42.

[31] RAMOS-OBANDO, L., GUEVARA-BURBANO, A.C. y VILLOTA-ARTEAGA, M.I. Evaluación de la producción de cuyes *Cavia porcellus* alimentados con pasto aubade *Lolium* sp. y forraje de abutilón *Abutilon striatum*. Revista investigación pecuaria, 2(1), 2015, p. 34-39.

[32] BALAGUER, C.M., CAPILLA, A.C., DELGADO, V.A. and MACÍAS, D.S. A comparison of the growth performance, carcass traits, and behavior of guinea pigs reared in wire cages and floor pens for meat production. Meat science, 152, 2019, p. 38-40. doi:https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.02.012

[33] GAMBOA, R.G., BASURTO, R.I., SANTOYO, M.C., MADRIGAL, J.B., ÁLVAREZ, B.E. and AVILA, M.G. In vitro evaluation of prebiotic activity, pathogen inhibition and enzymatic metabolism of intestinal bacteria in the presence of fructans extracted from agave: A comparison based on polymerization degree. LWT, 92, 2018, p. 380-387. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.051

[34] SANTARMAKI, V., KOURKOUTAS, Y., ZOUMPOPOULOU, G., MAVROGONATOU, E., KIOURTZIDIS, M., CHORIANOPOULOS, N. and YPSILANTIS, P. Survival, intestinal mucosa adhesion, and immunomodulatory potential of *Lactobacillus plantarum* strains. Current microbiology, 74(9), 2017, p. 1061-1067. doi: 10.1007/s00284-017-1285-z

[35] SONG, Y.G. and LEE, S.H. Inhibitory effects of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus casei* on Candida biofilm of denture surface. Archives of oral biology, 76, 2017, p. 1-6. doi: 10.1016/j.archoralbio.2016.12.014.

[36] MOKOENA, M.P. Lactic acid bacteria and their bacteriocins: Classification, biosynthesis and applications against uropathogens: A mini-review. Molecules, 22(8), 2017, p. 1255. doi: 10.3390/molecules22081255

[37] ÖZOGUL, F. and HAMED, I. The importance of lactic acid bacteria for the prevention of bacterial growth and their biogenic amines formation: A review. Critical reviews in food science and nutrition, 58(10), 2018, p. 1660-1670. doi:https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1277972

[38] BUCKOVÁ, B., HURNÍKOVÁ, Z., LAUKOVÁ, A., REVAJOVÁ, V. and DVOROŽŇÁKOVÁ, E. The anti-parasitic effect of probiotic bacteria via limiting the fecundity of *Trichinella spiralis* female adults. Helminthologia, 55(2), 2018, p. 102-111. doi: 10.2478/helm-2018-0010

[39] BUSTIOS, C., VERGARA, V. y CHAUCA, L. Suplementación de β-caroteno en dietas balanceadas con exclusión de forraje en cuyes (*Cavia porcellus*) reproductoras hembras. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 29(3), 2018, p. 756-76 doi:http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v29i3.147829

BIOTECNOLOGÍA EN EL SECTOR AGROPECUARIO Y AGROINDUSTRIAL

· ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA ·

Vol. 18 No 2 · Julio - Diciembre 2020 · ISSN - 1692-3561 · ISSN-e 1909-9959 · DOI: http://dx.doi.org/10.18684

Elaboración de una bebida a base de suero lácteo y pulpa de *Theobroma grandiflorum**

Preparation of a beverage based on whey and pulp of *Theobroma grandiflorum*

Preparação de uma bebida à base de soro de leite e polpa de *Theobroma grandiflorum*

ADRIANA ISABEL RODRÍGUEZ-BASANTES[1], CRISTIAN AUGUSTO ABAD-BASANTES[2], AMAURY PÉREZ-MARTÍNEZ[3], KAREL DIÉGUEZ-SANTANA[4*]

Historial del Artículo

Recibido para evaluación: 30 de Julio 2019.

Aprobado para publicación: 11 de Mayo 2020.

* Proyecto de investigación de orígen: "Elaboración de una bebida a base de suero lácteo con diferentes concentraciones de pulpa de *Theobroma grandiflorum*", para la obtención al grado de Master en Ingeniería Agroindustrial. Financiación: Mención Sistemas Agroindustriales, en la Universidad Estatal Amazónica: Culminación: el 28 de junio de 2019.

1 Universidad Estatal Amazónica, Facultad de Ciencias de la Tierra. Master en Agroindustrias, Mención Sistemas Agroindustriales. Puyo, Ecuador. ORCID ID: 0000-0002-2532-6504

2 Universidad Estatal Amazónica, Facultad de Ciencias de la Tierra. Master en Ingeniería Agroindustrial. Puyo, Ecuador. ORCID ID: 0000-0003-1250-9974.

3 Universidad Estatal Amazónica, Facultad de Ciencias de la Tierra. Dr. en Ciencias (Ingeniería Química)., Mención Sistemas Agroindustriales. Puyo, Ecuador. ORCID ID: 0000-0003-3978-7982

4 Universidad Estatal Amazónica, Facultad de Ciencias de la Tierra, Master en Ingeniería en Saneamiento Ambiental. Candidato a PhD en Química Industrial, Mención Sistemas Agroindustriales. Puyo, Ecuador. ORCID ID: 0000-0003-4064-0566

Correspondencia: karel.dieguez.santana@gmail.com , kdieguez@uea.edu.ec

Cómo citar este artículo: ADRIANA ISABEL RODRÍGUEZ-BASANTES, CRISTIAN AUGUSTO ABAD-BASANTES, AMAURY PÉREZ-MARTÍNEZ, KAREL DIÉGUEZ-SANTANA. Clonación del cDNA codificante de las subunidades de la gonadotropina luteinizante de Pimelodus grosskopfii. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial,18(2),2020.166-175, DOI:http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(18)166-175

RESUMEN

La industria láctea genera enormes cantidades de suero de leche que frecuentemente, es vertido como residuo. El presente trabajo tiene como objetivo elaborar una bebida de valor proteico a base de suero de leche con diferentes concentraciones de pulpa, de la fruta amazónica Theobroma grandiflorum (copoazú). Se realizó la caracterización físico-química del suero de leche y se elaboraron tres formulaciones de bebidas variando el porcentaje de pulpa de copoazú (10, 20 y 30% p/p). Las bebidas lácteas obtenidas se evaluaron en cuanto a pH, la acidez en ácido láctico, grasas, proteínas, recuento de microorganismos y aceptación sensorial. Las tres formulaciones cumplen con los requerimientos físicos, químicos y microbiológicos establecidos en la norma NTE INEN 2609:2012, para bebidas de suero leche y el análisis estadístico no muestra diferencias significativas entre los tratamientos. La evaluación sensorial fue realizada por un panel no entrenado y se consideraron cuatro atributos con base en cincos puntos de la escala hedónica. La formulación de mayor aceptación fue la bebida de 70% de lactosuero y 30% de copoazú, y el sabor fue el factor de mayor puntuación. Finalmente, todas las bebidas elaboradas presentan porcentajes proteicos superiores a los requerimientos para bebidas lácteas.

PALABRAS CLAVE:
Copoazú, Evaluación sensorial, Valor proteico, Lactosuero

ABSTRACT

The dairy industry generates huge quantities of whey that is frequently discharged as waste. The present work aims to prepare a protein beverage based on whey with different concentrations of the Amazonian fruit pulp from Theobroma grandiflorum (cupuaçu) The physical-chemical characterization of the whey was carried out and three beverage formulations were prepared by varying the percentage of copoazu pulp (10, 20, and 30% w/w). The milk drinks obtained were evaluated in terms of pH, acidity in lactic acid, fats, proteins, count of microorganisms, and sensory acceptance. The three formulations meet the physical, chemical and microbiological requirements established in the whey beverages standard NTE INEN 2609: 2012, and the statistical analysis does not show significant differences between treatments. The sensory evaluation was carried out by an untrained panel and four attributes were considered based on five points of the hedonic scale. The most widely accepted formulation was the 70% whey and 30% cupuaçu drink, and the taste was the highest-scoring factor. Finally, all beverages elaborate have higher protein percentages than the requirements for dairy drinks.

KEYWORDS:
Cupuaçu, Sensory evaluation, Protein value, Whey.

