



**INIA**  
INSTITUTO NACIONAL  
DE INVESTIGACIONES  
AGRÍCOLAS

AÑO 2018 · VOL.68 · NUM.1-2

# AGRONOMÍA TROPICAL



ISSN versión digital: 2542-3363 Depósito Legal: AR2017000075  
ISSN versión impresa: 0002-192X Depósito Legal: pp 195102AR73

**AGRONOMÍA TROPICAL** publica trabajos en las siguientes áreas temáticas: recursos fitogenéticos, fitomejoramiento, protección vegetal, bioecología, botánica, edafología, fertilidad de suelos, nutrición, recursos naturales, ambiente, agroecología, biotecnología agrícola vegetal, tecnología de alimentos, ingeniería agrícola, postcosecha, agroindustria, cadenas agroalimentarias, sistemas de producción agrícola vegetal, economía agrícola, desarrollo rural, agroforestería, investigaciones básicas y aplicadas en agroecosistemas de cultivos y demás temas afines al desarrollo agrícola.

Correo electrónico  
agronomia.tropical.inia@gmail.com

Teléfono  
+58-243-2404766

### Comite Editorial

Ligia Carolina Rosales Editor Jefe  
Oralys León Brito Editor Asistente

### Editores Asociados

Ezequiel Rangel  
Sección Tecnologías Agrícolas y Bioinformática  
Ramón Silva-Acuña  
Sección Fitopatología  
Oralys León-Brito  
Sección Mejoramiento Genético y Semillas  
Rafael Montilla  
Sección Biodiversidad y Protección Vegetal  
Renny Barrios  
Sección Fertilidad y Manejo de Suelos

Ana Beatriz Briceño  
Eva Candelo  
Carlos Ramos

Diagramación  
Apoyo Administrativo  
Diseño de Portada

### Miembros Fundadores

|                     |                |
|---------------------|----------------|
| Luis Medina         | Fonaiap Ceniap |
| Bruno Mazzani       | Fonaiap Ceniap |
| Wasilik Ilijin      | Fonaiap Ceniap |
| Rafael Pontis       | Fonaiap Ceniap |
| Jesus Silva Calvo   | Fonaiap Ceniap |
| Gino Malagutti      | Fonaiap Ceniap |
| Guisepppe Ravanello | Fonaiap Ceniap |
| Luis Salas          | Fonaiap Ceniap |
| Salomon Horovitz    | Fonaiap Ceniap |
| Pedro Obregon       | Fonaiap Ceniap |
| Dora M. de Zerpa    | UCV Agronomía  |

### Consejo Asesor

|                         |                |
|-------------------------|----------------|
| Julia Gilabert de Brito | INIA Venezuela |
| Carlos Hidalgo          | INIA Venezuela |
| Ada Maureen Medina      | UCV Venezuela  |
| Morela Fuchs            | INIA Venezuela |
| Ramón Silva Acuña       | INIA Venezuela |
| Jesus Mendez            | UDO Venezuela  |
| Osmar Quijada           | INIA Venezuela |

### Indización

IICA- CIDIA (Costa Rica)  
Royal Tropic Institute (Holanda)  
AGRIS (FAO, Roma)  
LATINDEX (México)  
Índice de Revistas (México)  
REVENCYT (Venezuela)  
Base de Datos REVIS (CATIE, Costa Rica)  
Base de Datos RISPAL (CATIE, Costa Rica)  
Base Agrícola Venezolana (INIA, Venezuela)  
SciELO (Venezuela)  
HINARI (FAO, Italia)

### INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS

|                   |   |
|-------------------|---|
| Giomar Blanco     | Presidente  |
| Deisy Carvajal    | Gerente General                                   |
| Nohelia Rodríguez | Gerente de Investigación                          |
| Carlos Hernández  | Gerente de Producción Social                      |
| Nicolas García    | Gerente de Participación y Desarrollo Comunitario |

Editada por la Gerencia de Investigación  
Coordinación del Área de Gestión  
de la Información  
del INIA. Maracay, Venezuela.

# **AGRONOMÍA TROPICAL**

**Revista científica del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas,  
Ministerio del Poder Popular para la Agricultura Productiva y Tierras  
Maracay, Venezuela**



***In Memoriam***

**Efraín Gerardo Salazar Yamarte**

**(22/03/1963 – 11/04/2018)**

Nació en la ciudad de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. Hijo de Onell Salazar y Teresa Yamarte de Salazar. Tuvo cuatro hermanas: Onelsys, Clerys, Janeth y Carmen. Hizo estudios de primaria en su tierra natal y tiempo después, su familia se traslada a Maracay, estado Aragua, donde realizó estudios de bachillerato en el Colegio “San José”, obteniendo el título de Bachiller en Ciencias.

Sigue estudios en la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela (FAGRO-UCV) y en 1985 logra el título de Ingeniero Agrónomo. En 1986, ingresó a trabajar en el Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias (FONAIAP - actual INIA).

En 1988 fue enviado a realizar postgrado a Ohio State University (USA) donde se titula con un *Magister Scientiarum* en Biotecnología y Horticultura. Culmina su formación académica en 2014 al recibir de la Escuela Socialista de Agricultura Tropical (ESAT), el título de Doctor en Biotecnología Agrícola, mención Vegetal.

Su desempeño profesional lo desarrolló en la Unidad de Biotecnología Vegetal del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP) del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). Se desempeñó como Investigador en las diversas áreas relacionadas a la Biotecnología Vegetal lo que le permitió coordinar diversos proyectos de investigaciones nacionales e internacionales principalmente en los cultivos de frutales, musáceas, raíces y tubérculos.

Efraín tuvo un don especial para la docencia, el cual pudo desarrollar ampliamente como profesor en varias instituciones tales como: la ESAT; el Instituto Universitario de Tecnología Antonio Ricaurte



(IUTAR); la Universidad Politécnica de las Fuerzas Armadas (UNEFA); la Escuela Superior de Oficiales de la Fuerza Armada Nacional Bolivariana, componente Aviación; y FAGRO – UCV, dictando las materias de Morfología Vegetal, Bioquímica, Gerencia Ambiental, Genómica y Proyecto de tesis, entre otras.

En todas las instituciones educativas, gozó del aprecio y estima de sus alumnos, quienes en su mayoría admiraron su estilo de dar clases, las cuales, se permitía enriquecer con diversos contenidos del acervo universal. Sembró en los niños de educación primaria de muchas escuelas del país, el interés por la ciencia, con el programa La Biotecnología va a la Escuela.

Así mismo, dominó varios idiomas: inglés, francés, chino y lengua en señas, lo que le permitió desempeñarse como representante técnico de Venezuela ante distintas organizaciones internacionales relacionadas con las ciencias del agro, tales como OIEA, REDBIO, FAO, BID-FONACIT II, Convenio Belarús y Convenio China. Fue miembro de las Juntas Directivas de la Sociedad Venezolana de Genética y de REDBIO/Venezuela. Mantuvo vínculos activos con todas las universidades de Venezuela, así como con diversos entes gubernamentales y empresas agroalimentarias. Participó como ponente en 108 eventos científicos. Contribuyó con su autoría en 66 publicaciones nacionales y 21 internacionales.

Como editor asociado en el área de Biotecnología de la revista Agronomía Tropical, participó activamente en la revisión técnica de artículos científicos.

Sin dudas su faceta profesional fue destacada, así como fue intensa, su dimensión humana... ¡Fue una persona polifacética e incansable!... Padre dedicado y consentidor de sus hijos Gabriel y Andrea... promotor de la vida familiar y del compartir con los amigos...

Lector incansable de múltiples temáticas. Amante del canto coral, perteneció en distintos momentos de su vida a las agrupaciones corales: Coral INIA; Voces Oscuras INIA; Coral IUTAR y Coral *Vocibus Pax*, donde destacó por sus variadas y amenas interpretaciones.

Disfrutaba al máximo y sin apuros de una buena conversación, cocinar para sus amigos y de cuidar sus plantas. Escritor de blogs, textos humorísticos y obras de teatro, deja un legado profesional y personal, que nos permitirá seguir conociéndolo aún en su ausencia.

Su muerte inesperada, enluta a la comunidad científica y deja un gran vacío en su familia, colegas, alumnos y amigos... Efraín, no estás lejos... Estás justo al otro lado del camino.

Sirva el presente como un homenaje póstumo, a quien fue gran colaborador de esta revista.

Ligia Carolina Rosales e Iselen Trujillo

## EDITORIAL

Las revistas científicas digitales suman cada día más títulos en todo el mundo. Revistas tradicionales, mantienen los dos formatos, impreso y digital. Otras más recientes, solo el formato digital, con todas las ventajas que ello implica. En Venezuela, ha sido un significativo paso asumir las versiones digitales de revistas de amplia trayectoria como la nuestra. Aunque aún falta camino por andar, nos ha permitido avanzar logrando presencia en la web y un mayor alcance a nuestros lectores. Sin embargo falta mucho camino por recorrer y en ese sentido, estamos haciendo una profunda revisión de dónde estamos y a dónde queremos llegar.

Las publicaciones digitales cuentan con muchas ventajas que permiten sean enormes las posibilidades de mejora y aumento del impacto, entre las cualidades que se utilizan en este formato, están principalmente, la inmediatez de la disponibilidad de la información, la disminución de los costos de edición y manejo, el ahorro en almacenamiento y distribución y la posibilidad de incorporar múltiples tipos de archivos.

Es necesario destacar, que se pueden mantener los aspectos formales de la revista científica en su forma digital, tales como periodicidad, utilización de revisión por pares, uso maximizado de los metadatos y el compromiso de publicar contribuciones originales, así como un selecto cuerpo editorial, garantizan el nivel y la calidad de las mismas.

Además de lo ya señalado, la inclusión de indicadores que permitan conocer sobre las características de los usuarios, los temas más buscados y un sin número de informaciones estadísticas valiosas para la toma de decisiones, es una herramienta que debe aprovecharse al máximo para reorientar el proceso editorial de la revista.

Finalmente, quizás uno de los mayores retos de las revistas digitales es solventar lo relativo a su permanencia en el tiempo, garantizar su accesibilidad continua independientemente de que cambie su ubicación o si la publicación dejara de existir, es importante que estos asuntos tecnológicos sean tomados en cuenta en todo momento para mantener su visibilidad con el pasar del tiempo y el resguardo de la información generada.

La revista *Agronomía Tropical* reafirma su compromiso hacia la excelencia y esperamos que muy pronto con la migración al Open Journal System, se aceleren los pasos necesarios para retomar nuestro sitio como la revista de más trayectoria dentro del área agrícola nacional.

Ligia Carolina Rosales

## TABLA DE CONTENIDO

### *In Memoriam*

#### Editorial

#### Artículos científicos

Gutiérrez, B; Pérez, S; Carvajal, C; Molina, S.

**Caracterización genética y patogénica de aislados de *Macrophomina phaseolina* (Tassi)**

**Goid y su respuesta al déficit hídrico**..... 7

(Genetic and pathogenic characterization of *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid isolates and their response to water deficit)

Carreño, Á; Lucas, L; Hurtado, E; Barrios-Maestre R; Silva-Acuña, R.

**Eficiencia de microorganismos y zeolitas en la corrección de propiedades químicas de aguas de la microcuenca del Río Carrizal, Ecuador**..... 20

(Efficiency of microorganisms and zeolites in the correction of chemical properties of water of the micro-basin of Carrizal River, Ecuador)

Torín, C; Monasterio, P; Maturé, W.

**Aplicación del control de calidad a series temporales de precipitación mensual de tres localidades del estado Yaracuy, Venezuela**..... 33

(Quality control to temporary series of monthly precipitation of three sites in the Yaracuy state, Venezuela)

Sosa, B; García, Y.

**Hongos endofíticos como promotores de crecimiento en plantaciones de banano**..... 47

(Endophytic fungi as growth promoters in banana plantations)

Chaparro-Tovar, R.

**Producción social de semilla: interpretación desde la gestión participativa por un trabajador y una luchadora social**..... 54

(Social seed production: interpretation from participatory management by a worker and a social fighter)

Tovar, G; Gómez, M; Obediente, V; Rodríguez, A; Soto, L; Chirinos, A.

**Extracción biotecnológica de quitina del desecho de camarón para la producción de quitosano como bioestimulante en semillas de melón**..... 69

(Biotechnological extraction of chitin from shrimp waste for chitosan production as biostimulant in Muskmelon seeds)

#### Notas Técnicas

Acosta, J; Sánchez-Cuevas, M; Silva-Acuña, R.

**Evaluación de sustratos sobre la tasa de crecimiento radial de cultivos duales de *Trichoderma harzianum* Rifai y *Rhizoctonia solani* Kühn**..... 85

(Evaluation of substrates on the rate of radial growth of dual cultures of *Trichoderma harzianum* Rifai and *Rhizoctonia solani* Kühn seeds)

Rondón, M; Sánchez-Cuevas, M. Silva-Acuña, R.

**Evaluación de almidón de maíz y sagú sobre el crecimiento in vitro de *Sclerotium rolfsii***..... 93

(Evaluation of cornstarch and sagú on in vitro growth of *Sclerotium rolfsii*)

**Instrucciones para los autores**..... 101

## Caracterización genética y patogénica de aislados de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid y su respuesta al déficit hídrico

Bárbara J. Gutiérrez Cedeño<sup>1\*</sup>, Simón Pérez Martínez<sup>2</sup>, Carmen R. Carvajal Rebanales<sup>1</sup>, Sandy L. Molina Moret<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA-CENIAP), Maracay, Venezuela <sup>2</sup>Universidad Estatal de Milagro (UNEMI), Ecuador <sup>3</sup>Instituto de Estudios Avanzados (IDEA), Caracas, Venezuela. \*Correo electrónico: barbaragutierrezc@gmail.com

### RESUMEN

*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. es un hongo fitopatógeno con amplia variabilidad morfológica, genética, patogénica y fisiológica. Esta versatilidad se incrementa debido a su adaptabilidad a diferentes especies hospedantes y condiciones ambientales estresantes, como deficiencia hídrica y altas temperaturas. El presente trabajo tuvo como objetivo caracterizar aislados de *M. phaseolina*, desde el punto de vista genético y patogénico, así como su respuesta al déficit hídrico. Se utilizaron marcadores intermicrosatelites (ISSR) para la caracterización genética de los aislados. Para determinar la patogenicidad se inocularon 30 aislados sobre hojas cotiledonales de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) var. Tacarigua. La respuesta al déficit hídrico se realizó a diferentes concentraciones NaCl *in vitro* sobre el crecimiento del micelio de *M. phaseolina*. Se aplicó la prueba de correlación lineal entre matrices de Mantel para identificar el grado de asociación entre los factores analizados. El hongo exhibió alto polimorfismo, lo que indica diversidad genética entre los aislados provenientes de caraota de diferentes áreas geográficas. En la caracterización patogénica se evidenció la diferenciación de expresiones de la infección en hojas cotiledonales de caraota. También, hubo un efecto inhibitorio en el crecimiento micelial de los aislados en función del potencial osmótico ( $\Psi_0$ ), debido a la presencia de NaCl. La diversidad genética no estuvo relacionada con la patogenicidad, ni con la respuesta a condiciones de déficit hídrico, es decir, se comportaron independientes.

**Palabras clave:** pudrición carbonosa, ISSR, *Phaseolus vulgaris*, potencial osmótico.

## Genetic and pathogenic characterization of *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid isolates and their response to water deficit

### ABSTRACT

*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. is a phytopathogenic fungus with wide morphological, genetic, pathogenic and physiological variability. This versatility is increased due to its adaptability to different host species and stressful environmental conditions, such as water deficiency and high temperatures. The objective of this work was to characterize *M. phaseolina* isolates, from the genetic and pathogenic point of view, as well as their response to water deficit. Intermicrosatellite markers (ISSR) were used for the genetic characterization of the isolates. To determine the pathogenicity, 30 isolates were inoculated on cotyledonal leaves of black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) var. Tacarigua. The response to water deficit was carried out at different concentrations NaCl *in vitro* on the growth of the mycelium of *M. phaseolina*. The linear correlation test was applied between Mantel matrices to identify the degree of association between the analyzed factors. The fungus exhibited high polymorphism, which indicates genetic diversity among the isolates from black bean from different geographical areas. In the pathogenic characterization, the differentiation of expressions of the infection in cotyledonal black bean leaves was evidenced. Also, there was an inhibitory effect on the mycelial growth of the isolates based on the osmotic potential ( $\Psi_0$ ), due to the presence of NaCl. The genetic diversity was not related to pathogenicity, nor to the response to water deficit conditions, that is, they behaved independently.

**Key words:** carbonaceous rot, ISSR, *Phaseolus vulgaris*, osmotic potential.

Recibido: 09/05/18 Aprobado: 06/11/18



## INTRODUCCIÓN

El hongo anamorfo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. es un fitopatógeno facultativo no específico. Su desarrollo se favorece en condiciones estresantes de sequía y altas temperaturas. Es el agente causal de la enfermedad “pudrición carbonosa” en cultivos de importancia económica (Mayek-Pérez *et al.* 2004). Este hongo tiene amplia variabilidad morfológica, genética, patogénica y fisiológica (Edraki y Banihashemi 2010; Purkayastha *et al.* 2006; Reyes-Franco *et al.* 2005), que se incrementa por su adaptabilidad a diferentes especies hospedantes y condiciones ambientales (Mahdizadeh *et al.* 2012; Edraki y Banihashemi 2010; Mayek-Pérez *et al.* 2001). En Venezuela, este patógeno se encuentra presente en diferentes zonas productoras de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) (Gutiérrez *et al.* 2014), pero no existen registros de la enfermedad.

*Macrophomina phaseolina* es altamente tolerante al estrés hídrico y la estimación de la respuesta a la deficiencia hídrica se fundamenta en la medición del estrés osmótico *in vitro*. Este se determina por simulación, con la evaluación del crecimiento del hongo en medios artificiales y uso de azúcares o sales para ajustar el potencial osmótico. En este sentido, *Macrophomina* puede crecer vegetativamente a bajos potenciales hídricos, condición de sequía que es desfavorable al hospedante (Gutiérrez *et al.* 2014; Mayek-Pérez *et al.* 2004; Cervantes-García *et al.* 2003).

Las técnicas de biología molecular permiten la detección de la variabilidad de *M. phaseolina* en la secuencia del ADN. Estudios previos demostraron, un alto grado de variabilidad genética entre las poblaciones de *M. phaseolina* mediante el uso de los marcadores moleculares intermicrosatelites (ISSRs). Al respecto, Mahdizadeh *et al.* (2011) señalaron que no hubo clara diferenciación entre los grupos de *M. phaseolina*, de acuerdo a su hospedante u origen geográfico. Luego, los mismos autores, en una investigación con ajonjolí (*Sesamum indicum* L.), revelaron alta variabilidad genética de *M. phaseolina*; esto lo atribuyeron al amplio rango de hospedantes y a la exposición del

patógeno a diferentes ambientes (Mahdizadeh *et al.* 2012). Por otra parte, Gutiérrez *et al.* (2014) señalaron variabilidad genética en aislados de *M. phaseolina* procedentes de caraota (*P. vulgaris* L.), con la utilización de otros marcadores moleculares como AFLP (por sus siglas en inglés: *Amplified fragment length polymorphism*). Los autores enfatizaron respuesta diferencial al potencial osmótico, es decir, al déficit hídrico; sin embargo, no encontraron una clara correspondencia entre los grupos genéticos de *M. phaseolina* y los grupos con diferentes condiciones hídricas.

Estudios previos (Martínez-Hilders y Laurentin 2012; Linhai *et al.* 2011) refieren que aislados de *M. phaseolina* mostraron un alto polimorfismo genético, sin embargo, no hubo una asociación clara entre el genotipo, la patogenia y la capacidad del hongo de adaptarse a las condiciones de sequía en el ambiente. El objetivo de esta investigación fue caracterizar aislados de *M. phaseolina*, desde el punto de vista genético y patogénico, así como su respuesta al déficit hídrico *in vitro*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Origen de los aislados de *M. phaseolina*

Los aislados se obtuvieron de muestras de plantas de caraota con presuntos síntomas de la enfermedad pudrición carbonosa, colectadas durante el ciclo norte-verano 2011-2012 (Cuadro 1).

### Aislamiento, purificación e identificación de *M. phaseolina*

Tejidos vegetales sintomáticos se desinfectaron con hipoclorito de sodio (NaClO) al 1 % por 2 min; se lavaron con agua destilada estéril y se seccionaron en segmentos de 2 a 3 mm de longitud. Los mismos se sembraron en cajas de Petri con medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA), para el crecimiento de *M. phaseolina*. Posteriormente, las colonias con caracteres taxonómicos pertenecientes al hongo fueron purificadas a partir de la siembra de un esclerocio por caja. Los cultivos monoescleróticos de cada aislado se

mantuvieron en medio de cultivo PDA acidificado. Todos los procedimientos y la conservación de las cepas, se realizaron en los laboratorios de: Patología de Semillas del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP) del Instituto de Investigaciones Agrícolas (INIA) y Fitopatología del Instituto de Estudios Avanzados (IDEA).

### Caracteres morfológicos de los aislados

**Patrón de crecimiento:** se tomó un disco de micelio de 3 mm de diámetro, a partir de un cultivo

puro con 4 días de crecimiento y se transfirió a cajas de Petri de 9 cm de diámetro. Estos aislados fueron incubados a 30 °C en la oscuridad, durante 96 h. Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con tres replicas por aislado. Cada unidad experimental estuvo constituida por una caja. Se registró el diámetro de la colonia (cm) cada 24 h. Al quinto día, se registraron las características de la colonia: color del anverso y reverso, crecimiento de la colonia, forma y color de los esclerocios.

Cuadro 1. Ubicación geográfica de los aislados de *M. phaseolina* caracterizados genética y patogénicamente, así como su respuesta al déficit hídrico *in vitro*.

| Aislado | Estado     | Municipio         | Coordenadas geográficas    |
|---------|------------|-------------------|----------------------------|
| ARA01   | Aragua     | José Felix Ribas  | 10°17'01,2"N/ 67°36'41,5"O |
| ARA02   | Aragua     | Girardot          | 10°17'01,0"N/ 67°36'41,7"O |
| ARA03   | Aragua     | Girardot          | 10°16'58,3"N/ 67°36'39,6"O |
| ARA04   | Aragua     | Girardot          | 10°17'58,9"N/ 67°36'13,7"O |
| ARA05   | Aragua     | Zamora            | 10°03'35,3"N/ 67°28'11,7"O |
| ARA06   | Aragua     | Zamora            | 10°03'34,2"N/ 67°28'12,9"O |
| ARA07   | Aragua     | Zamora            | 10°03'34,3"N/ 67°28'13,9"O |
| ARA08   | Aragua     | Zamora            | 10°05'59,6"N/ 67°28'07,4"O |
| ARA09   | Aragua     | Zamora            | 10°06'01,1"N/ 67°28'07,6"O |
| ARA10   | Aragua     | Zamora            | 10°05'58,7"N/ 67°28'09,9"O |
| ARA11   | Aragua     | Girardot          | 10°16'08,5"N/ 67°36'16,5"O |
| ARA12   | Aragua     | Girardot          | 10°17'25,9"N/ 67°36'00,1"O |
| BAR01   | Barinas    | Sosa              | 08°39'42,9"N/ 69°33'03,3"O |
| BAR02   | Barinas    | Sosa              | 08°39'36,6"N/ 69°32'54,1"O |
| LAR01   | Lara       | Palavecino        | 10°03'15,7"N/ 69°14'15,3"O |
| MON01   | Monagas    | Maturín           | 09°45'27,0"N/ 63°12'01,1"O |
| POR01   | Portuguesa | Ospino            | 09°22'24,1"N/ 69°22'42,2"O |
| POR02   | Portuguesa | Turen             | 09°12'36,4"N/ 68°54'20,2"O |
| POR03   | Portuguesa | Turen             | 09°12'00,9"N/ 68°54'35,5"O |
| POR04   | Portuguesa | Turen             | 09°11'35,6"N/ 68°53'06,0"O |
| POR05   | Portuguesa | Turen             | 09°11'44,3"N/ 68°54'18,5"O |
| POR06   | Portuguesa | Ospino            | 09°21'27,1"N/ 69°23'46,6"O |
| POR07   | Portuguesa | Turen             | 09°13'51,6"N/ 69°05'11,6"O |
| POR08   | Portuguesa | Turen             | 09°15'24,0"N/ 69°05'43,0"O |
| POR09   | Portuguesa | Santa Rosalía     | 09°12'32,2"N/ 69°06'01,7"O |
| POR10   | Portuguesa | Turen             | 09°14'53,7"N/ 69°03'50,5"O |
| POR11   | Portuguesa | Turen             | 09°12'29,1"N/ 69°03'39,2"O |
| POR12   | Portuguesa | Esteller          | 09°14'31,3"N/ 69°07'41,0"O |
| YAR01   | Yaracuy    | José Antonio Páez | 10°09'18,2"N/ 69°01'13,8"O |
| YAR02   | Yaracuy    | Cocorote          | 10°18'14,9"N/ 68°46'07,6"O |

**Dimensión de los esclerocios:** se registró el largo y ancho de 30 esclerocios de cada aislado, usando un micrómetro adaptado al microscopio Optika B-350 con un aumento de 40x.

### Caracterización genética de los aislados de *M. phaseolina* mediante marcadores intermicrosatelites (ISSR)

**Extracción del ADN.** Los aislados de *M. phaseolina* se colocaron en crecimiento en cajas de Petri de 9 cm de diámetro, durante 4 a 5 días en medio PDA, para extraer ADN del micelio fresco. Se raspó con una espátula o palillo estéril el micelio de media o caja completa, dependiendo de la abundancia del micelio aéreo, en condiciones estériles. Se colocó en un tubo Eppendorf que contenía 1 ml de buffer de lisis (150 mM EDTA; 50 mM Tris pH 8; 2 % sarkosyl), para su maceración. Las muestras se congelaron a -80 °C durante un mínimo de 1 h.

Seguidamente, las muestras se colocaron a 55 °C, 550 rpm por 5 min en termomixer compact. Se procedió a centrifugar a 4 °C, 14 rpm por 15 min y se transfirieron 700 µl del sobrenadante a un nuevo tubo y se agregaron 490 µl de PEG/NaCl (20 % p/v PEG; 2,5 NaCl); los cuales se incubaron a temperatura de laboratorio (22 °C) durante una hora. Luego, se centrifugó a 14 rpm por 15 min a 4 °C, se procedió a descartar el sobrenadante y se resuspendió el sedimento con 400 µl de Tris 10 mM, pH 8. Posteriormente, se agregaron 8 µl de NaCl y 800 µl de etanol 95 %, incubándose por 1 h a temperatura de laboratorio (22 °C). Nuevamente, se centrifugó a 14 rpm por 15 min a 4 °C, se decantó el sobrenadante y se secó el sedimento con los tubos invertidos a temperatura de laboratorio (22 °C). Finalmente, se resuspendió el ADN en 50 µl de TE (buffer pH 8) durante toda la noche a temperatura de laboratorio (22 °C).

**Amplificación de regiones intermicrosatelites.** Se realizó en un termociclador Eppendorff, en un volumen total de 20 µl, que contenían 2 ng de ADN genómico, 3 mM de MgCl<sub>2</sub>, Buffer PCR 1X, 0,2 mM dNTPs, iniciador 0,25 µM, 1U de *Taq* ADN Polimerasa Promega®. Los ciclos de PCR se iniciaron con desnaturalización a 94 °C durante

5 min, seguido de 40 ciclos de amplificación, con desnaturalización a 94 °C por 30 s, temperatura de hibridación entre 50-53 °C por 2 min y 72 °C por 2 min y extensión final a 72 °C por 5 min. Una vez finalizada la PCR, las muestras se conservaron a 4 °C. Los productos de amplificación se separaron mediante electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1,5 %, preparados en buffer TBE 1X, que también se usó como buffer de corrida. Como patrón de comparación se usaron 3 µl de 200 pb DNA StepLadder (Promega®). Para la determinación del peso molecular de los patrones de bandas se utilizó el programa Total LabQuant Versión 13.1 (2008). Se emplearon nueve cebadores ISSR de la serie 800-900 de la "University of British Columbia Biotechnology Laboratory (UBCBL)": 815; 824; 834; 835; 841; 850; 855; 864 y 888 (Cuadro 2) seleccionados por su carácter aleatorio y universal (Zietkiewicz *et al.* 1994; Gupta *et al.* 1994).

Cuadro 2. Identificación y secuencia de los iniciadores ISSR.

| Iniciador | Secuencia                  |
|-----------|----------------------------|
| 834       | 5'-AGAGAGAGAGAGAGGCTT-3'   |
| 841       | 5'-GAGAGAGAGAGAGAGAYC3'    |
| 850       | 5'-GTGTGTGTGTGTGTGTGTYC-3' |
| 855       | 5'-ACACACACACACACCTT-3'    |
| 864       | 5'-ATGATGATGATGATGATG-3'   |
| 888       | 5'-BDBCACACACACACA-3'      |
| 815       | 5'-CTCTCTCTCTCTCTG-3'      |
| 824       | 5'-TCTCTCTCTCTCTCG-3'      |
| 835       | 5'-AGAGAGAGAGAGAGGCTA-3'   |

**Análisis de datos.** Los patrones de bandas obtenidos fueron interpretados y codificados en una matriz binaria, de presencia (1) o ausencia (0), según el peso de la banda para cada aislado. Se determinó la capacidad informativa y discriminatoria de los iniciadores y los análisis de conglomerados, con los métodos y cálculos de las distancias correspondientes. Los detalles de cada análisis se indican al pie de figuras y tablas.

Se utilizaron los programas InfoGen (Balzarini y Di Rienzo 2012) e InfoStat ver. 2012 (Di Rienzo *et al.* 2012).

### **Caracterización patogénica de aislados de *M. phaseolina* sobre hojas cotiledonales de caraota var. Tacarigua**

Se seleccionaron semillas de caraota de la variedad Tacarigua para el ensayo, por sus antecedentes de susceptibilidad a *M. phaseolina*. También, es la variedad de más amplia distribución en las zonas de producción de caraota en el país. Las semillas se desinfectaron con hipoclorito de sodio 2 % y se sembraron en germinadores con sustrato estéril en condiciones de vivero. Se obtuvieron hojas cotiledonales completamente expandidas y sin daños aparentes por plagas, entre ocho y diez días después de la siembra. Bajo campana de flujo laminar, se desinfectaron con hipoclorito de sodio 2 % durante 2 min; se enjuagaron dos veces en agua destilada estéril y se dejaron secar en papel secante estéril. Para la inoculación se emplearon 30 aislados monoescleróticos de cuatro a cinco días de crecimiento en medio PDA, con la finalidad de seleccionar el aislado más agresivo. Para el ensayo se utilizó la técnica de hoja cotiledonal desprendida, según metodología de Bañuelos-Balandrán y Mayek-Pérez (2008). Se midió la longitud de crecimiento de la lesión (cm) causada por el hongo a los cinco días de incubación.

### **Diseño experimental y análisis de datos.**

La unidad experimental fue una hoja cotiledonal dentro de una caja Petri. Se usó un diseño completamente al azar con seis repeticiones por aislado y dos repeticiones del experimento en el tiempo. A partir del análisis de conglomerados considerando los promedios de cada repetición, se seleccionó el aislado con mayor rapidez de crecimiento y agresividad en el sustrato natural. El análisis de conglomerados se realizó a través del programa InfoStat ver. 2012 (Di Rienzo *et al.* 2012).

### **Caracterización de aislados de *M. phaseolina* por su respuesta ante condiciones de déficit hídrico *in vitro***

Se evaluó la respuesta al potencial osmótico ( $\Psi_0$ ), inducido con diferentes concentraciones de NaCl, sobre el crecimiento *in vitro* del micelio de *M. phaseolina*. Se utilizaron cuatro concentraciones de NaCl de: 200; 300; 400 y 750 mM, equivalentes a -932; -1 394; -1 854; -3 507 J kg<sup>-1</sup> de  $\Psi_0$  y un tratamiento control sin NaCl, descrito por Cervantes-García *et al.* (2003). Aplicando esa metodología, se tomaron discos de PDA de 0,4 cm con cinco días de crecimiento fúngico de cada aislado; se transfirieron a cajas Petri con PDA ajustadas a las diferentes concentraciones de NaCl, con tres repeticiones por tratamiento. Las cajas se sellaron con cinta Parafilm para minimizar cambios en el  $\Psi_0$  del medio de cultivo e incubadas a  $28 \pm 2$  °C. Se midió el crecimiento radial de las colonias (cm) y se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento del micelio [PIC= (Crecimiento control – Crecimiento tratamiento)/Crecimiento control] x 100] en cada caso con respecto al control a las 48 y 72 h.

**Diseño experimental y análisis de datos.** Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, con tres repeticiones por cada concentración de NaCl. Las diferentes variables respuesta evaluadas se analizaron por técnicas multivariadas a partir de una matriz de 30x8; esta correspondió a los aislados y las medidas de crecimiento en las cuatro concentraciones de NaCl (200; 300; 400 y 750 mM), en dos momentos (48 y 72h), y un tratamiento control sin NaCl. Esta matriz sirvió de insumo para el análisis de conglomerados, cuyos detalles de la métrica se indican al pie de cada figura de resultados. El análisis de conglomerados se realizó a través del programa InfoStat ver. 2012 (Di Rienzo *et al.* 2012).

### **Grado de asociación entre la genética, patogenicidad y su respuesta al déficit hídrico de aislados de *M. phaseolina***

Para identificar el grado de asociación entre los factores analizados en este trabajo:



diversidad genética, características patogénicas y respuesta ante déficit hídricos de *M. phaseolina*, se aplicó la prueba de correlación lineal entre matrices de Mantel (Balzarini *et al.* 2012).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Identificación de los aislados de *M. phaseolina*

Se identificaron 30 aislados de *M. phaseolina* procedentes de seis estados productores de cañote en Venezuela: Aragua (ARA01 al ARA12), Barinas (BAR01 y BAR02), Lara (LAR01), Monagas (MON01), Portuguesa (POR01 al POR12) y Yaracuy (YAR01 y YAR02). De acuerdo con las descripciones morfológicas *in vitro* de los aislados y el color de las colonias, en el anverso, varió entre las tonalidades de gris claro (16,7 %), gris medio (3,3 %), gris oscuro (76,7 %) y negro (3,3 %); en el reverso, los tonos variaron entre pardo oscuro (33,3 %) y negro (66,7 %). El crecimiento del micelio sobre PDA se observó liso (sin micelio aéreo 10 %), plumoso, (muy poco micelio aéreo 20 %) y algodonoso (abundante micelio aéreo 70 %). Los microesclerocios presentaron color pardo oscuro (26,7 %) y negro (73,3 %). El aislado con los microesclerocios de mayor tamaño fue ARA07, con valores de 98,21 a 161,12  $\mu\text{m}$  de largo x 90,72 a 128,11  $\mu\text{m}$  de ancho; el de menor tamaño correspondió a LAR01, con valores de 48,99 a 67,67  $\mu\text{m}$  de largo x 17,60 a 22,93

$\mu\text{m}$  de ancho. La forma de los microesclerocios varió desde oval, redonda y globosa. Los aislados con las mayores tasas de crecimiento de la colonia sobre PDA, a las 24 h de incubación, fueron POR04, POR06 y MON01; a las 48 h siguieron la secuencia POR01 y ARA12; a este grupo se le adicionó YAR02 a las 72 h (Datos no mostrados).

### Caracterización genética de aislados de *M. phaseolina* mediante marcadores intermicrosatélites (ISSR)

De las nueve combinaciones de iniciadores ISSR utilizados, siete generaron patrones de bandas de amplificación que revelaron diferentes niveles de polimorfismo entre los 30 aislados de *M. phaseolina*. Se obtuvo un total de 118 bandas, de las cuales 117 (99,15 %) fueron polimórficas (Cuadro 3), lo que indica una alta variabilidad genética. El contenido de información polimórfica muestra la calidad de un marcador (Botstein *et al.* 1980). Su valor dependió del número de alelos y la distribución de las frecuencias.

Todos los valores de información polimórfica obtenidos por los iniciadores (0,29 a 0,35), superaron la mitad del recorrido o rango esperado para el contenido de información polimórfica (0,01 a 0,50). Por lo tanto, estos marcadores son informativos y de utilidad para subsiguientes estudios de caracterización. El iniciador que mostró un mayor grado de confianza para la identificación de los genotipos de *M. phaseolina*, al compararse simultáneamente, fue el 855. Este presentó la

Cuadro 3. Información de los iniciadores que permitieron la caracterización genética de *M. phaseolina*.

| Iniciadores  | Bandas       |              |            | CIP  | E.E.               | PDICMA             |
|--------------|--------------|--------------|------------|------|--------------------|--------------------|
|              | Polimórficas | Monomórficas | Totales    |      |                    |                    |
| 834          | 19           | 1            | 20         | 0,31 | 0,02               | 2,4 <sup>-12</sup> |
| 835          | 16           | 0            | 16         | 0,33 | 0,01               | 5,0 <sup>-16</sup> |
| 841          | 22           | 0            | 22         | 0,33 | 0,01               | 9,6 <sup>-16</sup> |
| 850          | 7            | 0            | 7          | 0,33 | 3,7 <sup>-03</sup> | 1,7 <sup>-15</sup> |
| 855          | 13           | 0            | 13         | 0,33 | 0,01               | 7,1 <sup>-18</sup> |
| 864          | 14           | 0            | 14         | 0,29 | 0,01               | 3,1 <sup>-13</sup> |
| 888          | 26           | 0            | 26         | 0,35 | 0,01               | 1,1 <sup>-16</sup> |
| <b>Total</b> | <b>117</b>   | <b>1</b>     | <b>118</b> |      |                    |                    |

CIP: contenido de información polimórfica; E.E.: error estándar; PDICMA: probabilidad de compartir el mismo alelo al azar.



menor probabilidad ( $7,1^{-18}$ ) de que dos aislados compartan el mismo alelo al azar. El de menor capacidad discriminadora fue el 834, con un valor para la probabilidad de compartir el mismo alelo al azar (PDICMA) de  $2,4^{-12}$ . Los restantes mostraron similar capacidad para reconocer que dos aislados son diferentes.