RESUMO

A indústria de laticínios gera grandes quantidades de soro que é freqüentemente descartado como resíduo. O presente trabalho visa preparar uma bebida à base de proteína à base de soro de leite com diferentes concentrações de polpa, da fruta amazônica Theobroma grandiflorum (cupuaçu). Foi realizada a caracterização físico-química do soro e preparadas três formulações de bebidas, variando a porcentagem de polpa de cupuaçu (10, 20 e 30% p/p). As bebidas lácteas obtidas foram avaliadas em termos de pH, acidez em ácido

PALAVRAS-CHAVE:
Cupuaçu, Avaliação sensorial, Valor protéico, Soro de leite.

lático, gorduras, proteínas, contagem de microrganismos e aceitação sensorial. As três formulações atendem aos requisitos físicos, químicos e microbiológicos estabelecidos na norma NTE INEN 2609: 2012, para bebidas de soro e a análise estatística não mostra diferenças significativas entre os tratamentos. A avaliação sensorial foi realizada por um painel não treinado e quatro atributos foram considerados baseados em cinco pontos da escala hedônica. A formulação mais amplamente aceita foi a bebida com 70% de soro de leite e 30% de cupuaçu, e o sabor foi o fator de pontuação mais alto. Finalmente, todas as bebidas fabricadas têm maiores percentagens de proteína do que as exigências para as bebidas lácteas.

INTRODUCCIÓN

La industria láctea genera alrededor de 200 millones de toneladas de suero de leche por año como consecuencia de la fabricación de queso [1]. Las estadísticas indican que una importante porción de este residuo es descartada como efluente el cual crea un serio problema ambiental debido a que afecta física y químicamente la estructura del suelo, una disminución en el rendimiento de cultivos agrícolas y cuando se desecha en el agua, reduce la vida acuática al agotar el oxígeno disuelto [2].

La eliminación del suero se debe, entre otros aspectos, al desconocimiento de algunos productores sobre las bondades nutricionales de este subproducto y a la dificultad para acceder a las tecnologías apropiadas para su manejo y procesamiento; también a limitaciones en la regulación alimentaria que permitan la apropiada utilización como ingrediente alimenticio. Sin embargo, durante las últimas décadas ha habido un creciente interés en la utilización de suero de leche para la producción de productos de valor añadido, y aprovechar los nutrientes como proteína, lactosa, minerales y vitaminas presentes en el suero de leche [3], por lo que su reutilización es una importante alternativa para la producción de alimentos [4, 5].

Varios autores Cappato *et al*. (2018) Siqueira, *et al*. (2013), Amaral, *et al*. (2018) [6-9], recientemente han propuesto el uso de frutas como un enfoque interesante en la elaboración de bebidas de lactosuero. Por ejemplo Cappato *et al*. (2018) [6] emplea la pulpa de acerola (*Malpighia emarginata* DC) en la elaboración de una bebida de suero de leche. Mientras, Amaral *et al*. (2018) [8, 9] han empleado mezclas de jugos de uvas en preparaciones con CO_2 supercrítico y evaluados aspectos sensoriales. Por su parte, Siqueira *et al*. (2013) [7] argumentan sobre los beneficios del empleo de un 25% de pulpa de guanábana en formulación de bebidas lácteas, tanto en la preferencia de los consumidores, como en los valores nutritivos, siendo incluso, superiores a bebidas lácteas fermentadas, por lo que la adición de pulpa de fruta, puede incorporar características sensoriales deseables y, además, contribuir a aumentar el valor nutricional.

La fruta copoazú (*Theobroma grandiflorum)* es una de las nueve especies nativas de la región amazónica del genero Theobroma. La pulpa obtenida de la fruta es de color blanco amarillento, está compuesta de un 61% de carbohidratos, 6% de proteína y un 7% de polisacáridos de pectina [10]. Además, tiene un alto valor nutricional, siendo una fuente de ácido ascórbico (96-111 mg/100 g) y compuestos fenólicos (20,5 mg/100 g) [11] y según Pugliese [12], presenta una mayor actividad anti-oxidante que otras pulpas de fruta que son más comúnmente utilizados para la producción de yogur, tales como pulpa de fresa. Además, es relativamente rica en calcio, fósforo y hierro y presenta un contenido moderado de vitamina C [13].

Faber (2015) y Costa (2017) [13, 14] manifiestan que tiene excelentes características tales como aroma, sabor y textura que le confieren un alto potencial económico. Por su sabor distintivo se utiliza como ingrediente para la fabricación de helados, jugos, licores, vinos, jaleas, yogures, mermeladas y otros productos, en lugar de ser consumido en forma natural [15].

El objetivo del presente trabajo fue elaborar una bebida de valor proteico a base de suero de leche con diferentes concentraciones de copoazú, con adecuadas propiedades sensoriales y nutricionales, como una alternativa de ofrecer un valor agregado al lactosuero proveniente de la fabricación de queso. Para ello, se identificaron las principales etapas del proceso de elaboración de la bebida, se caracterizaron los parámetros físicos-químicos y microbiológicos del producto final y finalmente se evaluaron las características nutricionales y sensoriales de la bebida elaborada.

MÉTODO

Para la elaboración de la bebida se empleó lactosuero descremado sin sal, procedente de la elaboración de

queso de Industrias de Lácteos "San Salvador" de la Provincia de Chimborazo, Ecuador y pulpa de copoazú (*Theobroma grandiflorum*), extraída de las frutas de productores locales, de la provincia de Pastaza, Ecuador. Adicionalmente, se empleó azúcar, como edulcorante, y como conservante sorbato de potasio (grado alimentario), mientras como estabilizante se utilizó la gelatina sin sabor (grado alimentario). Todo el proceso de elaboración se realizó en el Laboratorio de Investigación de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), ubicado en Av. Panamericana Sur km 1 1/2 en la ciudad de Riobamba, provincia de Chimborazo, Ecuador, coordenadas, 1°1'39''36 S, 78°40'48'' O. Los valores medios de temperatura media y humedad relativa en el mes de la investigación (febrero/2019) fueron de 14,4°C y 71,1%, respectivamente.

Elaboración de la bebida a base de suero lácteo con diferentes concentraciones de copoazú

Formulación del producto. El lactosuero (LS) y la pulpa de copoazú (C) se mezclaron a diferentes proporciones durante la formulación; 90 LS:10 C (F1), 80 LS:20 C (F2) y 70 LS:30 C (F3). El Cuadro 1 muestra los detalles de las cantidades de materias primas necesarias para la elaboración de 1000mL de bebida láctea no fermentada. Las cantidades de suero lácteo se establecieron en función de los requerimientos de la norma NTE INEN 2609:2012 (Bebidas de suero leche), mientras que para los conservantes y estabilizantes se consideraron los límites máximos permitidos de la Norma NTE INEN 2074 (Aditivos Alimentarios).

Parámetros establecidos en la Normativa Ecuatoriana. Para la elaboración de la bebida se cumplió con los parámetros regulados en las normas técnicas ecuatorianas. En el caso de la calidad del suero de leche (Materia prima), se siguió la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2594: 2011-08 Suero de leche líquido, tanto para los requisitos fisicoquímicos como microbiológicos. Mientras para la bebida a base de suero de leche (producto final) se consideraron los requisitos expuestos en la Norma Técnica Ecuatoriana, NTE INEN 2609: 2012-01. Bebida de suero. Requisitos.

Cuadro 1. Formulaciones de la bebida de lactosuero y copoazú.

Ingredientes	F1	F2	F3
	(gramos)		
Lactosuero	737,5	655,5	573,8
Pulpa de copoazú	82,0	164,0	245,7
Azúcar	180,0	180,0	180,0
Sorbato de potasio (conservante)	0,4	0,4	0,4
Gelatina (estabilizante)	0,1	0,1	0,1

Operaciones para el desarrollo de la bebida proteica a base de lactosuero y pulpa de copoazú

El proceso se inició con una limpieza y desinfección de todos los equipos y materiales. Se seleccionaron las frutas sin daños físicos aparentes, se lavaron y pelaron. Luego, se realizó un despulpado manual con un mazo de madera, para separar la masa del fruto de las semillas. Posteriormente, el lactosuero se filtró con papel filtro Whatman No 4, y se mezcló con la pulpa de copoazú. Después, la mezcla se homogenizó en una licuadora industrial durante 30-60 s. Una vez distribuidos uniformemente todos los ingredientes se procedió a la pasteurización, esta operación se llevó a cabo en una marmita a 75°C por un tiempo de 10 min. Inmediatamente, se realizó un proceso de enfriado para causar golpe térmico, se llevó acabo con baño en agua a 6°C, hasta alcanzar 20 °C. Posteriormente, se adicionó gelatina sin sabor (0,01%) (estabilizante) y sorbato de potasio (0,05%) (conservante). El producto pasteurizado se envasó manualmente a una temperatura de 20°C en botellas de plástico de 250 mL. Finalmente, el producto se almacenó en condiciones normales de refrigeración (4°C), con la finalidad de mantener las propiedades organolépticas de la bebida.

Evaluación físico-químico y microbiológica del suero y de las bebidas a base de suero de leche y copoazú

Análisis físico-químico. Los parámetros determinados fueron: pH, acidez, °Brix, proteína, y grasa. En el caso del pH, se siguieron los procedimientos descritos en la Norma Técnica (NTE INEN 389) y se empleó un pHMetro Marca Thermo Scientific, modelo Orion Versa Star Pro. La acidez se midió como acidez titulable, expresada como ácido láctico. Se colocaron 20,0 mL de lactosuero en un Erlenmeyer y se le adicionó 40,0 mL de agua destilada. Luego se añadieron 2 cm^3 de solución indicadora de fenolftaleína y con agitación se tituló con una solución de hidróxido de sodio (0,1 N), una vez visualizado el color rosado, se continuó añadiendo solución durante 30 segundos. Se tomó lectura del consumo de la solución y se obtuvo el % de acidez titulable como ácido láctico. Para la determinación de °Brix, se pesaron 5 g de muestra y se diluyó con 50 mL de agua destilada, se colocó una

gota de la muestra en el prisma del refractómetro abierto, y se realizó la lectura del porcentaje en peso de azúcar para las soluciones azucaradas o el porciento de sólidos solubles en el caso de tratarse de otras sustancias (puré o pasta de tomate, vinagres, etc.). Por su parte, el contenido de proteína se determinó según los procedimientos descritos en la norma NTE INEN 0016. En el equipo de Kjeldahl, para digestión y destilación se procesaron 5 g de muestra con ácido sulfúrico concentrado y se realizó la valoración del exceso de ácido, con hidróxido de sodio (0,1N), en presencia de rojo de metilo y se empleó el factor de conversión de 6,38. Los principales equipos empleados fueron refractómetro marca Hanna Instruments, Balanza analítica marca Ohaus Pioneer y baño de maría ultrasónico, modelo SONICA. Mientras, los reactivos empleados fueron de grado analítico: Hidróxido de sodio, Sigma aldrich, Grado Reactivo Acs. ≥98%, Ácido sulfúrico 98%, Loba Chemie, Rojo de metilo (Acros Organics) y Fenolftaleina Acs.

Análisis microbiológico. Se realizó el análisis microbiológico de las tres bebidas, aplicando el Método Británico en placas *Petrifilm* y los resultados fueron comparados con los límites establecidos en la norma (NTE INEN 2609:2012), para bebidas de suero de leche.

En el análisis microbiológico se analizó principalmente la presencia de los siguientes microrganismos: aerobios Mesófilos, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*. En el caso, de los tres primeros se utilizó el método de recuento en siembra en placas de películas secas rehidratables Mientras, para la *E. coli* se realizó en un medio de cultivo líquido por el método de determinación del número más probable (NMP) por la técnica de dilución en tubos de acuerdo a las normas NTE INEN 1529-6 y NTE INEN 1529-8.

Evaluación sensorial de las bebidas

Para conocer el grado de aceptación de la bebida frente a los consumidores se realizó una encuesta organoléptica a un panel no entrenado, compuesto por 30 personas con edades comprendidas entre 18 a 21 años. El modelo empleado, se basó en el color, olor, sabor y textura y estuvo en función de la escala hedónica con base en 5 puntos: Me gusta mucho (5), Me gusta (4), No me gusta ni me disgusta (3), Me disgusta (2), Me disgusta mucho (1). Criterios que también han sido considerados en otras investigaciones [16, 17].

Tratamiento de los datos

Los datos de los diferentes análisis (físico-químico, microbiológico y organoléptico de las pruebas de preferencia y aceptación) fueron analizados estadísticamente utilizando el programa Statistica Versión 8. Se realizó estadística descriptiva para conocer los valores medios, mínimos, máximos y la desviación estándar. En el caso de distribución normal, se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de comparación de tratamientos de Tukey ($p<0,05$), o la Prueba no paramétrica de Friedman para realizar comparaciones entre las muestras o formulaciones. En los casos que el estadístico Friedman resultó significativo, se analizaron las diferencias entre las variables a través de la prueba de los rangos con signo de Wilcoxon para dos muestras relacionadas.

RESULTADOS

Evaluación del suero de leche

Características físico-químicas. El Cuadro 2 muestra los resultados obtenidos de los análisis físico-químicos realizados al suero dulce en la elaboración de las bebidas lácteas. Como se puede apreciar el pH obtenido fue de 6,45, lo que permite clasificar al lactosuero utilizado como dulce, por provenir de la coagulación enzimática, por uso de enzima coagulante. Mientras el valor de proteína fue de 0,88%, considerándose similar al requerido en la NTE INEN 2594:2011.

Estos resultados son similares al lactosuero empleado en el estudio de Montesdeoca *et al.* (2017), que reportan valores de pH de 6,6, acidez de 0,16% y proteína de 0,8 [18]. Por su parte, otros estudios como el de Skryplonek *et al.* (2019), difieren en cuanto al pH

Cuadro 2. Características físico - químicas del suero dulce.

Parámetros	Suero dulce	Valores máximos permisibles*
Grasa, %	0,57	Hasta 0,3
Temperatura, °C	20	
pH	6,45	6,4-6,8
Acidez, %	0,178	0,16
Proteína, %	0,88	>0,8
°Brix	6,2	

*Según NTE INEN 2594: 2011-08

(valor de 4,85) y la acidez (0,49%), pero en ese caso es suero ácido [5]. En este estudio los valores de acidez son inferiores y de igual manera el pH es un valor más básico, pues la materia prima es suero dulce.

Evaluación microbiológica. Con el fin de alcanzar la calidad e inocuidad del producto y detectar otros microorganismos que podrían ser causantes de alteraciones microbianas (enfermedades) se efectuaron análisis microbiológicos para revelar la presencia de estos, antes de iniciar con la elaboración de las bebidas lácteas; los resultados se muestran en el Cuadro 3.

Como se puede observar en el Cuadro 3, los parámetros del análisis microbiológico para el suero dulce, se encuentran dentro de los límites establecidos. Por lo que los datos reflejan los resultados positivos de la planta de lácteos "San Salvador", en cuanto a higiene e inocuidad de los alimentos, pudiendo estar asociados con la modernización de su infraestructura, tecnificación de los procesos y la correcta aplicación de normas de higiene que garantizan la inocuidad de los derivados lácteos y los subproductos como el suero.

Características físico-químicas y microbiológicas de las bebidas a base de suero de leche y copoazú

Como se puede apreciar en el Cuadro 4, las bebidas pasteurizadas F1, F2 y F3, cumplen con los parámetros físico-químicos y microbiológicos que establece la norma NTE INEN 2609:2012, para bebidas de base suero lácteo. En el análisis estadístico de comparación de medias, la formulación 1 muestra diferencias significativas con las formulaciones 2 y 3 en los parámetros proteína láctea y grasa entre el primer tratamiento con el tratamiento 2 y 3, esto está asociado a que es el tratamiento que contiene mayor cantidad de lactosuero. Sin embargo, en la grasa total no existen diferencias significativas, entre las tres bebidas elaboradas, por lo que la adición de la fruta infiere en el contenido proteico lácteo, pero no en el contenido proteico total de la bebida.

Adicionalmente, todas las formulaciones cumplen con los requerimientos de proteína láctea, según la Normativa Técnica Ecuatoriana que establece un valor mínimo de 0,4%, y en los tres casos evaluados los resultados son superiores a 0,82%, lo que muestra que las bebidas presentan buenos valores proteicos y por tanto pueden ser alimentos adecuados.