### Análisis de conglomerados

Los aislados se distribuyeron en tres grupos, de acuerdo al método de agrupamiento jerárquico de Ward y la distancia basada en el coeficiente de similitud de Dice (Figura 1). Los grupos se definieron a una distancia de 0,94. El grupo 1 que se resalta de rojo, agrupa nueve aislados procedentes de Aragua (4), Monagas (1), Portuguesa (2) y Yaracuy (2). En el grupo 2, identificado de azul, se concentraron ocho aislados que incluyen Aragua (3), Barinas (2), Lara (1) y Portuguesa (2). En un tercer grupo señalado de verde se agruparon 13 aislados, de los estados Aragua (5) y Portuguesa (8). Los perfiles moleculares de los aislados ARA02 y POR12 del grupo 1, se unen a menor distancia (0,47) que el resto. El grupo 1

y el 3 se unen a mayor distancia y finalmente se suma el grupo 2 a una distancia de 1,88.

Con base a los resultados del análisis de conglomerados (Figura 1), se pudo evidenciar que los grupos de aislados en este estudio no se diferenciaron claramente de acuerdo al origen geográfico; sin embargo, usualmente tienden a agruparse de manera cercana (Mahdizadeh *et al.* 2011). Ejemplos de esta condición se evidenció en el grupo 1, en el cual, el aislado ARA04 y ARA5 son muy similares. En el grupo 3, también hay similitudes entre POR03 y POR10, ARA11 y ARA12, ARA08 y ARA10, POR04 y POR05, POR07 y POR08. Finalmente, en el grupo 2, se encuentran los aislados ARA01 y ARA03.

Mahdizadeh *et al.* (2011) denotaron que aislados del mismo origen geográfico usualmente tienden a agruparse cerca, aun cuando no haya clara correspondencia en la formación de los grupos usando marcadores ISSR. En investigaciones de Martínez-Hilders y Laurentin (2012), Linhai *et al.* (2011), Muñoz-Cabañas *et al.* (2005) y Beas-Fernández *et al.* (2004), la aplicación de

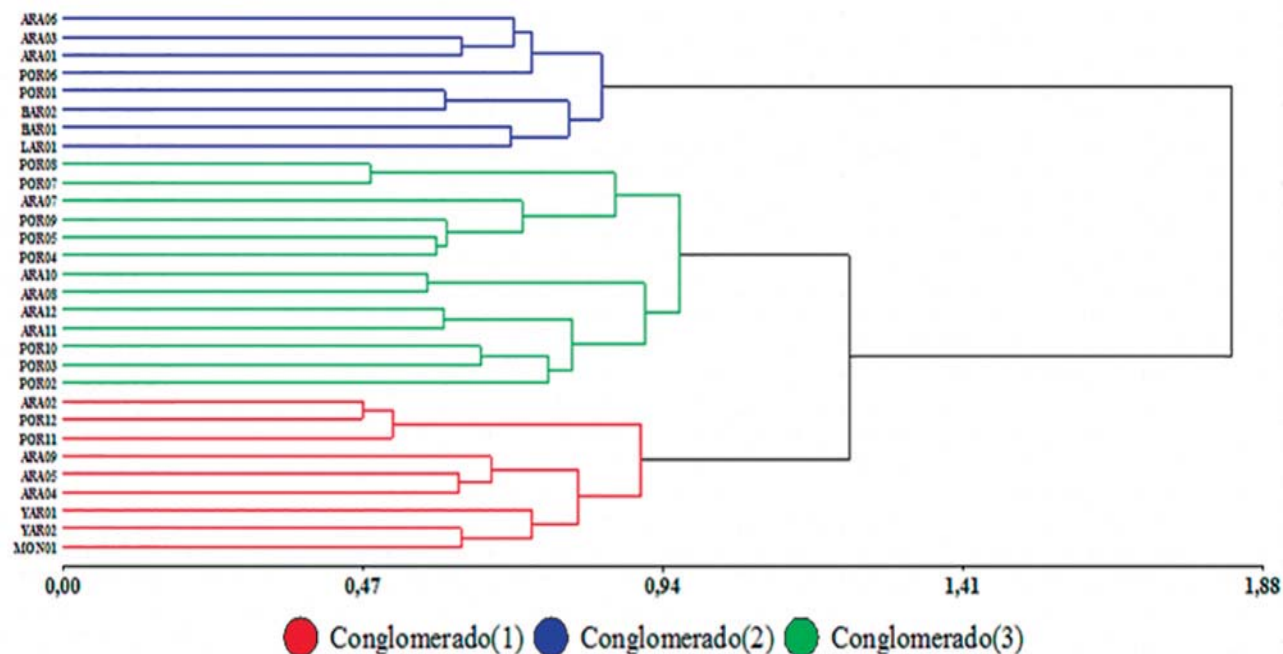


Figura 1. Dendrograma de 30 aislados de *M. phaseolina* procedentes de caraota, basado en el método de Ward y la distancia de similitud de Dice.

otros marcadores moleculares, no han llegado a definir asociación clara del genotipo de *M. phaseolina* con el origen geográfico o el hospedante. En este sentido, parte de los aislados que se estudian en el actual trabajo, tampoco mostraron relación con el genotipado usando marcadores AFLP (Gutiérrez *et al.* 2014).

Los resultados de este estudio revelaron que los marcadores ISSR exhibieron un alto polimorfismo (117/118 bandas). Esto indica alta diversidad genética entre los aislados de *M. phaseolina* provenientes de un hospedante y de diferentes orígenes geográficos. Asimismo, se ha señalado amplia variabilidad genética de aislados *M. phaseolina* a partir de *Sesamun indicum* L., originarios del estado Portuguesa en Venezuela, mediante la técnica RAPD (por sus siglas en inglés: Random Amplified Polymorphic DNA) (Matinez-Hilders y Laurentin, 2012). Mahdizadeh *et al.* (2011) indicaron, que la gran variabilidad genética de *M. phaseolina* es debida a la adaptabilidad del patógeno a diversos climas, amplio rango de hospedantes y traslados del hongo de una zona a otra.

#### Caracterización patogénica de aislados de *M. phaseolina* sobre hojas cotiledonales de caraota var. Tacarigua

Sobre las hojas cotiledonales de caraota de la variedad Tacarigua en condiciones *in vitro*, se mostraron y midieron las lesiones de avance (cm) de los 30 aislados de *M. phaseolina*, tal como se evidencia en la Figura 2. Los promedios de dos repeticiones del ensayo en el tiempo, sirvieron de insumos para el análisis de conglomerados, a los efectos de conocer la diversidad en la agresividad de cada aislado; con base a eso seleccionar el aislado más agresivo.

#### Formación de grupos de crecimiento

Los aislados se constituyeron en tres grupos de crecimientos, de acuerdo al método promedio (Average linkage) y la distancia euclídea (Figura 3). El grupo 1, indicado con líneas rojas, agrupo 12 aislados (POR 08, BAR02, ARA12, POR01, POR11, POR 04, BAR01, POR05, ARA08, POR06, LAR 01 y ARA01), con características

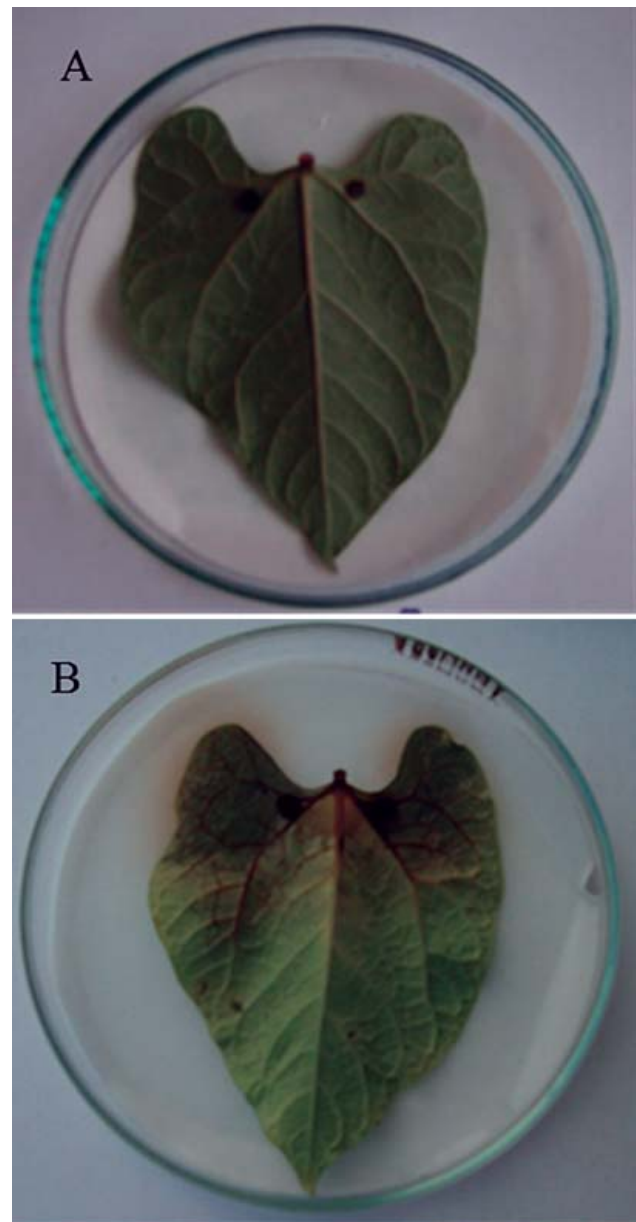


Figura 2. Lesiones inducidas por *M. phaseolina* en hoja cotiledonal de caraota var. Tacarigua, al inicio (A) y a los 5 días de inoculación (B).

de menores crecimientos. En el grupo 3, correspondiente a las líneas verdes, se agruparon 17 aislados con un crecimiento intermedio. En azul (grupo 2) se diferencia, el aislado ARA02 como el de mayor crecimiento sobre hojas cotiledonales.

En caraota se ha utilizado la técnica de hojas desprendidas con resultados confiables, para

evaluar reacciones de germoplasma a diferentes patógenos (Gutiérrez *et al.* 2009; Ragagnin *et al.* 2005; González *et al.* 2000). La técnica utilizada en este estudio fue sugerida por Bañuelos-Balandrán y Mayek-Pérez (2008), como una estrategia sencilla, rápida y confiable para la medición del daño causado por aislados de *M. phaseolina*. Con esa técnica se diferenciaron las expresiones de la infección de los diferentes aislados de *M. phaseolina* en el sustrato natural de hojas cotiledonales de caraota var. Tacarigua. Esto permitió seleccionar al aislado ARA02 (Grupo 2), por su rapidez de crecimiento y agresividad para producir lesiones en las hojas cotiledonales. El aislado tuvo un promedio de necrosis de 4,08 cm sobre las hojas cotiledonales durante los cuatro días de evaluación y crecimiento con abundante micelio aéreo.

### Caracterización de aislados de *M. phaseolina* por su respuesta ante condiciones de déficit hídrico *in vitro*

En función del potencial osmótico ( $\Psi_0$ ) hubo un efecto inhibitorio diferencial en el crecimiento micelial de los aislados de *M. phaseolina*, debido a la presencia de NaCl. Disminuciones de la capacidad del desplazamiento del agua por aumentos de la concentración de solutos, redujo el crecimiento de hongos fitopatógenos como *M. phaseolina* (Tijerina-Ramírez *et al.* 2014; Goudarzi *et al.* 2008; Cervantes-García *et al.* 2003), como consecuencia del déficit hídrico *in vitro*. Sin embargo, cuando se aumentó la concentración a 750 mM no se inhibió completamente el crecimiento en los aislados de *M. phaseolina*. Tijerina-Ramírez *et al.* (2014) y Cervantes-García *et al.* (2003), han señalado inhibición total del crecimiento a 1 000 mM

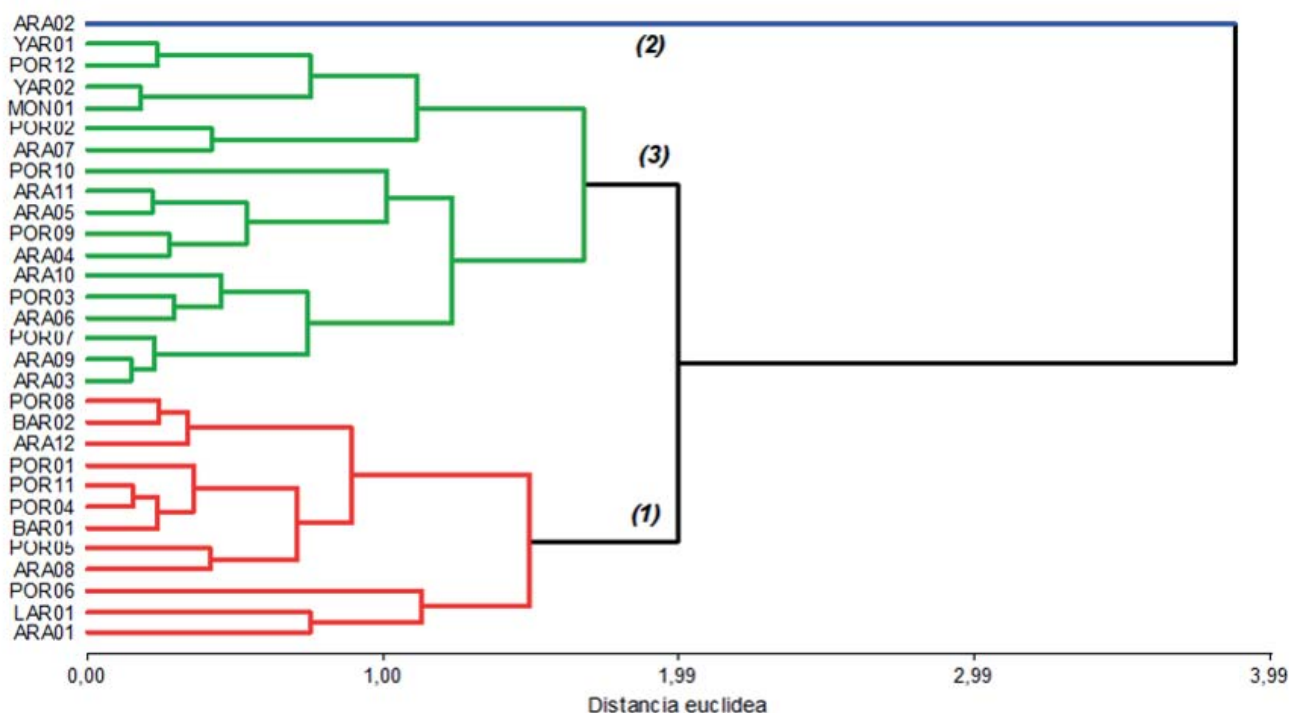


Figura 3. Diferenciación de grupos de crecimiento en 30 aislados de *M. phaseolina* inoculados en caraota var. Tacarigua, por el método de hojas cotiledonales desprendidas.

de NaCl en algunos aislados de este patógeno. Todas estas diferencias individuales de los aislados de *M. phaseolina* fueron maximizadas para su representación mediante el análisis de conglomerados.

### Formación de grupos de crecimiento en función del potencial hídrico

Los aislados se agruparon en cinco grupos de crecimientos de acuerdo al método promedio ponderado (Weighted average linkage) y la distancia euclídea. Con una correlación cofenética de 0,91 y una línea de corte a 4,6. La figura 4, muestra las diferencias entre los grupos (identificados por colores) de crecimiento de los 30 aislados de *M. phaseolina*, en condiciones de déficit hídrico inducido por diferentes concentraciones de NaCl (200; 300; 400 y 750 mM). No hubo clara asociación de los grupos de aislados de *M. phaseolina* por su respuesta ante

condiciones de déficit hídrico con el origen geográfico. No obstante, el 53 % de los aislados del grupo 2 provienen del estado Portuguesa, señalado como la zona agrícola de mayor incidencia de *M. phaseolina* en Venezuela (González *et al.* 2007).

En la figura 5, se muestra el comportamiento del crecimiento a las 72 h de cada grupo de aislados de *M. phaseolina*, bajo diferentes condiciones hídricas (0; 400 y 750 mM de NaCl). A la concentración de 400 mM, el aislado YAR02, ubicado en el grupo 4, tuvo el mayor crecimiento con una media de 9 cm. A este le siguió el grupo 2, con una media de 5,54 cm. A la concentración de 750 mM, el grupo 2 fue el de mayor crecimiento (media 4,25 cm) seguido por el aislado YAR02 (3,90 cm) del grupo 4. Estos grupos demostraron una mayor capacidad de crecer bajo estas condiciones de ensayo; también las medias de crecimientos en condiciones de mayor

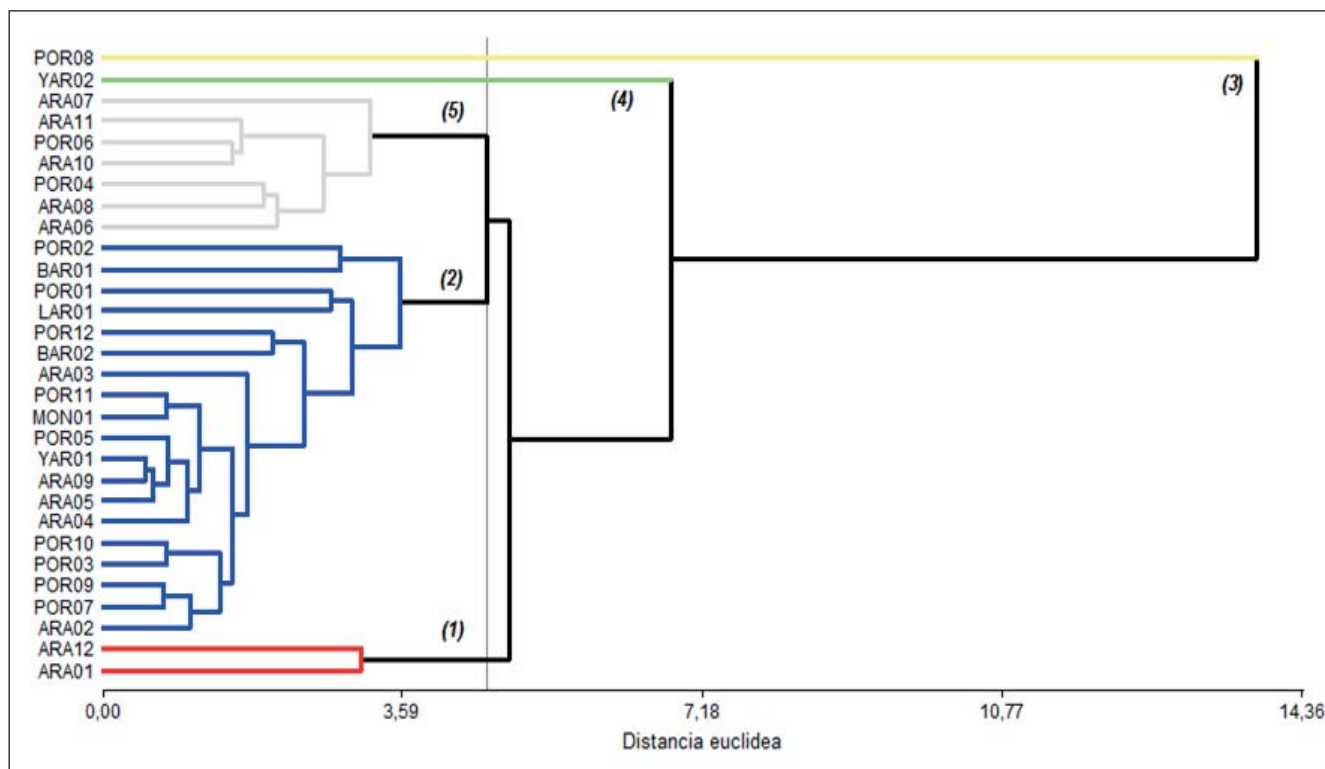


Figura 4. Dendrograma de 30 aislados de *M. phaseolina* diferenciados por su respuesta a potenciales hídricos *in vitro*.

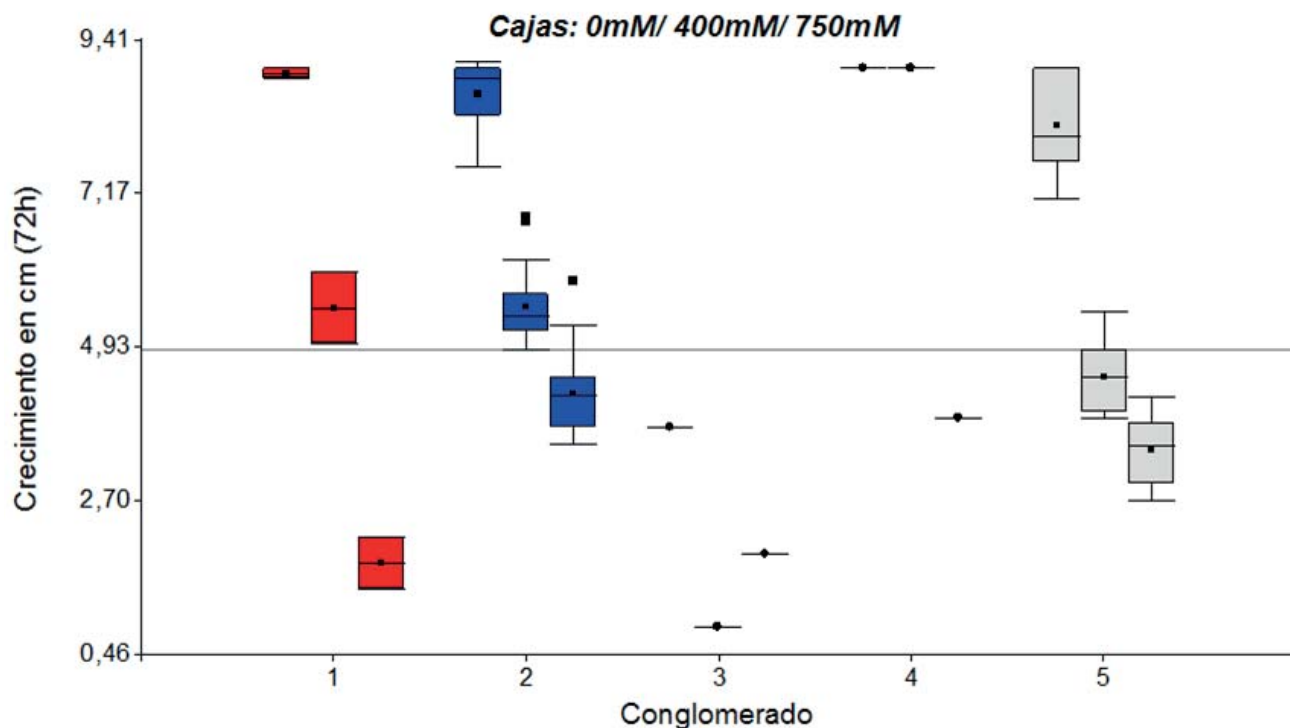


Figura 5. Crecimiento micelial de los grupos de aislados (conglomerados) de *M. phaseolina* a las 72 h, sometidos a tres concentraciones de NaCl (0; 400 y 750 mM).

déficit hídrico, a las 72 h, estuvieron cercanas a la media general de todas las concentraciones de NaCl (4,93 cm). En los otros grupos, disminuyó el crecimiento micelial por debajo de la media cuando disminuyó la disponibilidad hídrica en el medio; de estos el grupo 3 (POR08) fue el más susceptible a estas condiciones de ensayo.

Los resultados muestran que los aislados de *M. phaseolina* que se encuentran dentro de los grupos 2 y 4, presentaron mayor tolerancia; lo que permite suponer más capacidad de sobrevivencia en la naturaleza, en condiciones de bajo contenido hídrico. Según Cervantes-García *et al.* (2003), la adaptación a bajos contenidos hídricos, de los aislados de los grupos 2 y 4 puede ser una estrategia para sobrevivir *M. phaseolina* como saprofito o patógeno latente en tejidos de hospedantes en condiciones áridas. Sin embargo, existen antecedentes de que *M. phaseolina* sintetiza compuestos que le permiten adaptarse a diversos ambientes y

hospedantes (Tijerina-Ramírez *et al.* 2014), lo cual puede estar ocurriendo en estos aislados de los grupos 2 y 4.

De acuerdo a la prueba de Mantel (Balzarini *et al.* 2012) no se encontró correlación lineal ( $r = 0,08$ ) estadísticamente significativa ( $P = 0,151$ ;  $P > 0,05$ ) entre la diversidad genética y las características patogénicas de los aislados de *M. phaseolina*. Tampoco entre la diversidad genética y la respuesta al déficit hídrico ( $r = -0,03$  y  $P = 0,620$ ). La diversidad genética de *M. phaseolina* demostrada en este estudio, no está relacionada con la patogenicidad ni con la respuesta a condiciones de déficit hídrico *in vitro*, se comportaron independientes.

## CONCLUSIONES

La caracterización genética de *M. phaseolina* con uso de marcadores ISSR, presentó alto polimorfismo. Esto indica alta diversidad genética



entre los aislados provenientes de caraota, de diferentes orígenes geográficos.

La caracterización patogénica, en hojas desprendidas, permitió la diferenciación de las expresiones de la infección de los aislados de *M. phaseolina* en hojas cotiledonales de caraota var. Tacarigua.

Hubo un efecto inhibitorio *in vitro* en el crecimiento micelial de los aislados de *M. phaseolina* en función del  $\Psi_0$ , debido a la presencia de NaCl. Los aislados del grupo 4 (YAR02) y del grupo 2 (ARA02, POR07, POR09, POR03, POR10, ARA04, ARA05, ARA09, YAR01, POR05, MON01, POR11, ARA03, BAR02, POR12, LAR01, POR01, BAR01, POR02), se comportaron más tolerantes al déficit hídrico.

La diversidad genética de *M. phaseolina* no estuvo relacionada con la patogenicidad, ni con la respuesta a condiciones de déficit hídrico *in vitro*, demostrándose comportamiento independiente.

#### LITERATURA CITADA

- Balzarini, M; Di Rienzo, JA. 2012. Info-Gen: Software para análisis estadístico de datos genéticos. Facultad de Ciencia Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Bañuelos-Balandrán, JJ; Mayek-Pérez, N. 2008. Evaluación no destructiva de la patogenicidad de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Revista Mexicana de Fitopatología 26(1):71-75.
- Beas, R; Reyes, MC; Medina, M. 2004. *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) de Aguascalientes: relación patogénica y genética con aislamientos de otras regiones de México. Revista Mexicana de Fitopatología 22(002):172-177.
- Botstein, D; White, R; Skolmick, H; Davis, R.1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisn. American Journal of Human Genetics 32:314-331.
- Cervantes-García, D; Padilla-Ramírez, DJ; Simpson, J; Mayek-Pérez, N. 2003. Osmotic potential effects on *in vitro* growth, morphology and pathogenicity of *Macrophomina phaseolina*. Journal of Phytopathology 151:456-462.
- Di Rienzo, JA; Balzarini, M; Casanoves, F; González, L; Tablada, M; Robledo, CW. 2012. InfoStat, versión 2012. Grupo InfoStat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Edraki, V; Banihashemil, Z. 2010. Phenotypic diversity among isolates of *Macrophomina phaseolina* and its relation to pathogenicity. Iran Journal Plant Pathology 46(4):93-100.
- González, F; Frías, GA; García, A; Flores, A.2000. Resistencia de genotipos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) a razas de *Colletotrichum lin demuthianum* (Sacc. y Magn.). Revista Mexicana de Fitopatología 18(2):87-91.
- González, R; Pineda, J; Graterol, Y.2007. Cuantificación de inóculo en el suelo e incidencia de *Macrophomina phaseolina* sobre híbridos de sorgo en tres localidades de los llanos centro occidentales de Venezuela. Revista Facultad Agronomía (LUZ) 24:227-241.
- Goudarzi, A; Banihasheni, Z; Maftoun, M. 2008. Effect of water potential on sclerotial germination and mycelial growth of *Macrophomina phaseolina*. Phytopathologia Mediterranea 47:107-114.
- Gupta, CY; Romero-Severson, J; Owen, JL. 1994. Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. Theoretical and Applied Genetics 89(7-8):998-1006.
- Gutiérrez, B; González, MS; Salih, A.2009. Evaluación del tizón foliar causado por *Rhizoctonia solani* en cultivares de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.). Fitopatología Venezolana 22:21-22.

- Gutiérrez, B; Molina, S; Alvarado-Capó, Y; Pérez-Martínez, S. 2014. Caracterización de aislados de *Macrophomina phaseolina* por su respuesta a diferentes potenciales osmóticos y mediante AFLP. *Biotecnología Vegetal* 14(1):45-53.
- Linhai, W; Yanxin, Z; Donghua, L; Junbin, H; Wenliang, W; Haixia, L. 2011. Variations in the isolates of *Macrophomina phaseolina* from sesame in China based on amplified fragment length polymorphism (AFLP) and pathogenicity. *African Journal of Microbiology Research* 5:5584-5590.
- Mahdizadeh, V; Safaie, N; Goltapeh, EM. 2011. Diversity of *Macrophomina phaseolina* based on morphological and genotypic characteristics in Iran. *Journal of Plant Pathology* 27(2):128-37.
- Mahdizadeh, V; Safaie, N; Goltapeh, EM. 2012. Genetic diversity of Sesame isolates of *Macrophomina phaseolina* using RAPD and ISSR markers. *Trakia Journal of Sciences* 10(2):65-74.
- Martínez-Hilders, A; Laurentin, H. 2012. Caracterización fenotípica y molecular de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. proveniente de la zona de producción de ajonjolí en Venezuela. *Bioagro* 24(3):187-196.
- Mayek-Pérez, N; López-Castañeda, C; López-Salinas, E; Cumpián-Gutiérrez, J; Acosta-Gallegos, J. 2001. Resistencia a *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. en frijol común en condiciones de campo en México. *Agrociencia* 35:649-661.
- Mayek, N; López, E; Cumpián, J; Acosta, J. 2004. Reacción de germoplasma de frijol común a *Macrophomina phaseolina* en condiciones de riego-secano en Veracruz, México. *Agronomía Mesoamericana* 15(1):45-51.
- Muñoz-Cabañas, R; Hernández, S; Mayek, N. 2005. Análisis patogénico y genético de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. en diferentes hospedantes. *Revista Mexicana de Fitopatología* 23(001):1-18.
- Purkayastha, S; Kaur, B; Dilbahi, N; Chaudhury, A. 2006. Characterization of *Macrophomina phaseolina*, the charcoal rot pathogen of cluster bean, using conventional techniques and PCR-based molecular markers. *Plant Pathology* 55:106-116.
- Ragagnin, V; Sanglard, D; De Sousa, TL; Costa, L; Moreira, M; Barros, E. 2005. A new inoculation procedure to evaluate angular leaf spot disease in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) for breeding purposes. *Bean Improvement Cooperative* 48:90-91.
- Reyes-Franco, MC; Hernández-Delgado, S; Medina-Fernández, M; Mayek-Pérez, N. 2005. Genetic variability of *Macrophomina phaseolina*, the causal agent of charcoal rot in common beans. The XLVIII Report of the Bean Improvement Cooperative N° 48.
- Tijerina-Ramírez, N; Lira-Méndez, K; Moreno-Medina, V; González-Prieto, J; Mayek-Pérez, N. 2014. Efecto del estrés osmótico en el crecimiento, patogenicidad y producción de osmolitos de *Macrophomina phaseolina*. *Revista Mexicana de Micología* 39:31-39.
- Ziethiewicz, E.; Rafalski, A; Labuda, D. 1994. Genomic fingerprinting by simple sequence repeats (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* 20:176-183.

## **Eficiencia de microorganismos y zeolitas en la corrección de propiedades químicas de aguas de la microcuenca del Río Carrizal, Ecuador**

Ángela L. Carreño Mendoza<sup>1</sup>, Leonel R. Lucas Vidal<sup>1</sup>, Ernesto A. Hurtado<sup>2</sup>; Renny Barrios-Maestre<sup>3\*</sup> y Ramón Silva-Acuña<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, Calceta, Ecuador. <sup>2</sup>Campus Politécnico El Limón, Ecuador. <sup>3</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA)-Monagas, Maturín, Venezuela. <sup>4</sup>Universidad de Oriente (UDO)-Postgrado de Agricultura Tropical, Maturín, estado Monagas, Venezuela. \*Correo electrónico: rennybarrios@gmail.com

### **RESUMEN**

Con el objetivo de evaluar la eficiencia de microorganismos y zeolitas en la corrección de propiedades químicas de aguas de la microcuenca del Río Carrizal, Ecuador, se evaluaron los siguientes tratamientos: 1. Incubada con EM1<sup>®</sup> a 5 mL.L<sup>-1</sup> y filtrada en zeolita cubana; 2. Incubada con EM1<sup>®</sup> a 5 mL.L<sup>-1</sup> y filtrada en zeolita ecuatoriana; 3. Incubada con 5 mL.L<sup>-1</sup>; 4. 10 mL.L<sup>-1</sup> y 5. 15 mL.L<sup>-1</sup> de microorganismos autóctonos. Se utilizó el diseño experimental de bloques al azar, con cuatro repeticiones, las comparaciones de tratamientos se realizaron por contrastes ortogonales y su significancia determinada por la prueba de F a 5 % de probabilidad. Se obtuvo que, independientemente de la localidad y de la fuente de agua muestreada, la utilización de dosis de 15 mL.L<sup>-1</sup> de los microorganismos autóctonos como tratamiento de depuración resultó altamente eficiente en la corrección de fosfatos, alcalinidad, conductividad eléctrica y cloruros a los límites permisibles en la normativa técnica ecuatoriana. Los tratamientos de filtración con zeolitas sólo fueron efectivos en la reducción de los tenores de fosfatos contenidos en el agua.

**Palabras clave:** alcalinidad, conductividad eléctrica, cloruros, fosfatos.

## **Efficiency of microorganisms and zeolites in the correction of chemical properties of water of the micro-basin of Carrizal River, Ecuador**

### **ABSTRACT**

In order to evaluate the efficiency of microorganisms and zeolites in the correction of chemical properties of waters of the micro-basin of the Carrizal River, Ecuador, the following treatments were evaluated: 1. Incubated with EM1<sup>®</sup> at 5 mL.L<sup>-1</sup> and filtered on Cuban zeolite; 2. Incubated with EM1<sup>®</sup> at 5 mL.L<sup>-1</sup> and filtered on Ecuadorian zeolite; 3. Incubated with 5 mL.L<sup>-1</sup>; 4. 10 mL.L<sup>-1</sup> and 5. 15 mL.L<sup>-1</sup> of autochthonous microorganisms. The experimental design used was blocks completely randomized, with four repetitions. Comparisons of treatments were performed by orthogonal contrasts and their significance determined by the F test at 5 % probability. It was obtained that regardless of the location and source of water sampled, the use of doses of 15 mL.L<sup>-1</sup> of the autochthonous microorganisms as a purification treatment was highly efficient in the correction of phosphate, alkalinity, electrical conductivity and chlorides at the permissible limits in the Ecuadorian technical regulations. Filtration treatments with zeolites were only effective in reducing the phosphate contents contained in the water.

**Key words:** alkalinity, electrical conductivity, chlorides, phosphates.

## INTRODUCCIÓN

Para la Organización Mundial de la Salud (OMS 2012), la calidad del agua destinada al consumo humano es un tema de interés universal; todas las personas deberían disponer de un suministro satisfactorio. La calidad del agua potable es un factor determinante en el bienestar humano (Hernández 2016; Morais *et al.* 2016); no obstante, cada vez más se incrementan ciertos elementos químicos en las aguas, causado por prácticas antropogénicas inadecuadas, relacionadas con las actividades industriales, agrícolas y mineras, entre otras (Rodríguez *et al.* 2003; Pérez-López 2016). Ante tal problemática, se han planteado diversas estrategias en el tratamiento de agua, para llevar soluciones sencillas de uso a personas que la requieren en sus hogares (Guerrero *et al.* 2017).

Por lo general, existen directrices o estándares de calidad del agua basados en criterios científicamente aceptables (INEN 2014; INEN 2017). Las variables químicas del agua, de mayor interés, son aquellas que pueden afectar la salud del consumidor o generar consecuencias de tipo económico. Desde el punto de vista del agua destinada a consumo humano, entre las variables más importancia se pueden mencionar: metales pesados, coliformes fecales, pH, tenores de nitratos y fosfatos, alcalinidad, la conductividad eléctrica y los cloruros (Jiménez y Vélez 2006).

Entre los nuevos métodos desarrollados para el tratamiento de aguas de uso doméstico, se encuentra la utilización de microorganismos eficientes (EM). Es una tecnología ecológica, compuesta por una mezcla de diferentes especies de microorganismos regeneradores anaeróbicos y aeróbicos de origen natural. Los EM comprenden más de 80 especies procedentes de cinco grupos: bacterias fototróficas, bacterias productoras de ácido láctico, levaduras y hongos de fermentación. Cuando esos microorganismos entran en contacto con la materia orgánica, secretan sustancias beneficiosas como vitaminas, ácidos orgánicos, minerales quelatos y antioxidantes (Romero y Vargas 2017).

Los tratamientos con EM muestran reducción de la conductividad eléctrica (Bejarano y Escobar

2015; Beltrán y Campos 2016); de manera similar, como interés ecológico, es importante considerar la microbiota autóctona de las aguas, ya que influye en los procesos biogeoquímicos del carbono, nitrógeno y azufre. Los microorganismos que la constituyen poseen diversas capacidades metabólicas, que transforman los compuestos orgánicos en inorgánicos, lo que contribuye a la autodepuración de las aguas (Leclerc y Moreau 2002).