Cuadro 3. Resultados del análisis microbiológico del suero dulce pasteurizado.

Parámetros	Suero dulce	Valores máximos permisibles*
Aerobios mesófilos UFC/mL	1000	30000
E.coli NMP/mL	ausencia	< 10
Staphylococcus aureus UFC/mL	ausencia	< 100

* Los valores corresponden al índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad, según NTE INEN 2594: 2011-08.

También, fueron encontradas diferencias en los °Brix, entre las formulaciones 1 y 2 con la formulación de 30% de pulpa de fruta, este último tiene un valor superior que los demás, y esto está asociado a que es la bebida que contiene mayor cantidad de pulpa de fruta y la fruta tiene 61% de azúcares totales en base seca, por lo que la bebida elaborada contendrá mayor cantidad de azúcares en su composición [10].

Por su parte, el resto de los parámetros, lactosa en el producto parcialmente deslactosado, latosa en el producto bajo en lactosa y acidez no difieren estadísticamente entre las formulaciones elaboradas. Los criterios de porcentajes de lactosa (tanto en el producto parcialmente deslactosado, como en producto bajo en lactosa) de las tres bebidas presentan valores que cumplen con la norma, pues en todos los casos los resultados obtenidos son inferiores a los límites máximos de lactosa de la norma NTE INEN 2609:2012.

Es importante resaltar que las tres bebidas cumplen todos los parámetros físicos-químicos, pero en el caso de la bebida F3 presentan los mayores valores proteicos a pesar de presentar en su composición, menores cantidades de suero lácteo (70%), por lo que parte de este valor está asociado a la fruta añadida que como plantean [15], posee elevados valores nutricionales (20,6 mg/g en peso seco). Así mismo, la bebida F3 posee los valores menores en cuanto a % de Lactosa (para producto parcialmente deslactosado, como en producto bajo en lactosa), lo que también puede ser un factor importante para la asimilación de la misma.

Al comparar estos resultados con estudios similares se encuentran diferencias principalmente en la acidez, pues los análisis físico-químicos realizados en otros estudios, como Montesdeoca *et al.* obtienen una acidez superior (0,8%) y Brix de 15% en las bebidas elaboradas. Por su parte, *Thakkar et al.* (2018), obtiene 1,71,

pero en este caso se trata de una bebida fermentada y además presenta un 60% de jugo de naranja añadido que también incide en el nivel de acidez (1,42%) [19].

Mientras, Skryplonek *et al.* (2019) en una bebida fermentada elaborada con 50% de lactosuero y 50% de leche y la cepa *Bifidobacterium animalis ssp*. lactis BB-12, la acidez se mantiene en valores cercanos a 0,5 [5].

Por su parte, los criterios microbiológicos evaluados también muestran resultados positivos, pues en todos los casos y parámetros evaluados (Aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*/25 g, Detección de *Listeria monocytogenes*/ 25 g) se encuentran muy por debajo de los límites permisibles. En el caso de los dos últimos, con ausencia de los mismos como rige la norma técnica nacional, para este tipo de bebida.

Los resultados obtenidos están asociados a la calidad de las materias primas empleadas, pues como se mencionó anteriormente, en la evaluación microbiológica el suero de leche cumplía los parámetros. Otro aspecto importante fue que la elaboración se realizó siguiendo las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y cumpliendo las medidas de higiene e inocuidad necesarias para la elaboración de alimentos.

El análisis microbiológico determina el grado de contaminación al que está expuesto el producto en sus diferentes etapas. Al multiplicarse los microorganismos en el alimento, pueden producir cambios en sus características organolépticas y en su pH, lo que se traduce en alteraciones fáciles de constatar, como rancidez, acidez o alcalinización, putrefacción y aparición de manchas en la superficie. Pero puede ser también que el alimento no presente alteración apreciable, y sin embargo estar contaminado, representando así un riesgo para el consumidor.

Evaluación sensorial

Los resultados de la evaluación de la bebida, sobre el color, olor, sabor y textura fueron obtenidos siguiendo la escala hedónica con base en cinco (5) puntos. El Cuadro 5 muestra los resultados obtenidos de las diferentes características organolépticas del producto y las diferencias estadísticas.

En el Cuadro 5 se observan los resultados de la calificación para cada atributo, sobresaliendo la formulación 3 (70% de suero lácteo y 30% de pulpa de copoazú), pues en todos los atributos presenta los valores superiores (entre 4,63-4,93/5), también presenta los mayores rangos con el color (2,90), olor (2,88), sabor (2,98) y textura (2,82). Al analizar las diferencias de los atributos entre las formulaciones, todos (color, olor, sabor y textura) presentan diferencias significativas (Valores de p=0,00). También, los coeficientes de concordancia de Kendall son altos, lo que indica que existe concordancia entre los evaluadores, sobresale el atributo sabor que presenta el valor mayor (0,975), muy cercano a la unidad.

Por su parte, en el Cuadro 6 aparecen los valores de la prueba de los rangos con signo de Wilcoxon, que se

Cuadro 4. Resultados de la caracterización físico-química y microbiológica de las bebidas.

Parámetros/100mL de bebida	F1	F2	F3	Requisitos*
Proteína láctea %	0,9 ± 0.01^{a}	0,84 ±0.00^{b}	0,82 ± 0.01^{b}	>0,4
Grasa, %	0,83 ± 0.00^{a}	0,77 ± 0.01^{b}	0,73 ± 0.01^{b}	
Proteína %	1,59 ± 0.02^{a}	1,6 ± 0.01^{a}	1,63 ± 0.01^{a}	
Lactosa en el producto parcialmente deslactosado	1,2 ± 0.03^{a}	1,2 ± 0.04^{a}	1.05 ± 0.03^{a}	<1,4
Latosa en el producto bajo en lactosa	0,80 ± 0.03^{a}	0,70 ± 0.03^{a}	0,70 ± 0.03^{a}	<0,85
°Brix	7,25 ± 0.06^{b}	7,3 ± 0.06^{b}	7,5 ± 0.03^{a}	
Acidez	0,25 ± 0.02^{a}	0,22 ± 0.01^{a}	0,23 ± 0.01^{a}	
Microbiológicos				
Aerobios mesófilos UFC/mL	<10	< 10	< 10	30000-100000
Escherichia coli UFC/mL	< 1	< 1	< 1	<10
Staphylococcus aureus UFC/mL	< 1	< 1	< 1	<100
Salmonella /25g.	-	-	-	-
Detección de *Listeria monocytogenes*/ 25g	-	-	-	-

* Requisitos NTE INEN 2609:2012
[a b] Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los tratamientos para la prueba ANOVA, Tukey (0,05)

Cuadro 5. Estadísticos descriptivos y resultados de la prueba de Friedman para los atributos sensoriales de las tres formulaciones de la bebida de suero lácteo y pulpa de copoazú.

Código	Calificación para cada atributo (Media, ±DE)			
	Color	Olor	Sabor	Textura
F1	2,83± 0,38	3,03±0,81	1,23±0,77	3,1±1,02
F2	3,4±0,62	3,7±0,47	3,53±0,68	3,4±0,67
F3	4,73±0,45	4,63±0,49	4,93±0,25	4,77±0,50
Prueba de Friedman	**Rango promedio/Suma de los rangos**			
F1	1,23/37	1,28/38,5	1,03/31	1,55/46,5
F2	1,87/56	1,83/55	1,98/59,5	1,63/49
F3	2,90/87	2,88/86,5	2,98/89,5	2,82/84,5
Chi2 Friedman.	49,00	49,56	58,51	35,09
Valor de p (5%)	0,00	0,00	0,00	0,00
Coeficiente de concordancia de Kendall	0,817	0,826	0,975	0,585

realizó para conocer las diferencias del análisis sensorial, entre las formulaciones evaluadas, donde existen diferencias significativas en todos los parámetros analizados, excepto en la textura de las formulaciones 1 y 2 (p=0,17 y z=1,37). La información de las pruebas estadísticas no permite excluir ninguno de los factores en los criterios sensoriales, aunque el sabor muestra los mayores valores de z, y también en las escalas de valoración, anteriormente abordada.

Cuadro 6. Resultados de la Prueba no paramétrica de los rangos con signo de Wilcoxon para los aspectos sensoriales evaluados de las tres formulaciones (p <0,05)

Contraste	Color		Olor		Sabor		Textura	
	Z	p	Z	p	Z	p	Z	p
F1-F2	3,17	0,001	3,41	0.00	4,62	0,00	1,37	0,17
F1-F3	4,78	0,000	4,62	0.00	4,78	0,00	4,32	0,00
F2-F3	4,29	0,000	4,37	0.00	4,70	0,00	4,37	0,00

Este resultado concuerda con otros resultados de análisis organolépticos de bebidas a base de lacto suero. En el caso de Rodríguez *et al.* (2013), la bebida elaborada con cultivo para yogurt y *Lactococcus lactis sub. lactis* y pulpa de Maracuyá el panel

evaluador le confirió una excelente calificación [20]. Mientras, en el estudio de Molero-Méndez *et al.* (2017), las bebidas elaboradas fueron fermentadas y también tuvieron buena aceptación, en todos los parámetros evaluados, y la esencia de coco fue la de mejor valoración [17].

Resultados similares obtuvieron Thakkar *et al*. (2018) con una bebida probiótica funcional formulada (60% Jugo de naranja y 40% suero lácteo), donde la evaluación sensorial del color, sabor y aceptabilidad general fue superior a 8 de 9 puntos posibles en la valoración de la escala hedónica [19]. Igualmente, Montesdeoca *et al.* (2017) evaluaron el grado de aceptación de una bebida láctea fermentada utilizando lactosuero como sustituto parcial de leche y los atributos: apariencia, aroma, sabor, textura y calidad general obtuvieron resultados aceptables (superiores a 5, en una escala de clasificación del 1 al 9) [18].

Adicionalmente, como plantean Ramírez-Navas and Castro [21], discriminar entre un atributo u otro, a partir de pruebas sensoriales no es adecuado, pues las sensaciones que puede experimentar un consumidor al ingerir un producto no se producen por un solo sentido, sino que están involucrados distintos estímulos que actúan como respuesta a la estimulación compleja.

CONCLUSIONES

Se identificaron las etapas del proceso de elaboración de tres formulaciones de bebidas a base de suero de leche, siendo en la etapa de mezclado donde se encuentran las principales diferencias al emplearse concentraciones de copoazú/lactosuero de 10/90%, 20/80% y 30/70%. Las tres formulaciones elaboradas cumplen con todos los los parámetros físicos químicos y microbiológicos establecidos en la norma NTE INEN 2609:2012, para bebidas de suero leche. La formulación de mayor aceptación según los resultados estadísticos de la evaluación sensorial fue la bebida de 70% de lactosuero y 30% de copoazú, siendo el sabor, el factor de mayor puntuación de los cuatro evaluados. Todas las bebidas elaboradas pre-

sentan porcentajes proteicos muy superiores a los requerimientos para bebidas lácteas, por lo que se considera que es posible brindar al consumidor una bebida con importantes características nutricionales.

REFERENCIAS

[1] SILVA E ALVES, A.T. *et al*. Probiotic Functional Carbonated Whey Beverages: Development and Quality Evaluation, 4(3), 2018, p. 49.

[2] AHMAD, T. *et al*. Treatment and utilization of dairy industrial waste: A review. Trends in Food Science and Technology, 882019, p. 361-372. doi: 10.1016/j.tifs.2019.04.003.

[3] GANJU, S. and GOGATE, P.R. A review on approaches for efficient recovery of whey proteins from dairy industry effluents. Journal of Food Engineering, 2152017, p. 84-96. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2017.07.021.

[4] ARSIC, S. *et al*. Economic and ecological profitability of the use of whey in dairy and food industry. Large Animal Review, 24(3), 2018, p. 99-105.

[5] SKRYPLONEK, K., DMYTRÓW, I. and MITUNIEWICZ-MAŁEK, A. Probiotic fermented beverages based on acid whey. Journal of Dairy Science, 102(9), 2019, p. 7773-7780. doi: 10.3168/jds.2019-16385.

[6] CAPPATO, L.P. *et al*. Whey acerola-flavoured drink submitted ohmic heating processing: Is there an optimal combination of the operational parameters? Food chemistry, 2452018, p. 22-28. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.10.019.

[7] SIQUEIRA, A.D.M.O., MACHADO, E.D.C.L. and STAMFORD, T.L.M. Bebidas lácteas com soro de queijo e frutas. Ciência Rural, 43(9), 2013, p. 1693-1700.

[8] AMARAL, G.V. *et al*. Whey-grape juice drink processed by supercritical carbon dioxide technology: Physicochemical characteristics, bioactive compounds and volatile profile. Food Chemistry, 2392018, p. 697-703. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.07.003.

[9] AMARAL, G.V. *et al*. Whey-grape juice drink processed by supercritical carbon dioxide technology: Physical properties and sensory acceptance. LWT- Food Science and Technology, 922018, p. 80-86. doi: 10.1016/j.lwt.2018.02.005.

[10] VRIESMANN, L.C. and. DE OLIVEIRA PETKOWICZ, C.L. Polysaccharides from the pulp of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*): Structural characterization of a pectic fraction, Journal of Carbohydrate and Polymers, 77(1), 2009, p. 72-79. doi: 10.1016/j.carbpol.2008.12.007.

[11] PEREIRA, A.L.F. *et al*. Impact of fermentation conditions on the quality and sensory properties of a probiotic cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) beverage. Food Research International, 1002017, p. 603-611. doi: 10.1016/j.foodres.2017.07.055.

[12] PUGLIESE, A.G. *et al*. Flavonoids, proanthocyanidins, vitamin C, and antioxidant activity of *Theobroma grandiflorum* (Cupuassu) pulp and seeds. Journal of agricultural food chemistry, 61(11), 2013, p. 2720-2728. doi: 10.1021/jf304349u.

[13] COSTA, M.P. *et al*. Consumer perception, health information, and instrumental parameters of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) goat milk yogurts. Journal of dairy science, 100(1), 2017, p. 157-168. doi: 10.3168/jds.2016-11315.

[14] FABER, M.A. and OSAKI YUYAMA, L.K. Nectar mix functional based on Amazonian fruits. Journal of Cell Science Therapy, 6(1), 2015, p. 1.

[15] PÉREZ-MORA, W., JORRIN-NOVO, J.V. and MELGAREJO, L.M. Substantial equivalence analysis in fruits from three Theobroma species through chemical composition and protein profiling. Food chemistry, 2402018, p. 496-504. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.07.128.

[16] CHAVAN, M. *et al*. Development of non-dairy fermented probiotic drink based on germinated and ungerminated cereals and legume. LWT - Food Science and Technology, 912018, p. 339-344. doi: 10.1016/j.lwt.2018.01.070.

[17] MOLERO-MÉNDEZ, M.S. *et al*. Sensory evaluation of probiotic fermented beverges based on whey. Revista Cientifica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia, 27(2), 2017, p. 70-77.

[18] MONTESDEOCA, R. *et al*. Production procedure of a fermented milky drink using lactosuero. Revista Chilena de Nutricion, 44(1), 2017, p. 39-44. doi: 10.4067/S0717-75182017000100006.

[19] THAKKAR, P. *et al*. Formulation and shelf life study of a whey-based functional beverage containing orange juice and probiotic organisms. International Food Research Journal, 25(4), 2018, p. 1675-1681.

[20] RODRÍGUEZ, A.P.M., DE PAULA, C.D. and SOTELO, M.M.S. Fermented milk drink from cheese whey with added passion fruit pulp. Revista Tecnica de la Facultad de Ingenieria Universidad del Zulia, 36(3), 2013, p. 202-209.
[21] RAMÍREZ-NAVAS, J.S. and CASTRO, V. Analysis of acceptance and preference of Manjar Blanco del Valle. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 12(1), 2014, p. 20-27.