Diversas investigaciones indican el uso potencial de la zeolita como material filtrante de aguas para consumo humano. Esta permite realizar el tratamiento de aguas de una forma más eficiente y económica, en comparación a otros materiales conocidos para estos efectos (Vera *et al.* 2015; Guerrero *et al.* 2017). Las zeolitas son aluminosilicatos hidratados de metales alcalinos y alcalinotérreos (especialmente Na, K, Mg y Ca) y absorbente natural por su alto grado de hidratación (Wang y Peng 2010); reducen la concentración de fósforo hasta la que se desea; retienen la mayoría de sólidos suspendidos y reducen la dureza del agua (Gutiérrez *et al.* 2006).

En ese contexto, el objetivo de la presente investigación consistió en evaluar la eficiencia de microorganismos y zeolitas en la corrección de propiedades químicas de aguas de la microcuenca del Río Carrizal, Ecuador.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área objeto de la investigación

La microcuenca hidrográfica del Río Carrizal, comprendida entre las coordenadas 1°4'15"S, 79°52'12"W, con un área de aproximadamente 1.390 km<sup>2</sup>. Se encuentra asentada en la provincia de Manabí; limita al norte con las cuencas del Río Briceño y Río Jama; al sur con las cuencas del Río Portoviejo y Río Guayas; al este con el Océano Pacífico y la cuenca del Estero Pajonal y, al oeste con la cuenca del Río Guaya (Muñoz *et al.* 2009). En esta se tomaron muestras de agua de las localidades de Severino, Julián y Balsa en Medio, de tres fuentes distintas: las vertientes, los tanques de almacenamiento y los grifos de las casas (agua de consumo).



### Tratamientos con microorganismos eficaces realizados a las muestras de agua.

En general, las muestras de agua de cada fuente por localidad recibieron los siguientes tratamientos: 1- Incubada con EM1® a 5 mL.L<sup>-1</sup> y filtrada en zeolita cubana; 2- Incubada con EM1® a 5 mL.L<sup>-1</sup> y filtrada en zeolita ecuatoriana; 3- Incubada con 5 mL.L<sup>-1</sup>; 4- 10 mL.L<sup>-1</sup> y 5- 15 mL.L<sup>-1</sup> de microorganismos autóctonos.

Producto comercial EM1®. Para activar la formulación comercial se siguieron las instrucciones del proveedor, contenidas en la etiqueta del producto y se utilizaron las dosis recomendadas por el fabricante. Las muestras de agua provenientes de vertientes, albarradas o tanques y grifos de las viviendas, de cada localidad, se conformaron con 5 L de agua. Los tratamientos consistieron en la incubación con 5 mL.L<sup>-1</sup> de EM1® durante 2 h y posteriormente pasadas por columnas de filtración de 5 cm de zeolita de origen cubano o de origen ecuatoriano, según el tratamiento asignado.

Microorganismos autóctonos. Se extrajeron de mucilago del cacao (*Saccharomices cereviceae*), mucosa del intestino delgado de gallinas ponedoras (*Bacillus* spp.) y de camarón marino (*Lactobacillus* spp.) por fermentación. Para activarlos se realizó un coctel, utilizando como medio agua destilada y melaza al 5 %. Se obtuvo el biopreparado para un litro, con la concentración de  $1,8 \times 10^9$  UFC ml<sup>-1</sup> *Lactobacillus* spp., de  $1,2 \times 10^9$  UFC ml<sup>-1</sup> *Bacillus* spp. y de  $4,3 \times 10^8$  UFC ml<sup>-1</sup> de *S. cereviceae*. De las muestras de agua provenientes de vertientes, albarradas o tanques y grifos de las viviendas de cada localidad se tomaron alícuotas de 1 L de agua, que fueron incubadas por 2 horas con las dosis de microorganismos autóctonos correspondiente a cada tratamiento. Al finalizar el periodo de incubación, se tomaron cuatro muestras de cada tratamiento para los respectivos análisis químicos.

En los análisis de las muestras de aguas tratadas se cuantificaron las siguientes variables químicas: fosfatos, alcalinidad, conductividad eléctrica y cloruros. Las mencionadas determinaciones se realizaron en el Laboratorio de Análisis Químicas de la Escuela Superior Politécnica

Agropecuaria de Manabí, ubicada en Manabí, Bolívar, Calceta, Ecuador. Los procedimientos analíticos empleados corresponden a las metodologías APHA (2012).

### Diseño experimental

Para los tratamientos señalados se utilizó el diseño experimental de bloques al azar, con cuatro repeticiones. Cada localidad y fuente de agua fue considerada en forma independiente. Previo al análisis de varianza (ANAVA), los valores de las características determinadas en las muestras de agua se examinaron por las pruebas de normalidad de Wilk-Shapiro y la de homogeneidad de varianza de Bartlett por el programa Assistat (Silva y Azevedo 2016). Los análisis de varianza se realizaron con el software InfoStat (Di Rienzo *et al.* 2016). Por la naturaleza estructurada de los tratamientos, las comparaciones entre estos se efectuaron por contrastes ortogonales; para determinar su significancia se empleó la prueba de F a 5 % de probabilidad (Silva-Acuña *et al.* 2000).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las estrategias de depuración disminuyeron significativamente los tenores de todas las variables evaluadas, con resultados consistentes para todas las localidades y en las tres fuentes de agua muestreadas; sin embargo, de acuerdo a la Norma Técnica Ecuatoriana (NTE) 1108 (INEN 2014) y 2200 (INEN 2017), que regulan las condiciones de calidad de agua potable para consumo humano y agua purificada y/o mineralizada envasada en Ecuador, las variables conductividad eléctrica y cloruros se ubicaron dentro de los límites aceptables; mientras que las variables fosfatos y alcalinidad excedieron los límites permisibles para el consumo humano en algunas localidades.

### Fosfatos

La Figura 1 muestra los promedios de los contrastes ortogonales para la variable fosfatos en aguas de vertiente, tanque y consumo. La remoción de fosfatos resultó más eficiente en las comunidades de Julián y Balsa en Medio que en



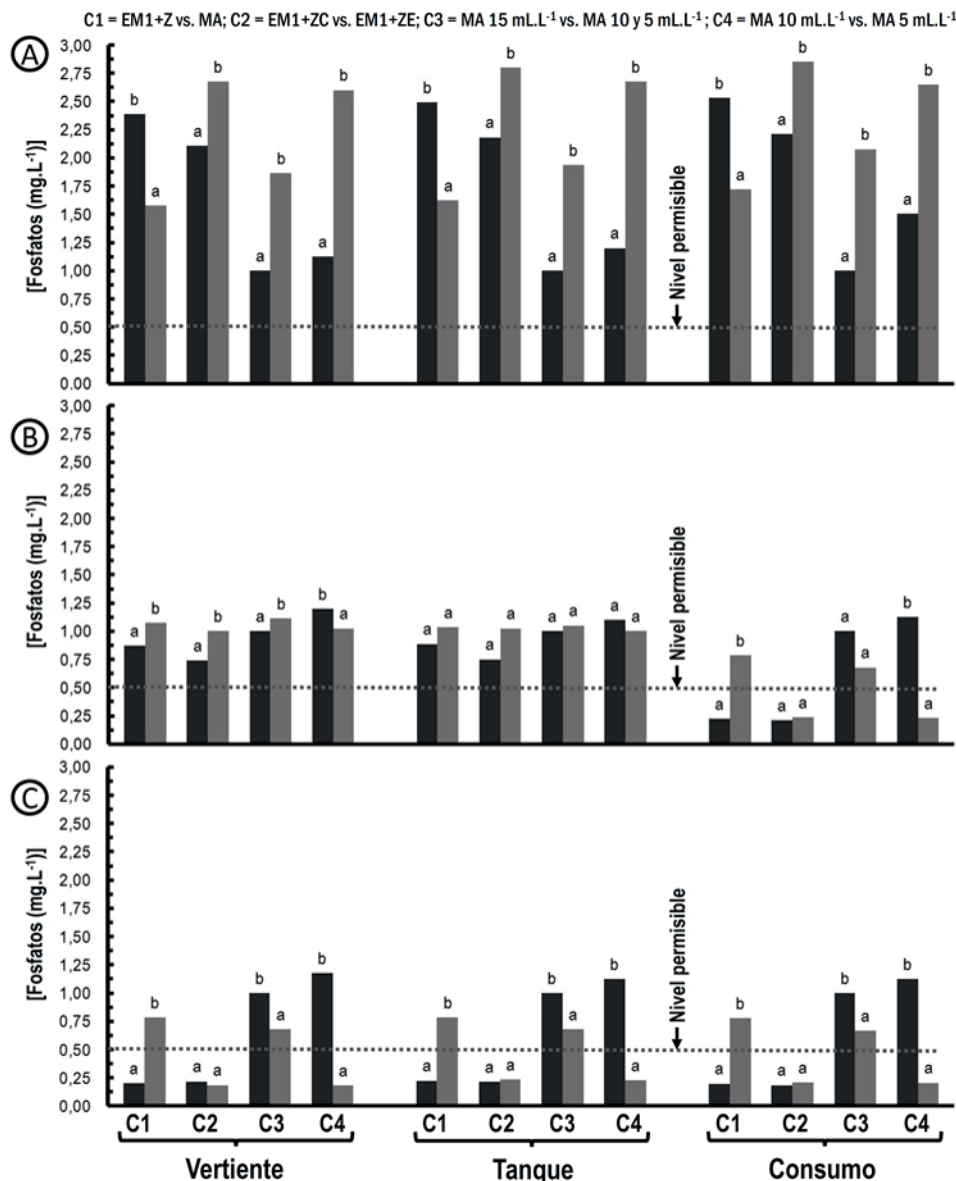


Figura 1. Promedio de contrastes para los niveles de fosfatos en agua en tres fuentes muestreadas en las localidades de Severino (A), Julián (B) y Balsa en Medio (C). [EM1 = Microorganismos eficientes; Z = Zeolitas; ZC = Zeolita cubana; ZE = Zeolita ecuatoriana; MA = Microorganismos autóctonos].

la comunidad de Severino. En el caso de la localidad de Severino ninguno de los tratamientos aplicados logró reducir los tenores de fosfatos dentro de los límites permisibles. Se obtuvieron diferencias significativas de los tratamientos para las tres fuentes evaluadas con tendencias similares, ya que todas las comparaciones resultaron estadísticamente distintas.

Al comparar los EM1® + zeolitas en relación a los microorganismos autóctonos, en todos los casos los menores tenores de fosfatos estuvieron asociados con los microorganismos autóctonos; mientras que la comparación entre las zeolitas arrojó que la mayor eficiencia en la remoción de fosfatos estuvo asociada a la zeolita cubana. Entre las dosis de microorganismos autóctonos,

la dosis de 15 mL.L<sup>-1</sup> presentó los menores tenores de fosfatos que las dosis menores. La comparación entre las dosis de 10 y 5 mL.L<sup>-1</sup>, arrojó que los menores tenores de fosfatos estuvieron asociados a la dosis de 10 mL.L<sup>-1</sup>.

Para la localidad de Julián la reducción de la concentración de fosfatos a los límites permisibles para el consumo humano estipulados en la normativa ecuatoriana sólo se logró cuando la aplicación de los tratamientos de depuración se realizó en aguas de consumo.

En aguas provenientes de las vertientes, los tratamientos de purificación mostraron un comportamiento similar a la localidad de Severino, con diferencias significativas para todos los contrastes evaluados, pero en este caso los tratamientos con EM1<sup>®</sup> + zeolitas resultaron más eficientes que los microorganismos autóctonos y la dosis de 5 mL.L<sup>-1</sup> fue más eficiente que la dosis de 10 mL.L<sup>-1</sup>. Esta situación resultó discordante con la del agua almacenada en tanques, donde no hubo diferencias entre los tratamientos. En aguas de consumo, no se encontraron diferencias estadísticas entre las zeolitas ni tampoco entre la dosis de 15 mL.L<sup>-1</sup> y las menores dosis de microorganismos autóctonos; la misma tendencia descrita se mantuvo para las aguas de vertientes, debido a que los tratamientos con EM1<sup>®</sup> + zeolitas fueron más eficientes que los microorganismos autóctonos y la dosis de 5 mL.L<sup>-1</sup> resultó más eficiente que la dosis de 10 mL.L<sup>-1</sup>.

En el caso de Balsa en Medio se obtuvo un comportamiento similar de los tratamientos de depuración en aguas provenientes de vertiente, tanque y consumo. En todos los casos fue posible reducir los tenores de fosfatos dentro de los límites permisibles. La comparación entre los EM1<sup>®</sup> + zeolitas con los microorganismos autóctonos presentó diferencias significativas y los menores tenores de fosfatos estuvieron asociados a los EM1<sup>®</sup> + zeolitas. No se detectaron diferencias entre las dos zeolitas utilizadas como filtro, mientras que en la comparación entre las dosis de los microorganismos autóctonos se obtuvo la mayor eficiencia cuando se utilizaron las dosis mayores.

Los resultados podrían estar relacionados a la situación de los ríos cercanos a las zonas urbanas en el Ecuador, señalada por Gamarra *et al.* (2014). Estos autores encontraron alta concentración de fosfatos como producto del vertido de aguas domésticas servidas, residuos de la crianza de cerdos, arrastre de fósforo a través de actividades agrícolas (uso de fertilizantes y pesticidas) e industriales, con el uso de detergentes. Por su parte, Gamarra *et al.* (2018) hallaron que en la cuenca del Río Utcubamba (Región de Amazonas, Perú) las principales fuentes de contaminación derivan de la deforestación ribereña que acentúa la escorrentía agrícola; de las descargas domésticas de efluentes orgánicos sin tratamiento previo, de la implantación de canchales de extracción de materiales; de la eliminación de residuos sólidos en vertederos ubicados cerca de la red fluvial; así como, de la presencia de granjas de aves y cerdos.

De manera similar, Rodríguez *et al.* (2016) encontraron fluctuaciones en los tenores de fosfatos en aguas de riego en función de las condiciones climatológicas, asociando los mayores tenores a la época de verano. Bajo las condiciones de este trabajo, la concentración de fosfatos pudiera estar influenciada por la intensidad de la actividad agrícola en las diferentes localidades debido al uso de agroquímicos, o por el arrastre de sedimentos hacia las vertientes de la microcuenca del Río Carrizal.

González y Palacio (2013) señalan que los microorganismos y las microalgas incorporan rápidamente los fosfatos a su biomasa, especialmente en ambientes tropicales, donde las altas temperaturas promueven la rápida asimilación microbiana, lo cual justifica la eficiencia de los microorganismos autóctonos en la corrección de esta variable.

### Alcalinidad

En el caso de la alcalinidad, el rango permisible en el agua potable oscila en valores de 35 a 200 mg.L<sup>-1</sup>. A escala internacional se acepta una alcalinidad mínima de 20 mg.L<sup>-1</sup> para mantener la vida acuática, considerándose que valores inferiores son propensos a la contaminación debido

a que el agua no tiene la capacidad amortiguadora para oponerse a las modificaciones que inducen disminuciones del pH (Pérez-López 2016).

Devi *et al.* (2017) afirman que los hidróxidos, carbonatos y bicarbonatos de los iones  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{NH}^{+4}$  son los principales responsables

de la variación de la concentración total de alcalinidad. La Figura 2 muestra los promedios de los contrastes para la alcalinidad en las tres fuentes de agua estudiadas, y demuestra que los tratamientos de purificación mantuvieron los valores de alcalinidad dentro del rango permisible en las localidades de Julián y Balsa en Medio. No se

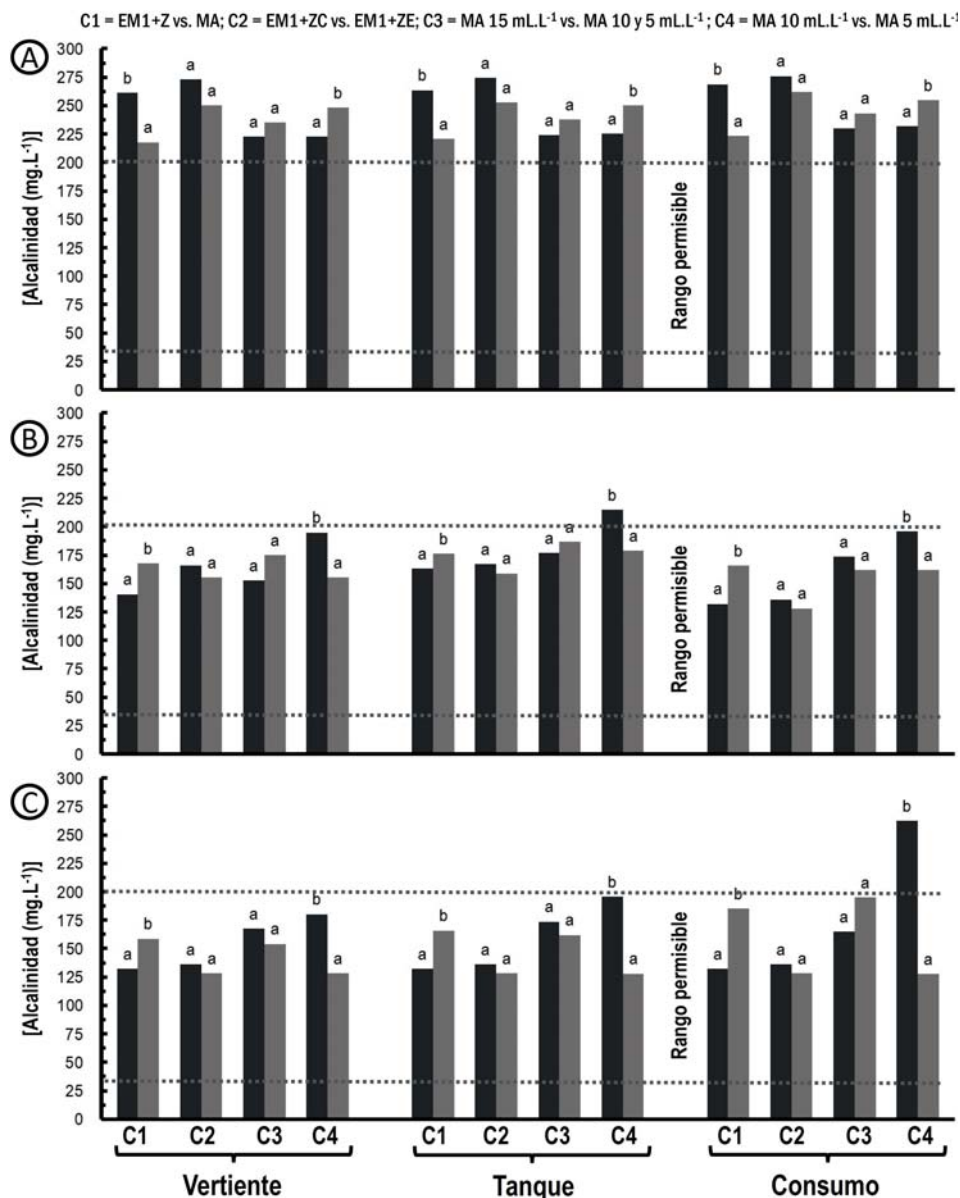


Figura 2. Promedio de contrastes para la alcalinidad del agua en tres fuentes muestreadas en las localidades de Severino (A), Julián (B) y Balsa en Medio (C). [EM1 = Microorganismos eficientes; Z = Zeolitas; ZC = Zeolita cubana; ZE = Zeolita ecuatoriana; MA = Microorganismos autóctonos].

logró mantener la alcalinidad en la localidad de Severino, en la cual se obtuvieron valores que fluctuaron entre 215 y 280 mg.L<sup>-1</sup>.

Independientemente de las localidades y de la fuente de muestreo evaluada, se obtuvo la misma tendencia para todos los tratamientos de purificación estudiados. Los análisis estadísticos arrojaron diferencias significativas para todos los contrastes comparados, a excepción de las zeolitas que resultaron iguales entre sí. Los microorganismos autóctonos resultaron más eficientes que los tratamientos de EM1® + zeolitas en la remoción de los tenores de alcalinidad en el agua, con tendencia a obtener mayor atenuación con la dosis de 5 mL.L<sup>-1</sup>.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Cuchimaque *et al.* (2013), quienes afirman que la alcalinidad se mantiene estable durante el proceso de filtración con zeolitas, debido a que los aniones que originan la alcalinidad no compiten con los sitios de adsorción en la superficie de la capa de óxido, confirmando el carácter negativo de la carga superficial negativa para favorecer la adsorción de cationes.

Páez-Sánchez *et al.* (2013) señalan que los valores altos de alcalinidad pueden conducir a un sabor amargo y a una alta dureza y salinidad en el agua. Carpenter *et al.* (2018) y Singh *et al.* (2004) mostraron variaciones estacionales de los valores de alcalinidad, encontrando aumentos durante el periodo lluvioso, asociado a la disolución y movimiento de contaminantes al agua subterránea con la precipitación.

### Conductividad eléctrica

La conductividad eléctrica está correlacionada con la cantidad de sólidos disueltos, en su mayoría compuestos iónicos de calcio y magnesio, y el límite máximo permisible se ubica en 400  $\mu\text{S cm}^{-1}$ . La Figura 3 muestra los promedios de los contrastes para la conductividad eléctrica del agua luego de la aplicación de tratamientos de purificación en tres fuentes muestreadas en las localidades de Severino, Julián y Balsa en Medio. Se observa que los valores obtenidos se ubicaron entre 200 y 575  $\mu\text{S cm}^{-1}$ . La menor

eficiencia de los tratamientos se obtuvo en la comunidad de Julián, en la cual se encontraron los mayores valores de conductividad eléctrica. En Severino, en las tres fuentes de muestreo se detectaron diferencias significativas para la comparación entre los EM1® + zeolitas en relación a los microorganismos autóctonos.

En todos los casos la menor conductividad eléctrica estuvo asociada a los microorganismos autóctonos. La comparación entre las zeolitas arrojó diferencias significativas con tendencias a obtener mayor eficiencia de remoción con la filtración con la zeolita ecuatoriana. Entre las dosis de microorganismos autóctonos, también hubo diferencias para todas las muestras, predominando la tendencia de mayor eficiencia con las dosis más altas utilizadas, las cuales generaron los menores valores de conductividad eléctrica.

En la localidad de Julián, los microorganismos autóctonos fueron superiores estadísticamente a los tratamientos EM1® + zeolitas; mientras que las comparaciones entre los tipos de zeolita resultaron significativas a nivel de muestras en vertiente, tanque y para consumo, con niveles menores de CE asociados a la zeolita ecuatoriana. Entre dosis de microorganismos autóctonos, solo se obtuvo diferencias significativas a nivel del tanque, siendo los menores niveles encontrados con la dosis de 15 mL.L<sup>-1</sup>; entre las dosis de 10 y 5 mL.L<sup>-1</sup> no se encontraron diferencias estadísticas.

Para la localidad de Balsa en Medio, se detectaron diferencias significativas al 5 % de probabilidad en las tres fuentes de muestreo al comparar los EM1®+ zeolitas y los microorganismos autóctonos, siendo en todos los casos los menores tenores de conductividad eléctrica asociados a los microorganismos autóctonos. Entre las zeolitas no se detectaron diferencias significativas a ningún nivel de muestreo, similar comportamiento presentó la comparación entre la dosis mayor y las menores de los autóctonos. Únicamente, se observó diferencias significativas en las menores dosis a nivel de consumo, donde la menor conductividad eléctrica estuvo asociada a la dosis de 10 mL.L<sup>-1</sup>.



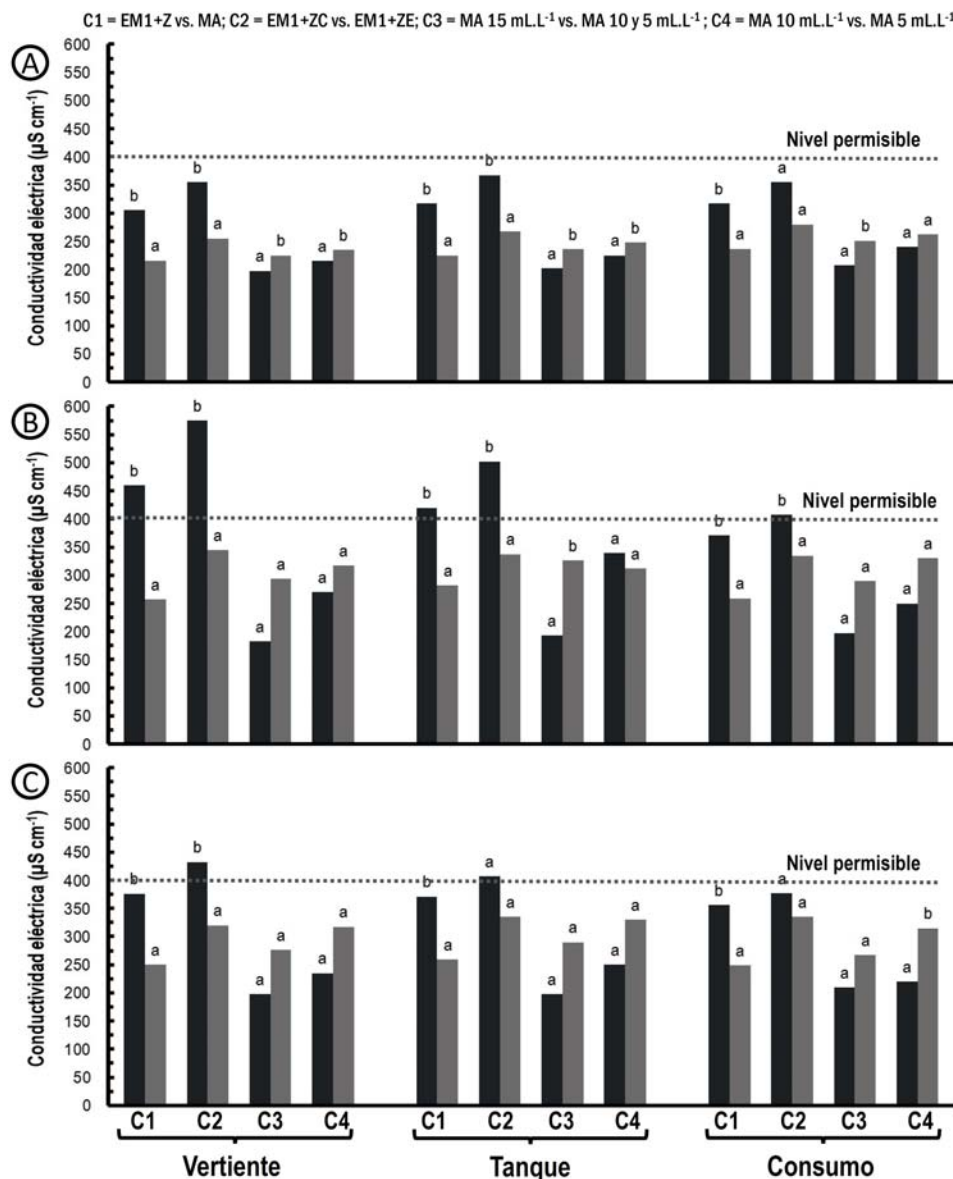


Figura 3. Promedio de contrastes para la conductividad eléctrica del agua en tres fuentes muestreadas en las localidades de Severino (A), Julián (B) y Balsa en Medio (C). [EM1 = Microorganismos eficientes; Z = Zeolitas; ZC = Zeolita cubana; ZE = Zeolita ecuatoriana; MA = Microorganismos autóctonos].

Exceptuando los tratamientos que incluyen la filtración con zeolitas, independiente de la fuente de agua considerada, los tratamientos de purificación condujeron los valores de conductividad eléctrica dentro de los límites recomendados en la normativa ecuatoriana de 400 S/cm<sup>-1</sup>. En contraste, Vera *et al.* (2015) encontraron reducción

de 10 a 20 % del valor medio de la conductividad eléctrica para los efluentes cuando se utilizó zeolita como material filtrante, lo cual se asoció a los altos valores de capacidad de intercambio catiónico que le confiere afinidad para la adsorción de cationes, como el NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y algunos compuestos metálicos.

Pimentel *et al.* (2018) encontraron que las bacterias benéficas *Pseudomonas aeruginosa* y *P. fluorescens* redujeron significativamente los niveles de conductividad eléctrica en aguas residuales, lo cual apoya los resultados obtenidos en cuanto a la eficiencia de los microorganismos autóctonos evaluados en la presente investigación.

### Cloruros

Las concentraciones de cloruros están asociadas a la dureza no carbonatada de las aguas y se pueden encontrar como sales de calcio o magnesio, reduciendo su sabor salado; sin embargo, altos contenidos de cloruros pueden causar corrosión en las tuberías y estructuras metálicas. La concentración de cloruros en aguas naturales es muy variable y depende de las características de la procedencia de las aguas de escorrentía, sus tenores se ven incrementados por la actividad humana (Pontius y Clark 1999).

En la Figura 4 se muestran los promedios de los contrastes de los tratamientos de depuración de tres fuentes de agua muestreadas en las localidades de Severino, Julián y Balsa en Medio para la variable tenores de cloruros. En todas de las situaciones consideradas, los tratamientos utilizados mantuvieron los niveles por debajo del límite permisible se ubicado en 25 mg.L<sup>-1</sup>. Los mayores tenores se ubicaron en la localidad de Balsa en Medio, mientras que los menores valores correspondieron a la localidad de Severino.

En el caso de la comunidad de Severino, se observaron diferencias significativas en todas las fuentes muestreadas y en todos los contrastes de los tratamientos. En tal sentido, los microorganismos autóctonos resultaron más eficientes que los EM1\* + zeolitas, la zeolita ecuatoriana fue más eficiente que la zeolita cubana. Las dosis más elevadas de microorganismos autóctonos fueron superiores a las dosis menores.

Para las localidades de Julián y Balsa en Medio se obtuvieron resultados similares entre sí, manteniéndose la tendencia a obtener resultados estadísticamente superiores con la aplicación de microorganismos autóctonos en comparación

con los tratamientos de EM1\* + zeolitas; siendo las dosis más elevadas de microorganismos autóctonos más eficientes que las dosis bajas en la remoción de cloruros. Para los tratamientos de EM1\* + zeolitas ecuatoriana y cubana predominó un comportamiento similar en todas las fuentes muestreadas.

Espinoza *et al.* (2017) señalan que los contenidos de cloruros están ampliamente distribuidos en la naturaleza en forma de sales de sodio (NaCl), potasio (KCl) y calcio (CaCl<sub>2</sub>). Varias fuentes que contribuyen a los niveles presentes en aguas subterráneas y en vertientes tales como: la escorrentía superficial de fertilizantes inorgánicos provenientes de las actividades agrícolas, la descarga de aguas de riego y los alimentos para animales, entre otros (Bora y Goswami 2017). Páez-Sánchez *et al.* (2013) afirman que altas concentraciones de cloruros pueden evitar el crecimiento de las plantas y causar daños a estructuras metálicas, como la corrosión de tuberías, lo cual puede ser potencialmente peligroso si dichas tuberías están compuestas de metales tóxicos.

Investigaciones sobre la calidad del agua para consumo humano en el corredor ecológico Llanganates – Sangay, Ecuador, obtuvieron que los tenores de cloruro cumplían satisfactoriamente con los requerimientos establecidos en la NTE 1108 (INEN 2014) para calidad de agua potable (Velasteguí 2018).

Bajo las condiciones del estudio, los mejores resultados fueron obtenidos con la aplicación de microorganismos autóctonos en dosis de 15 mL.L<sup>-1</sup>. Se presume que los tenores de cloruros pueden estar asociados al uso de fertilizantes, al vertido de aguas residuales domésticas, residuos de actividades pecuarias o retornos de aguas de riego que fueron receptoras de agroquímicos.

Sánchez *et al.* (2016) aseveran que el ion cloruro no forma sales de baja solubilidad, no se oxida ni se reduce en aguas naturales, tampoco es adsorbido de modo significativo ni entra a formar parte de procesos bioquímicos, por lo que se puede considerar como una propiedad que

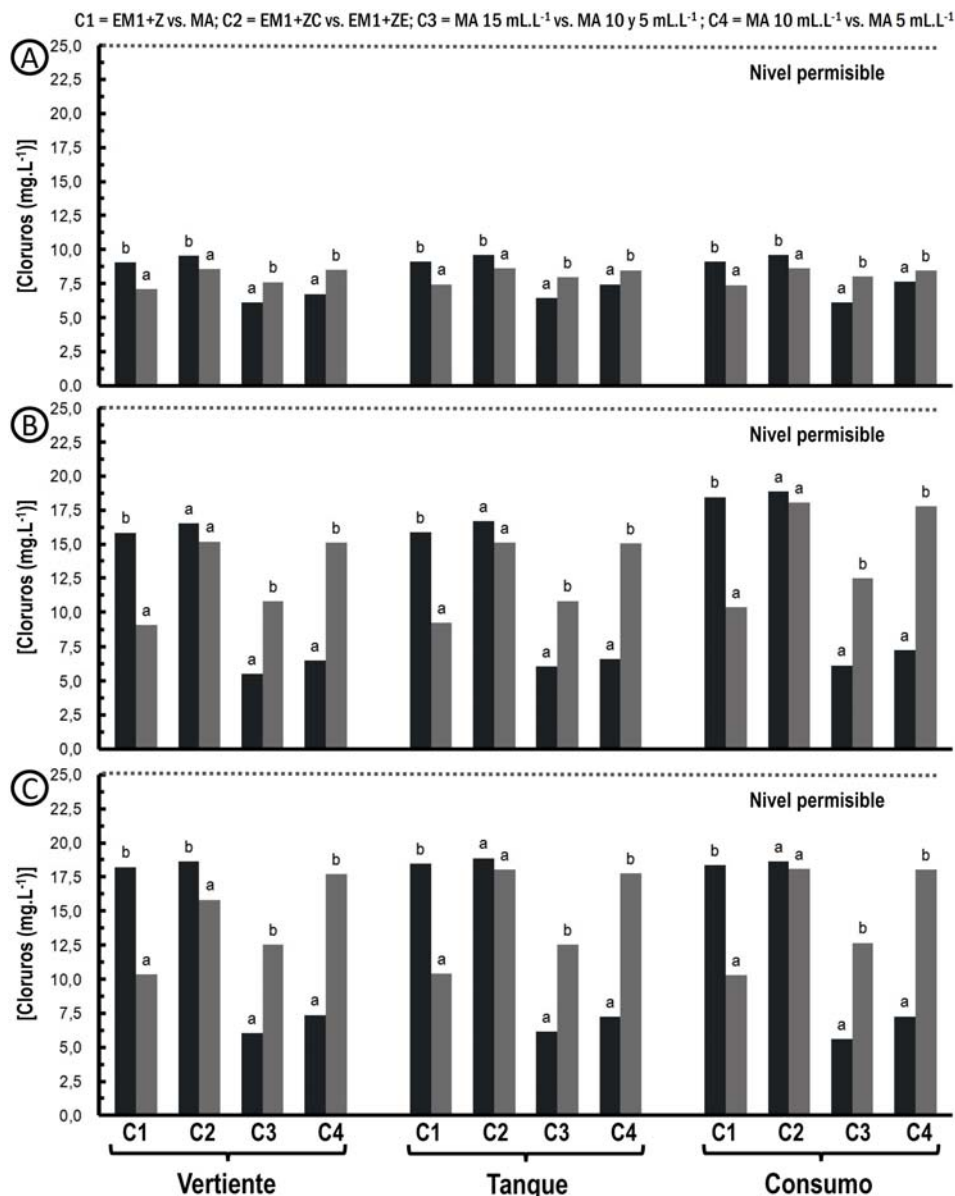


Figura 4. Promedio de contrastes para la variable cloruros en agua en tres fuentes muestreadas en las localidades de Severino (A), Julián (B) y Balsa en Medio (C). [EM1 = Microorganismos eficientes; Z = Zeolitas; ZC = Zeolita cubana; ZE = Zeolita ecuatoriana; MA = Microorganismos autóctonos].

conserva el agua, resultando en un buen trazador, de allí la dificultad de obtener un método eficiente para corregir sus concentraciones.

En términos generales, para todas las variables se obtuvo la tendencia hacia el mejoramiento de las propiedades del agua cuando se utilizan microorganismos autóctonos y cuando se utiliza la zeolita ecuatoriana como material filtrante.

De manera similar, la eficiencia de las dosis de microorganismos autóctonos siguió un orden decreciente, siendo la dosis de 15 mL.L<sup>-1</sup> la que resultó más eficiente.

En concordancia a los resultados obtenidos en la presente investigación Gavilánez (2015) indica que el uso de microorganismos nativos o autóctonos de la zona, representan una alternativa

potencial y económica. Una vez que son capturados y reproducidos a través de medios caseros, pueden ser utilizados para la biodegradación de sustancias contaminantes presentes en las aguas residuales urbanas. Así mismo, estos microorganismos autóctonos aerobios o anaerobios facultativos, son capaces de mejorar las propiedades químicas del agua. Entre ellos están las bacterias heterótrofas, consideradas beneficiosas ya que intervienen en la autodepuración de las aguas (Rosa y Mosso 1995; Rosa *et al.* 2015).

Al considerar la eficiencia de las zeolitas como material filtrante, es importante destacar que la baja eficiencia para corregir la alcalinidad, la conductividad eléctrica y los tenores de cloruros es coherente con los reportes de Vera *et al.* (2015) quienes reportan la baja o nula modificación de estas variables, por lo cual es necesario recurrir a medidas alternativas.

### CONCLUSIONES

La utilización de dosis de 15 mL.L<sup>-1</sup> de los microorganismos autóctonos como tratamiento de depuración presentó ventajas significativas para las variables fosfatos, alcalinidad, conductividad eléctrica y cloruros, independiente de la localidad y de la fuente de agua.

Los tratamientos de filtración con zeolitas redujeron significativamente los tenores de fosfatos contenidos en el agua, pero resultaron poco efectivos para corregir la alcalinidad, conductividad eléctrica y cloruros.

Después de la aplicación de las estrategias de depuración del agua en las localidades de Severino, Julián y Balsa en Medio, con excepción de los tenores de fosfatos, se corrigieron los tenores de conductividad eléctrica, alcalinidad y cloruros a las normativas aplicables a las condiciones de calidad del agua de consumo vigentes en Ecuador.

### LITERATURA CITADA

- APHA (American Public Health Association, USA). 2012. Standard methods for the examination of water and waste water. 22th ed. New York, Ed. McGraw Hill. 506 p.
- Bejarano, M; Escobar, M. 2015. Eficiencia del uso de microorganismos para el tratamiento de aguas residuales domésticas en una planta de tratamiento de agua residual. Trabajo de Grado. Ingeniero Ambiental y Sanitario. Universidad de la Salle. DC, Bogotá. 99 p.
- Beltrán, T; Campos, C. 2016. Influencia de microorganismos eficaces sobre la calidad de agua y lodo residual, planta de tratamiento de Jauja. Trabajo de Grado. Ingeniero Forestal y Ambiental. Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo, Perú. 206 p.
- Bora, M; Goswami, D. 2017. Water quality assessment in terms of water quality index (WQI): case study of the Kolong River, Assam, India. Applied Water Science 7(6):3125-3135.
- Carpenter, S; Bhawsar, A; Bhat, M. 2018. Comparative study of physicochemical characteristics of ground water and surface water in Bhopal city, India. International Journal of Current Research in Life Sciences 7(2):923-926.
- Cuchimaque, C; Vargas, L; Ríos, C. 2013. Remoción de Fe y Mn en aguas naturales por adsorción-oxidación sobre clinoptilolita. Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquía 66:24-44.
- Devi P, A; Padmavathy, P; Aanand, S; Aruljothi, K. 2017. Review on water quality parameters in freshwater cage fish culture. International Journal of Applied Research 3(5):114-120.
- Di Rienzo JA; Casanoves, F; Balzarini, M; González, L; Tablada, M; Robledo, C. 2016. InfoStat versión 2016. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Espinoza, E; Villalobos, R; Martinez, V. 2017. Evaluación de la calidad del agua de consumo humano de la provincia de Recuay. Aporte Santiaguino 10(1):65-74.



- Gamarra, O; Gurbillón, A; Barboza, E; Rascón, J; Corroto, F; Taramona, L. 2018. Fuentes de contaminación estacionales en la cuenca del río Utcubamba, región Amazonas, Perú. *Arnaldoa* 25(1):179-194.
- Gamarra T, OA; Yalta M, JR; Salas L, R; Alvarado Ch, LI; Oliva C, SM. 2014. Evaluación de la calidad ecológica del agua en la microcuenca El Chido e intermicrocuenca Allpachaca-Lindapa, Amazonas, Perú. *INDES Revista de Investigación para el Desarrollo Sustentable* 2(2):49-59.
- Gavilánez, F. 2015. Influencia de *Eichhornia crassipes* microorganismos eficientes sobre contaminantes químicos y orgánicos de las aguas residuales de Naranjito, Ecuador. *Revista de Investigación Científica Manglar* 12(2):21-29.
- González, M; y Palacio, J. 2013. Nutrientes y carbono orgánico disuelto en el agua natural para un proceso de potabilización y su relación con el nivel del embalse afluente. *Revista Politécnica* 9(17):27-37.
- Guerrero, M; Vázquez, A; Caballero, B; Rodríguez, M. 2017. Zeolite in wastewater decontamination as a local development solution. *International Journal of Life Sciences* 1(3):1-13.
- Gutiérrez, O; Scull, I; Oramas, A. 2006. Zeolita natural para la reducción de la dureza del agua. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 40(2):191-192.
- Hernández, C. 2016. Evaluación de la calidad del agua para consumo humano y propuesta de alternativas tendientes a su mejora, en la Comunidad de 4 Millas de Matina, Limón. Trabajo de Grado. Licenciatura en Gestión Ambiental con énfasis en Tecnologías Limpias. Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica. 130 p.
- INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización, Ecuador). 2014. Norma Técnica Ecuatoriana (NTE). Calidad Del Agua. Agua potable requisitos . Quito, Normas 1107 y 1108.
- INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización, Ecuador). 2017. Norma Técnica Ecuatoriana (NTE). Calidad Del Agua. Agua potable requisitos. Quito, Ecuador. Norma 2200.
- Jiménez, M; Vélez, M. 2006. Análisis comparativo de indicadores de la calidad de agua superficial. *Avances en Recursos Hidráulicos* 14(1):53-70.
- Leclerc, H; Moreau, A. 2002. Microbiological safety of natural mineral water. *FEMS Microbiol. Rev.* 26(1):207-222.
- Morais, P; Rezende, B; Palau, B; Tiago, G. 2016. Estudo da qualidade da água por meio de bioindicadores bentônicos em córregos da área rural e urbana. *Tabauté* 11(1):33-52.
- Muñoz, A; Macías, S; García, M. 2009. Caracterización hidrológica del Ecuador. Proyecto INAMHI-MAE-SCN-PRAA-PACC. Quito-Ecuador. 83 p.
- OMS (Organización Mundial de la Salud, Suiza). 2012. Progresos sobre el agua potable y saneamiento. Ginebra. Disponible en: [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/monitoring/jmp2012/fast\\_facts/es/](http://www.who.int/water_sanitation_health/monitoring/jmp2012/fast_facts/es/)
- Páez-Sánchez, A; Alfaro-Cuevas, R; Cortés-Martínez, R; Segovia, N. 2013. Arsenic content and physicochemical parameters of water from wells and thermal springs at Cuitzeo Lake Basin, Mexico. *IJRSET* 2: 7731-7740.
- Pérez-López, E. 2016. Control de calidad en aguas para consumo humano en la región occidental de Costa Rica. *Tecnología en Marcha* 29(3):3-14.
- Pimentel, G; Flores, R; Alfaro, Y; Villarreal, D; de la Cruz, A. 2018. Aplicación de bacterias benéficas como modelo experimental para la reducción de sólidos y conductividad en aguas residuales. *Revista de Iniciación Científica* 4:57-61.
- Pontius, E; Clark, R. 1999. Drinking Water Quality Standards, Regulations, and Goals. In: *Water quality and treatment. A Handbook of Community Water Supplies*. Ed.R. D. Letterman. pp: 1-45.

- Rodríguez, B; Taboada, C; Taboada, M. 2003. Evaluación de la calidad química del agua de un pequeño manantial del macizo granítico de La Coruña (NW España). *Cadernos Lab. Xeolóxico de Laxe Coruña* 28(1):301-310.
- Rodríguez, S; De Asmundis, C; Martínez, G. 2016. Variaciones estacionales de las concentraciones de fosfatos y nitratos en distintas fuentes de aguas de pequeños productores hortícolas. *Agrotecnia* 24:30-34.
- Romero, T; Vargas, D. 2017. Uso de microorganismos eficientes para tratar aguas contaminadas. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental* 38(3):88-100.
- Rosa, MC; Mosso, MA. 1995. Diversidad microbiana de las aguas minerales termales. *Panorama actual de las Aguas Minerales y Minero-medicinales en España*. Ed. Real Acad. Farmacia. Madrid 21(1):153-158.
- Rosa, MC; Pintado, C; Rodríguez, C. 2015. Microbiología del agua mineral del balneario. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia* 81(5):54-63
- Sánchez, JÁ; Álvarez, T; Pacheco, J; Carrillo, L; González, R. 2016. Calidad del agua subterránea: acuífero sur de Quintana Roo, México. *Tecnología y ciencias del agua* 7(4):75-96.
- Silva, F; Azevedo, C. 2016. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. *African Journal of Agricultural Research* 11(39): 3733-3740.
- Silva-Acuña, R; Álvarez, VH; Silva-Acuña, A. 2000. Como comparar correctamente tratamientos de naturaleza cualitativa. *Agronomía Tropical* 50(2):151-155.
- Singh KP; Malik, A; Mohan, D; Sinha, S. 2004. Multivariate statistical techniques for the evaluation of spatial and temporal variations in water quality of Gomti River (India)—a case study. *Water research* 38(18):3980-3992.
- Velasteguí, JR. 2018. Calidad del agua para consumo humano en el corredor ecológico ecuatoriano Llanganates-Sangay. *Revista de Ciencia, Tecnología e Innovación* 5(1):77-87.
- Vera, I; Rojas, M; Chávez, W; Arriaza, B. 2015. Evaluación de materiales filtrantes para el reuso en agricultura de aguas residuales tratadas provenientes de zonas áridas. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina* 26(1):5-19.
- Wang, S; Peng, Y. 2010. Natural zeolites as effective adsorbents in water and wastewater treatment. *Chemical Engineering Journal* 156(1):11-24.

## **Aplicación del control de calidad a series temporales de precipitación mensual de tres localidades del estado Yaracuy, Venezuela**

Carmen A. Torín\*, Pedro P. Monasterio, Waner Maturét

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Yaracuy, Venezuela. \*Correo electrónico: ctorin@yahoo.com

### **RESUMEN**

Existe un creciente interés por incorporar la información climática en la toma de decisiones del ámbito agrícola, para reducir el grado de incertidumbre y el riesgo climático. Para esto, es necesario disponer de bases de datos climáticos de calidad que garanticen un análisis confiable sobre una determinada situación climática. El objetivo de este trabajo fue aplicar un control de calidad a las series de precipitación mensual de tres localidades del estado Yaracuy, Venezuela. La base de datos se generó con la información del periodo 1970-2011, de las estaciones meteorológicas ubicadas en las localidades Central Matilde, San Javier y Yaritagua de los municipios Bruzual, San Felipe y Peña, respectivamente. Dicho estudio se realizó con la determinación de datos faltantes diarios y mensuales, detección de extremos de lluvia mensual, cálculo de la estadística descriptiva básica, análisis de la concentración, tendencia y dispersión de la serie temporal. Las series de precipitaciones generadas por las estaciones de Yaritagua, Central Matilde y Naranjal contienen datos con calidad adecuada y aceptable por cumplir con las condiciones de continuidad, homogeneidad, representatividad. Esto indica que pueden ser utilizados en estudios de caracterización de la precipitación, zonificación de cultivos, calendarios de siembra, análisis espacio temporal de tipos climáticos, análisis de sequía y estudios de la variabilidad de la precipitación en zonas de importancia agrícola.

**Palabras clave:** calendario agrícola, climatología, estaciones meteorológicas, lluvia.

## **Quality control to temporary series of monthly precipitation of three sites in the Yaracuy state, Venezuela**

### **ABSTRACT**

There is a growing interest in incorporating climate information in decision-making in the agricultural field, in order to reduce the degree of uncertainty and climate risk. In this context, it is necessary to have quality climate data sets, which allow obtaining an approximate analysis on any certain climatic situation. The objective of this work was to apply a quality control to monthly precipitation time series from three meteorological stations located in the Yaracuy state: Matilde Central at the Bruzual municipality, San Javier at the San Felipe municipality and Yaritagua at the Peña municipality, taking the period 1970-2011 as reference. This study was carried out through the determination of daily and monthly missing data, detection of extreme values of monthly rainfall, calculation of basic descriptive statistics, analysis of the concentration, trend and dispersion of the time series. The series of precipitation generated by the stations of Yaritagua, Central Matilde and Naranjal contain data with adequate and acceptable quality for fulfilling the conditions of continuity, homogeneity, representativeness among others, so that they can be used in studies of characterization of precipitation, crops zoning, sowing calendars, temporal space analysis of climatic types, drought analysis and studies of the variability of precipitation in areas of agricultural importance.

**Key words:** agricultural calendar, climatology, weather stations, rain.

Recibido: 13/03/16    Aprobado: 13/01/18

## INTRODUCCIÓN

Los datos climáticos constituyen el principal insumo para realizar estudios, que conlleven a una interpretación clara de la variabilidad climática. Es importante considerar estos estudios en la toma de decisiones que afectan a la sociedad, con especial énfasis en el ámbito agrícola. Esto se debe a que la disponibilidad del recurso hídrico y los rendimientos agrícolas, están en función de esa variabilidad natural (Martelo 2003).

Los análisis y las investigaciones del área agrícola fundamentados en datos climáticos, sometidos a control de calidad, permiten al agricultor mejorar la eficacia en la toma de decisiones de los cultivos a establecer; así mismo, reducir labores agrícolas innecesarias, adaptar las prácticas agrícolas a las condiciones del clima local, prevenir enfermedades y aumentar la productividad. A escala regional y nacional, contribuirían con información del potencial agrícola de cada zona pedoclimática; optimizar la gestión del recurso hídrico; establecer las técnicas de producción agrícola, de acuerdo a las características climáticas de la zona; e influirían en el incremento de la producción, para garantizar un abastecimiento constante y uniforme en el mercado.

La disponibilidad de datos climáticos, con calidad aceptable, es la herramienta básica para lograr certeza en la toma de decisiones de planificación agrícola. Esto permite una proyección del porcentaje de riesgo en el desarrollo de la actividad agrícola, en un periodo determinado, a fin de maximizar los rendimientos.

En Venezuela, el control de calidad de las series de precipitación ha representado la base primordial para estudios como los calendarios de siembra (Hernández *et al.* 2017); análisis regional de la lluvia (Olivares *et al.* 2017a); descripción de tipos climáticos en zonas agrícolas (Olivares *et al.* 2018), estudios de la variabilidad de la lluvia en zonas de importancia agrícola (Olivares *et al.* 2013b; Rodríguez *et al.* 2013; Cortez *et al.* 2016; Olivares 2018) y estudios sobre sequía meteorológica en territorios agrícolas (Paredes *et al.* 2014; Trejo *et al.* 2016; Olivares *et al.* 2016; Cortez *et al.* 2018; Parra *et al.* 2018).

De acuerdo a la World Meteorological Organization (WMO 2011), el control de calidad consiste en verificar si el valor de un dato es representativo de la medición que se pretendía efectuar, sin afectación por factores no relacionados con el mismo. Durante el proceso de control de calidad se detectan e identifican los errores que ocurren durante la adquisición, manipulación, formato, transmisión y archivo de los datos (Aguilar *et al.* 2003). Tales errores pudieran ser ocasionados por cambios de: ubicación geográfica de la estación; observador; instrumentos; reemplazo de una estación antigua por una estación automática o no registrar el dato en un momento determinado (Jones *et al.* 1997; Medina 2008), lo que conduciría a la inconsistencia o a la ausencia del dato.

Los datos climáticos con calidad aceptable se caracterizan por cumplir las condiciones de continuidad, homogeneidad, representatividad; su aplicación en la toma de decisiones se aproxime a la realidad. Los datos de calidad no tienen que ser necesariamente excelentes, pero es esencial que su calidad sea conocida y demostrable (Solís 2011).

Sobre la base de lo explicado, es necesario realizar pruebas de control de calidad de datos para detectar y disminuir los errores; lo cual evidencia la amplitud de variación y la consistencia de los datos climáticos. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue aplicar el control de calidad de datos a las series de precipitación mensual del período 1970-2011, generadas por las estaciones meteorológicas ubicadas en las localidades Central Matilde, San Javier y Yaritagua del estado Yaracuy, Venezuela.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para el análisis se utilizaron los registros de precipitación mensual del período 1970-2011, de tres estaciones meteorológicas del estado Yaracuy, Venezuela. Las estaciones fueron: Central Matilde y Naranjal que forman parte de la red de estaciones del Ministerio del Poder Popular para Ecosocialismo (MINEC) y la Yaritagua, de la Red Agrometeorológica del Instituto Nacional



de Investigaciones Agrícolas (INIA). El Cuadro 1 muestra la descripción geográfica de las estaciones meteorológicas consideradas en el estudio.

### Procedimiento aplicado para el control de calidad de datos

Previo a la aplicación de este procedimiento, los datos de las series de precipitación de las tres estaciones fueron sometidos a los supuestos estadísticos. Se concluyó que los datos de precipitación analizados siguen el patrón de distribución normal. Posteriormente, se aplicó el control de calidad a las series temporales de precipitación, mediante la determinación de datos faltantes, el cálculo de estadística descriptiva, análisis de concentración y tendencia de series temporales y análisis de dispersión de acuerdo a la metodología propuesta por Parra y Cortéz (2005).

### Determinación de datos faltantes

Para determinar la proporción de datos faltantes diarios y mensuales en la serie de precipitación, se usó el criterio definido por Parra y Cortéz (2005). Los autores establecen que si existe por lo menos una observación faltante ( $df$ ) en el mes, es decir si  $df > 0$ , no se calcula el valor mensual (se considera perdido). Por el contrario, si  $df = 0$ , el valor mensual se calcula como la sumatoria de los valores diarios o lluvia total caída en el mes. Los datos faltantes en cualquier serie pueden afectar la representatividad de los análisis; por tal razón, el investigador debe seleccionar

estaciones con una longitud de registro histórico adecuado al tipo de análisis de interés.

### Detección de valores extremos

La teoría de los valores extremos permite describir el comportamiento de los puntos muy alejados de la media en una distribución (Wulfmeyer y Henning-Müller 2005). Los valores extremos en las series de precipitación se detectaron a través de la aplicación del criterio basado en la desviación absoluta de la mediana ( $mad$ ) (Ablan *et al.* 2008; Crawley 2002). La  $mad$  representa un estimador robusto de la variabilidad de los datos, considerado menos sensible a los valores extremos que el promedio aritmético. Cuando el valor de la desviación estándar es mayor que cuatro veces el de la  $mad$ , se supone que el conjunto de datos posee valores extremos (Parra y Cortéz 2005; Olivares *et al.* 2013a).

### Estadística descriptiva básica

A través del uso del software estadístico InfoStat versión 2013, se determinó la estadística descriptiva básica: precipitación media mensual, máxima diaria, máxima mensual, desviación estándar, coeficiente de variación, percentiles 5 % y 95 %, primer cuartil, tercer cuartil y desviación absoluta de la mediana; esto con el fin de comparar con los rangos reportados por el Ministerio del Ambiente y los Recursos Naturales (MARN) en la Primera Comunicación Nacional en Cambio Climático en Venezuela (MARN 2005). Así mismo, se determinó el número de días con precipitaciones mayores o iguales a 0,1 y 10 mm (Wulfmeyer y Henning-Müller 2005).

Cuadro 1. Descripción geográfica de las estaciones meteorológicas del estado Yaracuy, Venezuela, consideradas en el estudio.

| Serial | Estación        | Localidad       | Municipio  | Altura<br>(m.s.n.m) | Latitud   | Longitud  | Tipo |
|--------|-----------------|-----------------|------------|---------------------|-----------|-----------|------|
| 6336   | Naranjal        | San Javier      | San Felipe | 107                 | 10°21'45" | 69°39'00" | C1   |
| 0103   | Yaritagua       | Yaritagua       | Peña       | 336                 | 10°02'38" | 69°05'20" | C1   |
| 1381   | Central Matilde | Central Matilde | Bruzual    | 235                 | 10°08'39" | 68°52'11" | C3   |

C1: mide todos los elementos climáticos; C3: mide solo temperatura del aire y precipitación.

### Análisis de concentración y tendencia de la serie temporal

El ajuste lineal se realizó a través del análisis de regresión lineal simple para identificar las tendencias. La Organización Meteorológica Mundial (OMM 2011), recomienda este procedimiento como uno de los más simples; ya que, los cambios en la consecuencia de los datos pueden ser rápidamente percibidos ajustando una recta de cuadrados mínimos que marque la tendencia de los datos. En este caso, la variable regresora o independiente "X" es el año y la variable dependiente "Y" es la precipitación mensual (mm/mes). Se seleccionaron y analizaron los meses mayo y julio como representativos del período lluvioso (Cárdenas y De Grazy 2003).

Por otro lado, la homogeneidad de la serie estudiada se verificó con la aplicación de la prueba de correlación serial de Wald-Wolfowitz (WMO 1989; Sneyers 1990). En este caso, la hipótesis nula consiste en asumir que todas las observaciones de la serie provienen de la misma población y que son independientes; es decir, la serie se comporta de forma aleatoria (Watt 1989).

La prueba de correlación serial de Wald-Wolfowitz  $u(r)$ , según Sneyers (1990), evalúa el carácter aleatorio simple de una serie. El estadístico de la prueba es:

$$u(r) = [(n-1)r + 1] / \sqrt{n-1} \quad (1) \text{ donde:}$$

$$r = R / S_2 \quad (2)$$

$$R = S_2 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i' - y_{i+1}')^2}{2} \quad (3)$$

$$S_2 = \sum (y_i')^2 \quad (4)$$

n: número de elemento;  $y_i'$ : rangos centrados ( $=y_i - \bar{y}$ ) de las observaciones ordenadas de menor a mayor. Para muestras grandes, el estadístico  $r$ , sigue la distribución normal estándar y la probabilidad  $\alpha_1$ , determinada de la N (0,1) es:

$$\alpha_1 = P(u > u(r)) \quad (5)$$

La hipótesis nula de no correlación es rechazada al nivel de significancia  $\alpha_0$  ( $\alpha_0=0,05$ ) si  $\alpha_1 < \alpha_0$

Si la serie de datos analizada resulta homogénea, se puede considerar en un análisis de variabilidad climática. Esto debido a que todas las observaciones de la serie provienen de la misma población y, por lo tanto, la serie se comporta de manera aleatoria. La no homogeneidad de las series puede ser atribuida directa o indirectamente al personal que efectúa la medición en las estaciones o en las operaciones de estas; también, a los cambios de localización de las estaciones o derivaciones locales características de la región (Olivares *et al.* 2012).

### Análisis de dispersión de las series temporales

El análisis de dispersión de las series temporales se realizó mediante diagramas de caja o "boxplots", con determinación de valores atípicos moderados y severos. Estos pueden tener un impacto potencial en análisis estadísticos posteriores (Parra y Cortez 2005). Se define un valor atípico moderado el que se encuentra por encima del tercer cuartil ( $Q_3$ ) o por debajo del primer cuartil ( $Q_1$ ). Se considera como valor atípico severo cuando el alejamiento es mayor que 3 veces el RIQ (Tukey 1977).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Detección de datos faltantes

El Cuadro 2 presenta el número de datos diarios de la serie mensual de precipitación, para el periodo 1970-2011, registradas por las estaciones meteorológicas Central Matilde, Naranjal y Yaritagua. En este se observa la ocurrencia de datos faltantes. En la estación Yaritagua se encontró entre 2 y 4 % de datos faltantes en los meses enero, abril, mayo y diciembre.

Por su parte, en la estación meteorológica Central Matilde se evidenció un 10 % de datos faltantes en 7 meses del año. La serie mensual de la estación Naranjal, muestra entre 0,2 y 0,7 % de datos faltantes en los meses enero y agosto, respectivamente. Esto permitió que al generar los valores mensuales con la condición  $df=0$ , se conservaran entre 28 y 31 años de registros mensuales en la estación Central

Matilde; entre 17 y 19 años de registros mensuales en la estación Naranjal y entre 41 y 42 años de registros mensuales en la estación Yaritagua, excepto el mes de mayo con 37 años.

De acuerdo a la cantidad de observaciones faltantes, los datos de precipitación generados en estas estaciones poseen una calidad adecuada y son confiables para estudios relacionados con: la caracterización regional de la precipitación (Olivares *et al.* 2017a; calendarios de siembra (Hernández *et al.* 2017); variabilidad espacio temporal de la precipitación (Cortez *et al.* 2016; Olivares *et al.* 2013b); zonificación de cultivos, análisis espacio temporal de tipos climáticos (Olivares *et al.* 2018) y análisis de sequía meteorológica (Paredes *et al.* 2014; Trejo *et al.* 2016; Olivares *et al.* 2016, Cortez *et al.* 2018; Parra *et al.* 2018; Olivares y Zingaretti 2018).

### Detección de valores extremos

El Cuadro 3 presenta la desviación estándar (DE) y la desviación absoluta de la mediana (dam) de las series de precipitaciones mensuales de las estaciones en estudio; estas desviaciones permitieron determinar la existencia de valores extremos. Además, se incluye la precipitación diaria máxima, con la que se verifica si el valor extremo es consecuencia de lluvias pocos

frecuentes, errores de procesamiento de datos o lluvias acumuladas.

En las series de precipitaciones de las estaciones estudiadas, la ocurrencia de los valores extremos se debe a lluvias poco frecuentes en el período seco. Al respecto, las series de precipitaciones mensuales de la estación Yaritagua presentaron valores extremos en enero, febrero y marzo (período seco). Estos valores extremos, se deben a la ocurrencia de precipitaciones diarias aisladas inferiores a 15,8 mm durante en el mes de enero; de 20,4 mm (febrero) y 69 mm (marzo), precedidas y seguidas de valores cero. Dichas precipitaciones se presentaron con una frecuencia de uno a dos días al mes. Según Martelo (2003) y Olivares (2018), los eventos lluviosos registrados en las series históricas entre los meses enero y febrero pueden ser con gran probabilidad la consecuencia de la llegada de Frentes Fríos.

La serie de datos generada por la estación Central Matilde reflejó valores extremos en los meses enero, marzo y junio. El valor extremo y máximo (80,4 mm/día) en el mes de junio fue consecuencia de lluvia intensa de corta duración (Olivares *et al.* 2013a).

Cuadro 2. Número de datos diarios observados y faltantes en la serie de precipitación mensual (1970-2011).

| Estación        | Tipo dato | Meses |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|-----------------|-----------|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|                 |           | Ene   | Feb  | Mar  | Abr  | May  | Jun  | Jul  | Ago  | Sep  | Oct  | Nov  | Dic  |
| Yaritagua       | Obs       | 1271  | 1185 | 1301 | 1301 | 1254 | 1258 | 1302 | 1295 | 1260 | 1302 | 1259 | 1271 |
|                 | Falt      | 31    | 1    | 1    | 30   | 47   | 2    | 0    | 6    | 0    | 0    | 0    | 31   |
| Central Matilde | Obs       | 310   | 282  | 310  | 310  | 310  | 330  | 309  | 341  | 328  | 310  | 330  | 341  |
|                 | Falt      | 31    | 28   | 31   | 30   | 31   | 0    | 31   | 0    | 2    | 31   | 0    | 0    |
| Naranjal        | Obs       | 588   | 537  | 589  | 589  | 587  | 570  | 589  | 585  | 570  | 589  | 570  | 589  |
|                 | Falt      | 1     | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 4    | 0    | 0    | 0    | 0    |

Obs: observado. Falt: faltante.

Cuadro 3. Valores de desviación estándar y absoluta de la mediana, precipitación diaria máxima de las estaciones estudiadas durante el periodo 1970-2011.

| Estación        | Indic. | Ene  | Feb  | Mar  | Abr   | May   | Jun   | Jul  | Ago   | Sep   | Oct   | Nov   | Dic  |
|-----------------|--------|------|------|------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|-------|------|
| Yaritagua       | DE     | 10.4 | 9.1  | 25.5 | 62.0  | 52.2  | 82.0  | 63.0 | 55.7  | 40.5  | 43.8  | 49.9  | 32.2 |
|                 | mad    | 0    | 0.5  | 4.8  | 28.9  | 29.6  | 36.3  | 37.9 | 40.5  | 21.7  | 21.3  | 24.8  | 12.7 |
|                 | Pdm    | 15.8 | 20.4 | 69.0 | 100.5 | 78.0  | 210.6 | 98.2 | 118.1 | 83.5  | 133.6 | 56.0  | 57.2 |
| Central Matilde | DE     | 14.5 | 7.7  | 27.7 | 50.9  | 90.2  | 62.3  | 49.4 | 78.0  | 58.7  | 20.8  | 39.2  | 28.7 |
|                 | mad    | 2.0  | 3.3  | 2.8  | 28.2  | 57.1  | 15.1  | 32.2 | 34.1  | 38.1  | 15.9  | 21.5  | 17.3 |
|                 | Pdm    | 19.0 | 13.2 | 42.0 | 78.5  | 78.0  | 80.4  | 50.2 | 79.0  | 85.0  | 49.2  | 65.2  | 40.6 |
| Naranjal        | DE     | 72.6 | 56.1 | 32.2 | 94.9  | 81.6  | 45.4  | 84.9 | 40.2  | 62.4  | 70.6  | 59.8  | 87.0 |
|                 | mad    | 13.9 | 13.4 | 10.0 | 32.3  | 57.0  | 37.8  | 45.2 | 29.4  | 44.2  | 30.9  | 39.7  | 37.7 |
|                 | Pdm    | 62.1 | 210  | 46.8 | 94.3  | 129.0 | 113.0 | 92.3 | 71.0  | 110.5 | 125.2 | 123.8 | 87.8 |

Indic.: Indicador. DE: Desviación estándar; mad: Desviación absoluta de la mediana; Si DE > 4mad, entonces existen valores extremos. Pdm: Precipitación diaria máxima (mm).

Así mismo, las series de precipitaciones mensuales de la estación Naranjal, presentaron valores extremos en enero y febrero. Los valores extremos ocurridos en enero, son consecuencia de lluvias intensas; no así el valor extremo del mes de febrero que fue resultado de valores acumulados en las series de datos de precipitación.

### Estadística descriptiva básica

La representación gráfica de los parámetros que constituye la estadística descriptiva de la serie de precipitación se muestra en la Figura 1. Estos indicadores mostraron valores dentro de los rangos reportados por la Primera Comunicación Nacional en Cambio Climático de Venezuela (MARN 2005), Parra y Cortez (2005) y Olivares *et al.* (2013a).

La serie de precipitación de Yaritagua del periodo 1970-2011 evidenció una distribución unimodal, donde el 70 % del total anual se concentró en el período lluvioso, con mayores descargas durante los meses junio y julio. Durante los meses del periodo seco (enero a marzo), las precipitaciones fueron inferiores a los 69 mm,

con una alta proporción de valores cero. En contraste, la serie de precipitación de la estación Central Matilde exhibió una distribución bimodal; en el periodo lluvioso se concentró el 78 % del total anual de precipitación, con un máximo en mayo y un repunte en agosto. En los meses del periodo seco (enero a marzo) las precipitaciones fueron inferiores a los 42 mm, con una alta proporción de valores cero. Asimismo, la serie de precipitación de la estación Naranjal, mostró una distribución bimodal, donde el 77 % del total anual de precipitación se concentró en el período lluvioso, con mayores descargas en los meses mayo y julio.

La Figura 2 muestra el número de días con precipitaciones mayores o iguales a 0.1 y 10.0 mm; las estaciones de Yaritagua y Central Matilde tuvieron un promedio de 0 a 1 día con precipitaciones mayores a 0,1 mm durante el periodo seco (enero a marzo) y de 1 a 3 días con precipitaciones mayores a 10 mm. En contraste, la estación Naranjal presenta un promedio de 9 a 12 días con precipitaciones mayores de 10 mm. A partir de abril, en las estaciones Yaritagua y Central

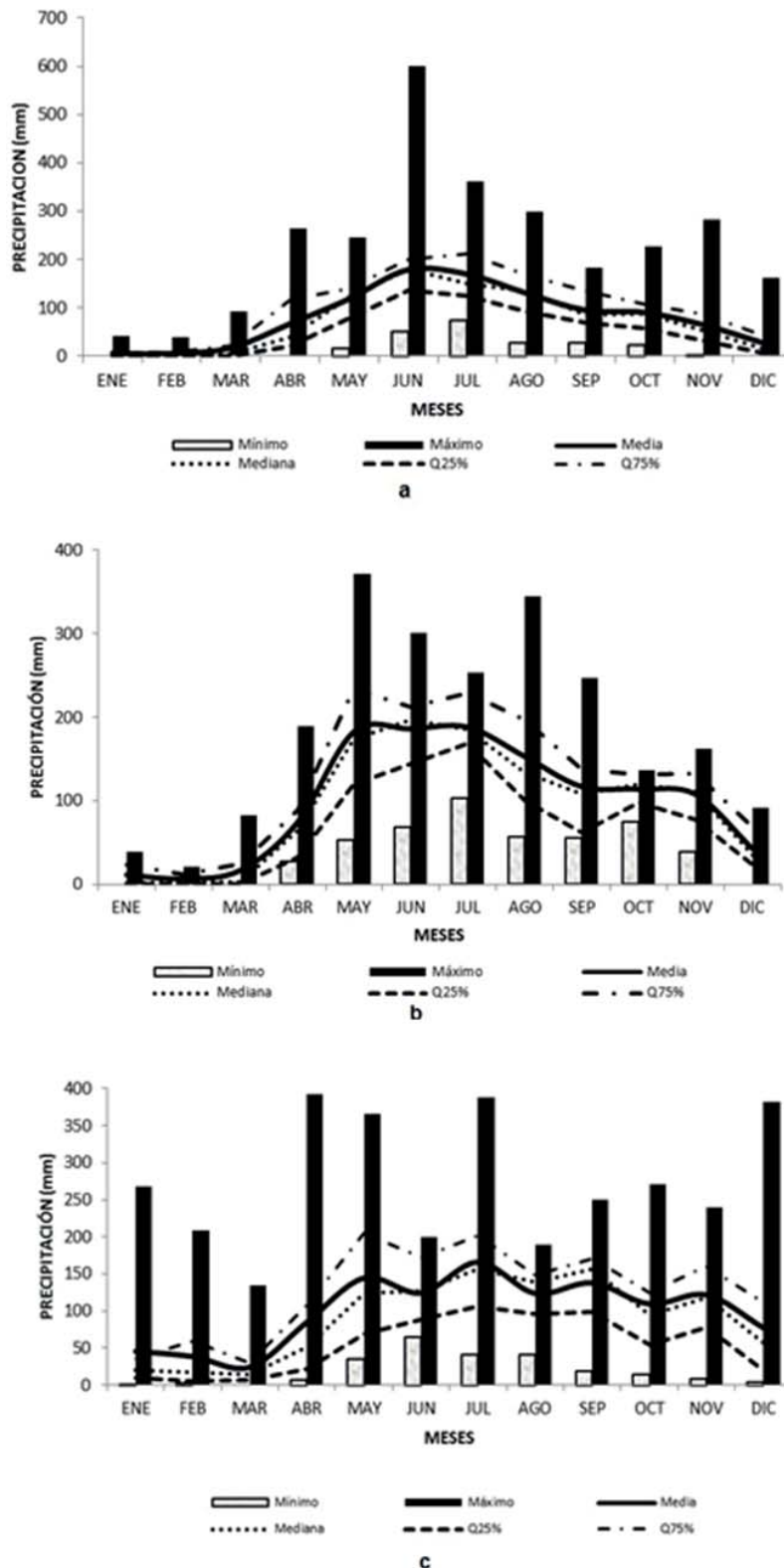


Figura 1. Comportamiento de la precipitación mensual (mm) durante el período 1970-2011. a. Estación Yaritagua. b. Estación Central Matilde. c. Estación Naranjal.



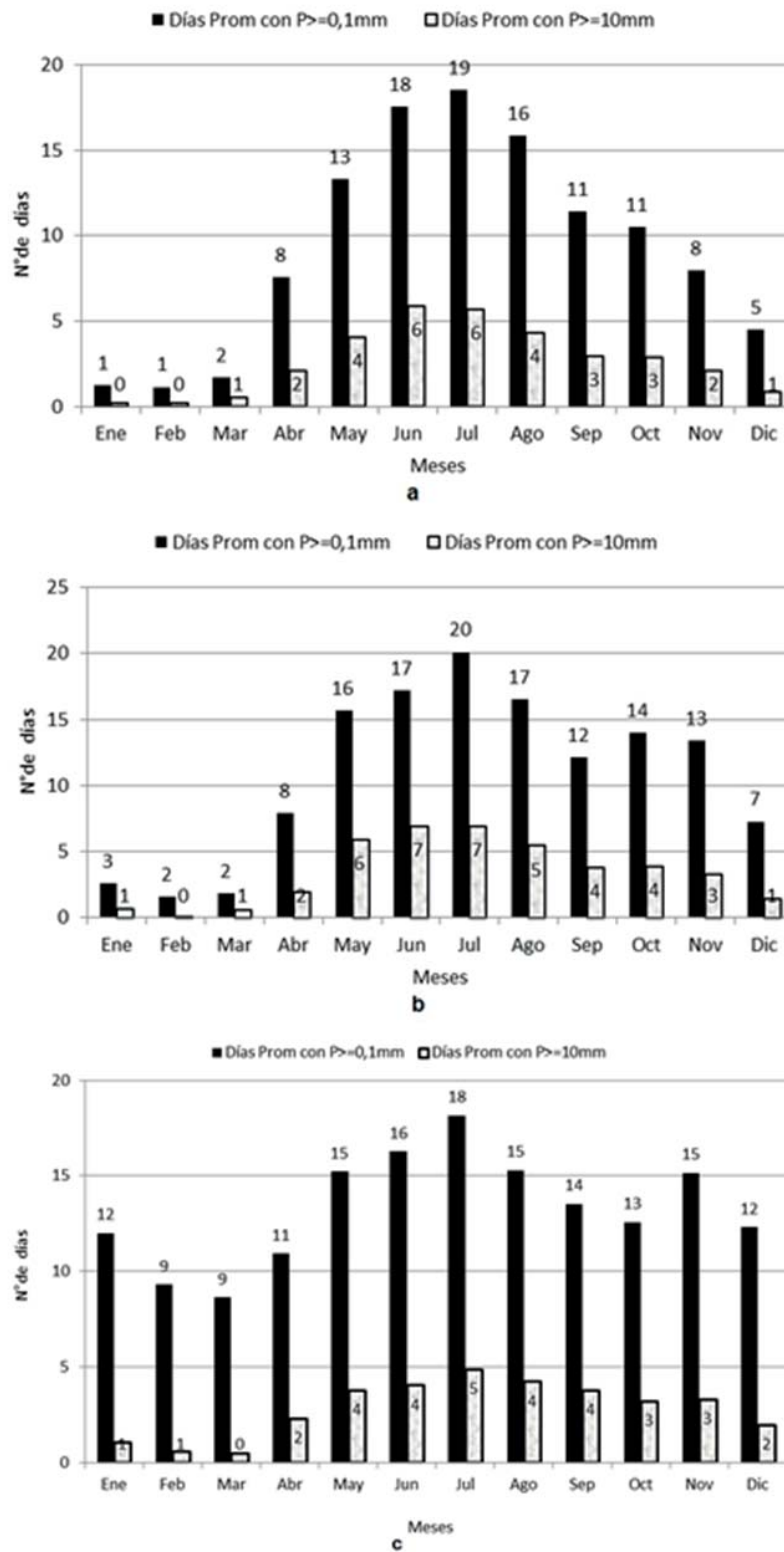


Figura 2. Número de días con precipitación mayor o igual a 0,1 y 10 mm, durante el período 1970-2011. a. Estación Yaritagua. b. Estación Central Matilde. c. Estación Naranjal.