BIOTECNOLOGÍA
EN EL SECTOR AGROPECUARIO
Y AGROINDUSTRIAL

· ÍNDICE DE AUTORES ·

Vol. 18 No 2 · Julio - Diciembre 2020 · ISSN - 1692-3561 · ISSN-e 1909-9959 · DOI: http://dx.doi.org/10.18684

ÍNDICE DE AUTORES

Vol 18 No. 1 Enero - Junio 2020
Vol 18 No. 2 Julio – Diciembre de 2020

A

Agudelo-Martínez Paola
ANÁLISIS DE GENOTOXICIDAD POR PRESENCIA FORMULACIÓN Y EVALUACIÓN FISICOQUÍMICA DE JUGO DE MORA(RUBUS GLAUCUS BENTH) ENRIQUECIDO CON CALCIO Y VITAMINA C // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 1, p. 56 – 63.

Angulo-Arizala Joaquín
DESARROLLO DE NOVILLAS BON X CEBÚ EN UN SILVOPASTORIL DE TITHONIA DIVERSIFOLIA, EN ANTIOQUIA, COLOMBIA // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 48-59.

Argüello-Rangel Jeraldyn
DESARROLLO DE NOVILLAS BON X CEBÚ EN UN SILVOPASTORIL DE TITHONIA DIVERSIFOLIA, EN ANTIOQUIA, COLOMBIA // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 48-59.

Acosta-Tova Darwin Fernando
TRANSFORMACIÓN ELECTROQUÍMICA DE UN ANDISOL EN RELACIÓN CON LA DINÁMICA DEL FÓSFORO // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 94-102.

Abad-Basantes Cristian Augusto
ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA A BASE DE SUERO LÁCTEO Y PULPA DE THEOBROMA GRANDIFLORUM // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 166-175.

B

Bernal-Martínez Alicia Alejandra
CARACTERIZACIÓN DEL EPICARPIO DE GUAYABA (PSIDIUM GUAJAVA L.) COMO ALTERNATIVA NATURAL PARA USO EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS PROCESADOS // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 26-36.

Bohórquez-Masmela Israel Alberto
EFECTO DEL PERIODO DE RECUPERACIÓN EN LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD NUTRICIONAL DE ALGUNAS ESPECIES FORRAJERAS // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 135-144.

Betancur-López James
CLONACIÓN DEL CDNA CODIFICANTE DE LAS SUBUNIDADES DE LA GONADOTROPINA LUTEINIZANTE DE PIMELODUS GROSSKOPFII // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 37-47.

C

Cardona-Castaño Julio Andrés
ESTUDIO DE LOS PARÁMETROS DE EXTRACCIÓN DE ACRILAMIDA EN SNACK DE PAPA (SOLANUM TUBEROSUM) EN COLOMBIA // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 1, p. 25 – 34.

Castellanos-Galeano Francisco Javier
ESTUDIO DE LOS PARÁMETROS DE EXTRACCIÓN DE ACRILAMIDA EN SNACK DE PAPA (SOLANUM TUBEROSUM) EN COLOMBIA // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 1, p. 25 – 34.

Camacho-Torres Yenny Maritza
TRANSFORMACIÓN ELECTROQUÍMICA DE UN ANDISOL EN RELACIÓN CON LA DINÁMICA DEL FÓSFORO// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 94-102.

Cortés Rodríguez -Misael
DISCRIMINATIVE AND DESCRIPTIVE SENSORY ANALYSIS OF GUACAMOLE DRESSING MADE FROM “HASS” AVOCADO POWDER // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 117-126.

Cortés-Rodríguez, Misael
DISCRIMINATIVE AND DESCRIPTIVE SENSORY ANALYSIS OF GUACAMOLE DRESSING MADE FROM “HASS” AVOCADO POWDER // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 117-126.

CH

Chuquilín-Goicochea Roberto Carlos
EVALUACIÓN FISICOQUÍMICA Y SENSORIAL DE MOLLEJAS DE POLLO (GALLUS GALLUS) AL SILLAO ENLATADAS)// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 1, p. 35 – 45.

Chávez-Velásquez Carlos
EFECTO DEL SUMINISTRO IN VIVO DE LACTOBACILLUS CASEI EN LA ALIMENTACIÓN DE CAVIA PORCELLUS // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 156-165

F

Fontalvo -Gómez Miriam
HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DEL ACEITE DE BACTRIS GUINEENSIS CON FRACCIONES DEL LÁTEX DE CARICA PAPAYA: ESTUDIO DEL EFECTO DE LA TEMPERATURA, PH Y CONCENTRACIÓN DEL SUSTRATO // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 70-81

Fajardo-Argoti Catalina
ADICIÓN DE LACTOBACILLUS PLANTARUM MICROENCAPSULADO SOBRE PARÁMETROS INTESTINALES, INMUNES, PRODUCTIVOS Y BIOQUÍMICA SANGUÍNEA EN POLLOS // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 1, p. 14 – 24.

Flórez María Fernanda
CLONACIÓN DEL CDNA CODIFICANTE DE LAS SUBUNIDADES DE LA GONADOTROPINA LUTEINIZANTE DE PIMELODUS GROSSKOPFII // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 37-47.

Fonseca-López Dania
EFECTO DEL PERIODO DE RECUPERACIÓN EN LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD NUTRICIONAL DE ALGUNAS ESPECIES FORRAJERAS // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 135-144

G

Grisales-Muñoz Connie Mitchelle
ANÁLISIS COMPOSICIONAL DE LA PUPA DE GUSANO DE SEDA (BOMBYX MORI L.)// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 126-134.

H

Hernández-Herrera Darwin
PRODUCCIÓN DE EMBRIONES TRANSGÉNICOS BOVINOS POR MICROINYECCIÓN DE UN VECTOR LENTIVIRAL PRE Y POS FERTILIZACIÓN // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No1 p. 64 –73.

Hoyos-Yela Nesly
EFECTO MICROBIOLÓGICO DE RECUBRIMIENTO MODIFICADO POR VÍA ÁCIDA SOBRE EL TOMATE LARGA VIDA // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No2 p. 145-155.

Hleap-Zapata José Igor
CARACTERIZACIÓN DEL EPICARPIO DE GUAYABA (PSIDIUM GUAJAVA L.) COMO ALTERNATIVA NATURAL PARA USO EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS PROCESADOS // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 26-36.

I

Iranda-Jara Angélica Ysabel
EVALUACIÓN FISICOQUÍMICA Y SENSORIAL DE MOLLEJAS DE POLLO (GALLUS GALLUS) AL SILLAO ENLATADAS// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 1, p. 35 –45.

J

Jurado-Gámez Henry
EFECTO DEL SUMINISTRO IN VIVO DE LACTOBACILLUS CASEI EN LA ALIMENTACIÓN DE CAVIA PORCELLUS // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 156-165.

ADICIÓN DE LACTOBACILLUS PLANTARUM MICROENCAPSULADO SOBRE PARÁMETROS INTESTINALES, INMUNES, PRODUCTIVOS Y BIOQUÍMICA SANGUÍNEA EN POLLOS. // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 1, p. 14 – 24

K

Klotz-Ceberio Bernadette
EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIFÚNGICO DE METABOLITOS DE CULTIVOS BIOPROTECTORES: APLICACIÓN EN DERIVADOS LÁCTEOS // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 15-25.

L

Luna-Ramírez Julio
FORMULACIÓN Y EVALUACIÓN FISICOQUÍMICA DE JUGO DE MORA(RUBUS GLAUCUS BENTH) ENRIQUECIDO CON CALCIO Y VITAMINA C // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 1, p. 56 – 63.

López-Díaz Claudia Marcela
MICROPROPAGATION OF GYNERIUM SAGITATUM AUBL. CVS "CRIOLLA, "COSTERA" AND"-MARTINERA" // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 60-69.

López-Barón Camilo Andrés
TRANSFORMACIÓN ELECTROQUÍMICA DE UN ANDISOL EN RELACIÓN CON LA DINÁMICA DEL FÓSFORO // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 94-102.

López-Molina Fredy Javier
ANÁLISIS COMPOSICIONAL DE LA PUPA DE GUSANO DE SEDA (BOMBYX MORI L.)// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 126-134.

M

Miranda-Chávez Helí
EVALUACIÓN FISICOQUÍMICA Y SENSORIAL DE MOLLEJAS DE POLLO (GALLUS GALLUS) AL SILLAO ENLATADAS // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 1, p. 35 – 45.

Morillo-Coronado Ana Cruz
EVALUACIÓN MORFOAGRONÓMICA DE 19 MATERIALE DE CHENOPODIUM QUINOA EN EL DEPARTAMENTO DE BOYACÁ // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 1, p. 84 – 96.