Matilde se presenta un aumento de las precipitaciones alcanzando un máximo en julio, disminuyendo entre los meses agosto y septiembre. Con relación a esto, Martelo (2004) afirma que la tendencia típica de Venezuela se visualiza a partir del mes de abril, donde se observa un aumento de los días con precipitaciones mayores a 10 mm, los cuales disminuyen progresivamente en el mes de agosto. Es muy frecuente que en los meses febrero y marzo la precipitación registrada sea de cero milímetros. Así mismo, Olivares (2018) señala que la concentración de la precipitación obedece a la influencia de la zona de convergencia intertropical (ZCIT), cuyo desplazamiento a lo largo del año define el período lluvioso a partir del mes de abril.

### Análisis de concentración y tendencia de la serie temporal.

Las tendencias en las series temporales de precipitación se detectaron mediante un análisis de

regresión lineal simple. Se determinaron los valores de probabilidad  $> F$  calculado ( $\text{Prob}>F$ ), que indican la significación del ajuste a una recta y el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) que cuantifica la bondad de ajuste del modelo. En la Figura 3 se observa que todos los casos presentan probabilidades mayores que el nivel alfa común de 0.05, indicando que no es estadísticamente significativo. Así mismo, presentan coeficientes de determinación ( $R^2$ ) bajos que oscilan entre 0.0014 a 0.27 indicando la ausencia de ajustes lineales; correspondiéndose con Parra y Cortez (2005), donde resaltan que en una serie homogénea no se esperarían tendencias positivas ni negativas que sean significativas, es decir, que presenten probabilidades menores que 0,05 ni  $R^2$  elevados que revelen un buen ajuste.

Con relación a la aplicación de la prueba de Wald-Wolfowitz para verificar la homogeneidad y carácter aleatorio de la serie estudiada,

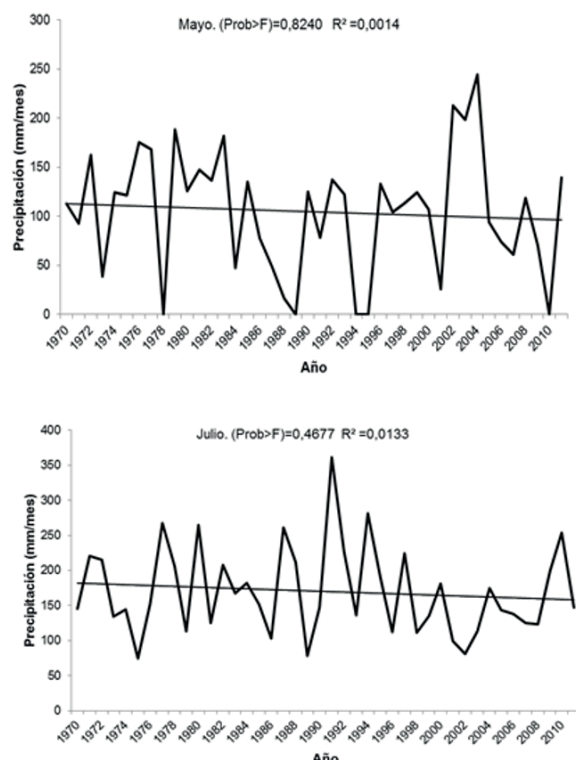


Figura 3. Series temporales de precipitación mensual promedio y ajuste lineal para los meses del período lluvioso. a. Estación Yaritagua.

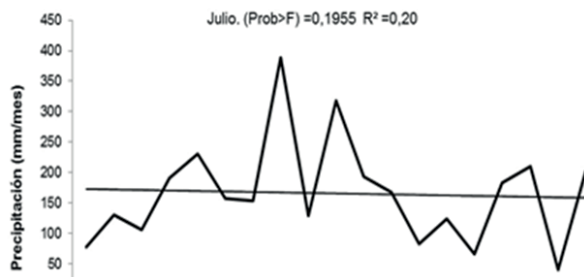
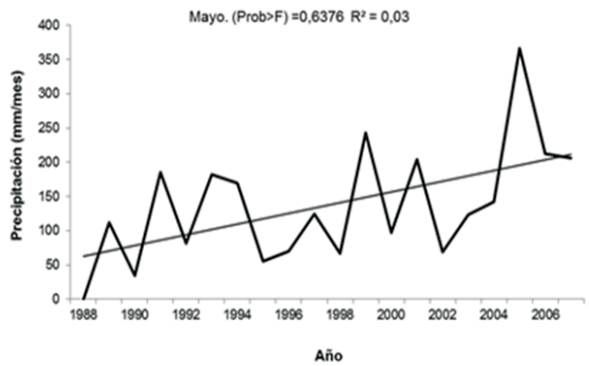
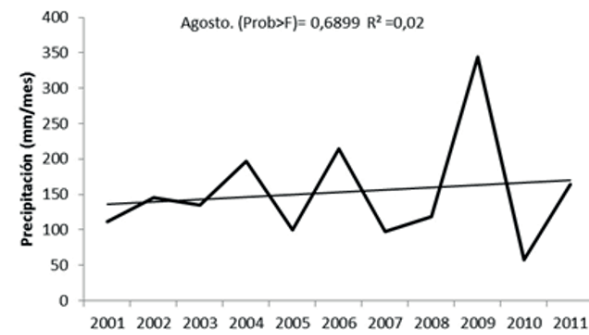
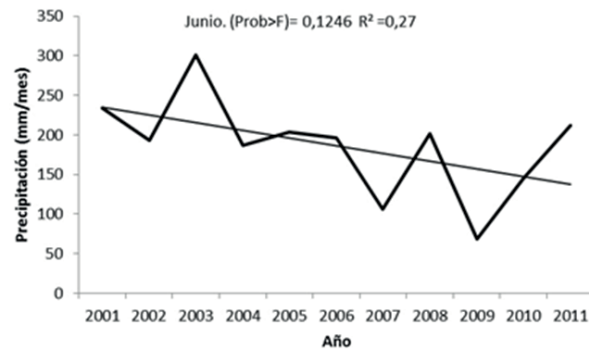


Figura 3. Series temporales de precipitación mensual promedio y ajuste lineal para los meses del período lluvioso. b. Estación Central Matilde. c. Estación Naranjal.

el Cuadro 4 muestra valores de probabilidad de las estaciones en estudio. En la mayoría de los casos, presentaron valores de probabilidad que favorecieron la hipótesis nula, es decir, que la serie de datos se comportó de manera aleatoria ( $P > 0,05$ ). En la estación de Yaritagua se observa que, solo los meses enero y febrero mostraron valores de probabilidad que no favorecieron la hipótesis nula. En este caso, Parra y Cortez (2005) y Olivares *et al.* (2012) recomiendan la aplicación de procedimientos de homogeneización de la serie previo a la realización de cualquier análisis que requiera de este supuesto.

### Análisis de dispersión de las series temporales

Los valores atípicos tales como la ocurrencia de eventos extremos de precipitación, errores en la toma de datos, se detectaron en los primeros cinco meses de las estaciones analizadas. La estación Central Matilde presentó valores atípicos entre los meses enero, junio, agosto y septiembre. La estación Naranjal mostró valores atípicos entre enero, mayo, julio, octubre y diciembre (Figura 4). La estación Yaritagua exhibió valores atípicos durante todo el año, concentrándose en los meses secos de enero a

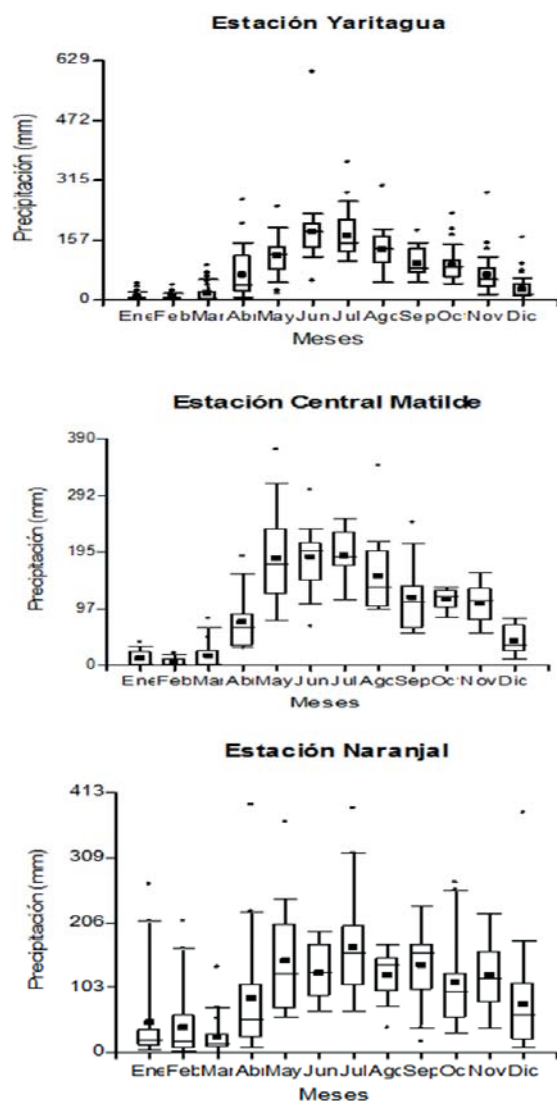


Figura 4. Diagrama "Boxplot" de la precipitación mensual (mm) para el periodo 1970-2011.

Cuadro 4. Valores de P para la prueba de correlación serial de homogeneidad y carácter aleatorio de Wald-Wolfowitz.

| Estación        | ENE    | FEB    | MAR    | ABR    | MAY    | JUN    | JUL    | AGO    | SEP    | OCT    | NOV    | DIC    |
|-----------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Yaritagua       | 0,0027 | 0,0024 | 0,1709 | 0,1820 | 0,3133 | 0,9543 | 0,2784 | 0,2946 | 0,1112 | 0,4407 | 0,1631 | 0,3662 |
| Central Matilde | 0,2633 | 0,3204 | 0,1507 | 0,2317 | 0,0586 | 0,6328 | 0,5530 | 0,5662 | 0,2855 | 0,3949 | 0,9255 | 0,7743 |
| Naranjal        | 0,9115 | 0,2799 | 0,0625 | 0,1260 | 0,3751 | 0,0548 | 0,5964 | 0,7240 | 0,8740 | 0,7311 | 0,0855 | 0,9990 |

Nota: Las celdas sombreadas representan valores de  $P(U>U(r)) < \alpha$  ( $\alpha=0,05$ ), lo que indica que la serie no cumple con el carácter aleatorio (Sneyers 1990).

marzo y de octubre a diciembre. En general, la ocurrencia de estos valores atípicos se puede explicar por el sesgo que produce la ocurrencia de muchos valores ceros en las observaciones (Olivares *et al.* 2013a).

## CONCLUSIONES

Los procedimientos del control de calidad de datos, aplicados en este estudio, permitieron comprobar la amplitud de variación y la consistencia de los datos registrados en las estaciones climatológicas: Yaritagua, Central Matilde y Naranjal. Se obtuvo información relevante respecto a la proporción de datos faltantes, detección de valores extremos, una descripción estadística básica, homogeneidad y dispersión de las series temporales de precipitación.

El aspecto más importante de las series de precipitación estudiadas está representado por la presencia de valores extremos. En este caso, se recomienda replicar el análisis con la inclusión de los datos atípicos y sin estos, con la finalidad de determinar su influencia sobre los resultados finales.

La no homogeneidad de los dos primeros meses de las series de precipitación de la estación de Yaritagua, se debió a la presencia de valores atípicos y extremos. Estos valores pueden o no ser considerados en el análisis en función de los objetivos.

Las series de precipitación, del periodo 1970-2011, generadas por las estaciones de Yaritagua, Central Matilde y Naranjal del estado Yaracuy

contienen datos con calidad adecuada y aceptable. Estas series cumplen con las condiciones de continuidad, homogeneidad, representatividad, entre otros. Las mismas pueden ser utilizadas en estudios de caracterización de la precipitación, zonificación de cultivos, calendarios de siembra, análisis de sequía y estudios de la variabilidad de la precipitación en zonas de importancia agrícola.

## LITERATURA CITADA

- Ablan, M; Andressen, R; Vargas, MP; Acevedo, M. 2008. Propuesta metodológica para el control de calidad de datos de precipitación. *Agronomía Tropical* 58(1):57-60.
- Aguilar, E; Auer, I; Brunet, M; Peterson, TC; Wieringa, J. 2003. Guidelines on Climate Metadata and Homogenization. World Meteorological Organization. Génova. P. ed. 50 p.
- Cárdenas, P; De Grazy, E. 2003. Tendencia a largo plazo en la precipitación para Venezuela. Proyecto MARNPNUP VEN/00/G31 Primera Comunicación nacional en Cambio Climático de Venezuela. Caracas, Venezuela. 46 p.
- Crawley, M. 2002. Statistical Computing: An Introduction to Data Analysis using S-plus. John Wiley & Sons. England. 761 p.
- Cortez, A; Rodríguez, MF; Rey, JC; Ovalles, F; González, W; Parra, R; Olivares, B; Marquina, J. 2016. Variabilidad espacio temporal de la precipitación en el estado



- Guárico, Venezuela. Revista Facultad Agronomía (LUZ) 33(3):292-310.
- Cortez, A; Olivares, B; Parra, R; Lobo, D; Rodríguez, MF; Rey, JC. 2018. Descripción de los eventos de sequía meteorológica en localidades de la cordillera central, Venezuela. Ciencia, Ingenierías y Aplicaciones I (1):22-44.
- Hernández, R; Pereira, Y; Molina, JC; Coelho, R; Olivares, B; Rodríguez, K. 2017. Calendario de siembra para las zonas agrícolas del estado Carabobo en la República Bolivariana de Venezuela. Sevilla, Spain, Editorial Universidad Internacional de Andalucía. 247 p.
- InfoStat/p. 2013. Infostat for Windows Version 9.0. Grupo Infostat, Inc. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.
- Jones, PD; Osborn, TJ; Briffa, KR. 1997. Estimating sampling errors in largescale temperature averages. Journal Climate 10:2548-2568.
- Martelo, MT. 2003. Metodología para la selección de Modelos de Circulación General de la Atmósfera y Escenarios Climáticos a incluir en la Primera Comunicación Nacional en Cambio Climático de Venezuela. Proyecto MARN-PNUD VEN/00/G31, Dirección de Hidrología y Meteorología, Ministerio del Ambiente y los Recursos Naturales. Caracas - Venezuela. 56 p.
- Martelo, MT. 2004. Consecuencias ambientales generales del cambio climático en Venezuela. Trabajo de ascenso profesor agregado. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Maracay. Venezuela. 172 p.
- MARN (Ministerio del Ambiente y los Recursos Naturales, Venezuela). 2005. Primera Comunicación Nacional en Cambio Climático de Venezuela. Proyecto MARN-PNUDVEN/00/G31. Dirección de hidrología, meteorología y oceanología – Dirección General de Cuencas Hidrográficas – MARN. Caracas. 123 p.
- Medina R. 2008. Estimación estadística de valores faltantes en series históricas de lluvia. Trabajo de investigación. Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Ingeniería Industrial. Escuela de postgrados Pereira. Disponible en línea: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/1126/1/51954M491.pdf>. [Consulta: 2014, 19 de abril].
- Olivares, B; Parra, R; Cortez, A; Rodríguez, MF. 2012. Patrones de homogeneidad pluviométrica en estaciones climáticas del estado Anzoátegui, Venezuela. Revista Multiciencias 12:11-17.
- Olivares, B; Cortez, A; Parra, R; Rodríguez, MF; Guevara, E. 2013a. Aplicación de procedimientos estadísticos para el control de calidad de las series de precipitación mensual en los llanos orientales venezolanos. Revista Facultad de Agronomía (LUZ) 30:367-391.
- Olivares, B; Torrealba, J; Caraballo, L. 2013b. Variability of the precipitation regime in the period 1990-2009 in the location of El Tigre, Anzoátegui state, Venezuela. Revista Facultad Agronomía (LUZ) 30(1):19-32.
- Olivares, B; Cortez, A; Lobo, D; Parra, R; Rey, JC; Rodríguez, MF. 2016. Estudio de la Sequía Meteorológica en Localidades de los Llanos de Venezuela Mediante el Índice de Precipitación Estandarizado. Revista Acta Nova 7(3):266-283.
- Olivares, B; Parra, R; Cortez, A. 2017a. Characterization of precipitation patterns in Anzoátegui state, Venezuela. *Ería* 3(3):353-365.
- Olivares, B; Zingaretti, ML; Demey, JA; Demey, JR. 2017b. Application of the STATIS-ACT method to the rain regime in the Venezuelan Oriental Region. UNED Research Journal 9(1):97-106.
- Olivares, B. 2018. Tropical conditions of seasonal rain in the dry-land agriculture of Carabobo,

- Venezuela. La Granja: Revista de Ciencias de la Vida 27(1):86-102.
- Olivares, B; Hernández, R; Coelho, R; Molina, JC; Pereira, Y. 2018. Analysis of climate types: Main strategies for sustainable decisions in agricultural areas of Carabobo, Venezuela. *Scientia Agropecuaria* 9(3):359–369.
- Olivares, B; Zingaretti, ML. 2018. Analysis of the meteorological drought in four agricultural localities of Venezuela through the combination of multivariate methods. *UNED Research Journal*. 10(1):181-192.
- Parra, R; Cortez, A. 2005. Control de calidad de series de precipitación de las series de precipitación del INIA Venezuela en el periodo 1970-2000. *Revista Argentina de Agrometeorología* (5-6):63-73.
- Parra, R; Olivares, B; Cortez, A; Lobo, D; Rodríguez, MF; Rey, JC. 2018. Características de la sequía meteorológica (1980-2014) en dos localidades agrícolas de los andes venezolanos. *Revista de Investigación*. 42(95):38-55.
- Paredes, F; La Cruz, F; Guevara, E. 2014. Análisis regional de frecuencia de las sequías meteorológicas en la principal región cerealera de Venezuela. *Bioagro* 26(1):21-28.
- Rodríguez, MF; Cortez, A; Olivares, B; Rey, JC; Parra, R; Lobo, D. 2013. Análisis espacio temporal de la precipitación del estado Anzoátegui y sus alrededores. *Agronomía Tropical* 63 (1-2):57-65.
- Sevruk, B. 1989. Precipitation measurement. *Proceedings of the International Workshop on Precipitation Measurement*, St. Moritz, Switzerland, 3-7 December, 1989. Institute of Geography, Swiss Federal Institute of Technology, ETH Zurich, WMO/TD-No.32, Geneva. 589 p.
- Sneyers, R. 1990. On the statistical analysis of series of observations. *World Meteorological Organization, WMO-N° 415, Technical Note N°143*. Geneva, Switzerland. 193 p.
- Solís, O. 2011. Control de calidad de datos para estudios de cambio climático. *Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú. Oficina General de Estadística e informática*. 7 p. Disponible en línea: [http://sania.comunidadandina.org/Upload/Contenido/9/21/01\\_control%20de%20calidad%20de%20datos.pdf](http://sania.comunidadandina.org/Upload/Contenido/9/21/01_control%20de%20calidad%20de%20datos.pdf).
- Trejo, FJ; Barbosa, HA; Ruiz, IQ; Peñaloza-Murillo, MA. 2016. Meso scale oceanic atmospheric circulation patterns linked with severe and extensive droughts in Venezuela. *Revista Brasileira de Meteorología* 31(4):468-489.
- Tukey, JW. 1977. *Exploratory data analysis*. Eddison Esley Edt. USA. 219 p.
- Watt, WE. 1989. *Hydrology of floods in Canada: a guide to planning and design*, Consejo Nacional de Investigación de Canadá, Ottawa. 245 p.
- WMO (World Meteorological Organization). 1989. *Proceedings of international workshop on precipitation measurements*. Geneva, Switzerland. 584 p.
- WMO (World Meteorological Organization). 2011. *Guide to climatological practices*. WMO-N° 100. Geneva, Switzerland. 128 p.
- Wulfmeyer, V; Henning-Müller, I. 2005. The climate station of the University of Hohenheim: Analyses of air temperature and precipitation time series since 1878. *International Journal of Climatology* 26:113-138.

## Hongos endofíticos como promotores de crecimiento en plantaciones de banano

Breno Augusto Sosa Rodríguez\*, Yuly Samanta García Vivas.

Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Departamento de Suelos, La Ceiba, Atlántida, Honduras.  
\*Correo electrónico: breno.sosa@unah.edu.hn

### RESUMEN

Los hongos endofíticos producen metabolitos bioactivos que activan las defensas de plantas hospederas. Son una alternativa más limpia al uso de nematicidas, sin embargo, existe limitada información de su accionar como promotor de crecimiento en condiciones de campo. Se evaluó el efecto de cuatro hongos endofíticos sobre el crecimiento de plantas de banano. Se formularon seis tratamientos: dos cepas de *Trichoderma atroviride* provenientes de Guatemala (T1) y Costa Rica (T2) y; dos cepas de *Fusarium oxysporum* provenientes de Talamanca (T3) y Sixaola en Costa Rica (T4), un testigo químico (T5) con uso de nematicidas y un testigo absoluto (T6). El ensayo se estableció en un diseño completamente al azar con cinco mediciones en el tiempo. Las plantas utilizadas en la siembra fueron del clon "Valery y Williams". Cada 15 días se evaluaron las variables altura de planta, circunferencia del pseudotallo y emisión foliar en condiciones de campo y, en el sistema radical, peso funcional y muerto, longitud y volumen, índice de severidad causado por fitonematodos y porcentaje necrótico en condiciones de laboratorio. Las plantas protegidas con los hongos endofíticos tuvieron un crecimiento significativamente superior que las del testigo químico, reflejado en mayor altura (13,62 %), circunferencia de pseudotallo (10,75 %), emisión foliar (4,87 %), longitud (8,12 %) y volumen (9,37 %) de raíces. En la sanidad del sistema radical se vio expresado en mayor peso funcional (8,12 %), menor peso muerto (-13,0 %), mayor índice de severidad (19,5 %) y menor porcentaje necrótico (-5 %). El T1 y T4 promovieron las mejores respuestas en las plantas.

**Palabras clave:** musáceas, *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma atroviride*

## Endophytic fungi as growth promoters in banana plantations

### ABSTRACT

Endophytic fungi produce bioactive metabolites that activate the defenses of host plants. They are a cleaner alternative to the use of nematicides, however, there is limited information on their actions as promoters of growth in field conditions. The effect of four endophytic fungi on the growth of banana plants was evaluated. Six treatments were formulated: two strains of *Trichoderma atroviride* from Guatemala (T1) and Costa Rica (T2) and; two strains of *Fusarium oxysporum* from Talamanca (T3) and Sixaola in Costa Rica (T4), a chemical control (T5) with the use of nematicides and an absolute control (T6). The trial was established in a completely randomized design with five measurements over time. The plants used in the planting were of the clone "Valery y Williams". The variables plant height, pseudostem circumference and leaf emission were evaluated every 15 days under field conditions and, in the root system, functional and dead weight, length and volume, index of severity caused by phytonematodes and necrotic percentage in laboratory conditions. The plants protected with the endophytic fungi had a significantly higher growth than those of the chemical control, reflected in higher height (13.62 %), pseudostem circumference (10.75 %), leaf emission (4.87 %), length (8.12 %) and volume (9.37 %) of roots. In the health of the radical system was expressed in greater functional weight (8.12 %), lower deadweight (-13.0 %), higher severity index (19.5 %) and lower necrotic percentage (-5 %). The T1 and T4 promoted the best responses in the plants.

**Key words:** musaceae, *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma atroviride*

Recibido: 06/07/18      Aprobado: 06/11/18

## INTRODUCCIÓN

El banano se establece en más de 120 países, constituyendo un alimento importante en la dieta básica de 400 millones de personas y una fuente de ingresos económicos para países en desarrollo como Latinoamérica y Caribe (Aurore *et al.* 2009). Ésta región exportó 14 millones de toneladas en 2015, lo que representó el 83 % a nivel mundial (FAO 2018). Son múltiples los beneficios económicos y sociales países en desarrollo, sin embargo, las producciones han sido mermadas por problemas fitoparasitarios, entre las cuales, las más importantes son las Sigatokas que afectan el follaje y, los fitonematodos dañan el cormo y las raíces.

En el ámbito mundial las pérdidas productivas ocasionadas por fitonematodos en el cultivo de banano ascienden a cien billones de dólares al año, lo que equivale entre 10 y 50 % del total (Rivera 1999; Benzing 2001). En la mayoría de las plantaciones en Latinoamérica, *Radopholus similis* es el nematodo endoparásito migratorio de mayor importancia, por su daño, ocasionando pérdidas de 20 hasta 100 % (Guzmán, 2011).

El manejo convencional de fitonematodos en banano se basa en dos a tres aplicaciones de nematicidas y el costo del control oscila entre USD 350 y 500 por hectárea por año (Pocasangre *et al.* 2006). Además de lo costoso, es contaminante, por el uso de los agroquímicos más tóxicos del mercado. La eficacia del manejo puede ser seriamente reducida por varias razones: mala aplicación del producto, condiciones climáticas desfavorables, lavado por escorrentía y principalmente por biodegradación de microorganismos del suelo, que son capaces de desdoblarse el principio activo.

La contaminación ambiental generada en el cultivo de banano ha obligado al desarrollo de estrategias de manejo biológico y cultural, que permitan la disminución de los daños ocasionados (Montiel *et al.* 1997). En países como Alemania, Costa Rica, Uganda y Nigeria se ha demostrado que hongos endofíticos presentes en el tejido interno de raíces de banano y plátano pueden ser

utilizados como agentes biológicos de control de fitonematodos (Pocasangre *et al.* 2006).

En la relación entre los hongos endofíticos y su planta hospedera, ambos organismos estimulan cambios metabolitos en cada uno. El hongo produce exoenzimas y metabolitos fitotóxicos, mientras que la planta produce defensas, tanto mecánicas como bioquímicas (Schulz y Boyle 2005; Sánchez *et al.* 2013). En consecuencia, se establece una relación de antagonismo balanceado, que depende de la virulencia del hongo y de las defensas de la planta, las cuales varían y son influenciadas por los factores ambientales y por la etapa de desarrollo de ambos organismos.

Reducciones hasta del 90 % de la población final de *R. similis* en el sistema radical y mayor crecimiento radical en banano, se han registrado en plantas protegidas con hongos endofíticos en experimentos repetidos en el tiempo bajo condiciones controladas (Pocasangre 2003; Romero 2018). El objetivo del trabajo fue evaluar la acción natural de hongos endofíticos sobre la promoción de crecimiento en plantaciones comerciales de banano en condiciones de campo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Caracterización del área experimental

La presente investigación se realizó en dos fincas comerciales en la provincia de Limón, propiedad de la Corporación de Desarrollo Agrícola Del Monte (división BANDECO), en Costa Rica (Cuadro 1). Las zonas donde se instalaron los ensayos presentan condiciones anuales similares con respecto a temperatura, precipitación y humedad relativa, con rangos que oscilan entre los 25-26 °C, 3.844 - 3.929 mm y 83-84 %, respectivamente.

### Descripción del ensayo experimental

Se establecieron seis tratamientos bajo el diseño completamente al azar: cuatro con hongos endofíticos, un testigo comercial y uno absoluto. Los aislados endofíticos correspondientes a cepas de *Trichoderma atroviride* de suelos supresivos de Guatemala (T1) y Sixaola en Costa



Cuadro 1. Ubicación y condiciones de las fincas, donde se evaluó el efecto de cuatro hongos endofíticos sobre el crecimiento de plantas de banano. Provincia de Limón, Costa Rica. Año: 2005.

| Finca     | Ubicación  | Producción (ha) | Altitud (m.s.n.m.) | Suelo  |
|-----------|--|-----------------|--------------------|--|
| CARMEN-2  | Cantón de Siquirres, al Este del río Reventazón. | 448             | 18                 | Con predominio de clasificación IV y III. Textura arcillosa. |
| DUACARI-2 | Cantón de Guásimo, al Oeste del río Reventazón.  | 211             | 34                 | Con clasificación II y III. Textura arcillosa.               |

Rica (T2); los dos restantes de *Fusarium oxysporum* de Talamanca (T3) y Sixaola en Costa Rica (T4); el testigo comercial (T5) consistió en la aplicación de 23.3 g.planta<sup>-1</sup> Nematicur 15 G, 15 días después de la siembra en campo; y, el testigo absoluto (T6) contituido por plantas no protegidas con hongos endofíticos ni con nematocidas.

Para el establecimiento del ensayo en campo se siguieron los siguientes pasos:

Los aislados fueron conservados en incubadoras a 24 °C y; su reproducción y producción de inóculo se realizó mediante el protocolo siguiente: los hongos endofíticos se dejaron crecer en el medio de cultivo PDA al 100 %, colocado sobre platos Petri durante una o dos semanas. Posteriormente, bajo condiciones asépticas, se removieron las esporas agregando 25 ml de agua estéril sobre el plato; luego, se hizo un rayado con una espátula de tres cm de ancho y bordes redondeados para facilitar el raspado del micelio. La solución que resultó se filtró por medio de gasas y se decantó en un beaker de 250 ml para obtener la suspensión de esporas. De cada suspensión se realizaron conteos por medio de un hematocímetro de Neubauer para medir la concentración, y se ajustó a una concentración de 10<sup>6</sup>ufc/ml.

Se inocularon 13.000 vitro-plantas de banano del sub grupo Cavendish, clon “Valery y Williams” en bandejas con los aislados de hongos endofíticos. Para esto, por un tiempo de cinco minutos, las vitro-plantas se sumergieron en suspensiones de esporas que representaron cada tratamiento. Luego se trasladaron al invernadero para ser trasplantadas en bolsas de polietileno. Entre seis y ocho semanas después en fase de endurecimiento en el vivero, se realizó la siembra definitiva en el campo.

Las plantas se sembraron las plantas con un distanciamiento de 2,5 m x 2,16 m bajo el sistema de tres bolillo a una densidad de 1.850 plantas ha<sup>-1</sup>. Cada tratamiento se distribuyó de manera aleatoria en parcelas de 0,27 ha (500 plantas), para un área experimental total de 1,62 ha.

#### Variables evaluadas

Se realizaron cinco muestreos, cada 15 días partiendo del segundo mes después de la siembra, en cada tratamiento se seleccionaron 25 plantas para medir las variables morfológicas: la altura de planta - AP (m) desde la base del pseudotallo hasta la inserción de la hoja bandera, la circunferencia de pseudotallo – CP (m) a una altura de 15 cm desde su base y para la emisión foliar – EF se contaron todas las hojas en el primer muestreo, incluyendo la bandera, la cual, fue enumerada conforme el despliegue bajo una



escala de 0,2 (cuando presentó una forma de cuello de cisne) hasta 0,8 (donde se observa el 90 % del tejido desplegado).

De las 25 plantas seleccionadas por tratamiento, se eligieron cuatro al azar para las variables del sistema radical, peso funcional – RF y muerto– RM (g), la longitud – LR (m) y volumen – VR (cm<sup>3</sup>), ésta última fue analizada mediante el software WinRIZHO©, donde cada órgano se escaneo lo más extendidamente posible en bandejas de 15x25 cm, el índice de severidad – IS consistió en determinar la condición sanitaria y se dividieron en cuatro categorías; 1= Todas vivas, 2= La mayoría vivas, 3= La mayoría muertas y 4= Todas muertas y, para el porcentaje de raíz necrótica– PRN se seleccionaron al azar cinco raíces primarias funcionales de 10 cm de largo, las cuales fueron cortadas longitudinalmente midiendo el porcentaje de corteza radical con necrosis, valorando cada órgano con 20 % para un total de 100.

### Análisis de datos

Para registrar el efecto de los tratamientos endofíticos, se consideró el T5 como punto de partida (0 %) en las variables de respuesta; al encontrar valores positivos en el resto de los tratamientos, se valoran como mayor crecimiento/sanidad, mientras que valores negativos significa un

decrecimiento. Por regla de tres se obtuvieron los porcentajes visualizados a la par de los valores numéricos en las variables.

Los datos de cada variable se analizaron por medio de un análisis de varianza ( $P \leq 0.05$ ) y prueba de rangos múltiples de Duncan mediante el uso del software SAS versión 9.1.3 (2006).

## RESULTADOS

Para las variables de crecimiento en la finca CARMEN-2 se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ), a excepción de LR, donde los valores oscilaron entre 8,65 a 10,24 (Cuadro 2). Las plantas tratadas con los hongos endofíticos crecieron más en AP (29,2 %), CP (20,2 %), EF (17,7 %), LR (13,2 %) y VR (15,5 %) que las del testigo comercial, registrando que el T1 *Trichoderma atroviride* promovió los mayores efectos, a excepción del crecimiento radical en base al volumen, donde T4 (28 %) estimulo mejor respuesta.

En cuanto a las variables del sistema radical, se encontraron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre tratamientos para raíz funcional y muerta (Cuadro 3), pero no significativo para IS y PRN. El peso funcional de las raíces en plantas inoculadas con los aislados registraron valores muy superiores (22 a 47 %) en comparación al

Cuadro 2. Efecto de hongos endofíticos sobre el crecimiento en plantas de banano en la finca Carmen-2.

| Variables*              | T1***         | T2            | T3             | T4            | T5      | T6             |
|-------------------------|---------------|---------------|----------------|---------------|---------|----------------|
| A.P. (m)                | 0,60 a (39%)  | 0,50 b (16%)  | 0,56 a (30%)   | 0,57 a (32%)  | 0,43 c  | 0,49 b (13%)   |
| C.P.(m)                 | 0,21 a (31%)  | 0,17 b (6%)   | 0,19 a (19%)   | 0,20 a (25%)  | 0,16 b  | 0,17 b (6%)    |
| E.F. (No, hojas)        | 9,6 a (23%)   | 8,26 b (6%)   | 9,48 a (21%)   | 9,41 a (21%)  | 7,79 c  | 8,38 b (8%)    |
| L.R. (m)                | 10,24 a (18%) | 9,08 a (5%)   | 9,79 a (13%)   | 10,13 a (17%) | 8,65 a  | 8,68 a (0%)    |
| V.R. (cm <sup>3</sup> ) | 130,5 ab (9%) | 126,7 ab (6%) | 143,0 ab (19%) | 153,1 a (28%) | 119,7 b | 134,1 ab (12%) |

\*Medias seguidas de la misma letra en cada fila no difieren entre sí, según la prueba de Duncan ( $P < 0,05$ ). Valores entre paréntesis son calculados sobre el valor referencial del testigo químico.

\*\* AP= Altura planta, CP= Circunferencia pseudotallo, EF= Emisión foliar, LR= Longitud raíz, VR= Volumen raíz.

\*\*\* T1= *Trichoderma* - Guatemala, T2= *Trichoderma* – Costa Rica, T3= *Fusarium* – Talamanca, C.R., T4= *Fusarium* – Sixaola, C.R., T5= Testigo comercial (nematicida), T6= Testigo absoluto.

testigo químico, siendo en T1 y T4 los mayores valores observados. Además, en estos mismos tratamientos T1 (-6 %) y T4 (-8 %) se registraron los menores porcentajes de biomasa muerta. Según estos resultados, una única inoculación con hongos endofíticos promueve una mayor sanidad al sistema y brinda una alternativa confiable para sustituir las aplicaciones de agroquímicos en el control de fitonematodos.

En la finca DUACARI-2, las variables morfológicas de crecimiento de la planta presentaron diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) entre tratamientos, con excepción en LR, donde los promedios oscilaron entre 9,71 y 10,84 m (Cuadro 4). De igual manera que en la finca CARMEN-2, el aislado *T. atroviride* T1 promovió mayor crecimiento en las plantas, expresado en AP (14 %), CP (15 %), EF (4 %) y VR (19 %) que las manejadas en ambos testigos. Sin embargo, las plantas con manejo químico crecieron más en altura, circunferencia y emisión foliar, que las inoculadas con los demás aislados (T2, T3 y T4).

Las variables asociadas a la sanidad del sistema radical presentaron diferencia significativa ( $P \leq 0,05$ ) entre tratamientos, a excepción del peso muerto (Cuadro 5). La única inoculación que propició una condición sanitaria (peso funcional) más elevada en las raíces que las del testigo químico fue *T. atroviride* T1. De igual manera, este mismo aislado protegió mejor la

planta al permitir menor índice de severidad (-13 %) y daño necrótico (-9 %) en las raíces.

## DISCUSION

En las dos fincas se registró el efecto de los hongos endofíticos sobre el crecimiento de plantas, los aislados *T. atroviride* T1 y *F. oxysporum* T4 fueron los mejores en este sentido. Puede atribuirse por el estímulo directo en el crecimiento de biomasa radical y solubilización de nutrientes, e indirecto por el biocontrol ejercido sobre fitonematodos, permitiendo una mayor eficiencia del sistema radical en la exploración y absorción de nutrientes (Sikora y Pocasangre 2004).

La sanidad del sistema radical también fue afectada positivamente en las plantas de banano inoculadas con los hongos endofíticos, principalmente por T1 y T4 en ambas fincas. Morales (2014) ha registrado que estos microorganismos poseen la capacidad para reducir significativamente las poblaciones de fitonematodos, principalmente *R. similis*. Se ha observado también que los hongos tienen la capacidad de proteger la planta hospedera por medio de: 1) enzimas y metabolitos secundarios con actividad anti-patogeno, 2) incremento de la expresión de mecanismos de defensa y 3) ocupación del nicho ecológico (Gao *et al*, 2010).