Manjarres-Hernández Elsa Helena
EVALUACIÓN MORFOAGRONÓMICA DE 19 MATERIALE DE CHENOPODIUM QUINOA EN EL DEPARTAMENTO DE BOYACÁ // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 1, p. 84 – 96.

Morillo Coronado Coronado
EVALUACIÓN MORFOAGRONÓMICA DE 19 MATERIALE DE CHENOPODIUM QUINOA EN EL DEPARTAMENTO DE BOYACÁ // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 1, p. 84 – 96.

Montoya López Andrés
CLONACIÓN DEL CDNA CODIFICANTE DE LAS SUBUNIDADES DE LA GONADOTROPINA LUTEINIZANTE DE PIMELODUS GROSSKOPFII // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 37-47.

Mahecha-Ledesma Liliana
DESARROLLO DE NOVILLAS BON X CEBÚ EN UN SILVOPASTORIL DE TITHONIA DIVERSIFOLIA, EN ANTIOQUIA, COLOMBIA // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 48-59.

Mendoza-Meza Dary
HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DEL ACEITE DE BACTRIS GUINEENSIS CON FRACCIONES DEL LÁTEX DE CARICA PAPAYA: ESTUDIO DEL EFECTO DE LA TEMPERATURA, PH Y CONCENTRACIÓN DEL SUSTRATO // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 70-81.

Morillo-Coronado Ana
CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA DE CEBADA (HORDEUM VULGARE L.) EN EL MUNICIPIO DE CHIVATÁ BOYACÁ, COLOMBIA // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 103-116.

Mosquera-Sánchez Silvio Andrés
EFECTO MICROBIOLÓGICO DE RECUBRIMIENTO MODIFICADO POR VÍA ÁCIDA SOBRE EL TOMATE LARGA VIDA // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 145-155

P

Patiño-Arias Lina Paola
ESTUDIO DE LOS PARÁMETROS DE EXTRACCIÓN DE ACRILAMIDA EN SNACK DE PAPA (SOLANUM TUBEROSUM) EN COLOMBIA // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 1, p. 25 – 34.

Pérez Jair
PRODUCCIÓN DE EMBRIONES TRANSGÉNICOS BOVINOS POR MICROINYECCIÓN DE UN VECTOR LENTIVIRAL PRE Y POS FERTILIZACIÓN // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 1, p. 64 – 73.

Pérez-O´Brien Ana María
CLONACIÓN DEL CDNA CODIFICANTE DE LAS SUBUNIDADES DE LA GONADOTROPINA LUTEINIZANTE DE PIMELODUS GROSSKOPFII // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 37-47.

Pérez-Abdala Carlos Alfredo
MICROPROPAGATION OF GYNERIUM SAGITATUM AUBL. CVS "CRIOLLA, "COSTERA" AND"-MARTINERA"// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 60-69.

Palacio-Valencia Anderson Enrique
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE E INFLUENCIA DEL PERIODO CLIMÁTICO SOBRE EL CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES EN MERREMIA AEGYPTIA // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 82-93

Pérez-Imbachí Rocío
EFECTO MICROBIOLÓGICO DE RECUBRIMIENTO MODIFICADO POR VÍA ÁCIDA SOBRE EL TOMATE LARGA VIDA // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 145-155

Pérez-Martínez Amaury
ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA A BASE DE SUERO LÁCTEO Y PULPA DE THEOBROMA GRANDIFLORUM // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 165-175.

Paz-Peña Sandra Patricia
EFECTO MICROBIOLÓGICO DE RECUBRIMIENTO MODIFICADO POR VÍA ÁCIDA SOBRE EL TOMATE LARGA VIDA // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 145-155

O

Rafael Otero-Arroyo
PRODUCCIÓN DE EMBRIONES TRANSGÉNICOS BOVINOS POR MICROINYECCIÓN DE UN VECTOR LENTIVIRAL PRE Y POS FERTILIZACIÓN // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 1, p. 64 – 73.

Olivares-Tenorio Mary Luz
EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIFÚNGICO DE METABOLITOS DE CULTIVOS BIOPROTECTORES: APLICACIÓN EN DERIVADOS LÁCTEOS // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 15-25.

Ordóñez-Santos Luis Eduardo
CARACTERIZACIÓN DEL EPICARPIO DE GUAYABA (PSIDIUM GUAJAVA L.) COMO ALTERNATIVA NATURAL PARA USO EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS PROCESADOS // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 26-36.

Orrego Vargas Francy Stephanie
DISCRIMINATIVE AND DESCRIPTIVE SENSORY ANALYSIS OF GUACAMOLE DRESSING MADE FROM "HASS" AVOCADO POWDER // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 117-125.

Q

Quintero Castaño Víctor
FORMULACIÓN Y EVALUACIÓN FISICOQUÍMICA DE JUGO DE MORA(RUBUS GLAUCUS BENTH) ENRIQUECIDO CON CALCIO Y VITAMINA C // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 1, p. 35 – 45.

R

Rodríguez-Molano Carlos Eduardo
EFECTO DEL PERIODO DE RECUPERACIÓN EN LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD NUTRICIONAL DE ALGUNAS ESPECIES FORRAJERAS // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 135-144.

Rodríguez Basantes Adriana Isabel
ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA A BASE DE SUERO LÁCTEO Y PULPA DE THEOBROMA GRANDIFLORUM // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 165-175.

S

Suárez-Padrón Isidro Elías
MICROPROPAGATION OF GYNERIUM SAGITATUM AUBL. CVS "CRIOLLA, "COSTERA" AND"-MARTINERA"// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 60-69.

Salgado-Chávez José Alberto
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE E INFLUENCIA DEL PERIODO CLIMÁTICO SOBRE EL CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES EN MERREMIA AEGYPTIA // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 82-93.

Serrano Pablo
TRANSFORMACIÓN ELECTROQUÍMICA DE UN ANDISOL EN RELACIÓN CON LA DINÁMICA DEL FÓSFORO // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 94-102.

Sana-Pulido William
CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA DE CEBADA (HORDEUM VULGARE L.) EN EL MUNICIPIO DE CHIVATÁ BOYACÁ, COLOMBIA / En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 103-116.

Diéguez-Santa Karel
ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA A BASE DE SUERO LÁCTEO Y PULPA DE THEOBROMA GRANDIFLORUM / En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 166-175.

T

Torres Oquendo Juan Diego
DISCRIMINATIVE AND DESCRIPTIVE SENSORY ANALYSIS OF GUACAMOLE DRESSING MADE FROM "HASS" AVOCADO POWDER / En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 117-125.

U

Urquijo-Rodríguez Milena
HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DEL ACEITE DE BACTRIS GUINEENSIS CON FRACCIONES DEL LÁTEX DE CARICA PAPAYA: ESTUDIO DEL EFECTO DE LA TEMPERATURA, PH Y CONCENTRACIÓN DEL SUSTRATO // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 70-81.

V

Velasco-Arango Viviana Andrea
CARACTERIZACIÓN DEL EPICARPIO DE GUAYABA (PSIDIUM GUAJAVA L.) COMO ALTERNATIVA NATURAL PARA USO EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS PROCESADOS // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 26-36.

Vasquez-Araque Neil
CLONACIÓN DEL CDNA CODIFICANTE DE LAS SUBUNIDADES DE LA GONADOTROPINA LUTEINIZANTE DE PIMELODUS GROSSKOPFII // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 37-47.

Veloso-de Paula Ariela
HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DEL ACEITE DE BACTRIS GUINEENSIS CON FRACCIONES DEL LÁTEX DE CARICA PAPAYA: ESTUDIO DEL EFECTO // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 70-81.

Valero-Valero Nelson Osvaldo
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE E INFLUENCIA DEL PERIODO CLIMÁTICO SOBRE EL CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES EN MERREMIA AEGYPTIA // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 82-93.

Velasco- Laiton Yurani
CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA DE CEBADA (HORDEUM VULGARE L.) EN EL MUNICIPIO DE CHIVATÁ BOYACÁ, COLOMBIA // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 103-116

Vivas Quila Nelson José
EFECTO DEL PERIODO DE RECUPERACIÓN EN LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD NUTRICIONAL DE ALGUNAS ESPECIES FORRAJERAS // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 135-144.