Cuadro 3. Efecto de hongos endofíticos sobre la sanidad del sistema radicular del banano en la finca Carmen-2.

| Variables** | T1            | T2            | T3            | T4            | T5      | T6            |
|-------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------|---------------|
| R.F. (g)    | 249,2 a (43%) | 212,2 b (22%) | 239,6 a (37%) | 257,2 a (47%) | 174,7 c | 248,8 a (42%) |
| R.M. (g)    | 5,33 b (-6%)  | 5,89 ab (3%)  | 6,07 ab (7%)  | 5,25 b (-8%)  | 5,69 ab | 6,37 a (12%)  |
| I.S.        | 1,50 a (-3%)  | 1,75 a (13%)  | 1,85 a (19%)  | 1,50 a (-3%)  | 1,55 a  | 1,80 a (16%)  |
| P.R.N.      | 10,45 a (-2%) | 10,85 a (2%)  | 10,75 a (1%)  | 10,30 a (-3%) | 10,65 a | 11,70 a (0%)  |

\*Medias seguidas de la misma letra en cada fila no difieren entre sí, según la prueba de Duncan ( $p < 0,05$ ). Valores entre paréntesis son calculados sobre el valor referencial del testigo químico.

\*\* RF= Peso funcional, RM= Peso muerto, IS= Índice de severidad, PRN= Porcentaje de raíz necrótica

\*\*\* T1= *Trichoderma* - Guatemala, T2= *Trichoderma* - Costa Rica, T3= *Fusarium* - Talamanca, C.R., T4= *Fusarium* - Sixaola, C.R., T5= Testigo comercial (nematicida), T6= Testigo absoluto.

Cuadro 4. Efecto de hongos endofíticos sobre el crecimiento en plantas de banano en la finca Duacari-2.

| Variables*                   | T1            | T2             | T3             | T4             | T5        | T6              |
|------------------------------|---------------|----------------|----------------|----------------|-----------|-----------------|
| <b>A.P. (m)</b>              | 0,74 a (14%)  | 0,61 d (-6%)   | 0,64 bc (-2%)  | 0,60 d (-8%)   | 0,65 bc   | 0,68 b (5%)     |
| <b>C.P.(m)</b>               | 0,23 a (15%)  | 0,19 c (-5%)   | 0,20 c (0%)    | 0,19 c (-5%)   | 0,20 bc   | 0,22 b (10%)    |
| <b>E.F. (No. hojas)</b>      | 9,17 a (4%)   | 8,38 c (-5%)   | 8,67 bc (-2%)  | 8,38 c (-5%)   | 8,80 b    | 8,70 bc (-1%)   |
| <b>L.R. (m)</b>              | 10,84 a (7%)  | 9,81 a (-3%)   | 10,39 a (3%)   | 9,71 a (-4%)   | 10,09 a   | 10,09 a (0%)    |
| <b>V.R. (cm<sup>3</sup>)</b> | 199,8 a (19%) | 137,9 c (-18%) | 191,2 ab (13%) | 153,6 abc (9%) | 168,4 abc | 143,6 bc (-15%) |

\*Medias seguidas de la misma letra en cada fila no difieren entre sí, según la prueba de Duncan ( $p < 0,05$ ). Valores entre paréntesis son calculados sobre el valor referencial del testigo químico.

\*\* **AP**= Altura planta, **CP**= Circunferencia pseudotallo, **EM**= Emisión foliar, **LR**= Longitud raíz, **VR**= Volumen raíz.

\*\*\* T1= *Trichoderma* - Guatemala, T2= *Trichoderma* - Costa Rica, T3= *Fusarium* - Talamanca, C.R., T4= *Fusarium* - Sixaola, C.R., T5= Testigo comercial (nematicida), T6= Testigo absoluto.

Cuadro 5. Efecto de hongos endofíticos sobre la sanidad del sistema radicular del banano en la finca Duacari-2.

| Variables*      | T1            | T2             | T3             | T4             | T5       | T6             |
|-----------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------|----------------|
| <b>R.F. (g)</b> | 224,2 a (10%) | 181,9 b (-11%) | 195,8 ab (-4%) | 172,0 b (-16%) | 204,2 ab | 182,3 b (-11%) |
| <b>R.M. (g)</b> | 5,81 a (-12%) | 6,23 a (-6%)   | 6,47 a (-2%)   | 6,49 a (-2%)   | 6,63 a   | 6,97 a (1%)    |
| <b>I.S.</b>     | 1,30 c (-13%) | 1,80 a (20%)   | 1,70 ab (13%)  | 1,40 bc (-7%)  | 1,5 abc  | 1,80 a (20%)   |
| <b>P.R.N.</b>   | 10,00 a (-9%) | 11,10 a (1%)   | 11,45 a (4%)   | 10,75 a (-2%)  | 11,00 a  | 11,95 a (9%)   |

\*Medias seguidas de la misma letra en cada fila no difieren entre sí, según la prueba de Duncan ( $P < 0,05$ ).

Valores entre paréntesis son calculados sobre el valor referencial del testigo químico.

\*\* **RF**= Peso funcional, **RM**= Peso muerto, **IS**= Índice de severidad, **PRN**= Porcentaje de raíz necrótica.

\*\*\* T1= *Trichoderma* - Guatemala, T2= *Trichoderma* - Costa Rica, T3= *Fusarium* - Talamanca, C.R., T4= *Fusarium* - Sixaola, C.R., T5= Testigo comercial (nematicida), T6= Testigo absoluto.

Clay *et al.* 1985 y Pocasangre *et al.* 2001 sostienen que algunos aislados endofíticos realizan infecciones en las raíces para estimular su crecimiento y producir rizodeposiciones con efectos alelopáticos sobre plagas del suelo. Hernández *et al.* (2016) registraron que vitroplantas de plátanos y bananos crecieron significativamente en la parte vegetativa y radical al ser protegidas con el hongo endófito *Pochonia chlamydosporia* var. *Catenulata* (Goddard) Zare y Gams cepa IMI SD 187 (KlamiC®).

## CONCLUSIONES

En ambas fincas, la inoculación con *Trichoderma atroviride* y *Fusarium oxysporum* estimularon más el crecimiento y sanidad en las plantas de banano en comparación a las del testigo químico.

Los aislados *Trichoderma atroviride* proveniente de Guatemala (T1) y *Fusarium oxysporum* proveniente de Sixaola, Costa Rica (T4), ocasionaron las mejores respuestas en crecimiento y sanidad en las plantas de banano, reflejadas en

altura de planta, circunferencia de pseudotallo, emisión foliar y peso funcional de raíz.

### AGRADECIMIENTOS

Al personal del CATIE, programa INIBAP y Corporación de Desarrollo Agrícola Del Monte (división BANDECO) por el apoyo económico y logístico brindado. A los doctores Luis E. Pocasangre y Roy D. Menjivar por su invaluable orientación y apoyo durante la investigación.

### LITERATURA CITADA

- Aurore, G., Parfait, B., Fahrasmane, L. 2009. Bananas, raw material for making processed food product. *Trend in Food Science & Technology* 20:78-91.
- Benzing, A. 2001. *Agricultura Orgánica, Fundamentos para la Región Andina*, Alemania, Neckar-Verlag, 663 p.
- Clay, K; Hardy, TN; Hammond, AM. 1985. Fungal endophytes of *Cyperus* and their effect on an insect herbivore. *American journal of Botany* 72:1284-1289.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Italia). 2018. Situación del mercado de banano – resultados preliminares relativos a 2017, Roma. 8 p.
- Gao, F.-k., Dai, C.-C., & Liu, X.-Z. (2010). Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens. *African Journal of Microbiology Research* 4(13):1346-1351.
- Guzmán, P. Ó. A. (2011). El nematodo barrenador (*Radopholus similis* [Cobb] Thorne) del banano y plátano. *Revista Luna Azul*, (33).
- Miguel, A. H. S., Jersys, A. O., Marrero, R., Hidalgo, D. L. 2016. Efecto de KlamiC® en la estimulación del crecimiento de vitroplantas de plátanos y bananos. *Cultrop*. vol. 37 no.4. La Habana.
- Montiel, C; Sosa, L; Medrano, C; Romero, D. 1997. Nematodos fitoparasitarios en plantaciones de plantano (*Musa* AAB) de la margen del río Chana, estado Zulia, Venezuela, Departamento Fitoparasitario, Facultad de Agronomía, Universidad de Zulia, Venezuela. 245-251 p.
- Morales, G. 2014. Bioprospección de hongos endofitos para el control biológico del nematodo barrenador *Radopholus similis* (Cobb) Thorne en el cultivo del banano. tesis maestría. instituto tecnologico de costa rica. pp 54.
- Pocasangre, L; Sikora, RA; Araya M. 2001. Estado actual de la situación nematológica en los bananos y plátanos en América Latina, PROMUSA, InfoMusa. 10:1-12.
- Pocasangre, LE; Menjivar, RD; Zum Felde, A; Riveros, AS; Rosales, FE; Sikora, RA; 2006. Hongos endofíticos como agentes biológicos de control de fitonematodos en banano. Memorias: XVII Reunión Internacional Acorbat: banano un negocio sustentable, del 15 al 20 de octubre de 2006, Joinville, Santa Catarina, Brasil, Joinville, Acorbat: Acafruta, 2006, 1:249-254.
- Romero, R. J. M. 2018. Uso de hongos del género *Trichoderma* spp. como controlador de nematodos en el cultivo de banano. Tesis pregrado. Universidad Técnica de Machala, Machala, Ecuador. pp 26.
- Sánchez, F. R. E., Sánchez, O. B. L., Sandoval, E. Y. K. M., Ulloa, B. Á., Armendáriz, G. B., García, M. M. C., & Macías, R. M. L. 2013. Hongos endofitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 16(2), 132-146.
- Schulz, B; Boyle, C. 2005. The endophytic continuum. *ELSEVIER. Mycological Research* 109(6):661-686.
- Sikora, R. A., Pocasangre, L. E. 2004. New Technologies to increase root health and crop production. *InfoMusa* 13(2):25-29.

## **Producción social de semilla: interpretación desde la gestión participativa por un trabajador y una luchadora social**

Ricardo, J. Chaparro-Tovar

Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP), Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Maracay, Venezuela. Correo electrónico: ricardochaparroinia@gmail.com

### **RESUMEN**

El fortalecimiento de los mecanismos de gestión del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), la contribución al afianzamiento del sistema de comunicación con el pueblo organizado, y la capacidad de respuesta institucional revisten alta importancia. En el presente trabajo de investigación, me fijé como propósito, develar una aproximación a elementos teóricos en la gestión participativa de la UPS Semillas Múcura del INIA. La investigación se posicionó desde el paradigma constructivista bajo el enfoque cualitativo, asumiendo el idealismo como postura ontológica, articulado al método fenomenológico, y apoyado en la hermenéutica. Acercándome al significado e interpretación intersubjetiva de las cosmovisiones de dos sujetos significantes relacionadas con este trabajo. La investigación la desarrollé en la Unidad de Producción Social (UPS) Semillas Múcura del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), ubicada en el Municipio Zamora del estado Aragua, Venezuela. Para ello hice uso de las siguientes técnicas: observación participante; la entrevista en profundidad tipo relato de vida; y la revisión documental, dirigiéndose en la manera más próxima a la realidad estudiada mediante la interpretación. Para ello, utilicé como instrumentos la grabadora, notas de campo, computadora y el sistema ATLAS.ti versión Win 7.1. De los hallazgos emergieron dimensiones en torno a la categoría gestión participativa, y según la realidad vivida por dos sujetos vinculados a la UPS, entre ellas, cultura organizacional, educación, identidad corporativa, gestión socialista y organización de base. Dichas dimensiones, consideradas elementos teóricos fueron contrastadas con postulados de diferentes autores, aplicando de esta manera la triangulación cualitativa. Finalmente, se develó que los Consejos de Innovación Comunitaria (CICO) de las UPS del INIA juegan un papel importante como instancia de articulación y participación. Estos ameritan ser fortalecidos mediante el diseño y ejecución de planes de formación orientados a los temas de organización, empoderamiento y gestión participativa.

**Palabras clave:** participación comunitaria, organizaciones de base comunitaria, producción de semilla, toma de decisiones.

## **Social seed production: interpretation from participatory management by a worker and a social fighter**

### **ABSTRACT**

The strengthening of the management mechanisms of the National Institute of Agricultural Research (INIA) and the contribution to strengthening the communication system with the organized people, the capacity for institutional response, is of great importance. In the present research work, I set out as a purpose, to reveal an approach to theoretical elements in the participatory management of the UPS Semillas Múcura of INIA. The research was positioned from the constructivist paradigm under the qualitative approach, assuming idealism as an ontological position, articulated to the phenomenological method, supported by hermeneutics. Approaching the meaning and intersubjective interpretation of the cosmovisions of two significant subjects related to this work. The research was developed in the Social Production Unit (UPS) Semillas Múcura of the National Institute of Agricultural Research (INIA), located in the Zamora Municipality of Aragua State, Venezuela. For this I made use of the following techniques, participant observation; the in-depth interview type of life story and; documentary review, addressing in the closest way to the reality studied through interpretation, for this, I used as instruments the recorder, field notes, computer and the ATLAS.ti Win 7.1 version system. From the findings emerged dimensions around the participatory management category, and according to the reality experienced by two subjects linked to the UPS, among them, organizational culture, education, corporate identity, socialist management and grassroots organization. These dimensions, considered theoretical elements were contrasted with postulates of different authors, applying qualitative triangulation in this way. Finally, it was revealed that the Community Innovation Councils (CICO) of the UPSs of INIA play an important role as an instance of articulation and participation, which deserve to be strengthened by designing and executing training plans oriented to organizational issues, empowerment and participative management.

**Keywords:** community involvement, community organizations, seed production, decision making.

Recibido: 17/10/18      Aprobado: 18/12/18



## INTRODUCCIÓN

***“...la participación de todos es indispensable, y es lo que nos garantiza el éxito de la gestión”.***

***Carmen Sierra***

Las UPS del INIA han surgido de dos vertientes: primero, las llamadas unidades de producción adscritas anteriormente a la Gerencia de Negociación Tecnológica; y segundo, mediante la compra y rescate de unidades productivas realizadas por el Gobierno Bolivariano, siendo transferidas posteriormente, al INIA para su administración, como es el caso de la UPS Semillas Múcura, unidad donde se presenta la falta de participación en la toma de decisiones de las comunidades.

Mediante este trabajo estudié los elementos que inciden en la gestión participativa de la Unidad de Producción Social (UPS) semillas Múcura del INIA desde tres ámbitos: en lo macro o social, tomando en cuenta la participación del pueblo organizado en el quehacer del Estado como un derecho constitucional; desde lo meso o institucional, enfocándose en la capacidad y calidad de respuesta del INIA a las demandas de la sociedad; y un último ámbito, pero no menos importante, el fortalecimiento de la vinculación entre las (UPS) y las comunidades aledañas a esta. Todo ello, con el propósito de abordar una problemática vinculante a la participación dentro de la gestión de la UPS Semillas Múcura.

La relevancia de la investigación radica en que todo conocimiento, información o satisfacción de un producto o servicio está supeditado a las necesidades, ideas y opiniones que se intercambian con el ciudadano, es decir, con las comunidades representadas por los productores y campesinos, de quienes surgen las inquietudes y se suscitan los impactos y efectos en el entorno directo de la UPS.

Desde el ámbito de las políticas públicas, la investigación tributa a la construcción del modelo de gestión socialista, donde el ser humano es el epicentro de toda acción del Estado. Esto se refleja en La Ley del Plan de la Patria (2013-2019),

en su objetivo histórico número dos; donde se propone continuar construyendo el Socialismo Bolivariano del siglo XXI en Venezuela. Se exige instaurar un sistema de comunicación permanente, para escuchar al pueblo organizado, como parte del esfuerzo para la construcción colectiva del Estado Socialista, bajo el principio de “mandar, obedeciendo”.

Diversos autores aportan elementos a este tema, destacando entre ellos: Ramírez y Quintero (2005), con la teoría del papel de los valores en el desarrollo de la identidad organizativa; García (2005), con la aproximación de la cultura organizacional; y Harnecker (2009), con su teoría de la planificación participativa en la comunidad.

Por lo anteriormente descrito, considero de suma importancia la esencia humana intrínseca, dentro y fuera de la UPS; la presencia de trabajadores que vienen laborando en ella desde que pertenecía a la empresa privada y los consejos comunales circundantes a la misma, lo cual permite tener una cosmovisión amplia desde las realidades vividas y vinculantes a la gestión participativa en la mencionada unidad productiva.

Planteo como propósito principal de la presente investigación develar una aproximación a elementos teóricos en la gestión participativa de la UPS Semillas Múcura del INIA, en el municipio Zamora del estado Aragua, Venezuela.

## METODOLOGIA

La direccionalidad paradigmática en la investigación, representó la guía para configurar el tejido ontológico, epistémico, metodológico y procedimental. Esto me permitió proporcionarle coherencia al constructo metodológico de mi investigación.

Patton (1990) reseña, el paradigma que permite al investigador poder ver las múltiples realidades desde una perspectiva determinada; por lo tanto, el primero que se menciona, determinará, en gran medida, la forma donde el segundo desarrolle su proceso investigativo. Para Kuhn (1962), el paradigma sirve como una guía base para los investigadores dentro de su disciplina, debido a que indica las diferentes problemáticas

que se deben tratar. Busca un marco referencial en el cual se aclaren las interrogantes, mediante una epistemología adecuada.

Es así, como esta investigación se ciñó desde una visión humanista al paradigma constructivista. Según Guba (1991), desde esta óptica, las realidades existen en formas de constructos mentales diversos, los cuales son configurados por los seres humanos y grupos sociales que los acogen mediante su interacción. De este paradigma, Hernández *et al.* (2010) afirman que es un sustento válido para la investigación cualitativa. Estos autores identifican, entre sus aportes, los siguientes: (a) las realidades se construyen socialmente desde diversas formas de percibirla, (b) el saber se construye de forma social por los participantes en el proceso investigativo, (c) la investigación no es ajena a los valores del investigador, (d) los resultados no pueden ser generalizados en forma ajena al contexto y al tiempo.

Indagué desde la gestión participativa, como fenómeno estudiado y relacionado con los hechos de los sujetos significantes, con variantes subjetivas e intersubjetivas que centra el enfoque de investigación cualitativa. Martínez (2012) expresa que el enfoque cualitativo trata de identificar, básicamente, la naturaleza profunda de las realidades, su estructura dinámica, aquella que da razón plena de su comportamiento y manifestaciones.

De igual manera, Nocetti (2011), expone que la investigación cualitativa defiende el carácter constructivo del pensamiento, partiendo de la discusión sobre los procesos de interpretación, realizados desde la ciencia social, e igualmente, lo hace con los significados de los actores en su vida cotidiana. Por esta razón, se desarrolla una doble hermenéutica o “interpretación de la interpretación”. Es decir, en esta investigación fue necesario implementar el método hermenéutico por la interpretación que se dio a los sujetos significantes, a partir de las nociones que estos poseen de su propia realidad.

De lo antes mencionado me ciño, para declarar mi postura óptica a De Berríos y Briceño (2009),

quienes manifiestan que ésta alude al tratamiento de la relación entre el sujeto que investiga y las realidades abordadas. Para estos autores, en ella se encuentra el idealismo, por medio del cual se trata la naturaleza del “ser” como el resultado del “pensar”.

De ello se desprende también, que el presente estudio estuvo enmarcado en un contexto óptico idealista, debido a que esta corriente estudia la relación existente entre las cosas reales y la conciencia. Es en esa relación donde la percepción del mundo exterior es develada por los seres humanos como seres cognoscentes. Abordar la gestión participativa, desde la mirada de las relaciones humanas, implicó acercarme a la cosmovisión de los sujetos significantes. Con el fin de lograrlo, desde lo ontológico, fue necesario comprender las manifestaciones axiológicas que están plasmadas dentro de dichos sujetos, producto de su contexto socio cultural.

Con referente a la especificidad de este trabajo, la relación que existe entre los sujetos significantes y mi persona fue ciñéndome al paradigma constructivista, bajo el enfoque cualitativo, destacando lo intersubjetivo, considerando que el ser humano convive constante con sus pares y sus interrelaciones. Determiné necesario que en el contexto de estudio fuese los lugares de trabajo de los sujetos significantes, y todo ello me permitió construir conocimientos mediante la comprensión del fenómeno estudiado.

Por otro lado, según De Berríos y Briceño (*ob. cit.*), la orientación epistemológica de la investigación hace referencia a la distinción gnoseológica o espacio concretamente epistemológico, propiamente dicho, en tanto que hace alusión, también, al “saber” o a la fuente del “saber” en una investigación. Esto quiere decir que, ello implica exaltar la fuente del conocimiento que proporciona sustento a la investigación.

Del mismo modo, en correspondencia con el mencionado paradigma y enfoque, el presente estudio se relacionó con una episteme de carácter intersubjetivo, el cual según Guba (*ob. cit.*), representa las subjetividades implícitas entre la percepción del investigador y la del sujeto

investigado. Emerge la intersubjetividad frente a un determinado fenómeno y por ello, consideré este aspecto como fuente de conocimiento en mi investigación sobre la gestión participativa dentro de la Unidad de Producción Social Semillas “Múcura” del INIA.

La intersubjetividad, plantea que no existe una verdad absoluta, si no una verdades relativas, partiendo de ello surge una diversidad de elementos que consienten nutrir el episteme del estudio, de allí que permite construir conocimiento apoyado en el paradigma constructivista. Por ello, la relevancia de la intersubjetividad, pues la gestión participativa puede abordarse desde diversos puntos de vista permitiendo aceptar múltiples visiones de la realidad, significando entonces que una circunstancia estudiada puede comprenderse e interpretarse, desde diversos aspectos, partiendo de sus particularidades dinámicas. En el desarrollo investigativo se añade la información recibida por los actores sociales, sus experiencias, vivencias, actitudes y pensamientos, tal como ellos las expresan o viven, con el fin de construir significados y significantes sobre la gestión participativa, para así poder tener una visión clara de su desarrollo en la UPS semillas Múcura.

Por otro lado, en correspondencia con mi postura onto-epistémica, se utilizó el método fenomenológico de Husserl, el cual investiga, analiza y estudia los fenómenos tal y como se manifiestan sobre las realidades, siendo observados por el ser humano como intérprete y significativo, desde su cosmovisión. El método fenomenológico, según Husserl (1986), simboliza la obligación de ir a las cosas mismas. Para Fernández (2013), el producto de la *epoché* fenomenológica es que nuestro interés se centre en los objetos y la forma que estos emergen en la conciencia, es decir, como fenómenos en sentido fenomenológico.

El fenomenólogo únicamente reconocerá como fenómenos válidos aquellos que estén dados originariamente ya que son la base para toda interpretación e intelectualización posterior. Fue necesario integrar contexto y sujetos significantes, como expone Martínez (ob. cit.), esto no

quiere decir que se deben estudiar, de manera separada, las cualidades. Se trata de razonar en forma integral la totalidad.

Por esto, para la comprensión de la cosmovisión de los sujetos significantes, desde la gestión participativa, se observó la actividad gerencial en su entorno natural y cotidiano, a fin de considerar los aspectos complejos y dinámicos que constituyen su escenario. En este sentido, mediante la fenomenología se estudiaron los fenómenos tal como son en las realidades. Esto me permitió develar los significados e interpretaciones de los sujetos significantes en el contexto donde se desenvuelven y ejecutan las acciones gerenciales.

En este orden de ideas, Fernández (ob. cit.), expresa que Husserl consideraba que era necesario hacerse una teoría del conocimiento puramente conceptual. Por lo tanto, no podía utilizarse ni uno sólo de los conocimientos ya constituidos. Ese es el sentido que tiene su famosa *epoché*, la suspensión del juicio o reducción fenomenológica. Por lo cual, para poder estudiar las vivencias, como tales, hay que modificar nuestro modo ordinario de vivirlas.

Señala González (2010), que la fenomenología es el estudio de las ciencias, y se cuestiona por la verdadera naturaleza de los fenómenos. Es la descripción de los significados vividos, existenciales. La fenomenología procura explicar los significados en los que los seres humanos estamos inmersos en nuestra vida cotidiana y no las relaciones estadísticas a partir de una serie de variables como el predominio de tales opiniones sociales, o la frecuencia de algunos comportamientos.

Como complemento al método fenomenológico, fue necesario utilizar la hermenéutica para aproximarme a la comprensión e interpretación de los significados presentes en los sujetos significantes vinculados a la gestión participativa en la UPS “Semillas Múcura” del INIA. Al pretender entender realidades como reflejos de hechos o fenómenos que requerimos comprender para tener conocimiento del mundo circundante, es necesario hacerlo empleando para ello acciones

mentales y operativas que son propias de una actividad humana. Según Gómez (2006), desde la perspectiva interpretativa, las realidades sociales son de naturaleza subjetiva y depende de los significados que las personas le atribuyen, de la comprensión e interpretación de esos significados y de cómo se realiza el proceso de construcción de ellas.

La hermenéutica según Barvera e Inciarte (2012), muestra una visión basada en la interpretación por medio de la palabra. Esto es, mediante la escritura, la lectura y el diálogo, como diría Gadamer (1998), la palabra vive entre los hombres. Por tanto, en la palabra acontece la verdad, tiene una existencia fiable y duradera, está vinculada al uso lingüístico, el cual otorga significado colectivo y está impregnada de relaciones sociales. De allí que, para llegar a la comprensión, Gadamer (ob. cit.) plantea la estructura esencial de la hermenéutica en tres aspectos a saber: (a) el diálogo es el lugar de la verdad, del acontecer o emerger de la cosa misma, (b) en él es la cosa misma la que se erige en sujeto verdadero, (c) en el diálogo los interlocutores participan en el acontecer de verdad que se despliega en un proceso infinito.

Para Barvera e Inciarte (ob. cit.), se basa en la palabra dicente, la cual no consiste en una simple construcción fónica, sino que el decir dice algo y lo dicho está ahí, presente. Por esto, la palabra es dicente, las interpretaciones del lenguaje están pensadas fenomenológicamente: en consecuencia, descubrir significados a partir de la comprensión e interpretación son caminos de la hermenéutica gadameriana.

Por todo ello, la hermenéutica hizo presencia en este trabajo desde la mediación indagatoria realizada en cada entrevista. Esto ameritó la inmersión total del investigador en un rol de intérprete, de manera empática, con los sujetos significantes durante el proceso de interpretación de la información, una vez transcritas las entrevistas.

Las técnicas para recaudar la información me permitieron, de manera intencional y direccionada, indagar las realidades sociales. Para el caso de la presente investigación, se trató de

comprender e interpretar la gestión participativa en la UPS “Semillas Múcura” del INIA. Para ello, apliqué la observación participante como técnica para recabar la información. Ella me permitió obtener la información ajustada a lo que pretendí aproximarme. La observación participante descrita por Corbetta (2007), es una técnica de investigación donde investigador e investigado interactúan por prolongados periodos de tiempos de manera tal que se compenetran e integran, estableciéndose relaciones sólidas y profundas con su entorno en el cual a través de la identificación se genera una comprensión de las motivaciones del sujeto.

Del mismo modo, utilicé la entrevista en profundidad como técnica para obtener información de los sujetos significantes, esto sustentado en Fernández (ob. cit.) cuando señala que, la entrevista en profundidad tipo relato de vida es una técnica que facilita la interpretación de las realidades abordadas, de esta técnica se desprende un conjunto de saberes que provienen de las vivencias de los sujetos significantes.

Durante la investigación realicé la revisión a profundidad de literatura relacionada al tema. Utilicé diversas fuentes bibliográficas y electrónicas, material que sustentó la investigación desde los ámbitos legales, y teóricos conceptuales. De lo cual Martínez (ob. cit.), nos dice que la revisión bibliográfica representa el proceso mediante el cual un investigador recopila, revisa, analiza, selecciona y extrae información de diversas fuentes, acerca de un tema particular, con el propósito de llegar al conocimiento y comprensión más profundos del mismo.

Seleccioné al señor Rosalio Rodríguez y la señora Carmen Cierra, mencionados en esta investigación como sujeto significativo 1 y sujeto significativo 2 respectivamente, por poseer experiencia, conocimiento y saberes del entorno y sus complejidades. En este sentido, el sujeto significativo es definido por Hermoso (2001:25) como “(...) aquel o aquellos sujetos capaces de dar testimonio pertinente acerca de los acontecimientos que han vivido y sentido”.



Por tanto, para la escogencia del sujeto significativo 1 tomé en cuenta que: vivió el proceso de transición de la UPS del sector privado al público y posee amplia experiencia en responsabilidades como gerente en la mencionada unidad; y para el sujeto significativo 2, su condición de integrante de la comunidad Las Guasduas, luchadora social comprometida con la comunidad, vocera principal de la comuna en construcción, madre de familia, con amplia y reconocida trayectoria entre los miembros de los consejos comunales del sector.

Acorde a las técnicas seleccionadas utilicé como instrumentos de investigación, la grabadora, notas de campo y computadora. Así como la herramienta informática para el análisis de datos cualitativos (QDA) ATLAS.ti, en su versión Win 7.1, este sistema sirvió como instrumento de apoyo para la transcripción, organización e interpretación del material recabado en las entrevistas realizadas a los sujetos significantes.

Para la categorización del constructo, implementé la técnica denominada la realidad como fuente de teoría de Hermoso (*op. cit.*), la cual contempla como punto de partida la elucidación dentro del discurso de los sujetos significantes una serie de respuestas cortas, que apuntan a preguntas no formuladas por el investigador, Hermoso (*op. cit.:29*) define estas respuestas cortas como "...las primera fuente de construcción de teoría y son unidades comunicacionales dentro de la narrativa, y al ser extraídas por el investigador deben conservar su carácter orgánico, esconden las preguntas enmascaradas".

Posteriormente, por cada respuesta corta, se formuló una pregunta, llamadas preguntas enmascaradas, las cuales son definidas por Hermoso (*op. cit.:29*) como "...una vía de legitimación de los saberes contenidos en la entrevista". Para organizar el proceso de elucidación de preguntas enmascaradas, se utilizó una tabla de dos columnas: en la primera, se reflejó la respuesta corta, y en la segunda se ordenó la pregunta enmascarada respectiva. Ambas se codificaron con un mismo número.

Finalmente, del análisis y el trabajo organizacional de toda la estructura del discurso de los dos sujetos significantes dio origen a cinco dimensiones; entre ellas, cultura organizacional, educación, identidad corporativa, gestión socialista y organización de base. De las cuales, bajo el mismo criterio de ordenación, emergió la categoría gestión participativa en cada uno de los referidos sujetos.

Apliqué el procedimiento de la triangulación en la información aportada de cada sujeto significativo, por permitirme interpretar la situación de estudio, a la luz de evidencias provenientes de las fuentes obtenidas por la técnica de la entrevista en profundidad y la revisión bibliográfica de autores. Es así como la triangulación, como procedimiento de contraste, contribuyó a lograr la credibilidad y validez del estudio, entre los aspectos teóricos, los resultados de campo y la interpretación de ambos.

Para Cowman (2012), el principio básico de la triangulación consiste en recoger y analizar la información desde distintos ángulos para compararlos y contrastarlos entre sí, según Glaser y Strauss (citado por Goetz y Le Compte, 1998), "La triangulación impide que se acepte, fácilmente, la validez de sus impresiones iniciales; amplía el ámbito, densidad y claridad de los constructos desarrollados en el curso de la investigación" (p. 56). Al mismo tiempo, el proceso de triangulación me permitió identificar información considerada como redundante durante la recolección de información, aclarar significados y develar la diversidad de manifestaciones del fenómeno, desde la percepción de los sujetos significantes. Por ello, el proceso de triangulación me permitió validar la información y a su vez comprender de una manera más profunda la cosmovisión de los sujetos significantes respecto al tema investigado.

La fiabilidad y credibilidad de la información de mi investigación se cimentó sobre la seriedad y calidad profesional de los sujetos significantes y a su vez en la meticulosidad en cuanto a la recaudación, procesamiento e interpretación de la información. Según Hernández *et al.* (*ob. cit.*), la fiabilidad recae en la credibilidad. Se refiere



a la importancia que tiene el nivel de comprensión del investigador sobre las experiencias y sus significados dentro de la cosmovisión de los sujetos significantes.

En este mismo orden de ideas, para la fiabilidad y cientificidad de esta investigación se consideró la originalidad, flexibilidad y la habilidad del investigador para captar las realidades, reconociendo la complejidad fenoménica que aportaron los actores sociales. De lo antes señalado, Valles (2000), estima el carácter científico de una investigación cualitativa, se logra por medio de los criterios de credibilidad, transferibilidad y auditabilidad.

Valles (ob. cit.), expone, el criterio de credibilidad se logra cuando el investigador, mediante diversas conversaciones prolongadas con los actores sociales, recopila la suficiente información y hace todo lo posible para que los informantes se sientan compenetrados con la investigación. Con respecto a la transferibilidad, el autor estima que existe la posibilidad de extender los resultados de la investigación a otro contexto similar. Es decir que la información obtenida puede ser transferida a un fenómeno común estudiado y de esta manera permite tanto validar la investigación desde la triangulación de las fuentes de información y al mismo tiempo extrapolar los resultados en un mismo contexto.

En relación al criterio de auditabilidad, Valles (ob. cit.), considera que está representada en la habilidad de otros investigadores en seguir el mismo camino que el investigador original ha transitado y a su vez permita llegar a hallazgos similares. De acuerdo con todo lo expuesto, la presente investigación se orientó a alcanzar el propósito planteado, desde el punto de vista de la intersubjetividad y sus interpretaciones. En este mismo contexto, se lograron aproximaciones hermenéuticas que me llevaron a reflexiones en relación con el tema tratado.

### EVIDENCIAS

Las relaciones organizativas vinculantes a la gestión participativa están inmersas en dos ámbitos: intro, que se da dentro de la unidad de producción y las comunidades, esta se respalda de

manera jerárquica; y en las comunidades, el tipo de relación se sustenta en el liderazgo. El sujeto significativo 1 transmite desde su cosmovisión, un respeto a la jerarquía burocrática por la cual se rige la UPS. Se refiere a las normas y procedimientos instaurados dentro de la unidad, aún cuando critica la lentitud de algunos procesos a causa de la burocracia.

Por el contrario, el sujeto significativo 2 se refiere a una relación organizativa dentro de las comunidades; más flexible, por no llamarla informal, ya que dentro de los consejos comunales existen normas mínimas que permiten llevar control de las gestiones que se hacen de manera participativa; siendo un ejemplo de ello, las actas que se redactan una vez concluida una reunión, reflejando en ellas, los compromisos, responsables y fechas previstas, lo cual denota relaciones organizativas en el ámbito comunitario más flexible. Dicha relación se da entre los nueve consejos comunales que integran la gran comuna en construcción. Con respecto al ámbito inter, las relaciones organizativas entre las comunidades y la UPS, están circunscritas al ámbito de apoyo o asistencia en actividades formativas.

Entre los relatos de vida de los sujetos significantes, se da una relación dialéctica que nos aproxima a las distintas dimensiones y visiones de la vida y la realidad que tiene cada sujeto con respecto a la gestión participativa. Esta relación se evidencia en el sujeto significativo 2, quien está vinculada con la lucha social en la que se ha desarrollado desde su infancia, por el contrario el sujeto significativo 1 circunscribe la participación netamente al ámbito laboral.

A continuación, presento la red de categorías y sus respectivas dimensiones por cada sujeto. Es importante destacar que el orden utilizado en la presentación e interpretación de las dimensiones, no representa jerarquía que refleje o denote niveles de importancia entre ellas.

En la Figura 1, se observa que de la categoría gestión participativa configurada desde la cosmovisión del sujeto significativo 1, está conformada a su vez por las dimensiones cultura organizacional, identidad corporativa y educación.

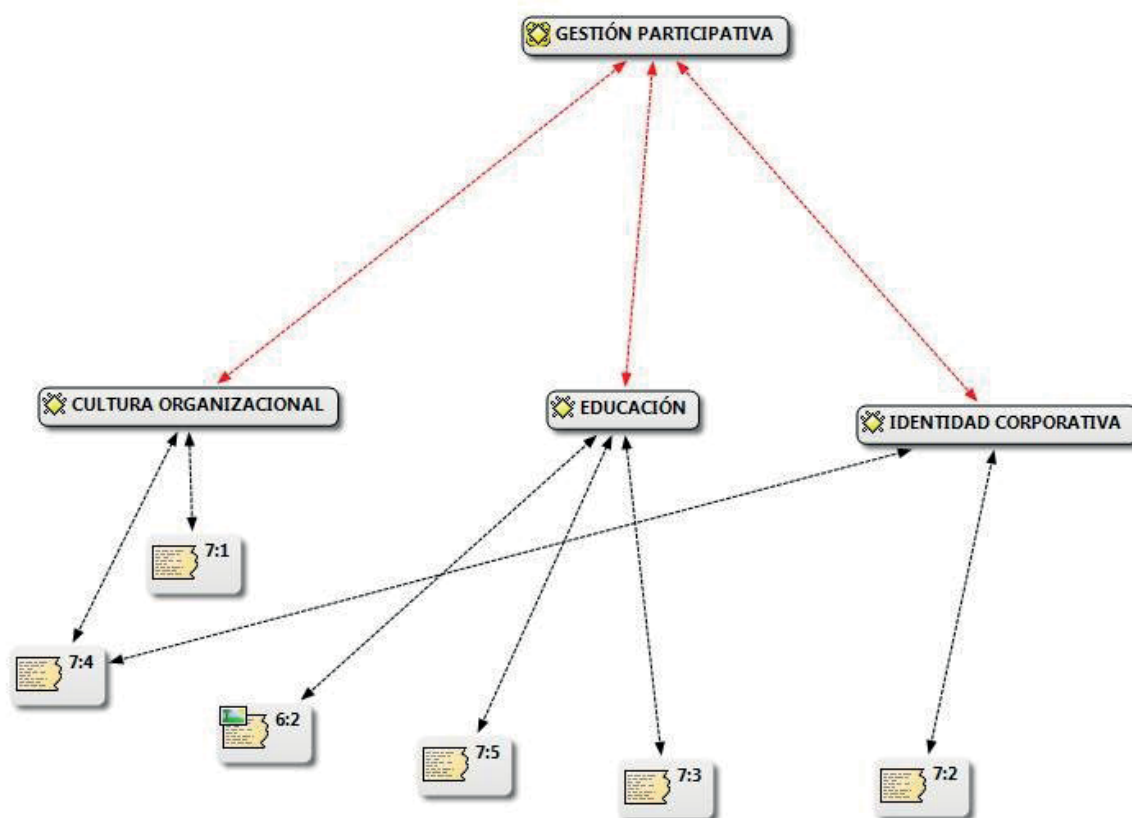


Figura 1. Red de dimensión y categorías del sujeto significativo 1.