Z

Zambrano-Mora Edward
ADICIÓN DE LACTOBACILLUS PLANTARUM MICROENCAPSULADO SOBRE PARÁMETROS INTESTINALES, INMUNES, PRODUCTIVOS Y BIOQUÍMICA SANGUÍNEA EN POLLOS // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 1, p. 14– 24

EFECTO DEL SUMINISTRO IN VIVO DE LACTOBACILLUS CASEI EN LA ALIMENTACIÓN DE CAVIA PORCELLUS/En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p. 156-165

BIOTECNOLOGÍA
EN EL SECTOR AGROPECUARIO
Y AGROINDUSTRIAL

· ÍNDICE TEMÁTICO ·

Vol. 18 No 2 · Julio - Diciembre 2020 · ISSN - 1692-3561 · ISSN-e 1909-9959 · DOI: http://dx.doi.org/10.18684

ÍNDICE TEMÁTICO

Volumen 18, No 1 (Enero – junio de 2020)
Volumen 18, No 2 (Julio – Diciembre de 2020)

AGROINDUSTRIA

- ESTUDIO DE LOS PARÁMETROS DE EXTRACCIÓN DE ACRILAMIDA EN SNACK DE PAPA (SOLANUM TUBEROSUM) EN COLOMBIA / Lina Paola Patiño-Arias, Julio Andrés Cardona-Castaño, Francisco Javier Castellanos-Galeano // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 18 No 1, p.25-34.
- EVALUACIÓN FISICOQUÍMICA Y SENSORIAL DE MOLLEJAS DE POLLO (*GALLUS GALLUS*) AL SILLAO ENLATADAS / Angélica Ysabel Iranda-Jara, Alcibíades Helí Miranda-Chávez, Roberto Carlos Chuquilín-Goicochea// En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 1, p.35-45.
- FORMULACIÓN Y EVALUACIÓN FISICOQUÍMICA DE JUGO DE MORA(RUBUS GLAUCUS BENTH) ENRIQUECIDO CON CALCIO Y VITAMINA C/ Paola . Agudelo-Martínez, Julio Luna-Ramírez, Víctor Quintero Castaño// En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 1, p.56-63.
- CARACTERIZACIÓN DEL EPICARPIO DE GUAYABA (PSIDIUM GUAJAVA L.) COMO ALTERNATIVA NATURAL PARA USO EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS PROCESADOS // Viviana Andrea Velasco-Arango, Alicia Alejandra Bernal-Martínez, Luis Eduardo Ordóñez-Santos, José Igor Hleap-Zapata // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No2, p.XX-XX.
- HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DEL ACEITE DE BACTRIS GUINEENSIS CON FRACCIONES DEL LÁTEX DE CARICA PAPAYA: ESTUDIO DEL EFECTO DE LA TEMPERATURA, PH Y CONCENTRACIÓN DEL SUSTRATO // Milena Urquijo-Rodríguez, Miriam Fontalvo-Gómez, Ariela Veloso-de Paula , Dary Mendoza-meza // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p.XX-XX
- DISCRIMINATIVE AND DESCRIPTIVE SENSORY ANALYSIS OF GUACAMOLE DRESSING MADE FROM “HASS” AVOCADO POWDER // Misael-Cortés Rodríguez, Francy Stephanie-Orrego Vargas, Juan Diego-Torres Oquendo. // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p.XX-XX.
- EFECTO MICROBIOLÓGICO DE RECUBRIMIENTO MODIFICADO POR VÍA ÁCIDA SOBRE EL TOMATE LARGA VIDA // Nesly Hoyos-Yela, Rocío Pérez-Imbachí, Silvio Andrés Mosquera-Sánchez Sandra Patricia Paz-Peña. // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p.XX-XX.
- ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA A BASE DE SUERO LÁCTEO Y PULPA DE THEOBROMA GRANDIFLORUM // Adriana Isabel Rodríguez Basantes, Cristian Augusto Abad-Basantes, Amaury Pérez-Martínez, Karel Diéguez-Santana. // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p.XX-XX

AGRÍCOLA

- EVALUACIÓN MORFOAGRONÓMICA DE 19 MATERIALE DE CHENOPODIUM QUINOA EN EL DEPARTAMENTO DE BOYACÁ / Ana Cruz Morillo-Coronado, Elsa Helena Manjarres-Hernández, Yacenia Morillo-Coronado// En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 1, p.84-96.
- MICROPROPAGATION OF GYNERIUM SAGITATUM AUBL. CVS "CRIOLLA, "COSTERA" AND"-MARTINERA" // Isidro Elizas, Suárez-Padrón, Carlos Alfredo, Pérez-Abdala, Claudia Marcela, López-Díaz // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p.XX-XX
- ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE E INFLUENCIA DEL PERIODO CLIMÁTICO SOBRE EL CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES EN MERREMIA AEGYPTIA // José Alberto Salgado-Chávez, Anderson enrique palacio-valencia, Nelson Osvaldo Valero-Valero. // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No2, p.XX-XX.
- TRANSFORMACIÓN ELECTROQUÍMICA DE UN ANDISOL EN RELACIÓN CON LA DINÁMICA DEL FÓSFORO // Darwin Fernando Acosta-Tova, Yenny Maritza Camacho-Torres, Camilo Andrés López-Barón, Pablo Serrano German Eduardo Cely-Reyes. // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p.XX-XX.
- CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA DE CEBADA (HORDEUM VULGARE L.) EN EL MUNICIPIO DE CHIVATÁ BOYACÁ, COLOMBIA // Yurani Velasco-Laiton, William Sana-Pulido, Ana Morillo-Coronado. // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p.XX-XX.

BIOTECNOLOGÍA

- EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIFÚNGICO DE METABOLITOS DE CULTIVOS BIOPROTECTORES: APLICACIÓN EN DERIVADOS LÁCTEOS / Mary Luz Olivares-Tenorio, Bernadette Klotz-Ceberio // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p.XX-XX.
- PRODUCCIÓN DE EMBRIONES TRANSGÉNICOS BOVINOS POR MICROINYECCIÓN DE UN VECTOR LENTIVIRAL PRE Y POS FERTILIZACIÓN. / Rafael Otero-Arroyo, Darwin Hernández-Herrera, Jair Pérez// En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 1, p.64-73.

PECUARIO

- CLONACIÓN DEL CDNA CODIFICANTE DE LAS SUBUNIDADES DE LA GONADOTROPINA LUTEINIZANTE DE PIMELODUS GROSSKOPFII. // James Betancur-López, María Fernanda Flórez, Ana María Pérez-O´Brien, Neil Vasquez-Araque, Andrés Montoya-López // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No2, p.XX-XX.
- DESARROLLO DE NOVILLAS BON X CEBÚ EN UN SILVOPASTORIL DE TITHONIA DIVERSIFOLIA, EN ANTIOQUIA, COLOMBIA // Jeraldyn Argüello-Rangel, Liliana Mahecha-Ledesma, Joaquín Angulo-Arizala // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p.XX-XX.
- ANÁLISIS COMPOSICIONAL DE LA PUPA DE GUSANO DE SEDA (BOMBYX MORI L.) // Connie Mitchelle Grisales-Muñoz, Fredy Javier López-molina. // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p.XX-XX.
- EFECTO DEL PERIODO DE RECUPERACIÓN EN LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD NUTRICIONAL DE ALGUNAS ESPECIES FORRAJERAS // Dania Fonseca-López, Carlos Eduardo Rodríguez-Molano, Nelson José Vivas-Quila, Israel Alberto Bohórquez-Masmela. // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p.XX-XX.
- EFECTO DEL SUMINISTRO IN VIVO DE LACTOBACILLUS CASEI EN LA ALIMENTACIÓN DE CAVIA PORCELLUS // Henry Jurado-Gámez, Edward Zambrano-Mora, Carlos Chávez-Velásquez.// En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 18 No 2, p.XX-XX.
- ADICIÓN DE *LACTOBACILLUS PLANTARUM* MICROENCAPSULADO SOBRE PARÁMETROS INTESTINALES, INMUNES, PRODUCTIVOS Y BIOQUÍMICA SANGUÍNEA EN POLLOS / Henry Jurado-Gámez, Edward Zambrano-Mora,Catalina Fajardo-Argoti // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 18 No 1, p.14-24.