Todas ellas como resultado de la interpretación de la narrativa del sujeto significativo 1, dichas narrativas están representadas con los números 7:1 y 7:4 dentro de la dimensión cultura organizacional; 6:2, 7:5, y 7:3 en la dimensión educación y 7:2 para la dimensión identidad corporativa

Esta numeración representa la codificación que asigna el sistema Atlas.ti para identificar la ubicación exacta de la cita seleccionada dentro de la narrativa del sujeto significativo 1. Las flechas indican la relación bidireccional entre el contenido y significado de las citas y las dimensiones resultantes. A continuación se describen las dimensiones identificadas.

### Dimensión cultura organizacional

Esta dimensión está impregnada por los valores arraigados producto de su experiencia que data de tiempos cuando Semillas Múcura pertenecía al sector privado. Desde la percepción del sujeto, reviste mucha importancia el apego

a las normas y procedimientos. Lo normativo ha hecho de este, una persona metódica que aunado a valores como la responsabilidad inculcada desde su hogar, configuran la categoría cultura organizacional.

*...En la UPS como organización del gobierno, debe haber mucha responsabilidad en las decisiones, hay que seguir las reglas tanto dentro como fuera con las comunidades...*

Durante su discurso hizo énfasis en elementos vinculantes a la convivencia, la toma de decisiones, responsabilidad, confianza, participación activa como elementos que gravitan y dan forma a esta dimensión. El peso e importancia que el sujeto significativo 1 le da a estos elementos vinculantes, permite interpretar la visión corporativa que posee con respecto a su cosmovisión laboral impregnada al mismo tiempo por la religión que él practica.

Respecto al predominio de la cultura organizacional formal como resistencia a la participación.

*"...el orden, la jerarquía, el mando, los procesos formalmente regulados, y una percepción verticalista y autoritaria de la organización son las claves de la eficiencia. Como lo detecta Robert Merton, en este enfoque el orden, que es un medio, tiende a transformarse en un fin en sí mismo. En este tipo de organizaciones se produce una traslación de valor de los fines a las rutinas. El cumplimiento de la rutina está por encima de lo sustantivo Kliksber (1999:13)."*

Lo afirmado por este autor, concuerda con la apreciación del sujeto significativo 1, marcado por una conducta normativa y procedimental, sin la presencia de elementos que apunten valores socialistas liberadores dentro de su quehacer laboral.

*.... En la gestión de la UPS la fe en dios....*

*... en la participación activa dentro de la empresa y en las comunidades está presente Dios....*

De estos fragmentos de la narrativa, se puede inferir que el sujeto impregna la cultura organizacional dentro de semillas Múcura, desde su postura o cultura religiosa cristiana evangélica. García (2005) concibe este tipo de cultura como, una variable independiente y externa que influye en las organizaciones y es llevada a la organización a través de sus integrantes; es decir, al entrar a pertenecer a la organización, los empleados que han sido influidos por múltiples instituciones culturales no corporativas como la iglesia, traen estas influencias para nutrir la realidad organizacional. La cultura organizacional entonces está permeada y construida socialmente a través de los miembros que la constituyen.

Por lo antes referido hace necesario mencionar la perspectiva socio constructivista, de esta García (*op.cit.*) acota que las organizaciones se conciben como realidades construidas socialmente, en donde los individuos son moldeados por el contexto cultural más amplio, es decir la organización, y a su vez ésta es creada y recreada por los procesos de interacción entre las personas. En este sentido, las organizaciones

en vez de poseer una cultura, son culturas; ellas se constituyen a partir de las interacciones cotidianas de donde surgen patrones de interacción que se institucionalizan y que a su vez permean las interacciones particulares. Esto resalta una comprensión de las organizaciones e individuos como entidades que se construyen y transforman mutuamente.

### **Dimensión identidad corporativa**

Los valores del sujeto, arraigados de su experiencia, forjan la dimensión identidad corporativa, la cual se manifiesta cuando el sujeto significativo 1 afirma *...si me identifico me pertenece...*, estamos en presencia de una identidad bien arraigada, más allá de una identidad física en el uso consecuente y con orgullo de la insignia institucional de la UPS Semillas Múcura. De igual manera se refirió con énfasis y de manera reiterativa durante todo el discurso, respecto a la experiencia que tuvo como gerente cuando la Semillas Múcura pertenecía al sector privado. Siempre estuvo vinculado al área administrativa dentro del sector privado, aun cuando se incorporaba de manera activa en los procesos técnicos dentro de las empresas. Esto se manifiesta cuando describe al detalle el proceso productivo de procesamiento y almacenamiento de semillas.

El arraigo que tiene en la UPS, la confianza que el anterior dueño le dio, son elementos que dan fuerza al compromiso que tienen dentro de la unidad, dicho compromiso se manifiesta entre otras, cuando expresa el sujeto significativo 1 *.. lo que yo pueda hacer, créalo que lo voy hacer, y lo que no pueda hacer bueno veré como lo hago, veré como resuelvo....*

Ramírez y Quintero (2005), afirman que la identidad corporativa tiene dos dimensiones; la emisión y la percepción, también llamada identificación, que consiste en la percepción de la identidad, deviene una relación entre lo identificado y una serie de ideas; primeramente una serie de asociaciones empíricas de ideas; y en un segundo nivel de percepción a una serie de asociaciones psicológicas de ideas, ligadas estas a la cosa percibida en forma de "atributos".

Los autores mencionan que como la identidad corporativa, nacida como idea y como técnica de una situación socio-económica desarrollada dentro de un contexto comunicacional complejo, no tiene solo por objeto marcar “físicamente” los productos o las instituciones, sino desarrollar visualmente un concepto de personalidad corporativa en forma de un programa, constituido o fundamentado en la filosofía de gestión de la organización.

### Dimensión educación

La educación mencionada por el sujeto significativo 1 está vinculada directamente a una educación de tipo formal. Siendo esta, de tipo andragógica, lo que permitió reforzar el compromiso, y la responsabilidad y disciplina dentro del quehacer laboral. Su reconocimiento a la investigación es producto de este tipo de educación, le exige la responsabilidad, compromiso y disciplina anteriormente referida, expresó en su narrativa el sujeto significativo 1 de la siguiente manera. ... *el verdadero conocimiento lo consigue uno a través de la propia investigación...*

La educación formal es considerada por el sujeto significativo 1, elemento preponderante, su formación como técnico contable y su experiencia educativa en la Universidad Nacional Abierta (UNA), marcaron su cosmovisión y reforzaron su relación familiar, esto, ratificado por el mismo sujeto cuando expresa la importancia del sacrificio que implicó realizar sus estudios de licenciatura.

Acevedo *et al.* (2005), se refieren a la educación como una vía para contribuir a conocer, manejar y participar; denotando que la educación proporciona conocimientos para comprender mejor los mundos natural y artificial por medio de la indagación, destrezas y habilidades que son imprescindibles, como procedimientos específicos para poder desenvolverse mejor en la vida cotidiana y, asimismo, capacidades para poder participar en las decisiones que afectan a la ciudadanía contribuyendo a cambiar el mundo.

Althusser (1988), categoriza la educación, así como la familia, la comunidad y la iglesia, en instituciones o aparatos ideológicos de Estado, y

las ubica dentro de la superestructura como un estamento de la sociedad en el nivel ideológico. De ello, infiero que el sujeto significativo 1 posee arraigada visión corporativa, producto de su amplia experiencia y formación empresarial.

De acuerdo a la Figura 2, se observa que la categoría gestión participativa configurada desde la cosmovisión del sujeto significativo 2, está conformada a su vez por las dimensiones gestión socialista y organización de base. Todas ellas como resultado del análisis hermenéutico de citas o fragmentos de la narrativa del sujeto significativo 2, los fragmentos de su narrativa están representados con los números 7:10, 7:6, 7:4, 7:2 y 7:7 dentro de la dimensión gestión socialista; y la dimensión organización de base se desprende de las citas 7:5, 7:1, 7:9 y 7:8.

Esta numeración representa la codificación que asigna el sistema Atlas.ti para identificar la ubicación exacta de la cita seleccionada dentro de la narrativa del sujeto significativo 2. Las flechas indican la relación bidireccional entre el contenido y significado de las citas y las dimensiones resultantes. A continuación, se describen las dimensiones identificadas.

### Dimensión organización de base

Denota la importancia que tiene la organización popular, las comunas como organización de base. La refiere como el tipo de gobierno que emerge y por tanto ve la necesidad de formarse y organizarse para ello. La solidaridad, trabajo voluntario y complementario devela sus arraigados valores socialistas.

Se refirió el sujeto significativo 2 a la importancia que tiene la organización de base para seguir su trabajo diario en la comunidad, a la cual se refirió como una lucha constante. Vejarano (2007:23), señala que “el proceso de organización de base inicia en torno a las necesidades sentidas de la población y debe pretender la definición de las necesidades objetivas que se visualizan como necesarias y posibles para el nivel de estructuración del grupo”.

El principio de organización que hace referencia el autor, se fundamenta en el propósito de crear



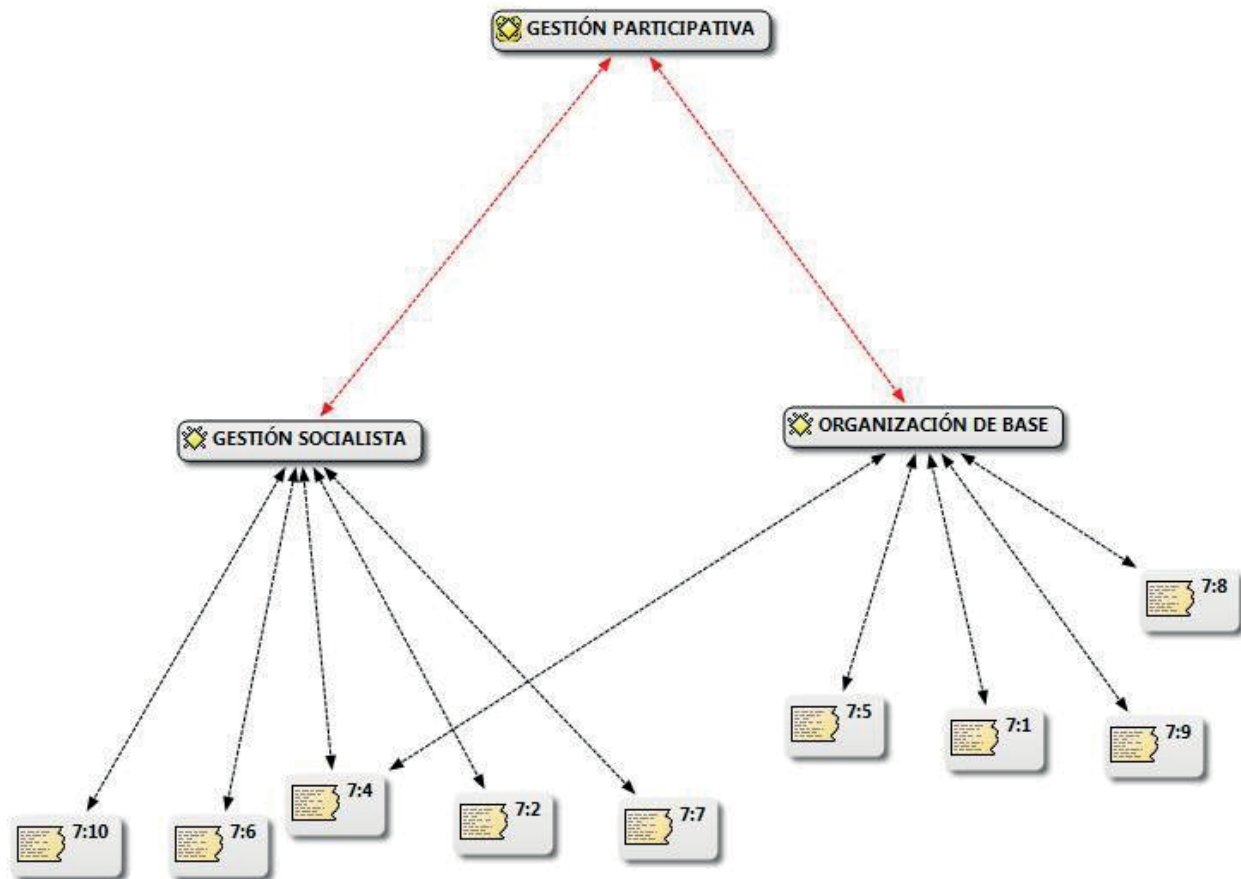


Figura 2. Red de dimensión y categorías del sujeto significativo 2.

estructuras de base y fortalecer las ya existentes; e integrar y coordinar las organizaciones para el cumplimiento de las funciones y para convertirse en canal de las expectativas, necesidades y participación de la población.

El sujeto significativo 2 hizo mención en reiteradas oportunidades de su discurso en las necesidades sentidas de la comunidad por la que ella, y los consejos comunales trabajan. Al respecto, Vejarano (*op. cit.*) habla de la factibilidad de atención y solución de las necesidades sentidas, en las comunidades locales, y sostiene que estas pasan necesariamente por la formación de organizaciones de base de carácter social, económico, cultural y político, a través de las cuales las demandas son canalizadas y la mayor incorporación de la población se hace real y efectiva.

*"...actualmente se percibe en las comunidades el ejercicio pleno y autónomo del poder mediante la gestión participativa de los consejos comunales como organizaciones de base, lo cual es la vía para la construcción del estado comunal ...."*

En esta narrativa, el sujeto significativo 2 deja claro su percepción respecto a la autonomía de las organizaciones de base mediante la gestión participativa. Por su parte Lovera (2008), con una visión más crítica respecto a la autonomía de las organizaciones de base, expresa que esto tiende a convertirlos más que en una expresión de la democracia participativa; en punto de apoyo de una democracia delegativa, donde los consejos comunales son concebidos como un engranaje del Estado, recortando su autonomía como organizaciones sociales de base.



### Dimensión gestión socialista

Esta dimensión la configura y nutre el sujeto significativo 2 desde la importancia y las actividades que impulsa en el área productiva comunitaria; denotan elementos de cogestión en su narrativa. Dicha cogestión se relaciona al ámbito de proyectos de vivienda que actualmente son direccionados ante los órganos gubernamentales pertinentes; el tema del liderazgo ejercido ante las instituciones públicas para canalizar y dar respuesta a necesidades no satisfechas dentro de la comunidad; la búsqueda de impregnar de motivación a los vecinos para canalizar la información recabada desde fuera de la comunidad; y el ejercicio de la comunicación dentro de ella.

El sujeto significativo 2 hizo énfasis en la participación activa como garantía del éxito de la gestión y el trabajo, siendo el objetivo principal la participación de todos los miembros de las comunidades. Ante las afirmaciones contundentes que dieron visibilidad a esta dimensión destacan:

*...una sola persona no puede lograr un objetivo, la participación de todos es indispensable...*

*....la participación de todos es indispensable, y es lo que nos garantiza el éxito de la gestión...*

*....el objetivo es la participación de todos....*

*.... la participación de las comunidades eso es lo que va a garantizar el éxito del trabajo...*

*....a través de la comunicación vamos a lograr la participación y eso conlleva a la formación....*

Enciso (2011), percibe como indispensable que en la gestión socialista de la economía y de las fábricas, especialmente en las de propiedad estatal, participen, además de los voceros y el Estado, los consejos de trabajadores, los consejos comunales y los productores de materias primas. Esto con el propósito de crear un equilibrio y un control mutuo entre los diferentes grupos de intereses de la sociedad, pues éstos son con frecuencia, contradictorios y a la vez complementarios, para que, entre todos ellos, tomen, de manera conjunta, las mejores decisiones que permitan satisfacer sus necesidades y su desarrollo integral sustentable, subordinados

a los intereses estratégicos de la nación y la humanidad.

De este mismo modo, Enciso (*op. cit.*), asegura que la gestión socialista de la economía, las empresas y fábricas en el socialismo del siglo XXI debe realizarse de manera conjunta y con participación equitativa, insistiendo en ello, porque es indispensable para crear una nueva sinergia socialista, por los voceros de los consejos de trabajadores, consejos comunales, gobiernos nacionales y en los casos en que sea posible, los productores de materias primas fundamentales, entre ellos, campesinos, pescadores, mineros y otros pequeños productores.

En el entendido que el sujeto significativo 2 durante el relato de vida puso peso preponderante a la cogestión, por ello es importante resaltar que este proceso:

*Implica la administración conjunta obrero - patronal de la empresa. La cogestión no suprime el régimen de propiedad y en ella el trabajador administra como trabajador y no como propietario. Es decir, que existe un reconocimiento mutuo del capital y el trabajo. Existen patronos y trabajadores. A partir de allí, pueden darse distintos grados de participación laboral: a.- derecho del trabajador a ser informado sobre la marcha de la empresa; b.- consulta, con derecho a hacer sugerencia, sin obligar a la gerencia; c.- control o comprobación de documentos y hechos; d.- veto a las decisiones del empresario que sigue conservando la iniciativa; d.- codecisión, en que se comparte con el elemento empresarial la máxima gestión y aun la marcha y responsabilidad de la dirección. Alonso (2007: 12).*

De las dimensiones antes expuestas se puede interpretar que estas emergen desde las cosmovisiones inmersas en cada sujeto significativo, aun cuando estos difieren en la interpretación personal, impregnadas por sus experiencias de vida. Se consideran complementarias, ya que cada uno de ellos aporta y se vincula a las teorías existentes en el tema de la gestión participativa.

Respecto a los aspectos clave, identificados como orientadores hacia la gestión participativa dentro de la UPS Semillas Múcura, se destaca

la formación para la participación dentro de los procesos de la mencionada unidad. No basta con incorporar a la nómina personas que pertenecen a las comunidades, es condición necesaria empoderar las comunidades para la gestión participativa y efectiva. Por ende, el tema formativo atinente al conocimiento en este proceso es de suma importancia. Percibo que los Consejos de Participación Comunitaria (CICO) dentro de la UPS Semillas Múcura, representa el espacio desde donde se puede ejercer de manera activa y protagónica esa participación.

Otro aspecto considerado clave por el sujeto significativo 2 y que orienta la gestión participativa en la UPS, es la cogestión. Esta permite dar continuidad y fortalece los procesos inherentes a la unidad productiva y garantiza la seguridad física a las instalaciones y los procesos. Además, son las comunidades las que participan en la selección de los trabajadores que la UPS requiere, así como en la distribución de los excedentes generados por esta.

Por último y no menos importante, destaca la articulación como elemento orientador en la gestión participativa. Esta se refiere a las relaciones o andamiaje que debe existir entre los trabajadores de la UPS, las comunidades e instituciones públicas y privadas; es decir, la existencia de una simbiosis entre estas diferentes instancias para lograr una mejor gestión participativa y productiva.

La UPS ejecuta procesos que están determinados por elementos biológicos, técnicos y normativos, pero quienes ejecutan o valoran estos procesos y relaciones son ciudadanos que se manejan por sus propias subjetividades, construidas sobre la base de elementos psicosociales y culturales tanto en el ámbito individual como colectivo que deben ser considerados, porque entran en juego en la cotidianidad de la UPS.

### APROXIMACIONES

Las relaciones intro e inter representan los ámbitos donde se desarrolla de manera simbiótica el vínculo socio organizativo de la UPS. Dentro de la unidad de producción se configura el

andamiaje normativo y jerárquico propio de una organización pública, sustenta sus bases de manera jerárquica. Por el contrario, dentro de las comunidades, el sujeto significativo 2 se refiere a una relación organizativa más flexible por no llamarla informal, ya que dentro de los consejos comunales existen normas mínimas que permiten llevar control de las gestiones que se hacen de manera participativa.

En el ámbito inter, las relaciones organizativas entre las comunidades y la UPS, puede interpretarse que dichas relaciones están circunscritas al ámbito de apoyo o asistencia en actividades formativas. No evidenció el discurso del sujeto significativo 2 elementos que indiquen participación activa en las decisiones dentro del quehacer de la referida unidad.

La gestión participativa a través de los relatos de vida de los sujetos significativos, se da una relación dialéctica y a su vez complementaria que nos aproxima a las distintas dimensiones y visiones de la vida y la realidad que tiene de cada sujeto con respecto a la gestión participativa. En el sujeto significativo 2, esta relación se evidencia en su percepción respecto a la participación, relacionada esta con la lucha social en la que ha desarrollado desde su infancia, por ello, la Figura 2 refleja la relación entre las dimensiones organización de base y gestión socialista. Por el contrario, el sujeto significativo 1 circunscribe la participación netamente al ámbito laboral, donde la cultura organizacional y la identidad corporativa son la esencia de su cosmovisión respecto a la gestión participativa, esto se evidenció en la red de dimensiones y categorías plasmada en la Figura 1, donde se observa la relación directa entre dichas dimensiones.

Como aspectos claves se develó que el INIA al ser enlace administrativo de la UPS "Semillas Múcura", amerita contar con mecanismos de gestión que den acceso a información precisa y oportuna, con respecto a la gestión participativa que se desarrolla en el ámbito de acción socio-productiva. Por ello, la formación para la participación; la cogestión entre las comunidades organizadas y la UPS; y la articulación a todo nivel de gestión; deben ser asumidos desde la

estructura de la UPS como filosofías de gestión que permeen el accionar de sus procesos.

Resalto finalmente de la gestión participativa, la importancia de armonizar, controlar, y democratizar la gestión para consolidar nuevas formas de relacionamiento socioeconómico con las comunidades, esto pudiera incentivar a las comunidades y la UPS, trabajar de manera conjunta con alta responsabilidad y compromiso en la ejecución de las acciones organizacionales de manera participativa, donde la eficiencia y la eficacia se configurarían en un proceso administrativo transparente y con alta responsabilidad social.

### AGRADECIMIENTOS

Se reconoce el apoyo y colaboración de los Consejos Comunales Múcura I, Múcura II, Tamborón y Las Guásduas. Especialmente a Carmen Cierra y Rosalio Rodríguez, sujetos significantes de la presente investigación.

### LITERATURA CITADA

- Acevedo, A; Vázquez, A; Martín, Oliva, JM; Acevedo, P; Paixao, JM; Manassero, MA. 2005. Naturaleza de la ciencia y educación científica para la participación ciudadana. Una revisión crítica (en línea). Revista Eureka. Consultado 01 May. 2018. Disponible en <https://revistas.uca.es/index.php/eureka/article/view/3912/3481>.
- Althusser, L. 1988. Ideología y aparatos ideológicos del estado (en línea). Editorial Nueva visión. Consultado 13 Maz. 2018. Disponible en [http://www.moviments.net/espaimarx/els\\_arbres\\_de\\_fahrenheit/documentos/obras/1319/ficheros/Althusser\\_Louis\\_Ideologia\\_y\\_aparatos\\_ideologico.pdf](http://www.moviments.net/espaimarx/els_arbres_de_fahrenheit/documentos/obras/1319/ficheros/Althusser_Louis_Ideologia_y_aparatos_ideologico.pdf).
- Alonso, O. 2007. Nuevas formas de propiedad y de gestión de las organizaciones en la transición hacia el socialismo del siglo XXI (en línea). Consultado el 19 Jul. 2018. Disponible en <http://www.innovaven.org/quepasa/socind12.pdf>.
- Barvera, N; Inciarte, A. 2012. Fenomenología y hermenéutica: dos perspectivas para estudiar las ciencias sociales y humanas (en línea). Consultado el 19 Jul. 2018. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90424216010>.
- Corbetta, P. 2007. Metodologías y Técnicas de Investigación Social. McGraw Hill. Madrid. España. 123 p.
- Cowman, S. 2012. Triangulación: una media de reconciliación en la investigación. España. Visión. 34 p.
- De Berríos, O; Briceño M. 2009. Enfoques epistemológicos que orientan la investigación de 4to. Nivel (en línea). Editorial visión gerencial. Consultado el 19 Jul. 2018. Disponible en <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/31329/1/articulo4.pdf>.
- Enciso, R. 2011. El modo de producción soviético y el socialismo del siglo XXI en Venezuela. (en línea) Consultado 21 Jun. 2018. Disponible en [http://xa.yimg.com/kq/groups/24059641/44978568/name/el\\_modo\\_de\\_produccion\\_sovietic.pdf](http://xa.yimg.com/kq/groups/24059641/44978568/name/el_modo_de_produccion_sovietic.pdf).
- Fernández, S. 2013. Fenomenología de Husserl: *Aprender a ver*. Gargola Vaca. 54 p.
- Gadamer, H. 1998. Verdad y Método. Salamanca: Ediciones Sígueme. 29 p.
- García, C. 2005. Una aproximación al concepto de cultura organizacional (en línea). Consultado 19 Jul. 2018. Disponible en [http://sparta.javeriana.edu.co/psicologia/publicaciones/actualizarrevista/archivos/V5N112unaaproximacion\\_concepto\\_cultura.pdf](http://sparta.javeriana.edu.co/psicologia/publicaciones/actualizarrevista/archivos/V5N112unaaproximacion_concepto_cultura.pdf).
- González, Y. 2010. Aplicación de la fenomenología y la teoría fundamentada en una investigación social comunitaria (en línea). Consultado 28 Ene. 2018. Disponible en <http://www.sociedadelainformacion.com/21/aplicacion.pdf>.
- Gómez, J. 2006. Metodología Comunicativa Crítica. (1ª ed.). Barcelona España: El Roure S.A. 66 p.

- Goetz, J; LeCompte, M. 1998. La investigación cualitativa en la educación de estudios sociales. En JP máquina de afeita., Manual de investigación sobre estudios sociales de enseñanza y aprendizaje, un proyecto del Consejo Nacional de Estudios Sociales. Nueva York: MacMillan Publishing Co. 48 p.
- Guba, E. 1991. El diálogo del paradigma alternativo. (María Castro de Nuñez, Trad). California: SAGE. 33 p.
- Harnecker, M. 2009. Planificación participativa en la comunidad (en línea). Consultado 11 Feb. 2018. Disponible en <http://www.rebellion.org/docs/97084.pdf>.
- Hernández, R. Fernández, C. y Baptista, P. 2010. Metodología de la Investigación. México D.F.: Mc Graw-HILL. 25 p.
- Hermoso, V. 2001. La realidad como fuente de teoría: la legitimación de saberes en las entrevistas en profundidad. Caracas; Venezuela. Editorial Orituco. 10 p.
- Husserl, E. 1986. Ideas relativas a una fenomenología pura y a una filosofía fenomenológica. México: FCE. 51 p.
- Kliksber, B. 1999. Seis tesis no convencionales sobre participación (en línea). Consultado 15 Mar. 2018. Disponible en [http://cmap.upb.edu.co/rid=1195260069828\\_1757975637\\_934/Seis\\_Tesis\\_Klisberg%20de%20la%20participaci%C3%B3n.pdf](http://cmap.upb.edu.co/rid=1195260069828_1757975637_934/Seis_Tesis_Klisberg%20de%20la%20participaci%C3%B3n.pdf).
- Kuhn, T. 1962. The structure of scientific revolutions. Chicago: Chicago University. 79 p.
- Ley Plan de la Patria 2013-2019. Gaceta Oficial Extraordinaria N° 6.118. Venezuela. 4 Dic. 2013. 21 p.
- Lovera, A. 2008. Los consejos comunales en Venezuela: ¿Democracia participativa o delegativa? (en línea). Revista Venezolana de economía y ciencias sociales. Consultado 11 Feb. 2018. Disponible en <http://www.plataformademocratica.org/Publicacoes/16378.pdf>.
- Martínez, M. 2012. Ciencia y arte en la metodología Cualitativa: Métodos hermenéuticos, métodos fenomenológicos, métodos etnográficos. México; Trillas. 93 p.
- Nocetti, M. 2011. Coloquios de Investigación Cualitativa. Subjetividades y procesos Sociales. España: Universidad Nacional de Córdoba. 11 p.
- Patton, M. 1990. Qualitative evaluation and research methods. Newbury Park: Sage. 40 p.
- Ramírez, F. y Quintero, H. 2005. El papel de los valores en el desarrollo de la identidad corporativa (en línea). Revista NEGOTIUM. Consultado 02 Oct. 2018. Disponible en <http://132.248.9.34/hevila/NegotiumRevistadecienciasgerenciales/2005-06/vol1-2/no1/3.pdf>
- Valles, M. 2000. Técnicas Cualitativas de Investigación Sociales. Reflexiones Metodológicas y Práctica profesional. Madrid: Síntesis Sociológica. 82 p.
- Vejarano, M. 2007. El investigador propulsor y el trabajo de base (en línea). Consultado 19 Jul. 2018. Disponible en Biblioteca Digital CREFAL [http://www.terceridad.net/sc3/Por\\_Unidad\\_extra/MetodoInvest/Invest\\_Participativa/IP\\_El\\_invest\\_Propulsor\\_Trab\\_base%20%285%29.pdf](http://www.terceridad.net/sc3/Por_Unidad_extra/MetodoInvest/Invest_Participativa/IP_El_invest_Propulsor_Trab_base%20%285%29.pdf).



## Extracción biotecnológica de quitina del desecho de camarón para la producción de quitosano como bioestimulante en semillas de melón

Gabriel I. Tovar<sup>1,3\*</sup>, Mildre Gómez<sup>1</sup>, Verónica Obediente<sup>1,2</sup>, Alexander Rodríguez<sup>1</sup>, Livia Soto<sup>1</sup>, Alicia Chirinos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Politécnica Territorial del Estado Falcón Alonso Gamero (UPTAG), Departamento de Química, Coro, Venezuela. <sup>2</sup>UPTAG, Departamento Académico de Ciencias Agropecuarias Coro, Venezuela. <sup>3</sup>CONICET- Universidad De Buenos Aires (UBA). Instituto de Química y Metabolismo del Fármaco (IQUIMEFA). \*Correo electrónico: gabrieltovarj@gmail.com

### RESUMEN

La quitina es el segundo biopolímero más abundante en la naturaleza después de la celulosa y puede ser obtenida por diversas técnicas. Este trabajo propone la extracción de quitina a partir de desechos agroindustriales y la producción de quitosano como bioestimulante de semillas de melón (*Cucumis melo* L.). La quitina fue aislada del exoesqueleto de camarón (*Litopenaeus schmitti*) por el proceso biotecnológico de fermentación ácido láctica (FAL) en biorreactores estacionarios, usando las bacterias endémicas del cefalotórax del camarón y los *Lactobacillus* sp. de lactosuero. La optimización de los parámetros de FAL se analizó por análisis de varianza con la metodología de superficie de respuesta, usando como variable de repuesta el porcentaje de desproteínización. La quitina fue purificada y desacetilada (NaOH45 %) para obtener quitosano, el cual se evaluó por FTIR y TGA. Se determinó la solubilidad del quitosano (>98 %), grado de desacetilación (90 %) y peso molecular (157,68 kg.mol<sup>-1</sup>). Semillas de melón se trataron con una solución de quitosano, en dos concentraciones, 0,75 y 1 % (p/v), Q1 y Q2 respectivamente, evaluando 4 tratamientos en semillas (control T0, desinfección T1, desinfección + escarificación T2 y escarificación T3) y se comparó el efecto del quitosano con un producto comercial. Los resultados de porcentaje de germinación para los tratamientos de Q1 y producto comercial fueron 100,00 y 47,21 %; el índice de germinabilidad fue de 1 día y 2,7 días, respectivamente. Los tratamientos T0 y T3 mostraron mejores resultados con el uso de suelo local como sustrato.

**Palabras clave:** biopolímero, *Cucumis melo* L., exoesqueleto, *Litopenaeus schmitti*.

## Biotechnological extraction of chitin from shrimp waste for chitosan production as biostimulant in Muskmelon seeds

### ABSTRACT

Chitin is the second most abundant biopolymer in nature after cellulose and can be obtained by various techniques. This work proposes the extraction of chitin from agroindustrial wastes and the production of chitosan as a biostimulant of Muskmelon seeds (*Cucumis melo* L.). Chitin was isolated from the shrimp exoskeleton (*Litopenaeus schmitti*) by the biotechnological process of lactic acid fermentation (FAL) in stationary bioreactors, using the endemic bacteria of the shrimp cephalothorax and *Lactobacillus* sp. of whey. The optimization of the FAL parameters was analyzed by analysis of variance with the response surface methodology, using the percentage of deproteinization as the response variable. Chitin was purified and deacetylated (NaOH45 %) to obtain chitosan, which was evaluated by FTIR and TGA. The solubility of chitosan (> 98 %), degree of deacetylation (90 %) and molecular weight (157.68 kg / mol) were determined. Muskmelon seeds were treated with a chitosan solution, in two concentrations, 0.75 and 1 % (w/v), Q1 and Q2 respectively, evaluating 4 seed treatments (control T0, disinfection T1, disinfection + scarification T2 and scarification T3) and the effect of chitosan was compared with a commercial product. The germination percentage results for the Q1 and commercial product treatments were 100.00 and 47.21 %, and the germination rate was 1 day and 2.7 days, respectively. The T0 and T3 treatments showed better results using local soil as a substrate.

**Key words:** biopolymer, *Cucumis melo* L., excoskeleton, *Litopenaeus schmitti*.

Recibido: 20/01/18      Aprobado: 06/11/18



## INTRODUCCIÓN

El camarón, un crustáceo cuyo cuerpo se divide principalmente en cabeza, tórax y cola (40 %, 20 % y 40 %, respectivamente). Es una especie de alto valor comercial, de la que se estima una producción mundial de  $5 \times 10^9$  Kg para el 2017 (Anderson y Valderrama 2013). De forma tradicional, al procesarse para la venta, se elimina la cabeza, la coraza corporal, las aletas anteriores y posteriores, desechos que representan aproximadamente un 80 % del peso vivo.

Los desechos generados por la industria camaronera no son aprovechados, aunque contienen un 30 % de minerales, casi un 40 % de proteínas y 30 % de quitina (Xu *et al.* 2008). Esta composición de los desechos representa una oportunidad de mercado y un beneficio a las comunidades de pescadores que procesan este rubro (Calderón *et al.* 2015); ya que, pueden utilizarlos para su transformación a biopolímeros, como son la quitina y el quitosano.

La quitina o  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-*N*-acetil-D-glucosamina) es un polisacárido natural de gran importancia (Figura 1). En el estado nativo, se presenta como microfibrillas cristalinas ordenadas que forman componentes estructurales en el exoesqueleto de los artrópodos o en las paredes celulares de los hongos y las levaduras. Su obtención consiste en un proceso de desproteínización y desmineralización, que tradicionalmente se realiza por tratamientos químicos que tienden a ser abrasivos y corrosivos al ambiente; por esto, se desarrollaron métodos alternativos por medio

de la biotecnología (Synowiecki y Al-Khateeb 2000). La quitina tiene más aplicaciones cuando se transforma en quitosano (por desacetilación parcial en condiciones alcalinas). El quitosano es un copolímero aleatorio con una fracción molar DA (grado de acetilación) de  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-*N*-acetil-D-glucosamina y una fracción de  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-D-glucosamina (Figura 1).

En la obtención de quitina se usa lactosuero. Este es un subproducto residual del proceso de la transformación de leche en queso, contaminante con efecto significativo cuando se desecha en los afluentes de agua (Guerra *et al.* 2013). Sin embargo, el lactosuero contiene lactosa que puede ser fermentada por bacterias ácido láctica. El resultado de esta fermentación es la producción de ácido láctico, que puede recuperarse para otros usos y así disminuir el impacto ambiental del lactosuero. La fermentación ácido láctica (FAL) es un proceso prometedor para la recuperación de quitina, debido a la producción de ácido láctico que solubiliza los minerales y activa enzimas proteolíticas que pueden desproteínizar el desecho *in situ* (Shirai *et al.* 2001). Cabe destacar que la FAL por las bacterias endémicas del *Litopenaeus schmitti* no está reportada.

La quitina y el quitosano poseen características fisicoquímicas que lo hacen un biomaterial con oportunidades emergentes de aplicación en diversas áreas, como la medicina, industria de alimentos, biotecnología, ambiente y agricultura. En particular, el quitosano se ha estudiado como un producto natural para recubrimiento de

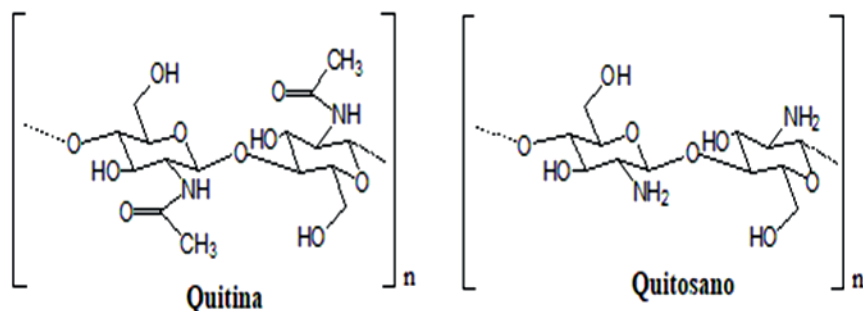


Figura 1. Estructura química de la quitina y quitosano.  
Fuente: Goodrich y Winter 2007

semillas, en la conservación de frutas y hortalizas, fungicida, crecimiento bioestimulante, elicitador e inductor de resistencia a patógenos (Shiekh *et al.* 2013, Larez *et al.* 2012, Palma-Guerrero *et al.* 2008, Burrows *et al.* 2007, Rakwal *et al.* 2002).

En la Península de Paraguaná, estado Falcón-Venezuela, uno de los cultivos agrícola de mayor importancia es el melón (*Cucumis melo* L.), se ha señalado que el uso de la tierra bajo este cultivo genera la mayor degradación del suelo en la zona, ya que donde se desarrolla la producción de este rubro se manifiestan problemas de salinización y sodificación del suelo (Mogollón *et al.* 2017). La optimización de la técnica de pretratamiento de semillas se vuelve muy importante a escala comercial en territorios afectados por el cambio climático y procesos de salinización de los suelos (Chan *et al.* 2015). El tratamiento de semillas de melón puede aumentar la velocidad, el porcentaje y la uniformidad de la germinación o la emergencia de las plántulas, principalmente en condiciones ambientales desfavorables (Nascimento 2003). En este sentido, el uso de bioestimulantes que sean de fácil acceso y de bajo costo, se convierte en un reto de investigación para el desarrollo agrícola de las zonas áridas o en proceso de desertificación.

El propósito de este trabajo fue el estudio de factores que afectan el proceso de extracción biotecnológica de quitina de los desechos del camarón. Finalmente, se obtuvo quitosano por desacetilación química de la quitina y se evaluó sus propiedades bioestimulantes en semillas de melón.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materia prima

Se utilizó lactosuero fresco, obtenido de la unidad agroalimentaria del Departamento de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Politécnica Territorial de Falcón Alonso Gamero (DACA-UPTAG), Coro, estado Falcón (Venezuela). Este se recolectó en recipientes de plástico (2 L) y almacenado a 4 °C hasta su uso (generalmente < 1 semana). Adicionalmente, se determinó el

valor de pH a temperatura ambiente y el contenido de calcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ) (COVENIN 1979, 1986).

Los desechos de camarón (*Litopenaeus schmitti*), identificados en estudios previos (Díaz *et al.* 2015), se obtuvieron durante la temporada de noviembre 2015 en una unidad artesanal procesadora de camarón adscrita al Consejo de Pescadores CONPPA-Indalecio Lugo, ubicada también en la ciudad de Coro. Los desechos se recolectaron manualmente; de acuerdo a un muestreo no probabilístico intencional, se seleccionaron únicamente los exoesqueletos frescos y de buena apariencia, que incluyeron todas las partes de la especie. El material se conservó en bolsas herméticas, a - 20 °C, hasta su uso. Estos no se sometieron a lavados ni esterilizaciones, para conservar las bacterias endémicas del camarón. Las muestras de camarón fueron caracterizadas previamente por su contenido de proteínas (AOAC, 2005), cenizas y humedad (COVENIN 1997, 1999).

### Optimización de la extracción de quitina

La extracción se realizó por el método de FAL (Marcia *et al.* 2011), por reacción bioquímica de los microorganismos endógenos del cefalotórax del camarón y los *Lactobacillus* sp. del lactosuero, sin inóculo *in vitro*. La misma se llevó a cabo en biorreactores anaeróbicos de 0,5 L con una capacidad de trabajo del 90 %, dejando 10 % para los gases generados. Las condiciones fueron a presión atmosférica, 168 h de fermentación, con temperatura controlada de 35±3 °C en un baño termostático y agitaciones periódicas.

Con el propósito de optimizar las variables del proceso de extracción se realizó un arreglo factorial multinivel (Cuadro 1), que constó de 18 tratamientos. El diseño experimental corresponde al efecto del estado de agregación de los desechos de camarón (A), así como encontrar concentraciones óptimas entre la sacarosa (B) y lactosuero (C) para la fermentación. El estado de agregación (A), fue triturado (T) y no triturado (NT), usando un triturador doméstico (Oster, Venezuela) por 15 segundos.

Cuadro 1. Matriz del diseño experimental para las fermentaciones.

| Factores          | Niveles experimentales |    |     |
|-------------------|------------------------|----|-----|
|                   | -1                     | 0  | 1   |
| A: Agregación     | T                      | -  | NT  |
| B: Sacarosa (%)   | 5                      | 10 | 15  |
| C: Lactosuero (%) | 25                     | 50 | 100 |

Se determinó el porcentaje de desproteización (% DP) del desecho de camarón en cada tratamiento (quitina cruda). Para esto se obtuvo el porcentaje de proteína (AOAC, 2005) de la quitina de acuerdo a la ecuación (1); previamente la quitina cruda se lavó con agua destilada. Con base a ese valor se obtuvo el % DP (2).

$$\%P = GxNx 0.014 xFx 100 * m \quad (1)$$

$$\%DP = \frac{\%P_i - \%P_f}{\%P_i} * 100 \quad (2)$$

Dónde:

G= Volumen de HCl para la muestra en mL  
 – Volumen de HCl en mL para el blanco sin muestra.

N= Normalidad del HCl

F= 6.25 (Valor asignado para proteínas en general)

m = Masa de la muestra en gramos.

Pi=Proteína inicial del desecho de camarón.

Pf=Proteína final, después del tratamiento.

### Seguimiento de la fermentación

Se monitoreó la fermentación continuamente por 168 h, tomando 5 mL de muestra cada 4 h durante las primeras 24 h; posteriormente, cada 24 h hasta cumplir el tiempo total de monitoreo. Las muestras se analizaron por su contenido de ácido láctico (AcLac). Este se determinó por titulación con NaOH, según la ecuación (3), y por los valores de pH tomados con un pH metro electrónico (HI 8424, Hanna Instruments, Italia).

$$\% AcLac = \frac{ml_{NaOH 0.1 N} * (0.0090 \pm 0.0005) * 100}{ml \text{ muestra}} \quad (3)$$

Finalmente, se obtuvo la velocidad promedio de producción de AcLac ( $V_{prom}$ ). Esta se determinó mediante la expresión (4), donde se define como la variación de la concentración de AcLac en función del tiempo (t).

$$V_{prom} = \frac{\Delta[AcLac]}{\Delta t} \quad (4)$$

### Purificación de quitina y obtención del quitosano

Con base a los parámetros estudiados para la extracción de quitina, se usó la combinación de factores para obtener el mayor % DP, para posteriormente purificar el material, con la intención de generar una quitina libre de impurezas. Para esto, se adicionó NaOH 0,1M (60 min) a la quitina cruda, luego se lavó con agua destilada y se colocó en HCl 0,1M (60 min); en ambos procesos se lavó con agua destilada hasta estabilizar pH cercano al neutro (pH≈7,5). Finalmente, los pigmentos se removieron con NaClO al 3 % por 30 min. Todos estos tratamientos de purificación se realizaron en relación 1:10 (p/v), con una agitación de 60 rpm y a temperatura ambiente.

El quitosano se obtuvo por método químico (Weska *et al.* 2007). La desacetilación de la quitina purificada se realizó con NaOH al 45 % en relación 1:10 (p/v), a una temperatura de 130 °C por 45 min; posteriormente se lavó con agua destilada hasta pH≈8.

### Caracterización

La quitina y quitosano obtenidos se caracterizaron mediante el contenido de proteína por el método de Kjeldahl (AOAC 2005); el contenido de ceniza colocando la muestra a 525 ± 25 °C por 5 h y el porcentaje de humedad dejando la muestra a 65± 5 °C hasta obtener un peso constante (COVENIN 1997, 1999); y el porcentaje de solubilidad de los mismos, que se determinó por gravimetría del material insoluble, disolviendo el quitosano al 1 % (p/v) en ácido acético 1 %, para posterior filtrado con papel filtro Whatman N°1 (Francisco *et al.* 2015).

Adicionalmente, se determinó el grado de desacetilación del quitosano (DA) por el método potenciométrico (Parada *et al.* 2004) y el peso

molecular viscosimétrico promedio de acuerdo a la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada (MHS) (Katime y Cesteros 2004); la MHS está dada por la expresión (5), con uso de valores  $\alpha$  y K reportados por Rinaudo *et al.* (1993), y valores experimentales de viscosidad intrínseca, tomados con un viscosímetro Cannon–Fenske (serie 100, Cannon Instrument Co, EEUU) en baño termostático ( $25 \pm 0,1$  °C) (ASTM-D446-12 2012)

$$[\eta]=K M_v^\alpha \quad (5)$$

El comportamiento de descomposición térmica del quitosano se examinó simultáneamente por calorimetría diferencial de barrido y análisis termogravimétrico con un analizador DSC-TGA (SDT Q600, TA Instruments, Inc.), a una velocidad de calentamiento de  $10$  °C  $\text{min}^{-1}$  entre los  $30$  y  $900$  °C en atmósfera de aire. Además, se realizó su determinación con un espectrofotómetro Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR; Frontier, Perkin Elmer, EEUU). Para esto, se pesó  $1$  mg de muestras de quitina y quitosano para su posterior prensado con  $60$  mg de KBr, obteniendo una pastilla que se introduce en el equipo para el análisis espectroscópico.

### Pruebas de germinación

Las soluciones bioestimulantes de quitosano se prepararon al  $0,75$  y  $1$  % (p/v) en  $100$  ml de ácido acético al  $1$  %, denominados Q1 y Q2, respectivamente. La disolución se colocó en agitación por  $1,5$  h a  $60$  °C, con un pH final de  $4 \pm 0.2$ .

Las pruebas de germinación se hicieron en semillas de melón donadas por los agricultores de la comunidad de Tacuato (estado Falcón, Venezuela). En este sentido, se determinaron las condiciones de efectividad del bioestimulante evaluando 5 factores (Cuadro 2): tipo de bioestimulante (A) (experimental y comercial), la concentración (B) ( $0,75$  y  $1$  % p/v), la desinfección de la semilla (C) (desinfectadas y no desinfectadas), igualmente con la escarificación de la semilla (D): escarificadas y no escarificadas, y por último el tipo de sustrato (E) que comprende servilletas absorbentes en capsula Petri y cultivadas en suelo procedente de la comunidad de Tacuato, estado Falcón-Venezuela en el periodo junio-julio 2016. La aplicación del bioestimulante se realizó colocando una capa de la solución sobre la superficie de cada semilla con un pincel, luego se dejó secar por  $5$  min para su posterior uso o almacenamiento.

La combinación de estos factores genera 32 experimentos, en los cuales se realizaron los cuatro tratamientos (T0, T1, T2 y T3) según Cuadro 3 para concentraciones,  $0,75$  y  $1$  % (p/v), Q1 y Q2, respectivamente, solución comercial y el control sin bioestimulantes. Se utilizaron 6 semillas por triplicado para cada experimento, utilizando 576 semillas de melón. En el diseño experimental se obtienen dos variables para evaluar la respuesta del bioestimulante; se determinó el porcentaje de germinación y la velocidad de germinación de las semillas, según Rodríguez *et al.* (2017).

Cuadro 2. Factores empleados con sus respectivos niveles para el diseño factorial multinivel replicado.

| Factor                     | Niveles del factor |      |    | Unidad |
|----------------------------|--------------------|------|----|--------|
|                            | -                  | -/+  | +  |        |
| Tipo de Bioestimulante (A) | 1                  | -    | 2  |        |
| Concentración (B)          | 0                  | 0,75 | 1  | % p/v  |
| Desinfección (C)           | No                 | -    | Si | -      |
| Escarificación (D)         | No                 | -    | Si | -      |
| Tipo de sustrato (E)       | 1                  | -    | 2  | -      |



Cuadro 3. Tratamientos a utilizar de semillas de melón.

| Tratamiento        | Descripción                            |
|--------------------|--|
| Tratamiento 0 (T0) | semillas seleccionadas (testigos)      |
| Tratamiento 1 (T1) | semillas desinfectadas                 |
| Tratamiento 2 (T2) | semillas desinfectadas + escarificadas |
| Tratamiento 3 (T3) | semillas escarificadas                 |

### Análisis de datos

Los resultados de la optimización se analizaron mediante la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR), lo cual es una colección de técnicas estadísticas y matemáticas que ha sido utilizada con éxito para el desarrollo, mejora y optimización de procesos (Myers *et al.* 2009). Esto consistió en un análisis tipo análisis de varianza para evaluar el efecto combinado de los factores seguido de una prueba de comparación de medias de Tukey ( $P < 0,05$ ). El análisis estadístico se realizó con el software estadístico Statgraphics Centurion (versión XV 2007).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Materia prima

Se realizó una caracterización previa del lactosuero y de las muestras de camarón para comparar los cambios producidos en cada etapa (Cuadro 4). Se encontró similitud con los datos reportados en otros estudios (Rao y Stevens 2005; Panesar *et al.* 2007), las diferencias obtenidas se deben a que estas características difieren según la especie de crustáceo o el origen del mismo. El valor del pH encontrado en el lactosuero indica que es un suero ácido. Estudios realizados señalan que la mayoría de las bacterias ácido lácticas tienen alta tolerancia a pH por debajo de 5, lo que da la ventaja competitiva sobre otras bacterias que pudieran causar pudrición del fermento (Hofvendahl y Hahn–Hägerdal 2000).

Cuadro 4. Caracterización de la materia prima camarón y lactosuero.

| Análisis     | Experimental | Reportado   |
|--------------|--------------|-------------|
| Camarón      |              |             |
| Proteína (%) | 29,4         | 28,6±1,6*   |
| Ceniza (%)   | 18,47        | 19,1± 1,2*  |
| Humedad (%)  | 65,50        | 83,8 ± 2,1* |
| Lactosuero   |              |             |
| pH           | 5,21         | 5,35*       |
| Calcio (g/L) | 6,5          | 1,2-1,6**   |

\*Rao y Stevens 2005; \*\*Panesar *et al.* 2007

### Optimización de la extracción de quitina

En general, la eficiencia de la extracción de quitina, por procesos biotecnológicos de fermentación, está influenciada por la temperatura, el tiempo, la fuente de carbono y el inóculo utilizado (Arbia *et al.* 2013). Como resultado de la fermentación se obtiene una fracción sólida que contiene la quitina cruda y una fracción líquida (subproducto de fermentación) rica en proteína natural de camarón, minerales y pigmentos (Rao y Stevens 2005).

El % DP es uno de los parámetros más influenciado por las bacterias y enzimas en el proceso de FAL, por lo cual se consideró este parámetro como variable respuesta. Diversos trabajos de extracción biotecnología de quitina han usado inóculos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Pediococcus acidolactici*, *Lactobacillus plantarum*, *L. helveticus*, *L. casei*, entre otras (Sedaghat *et al.* 2016, Bajaj *et al.* 2015, Le y Nguyen 2014, Arbia *et al.* 2013). Pero muy poco se conoce el efecto de la FAL con bacterias endémicas de residuos del camarón, la cual ocurre presumiblemente debido a la presencia de microflora intestinal en estos residuos (Rao *et al.* 2000).

Dicho parámetro se determinó para las 18 combinaciones de los factores en sus diferentes



Cuadro 5. Diseño experimental de las fermentaciones.

| Tratamiento | A  | B   | C  | % DP media |
|-------------|----|-----|----|------------|
| 1           | NT | 25  | 15 | 64,28      |
| 2           | NT | 25  | 5  | 74,70      |
| 3           | NT | 25  | 10 | 69,04      |
| 4           | NT | 50  | 15 | 55,35      |
| 5           | NT | 50  | 5  | 52,38      |
| 6           | NT | 50  | 10 | 57,14      |
| 7           | NT | 100 | 15 | 95,83      |
| 8           | NT | 100 | 5  | 68,45      |
| 9           | NT | 100 | 10 | 87,50      |
| 10          | T  | 25  | 10 | 41,69      |
| 11          | T  | 25  | 5  | 37,52      |
| 12          | T  | 25  | 15 | 27,41      |
| 13          | T  | 50  | 5  | 43,48      |
| 14          | T  | 50  | 15 | 50,62      |
| 15          | T  | 50  | 10 | 32,76      |
| 16          | T  | 100 | 5  | 42,29      |
| 17          | T  | 100 | 15 | 28,00      |
| 18          | T  | 100 | 10 | 55,38      |

T: Triturado; NT: No Triturado. A: tipo de bioestimulante  
B: Desinfección C: Concentración

niveles, como se presenta en la Cuadro 5. Se obtuvo la mejor desproteinización a máxima concentración de los factores, recuperando quitina con un 95,83 % DP para el tratamiento 7. Este tratamiento le aporta a las bacterias de fermentación una mayor cantidad de fuente de carbón (15 mg.ml<sup>-1</sup>), por tanto el crecimiento bacteriano es mayor y la fermentación es más efectiva.

Una vez obtenidos los datos de las combinaciones experimentales se procede al análisis estadístico del diseño correspondiente. El modelo de regresión arrojó un coeficiente (R<sup>2</sup>) de 0,7855 (78,55 %) lo cual indica una buena respuesta al modelo no lineal con un error residual bajo de 12,31 %. La expresión de la ecuación del

modelo ajustado (6) permite conocer los valores óptimos de las variables significativas.

$$\% DP = 61,6055 - 3,35813xA - 0,787698xB + 2,01389xC - 0,0890023xAxB -$$

$$0,62004xAxC + 0,00584656xB^2 + 0,0196429xBxC - 155754xC^2 \quad (6)$$

Donde; A= Estado de agregación; B=Lactosuero y C=Sacarosa.

La representación gráfica de la interacción mutua entre la concentración de lactosuero, sacarosa y estado de agregación para la desproteinización se muestra en la Figura 2. Este diagrama de MSR muestra los efectos globales de las interacciones generadas a partir de

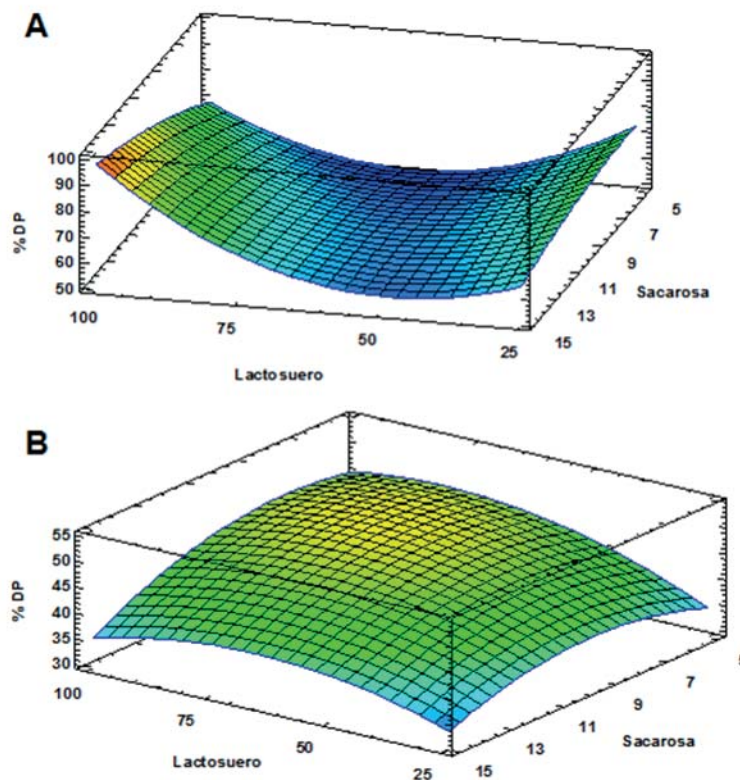


Figura 2. Superficie de respuesta ajustada al diseño de experimento óptimo A) No Triturado. B) Triturado.

la representación tridimensional de la ecuación polinómica del modelo ajustado (6) obtenido a partir de los datos experimentales.

La Figura de superficie de la Figura 2A se refiere a los desechos del camarón no triturado, donde se puede observar que una alta concentración de lactosuero y de sacarosa condujeron a altos rendimientos del % DP. De forma contraria, en la Figura 2B al estar los desechos triturados, el alto nivel de los factores condujo a valores bajos en % DP, obteniendo mejor rendimiento con valores intermedios de lactosuero-sacarosa.

Resultados similares obtuvo, donde mayores % DP se lograron con el material no triturado, posiblemente al no estar triturado se conserva las condiciones anaeróbicas de las bacterias lácticas requeridas en el proceso de fermentación.

Las ventajas de este proceso ante el método químico es la posibilidad de disminuir las

concentraciones de los reactivos químicos y que el líquido hidrolizado, subproducto de la fermentación, contiene una gran cantidad de nutrientes, tales como astaxantina (Armenta-López *et al.* 2002), retinol,  $\alpha$ -tocoferol y colesterol (López-Cervantes *et al.* 2006), aprovechables para la formulación de alimentación animal (Plascencia-Jatomea *et al.* 2002) y otros usos que le dan valor agregado a la cadena de producción (Bueno-Solano *et al.* 2009).

### Seguimiento de la fermentación

El V prom para el suero concentrado presenta un aumento espontáneo en la reacción el día 2 (Figura3), donde la máxima velocidad se obtuvo con valores de sacarosa máximo (15%). Esto estaría relacionado al máximo % DP que se mencionó anteriormente, ya que hay una mayor actividad de *Lactobacillus* sp. productores de proteasas que causan la hidrólisis de proteínas y su reducción a AcLac (Jung *et al.* 2006),

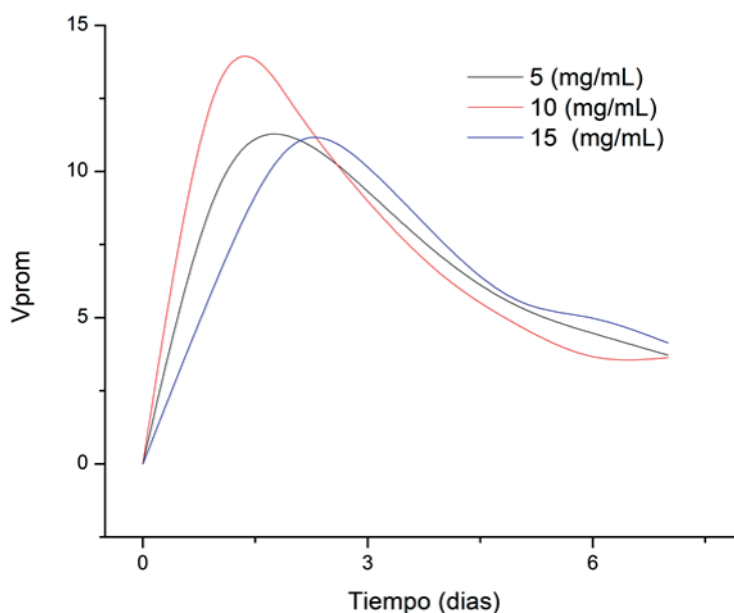


Figura 3. Velocidad de producción Ácido-Láctico en sustrato No Triturado (NT) y lactosuero 100% p/v.

disolviendo a su vez los minerales de calcio del camarón por efecto del AcLac que forma lactato de calcio (Rao *et al.* 2000).

Para el tratamiento 7 se obtuvo una concentración de Ac Lac de 10 %, y con un descenso del pH de 4,73 al iniciar la fermentación, hasta 3,25 a las 168 h (Figura 4). La disminución del pH en el medio confiere a las bacterias ácido lácticas una gran ventaja competitiva, donde se inhibe la posible presencia de algunas bacterias gram negativa y otros microorganismos de putrefacción (Hofvendahl y Hahn-Hägerdal 2000). Esto se debe a la producción de sustancias antimicrobianas de los *Lactobacillus* sp. y del mismo ácido láctico (Savadogo *et al.* 2006).

### Quitina y quitosano

La caracterización físico-química de la quitina y quitosano se muestran en el Cuadro 6. Se observa un contenido de ceniza mayor a lo reportado en otros estudios. Aunque el exoesqueleto se desmineralice en el proceso de fermentación se evidencia que no todos los minerales son extraídos por el método FAL. Los valores de solubilidad obtenido para quitosano fueron de 98 %. Además, la cantidad de proteína en el quitosano

fue casi nula, puesto que el uso del NaOH concentrado (40-50%) para la desacetilación elimina los posibles residuos del contenido proteico de la quitina. Respecto al grado de desacetilación se obtuvo un 90,16 %, similar a otros estudios con quitina obtenida por el método de FAL (Rao y Stevens 2005).

En este sentido, el peso molecular del quitosano obtenido fue de 157,68 Kg.mol<sup>-1</sup>, muy similar a lo reportado en la literatura (Rao y Stevens 2005), el quitosano obtenido de especies como cangrejo reportan pesos moleculares mayores, entre los 500 a 800 Kg.mol<sup>-1</sup> (Colina *et al.* 2014, No *et al.* 2003). Es importante señalar que las propiedades de biopolímero difieren dependiendo de las especies de crustáceos y métodos de preparación. Además, se debe considerar que los métodos biotecnológicos de obtención de quitina pueden disminuir la depolimerización del material, al disminuir el uso de reactivos químicos sería posible la conservación del peso molecular y producir biopolímeros con características diferentes que a los obtenidos por vía química (Pacheco *et al.* 2011).

La estabilidad térmica de quitosano se determinó mediante análisis TGA-DSC en atmósfera de

Cuadro 6. Caracterización fisicoquímica de la quitina y el quitosano que se obtuvo.

| Análisis       | Quitina |        | Quitosano |       |
|----------------|---------|--------|-----------|-------|
|                | Exp.    | Rep.   | Exp.      | Rep.  |
| Proteína       | 1,2%    | <1,05% | <1%       | <0,95 |
| Ceniza         | 7,5%    | 0,08   | <1%       | 0,07  |
| Solubilidad    | -       | -      | >98       | >98   |
| Desacetilación | -       | -      | 90,16     | 86,10 |

Exp: Experimental. Rep: Reportado (Rao y Stevens 2005).

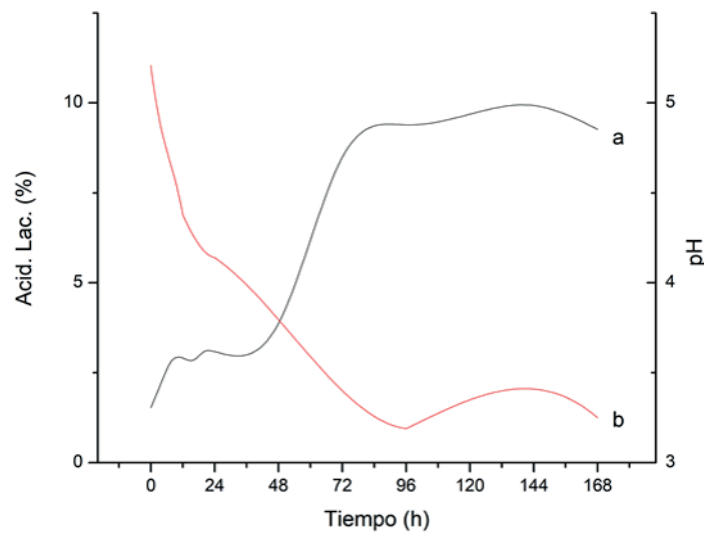


Figura 4. Comportamiento del ácido láctico (a) y pH (b) para el tratamiento 7 (A:NT; B: 100; C:15).

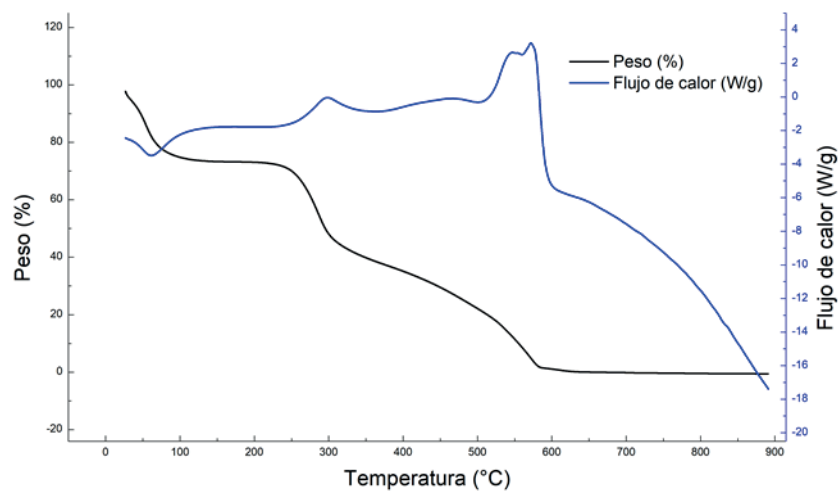


Figura 5. Curvas de análisis térmico del quitosano experimental.

aire, como se muestra en la Figura 5. El cambio del TGA es a los 54 °C, representando una pérdida de peso de 14 % que es correspondiente a la evaporación de agua absorbida físicamente o conectado por enlace débil de hidrógeno para las cadenas de quitosano. La segunda transición del TGA se torna a los 286 °C, este corresponde a la degradación térmica de quitosano, que se acompaña de una despolimerización de las cadenas de quitosano, la descomposición de anillos de piranosa a través de la deshidratación, la desaminación y finalmente la reacción de apertura de anillo (Zawadzki y Kaczmarek 2010). Finalmente, a los 570 °C sugiere una descomposición oxidativa de los residuos, como consecuencia del efecto de la atmosfera de oxígeno en la que se realizó el análisis (Peniche-Covas *et al.* 1993). Un residuo final de 1,44 % indica la presencia de fase inorgánica en el quitosano experimental.

La quitina y el quitosano se caracterizaron mediante FTIR (Figura 6), para la quitina se observan las señales típicas de vibración –OH a 3.448  $\text{cm}^{-1}$  y –NH a 3.267 $\text{cm}^{-1}$ , se observan las bandas de la amida I a 1.660 y 1.625  $\text{cm}^{-1}$  y amida II

a 1.559, propias de la quitina (Goodrich y Winter 2007). Para el quitosano se denota la ausencia de la banda amidas secundarias, evidenciándose la aparición de la banda del grupo amida primaria del quitosano a 1.592 $\text{cm}^{-1}$  debido al proceso de desacetilación (Briceño *et al.* 2017).

### Pruebas de germinación

El porcentaje de germinación aumentó en relación al control cuando se aplicó el bioestimulante de quitosano (Cuadro 7). Esto es un efecto que puede estar determinado por la estimulación de algunas enzimas en la semilla que facilitan su metabolismo secundario inicial (Rodríguez *et al.* 2004). La aplicación en semillas de arroz estimula el crecimiento de la planta bajo estrés salino, aumentando la actividad de catalasas, peroxidasas y la biomasa del cultivo (Martínez-González *et al.* 2015). Sin embargo, el uso de quitosano puede disminuir la emergencia de la semilla cuando este es gelificado en NaOH (Peña-Datoli *et al.* 2016).

El efecto de la germinación se ve influenciado por el tipo de bioestimulante utilizado y la desinfección de semillas. Se observan bajos %

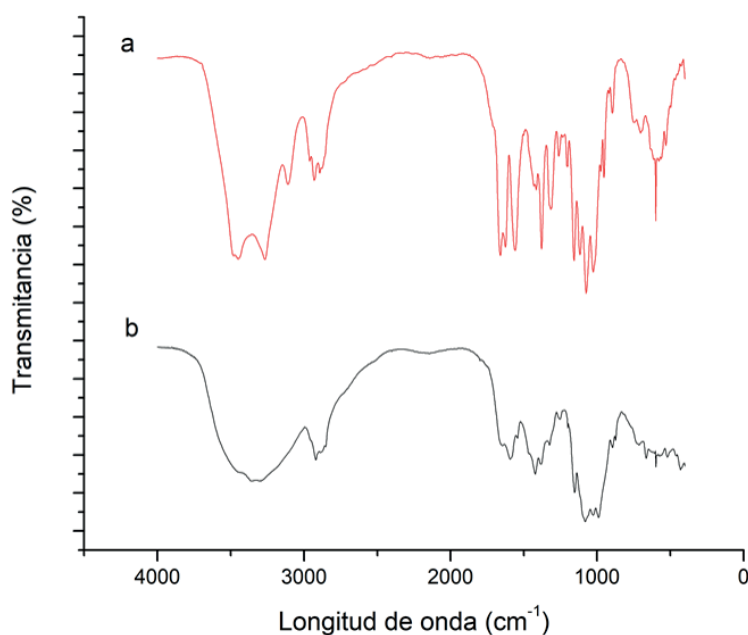


Figura 6. Espectro infrarrojo de la quitina (a) y quitosano (b).



Cuadro 7. Efecto del quitosano sobre la germinación de semillas de melón en diferentes condiciones.

| Tratamiento | <i>In vitro</i> |       | suelo         |       |     |
|-------------|-----------------|-------|---------------|-------|-----|
|             | % Germinación   | IG    | % Germinación | IG    |     |
| Control     | T0              | 33,33 | 1             | 88,88 | 3   |
|             | T1              | 22,22 | 2             | 77,77 | 3   |
|             | T2              | 22,22 | 1,6           | 88,88 | 2,6 |
|             | T3              | 33,33 | 2             | 50    | 3,3 |
| Comercial   | T0              | 55,55 | 3,3           | 66,66 | 3,6 |
|             | T1              | 11,1  | 2             | 66,66 | 3,6 |
|             | T2              | 27,77 | 3,3           | 44,4  | 3,6 |
|             | T3              | 44,44 | 2,6           | 61,11 | 3   |
| Q1          | T0              | 100   | 1,3           | 100   | 1   |
|             | T1              | 66,6  | 2             | 88,88 | 2   |
|             | T2              | 50    | 2             | 88,88 | 2   |
|             | T3              | 100   | 1,6           | 100   | 1,3 |
| Q2          | T0              | 77,77 | 2,3           | 100   | 2   |
|             | T1              | 66,66 | 2,6           | 94,44 | 2,6 |
|             | T2              | 38,88 | 2,3           | 100   | 2,6 |
|             | T3              | 88,88 | 2             | 100   | 2,3 |

IG: Índice de Germinación; T0: Semillas seleccionadas (testigo); T1: semillas desinfectadas; T2: semillas desinfectadas + escarificadas; T3: semillas escarificadas; Q1: solución de quitosano al 0,75 %; Q2: solución de quitosano al 1 %.

germinación al realizar desinfección de las semillas con  $\text{NaClO}_4$ . Además, estudios anteriores han demostrado la eficiencia antifúngica y antibacteriana del quitosano, en tanto la desinfección química de la semilla puede ser sustituida por la aplicación del quitosano (Li *et al.* 2009).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre Q1 y Q2 ( $P > 0,05$ ); sin embargo, si hay diferencias cuando se germina directamente en el suelo y cuando se hace el germinado *in vitro* ( $P \leq 0,05$ ). En general, se observó un alto % de germinación en el suelo y con la aplicación del bioestimulante de quitosano formulado. El quitosano en el suelo puede estimular la actividad de las quitinasas (Algam

*et al.* 2010) y estas a su vez la de otras enzimas que mejoran la interacción de las raíces de la planta con la micorriza (Pozo *et al.* 1998). Incluso, el quitosano desplaza la abundancia de agentes de control biológico residentes e inoculados en la rizosfera para suprimir agentes patógenos del cultivo (Mwaheb *et al.* 2017). En este sentido, se observa que al utilizar el bioestimulante comercial la germinación disminuye significativamente respecto a Q1 y Q2 ( $P \leq 0,05$ ).

Algunas formulaciones que incluyen quitosano con diferentes pesos moleculares y grosor de recubrimiento (número de capas de revestimiento) aumentaron en todos los casos el crecimiento de plantas de alcachofa y disminuyeron la

actividad fúngica (Ziani *et al.* 2010). Otros autores (Lárez *et al.* 2012), también reportan efectos de bioestimulación con la aplicación de capas de quitosano en semillas de *Cucurbita pepo*. En este trabajo se demostró la eficiencia de la aplicación de quitosano como bioestimulante para semillas de melón, sustituyendo el uso de pretratamientos químicos y mecánicos en la semilla, tales como la desinfección y la escarificación, lo que aporta un beneficio en la rentabilidad agrícola del cultivo.

### CONCLUSIONES

La extracción de quitina por fermentación ácido láctica se optimizó sin triturar los desechos del camarón y con una concentración alta de sacarosa (15 %) y lactosuero (100 %), obteniendo hasta un 95 % DP en la recuperación de quitina. Asimismo, se reporta la eficiencia de las bacterias endémicas, del cefalotórax del *L. schmitti* y los *Lactobacillus* sp. del lactosuero, en la desproteinización y extracción de quitina de los desechos de camarón.

El quitosano obtenido por desacetilación química tiene características acordes a lo reportados en otros trabajos. El empleo del quitosano experimental en el tratamiento de semillas de melón fue mejor que el tratamiento control ya que mejoró la velocidad de germinación.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo del Dr. Alexander Guarenas por sus enseñanzas de quimiometría y al Departamento de Química de la Universidad Politécnica Territorial Alonso Gamero (UPTAG) por el financiamiento de este proyecto. Igualmente, al Laboratorio de Polímeros (ULA) por la colaboración con el FTIR y al Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) en los TGA-DSC. Agradecemos a nuestro compañero Pedro Vera por su apoyo técnico.

### LITERATURA CITADA

Algam, S; Xie, G; Li, B; Yu, S; Su, T; Larsen, J. 2010. Effects of *Paenibacillus* strains and

chitosan on plant growth promotion and control of Ralstonia wilt in tomato. Journal of Plant Pathology:593-600.

Anderson, JL; Valderrama, D. 2013. Shrimp Production Review. Alliance, GA (ed.). p. 43.

AOAC. (2005). Official methods of analysis of AOAC International. s.l., AOAC International.

Arbia, W; Adour, L; Amrane, A; Lounici, H. 2013. Optimization of medium composition for enhanced chitin extraction from *Parapenaeus longirostris* by *Lactobacillus helveticus* using response surface methodology. Food Hydrocolloids 31(2):392-403.

Armenta-López, R; Guerrero, I; Huerta, S. 2002. Astaxanthin extraction from shrimp waste by lactic fermentation and enzymatic hydrolysis of the caroteno protein complex. Journal of food Science 67(3):1002-1006.

ASTM-D446-12. 2012. Standard Specifications and operating Instructions for glass Capillary Kinematic Viscometers. ASTM International, WC (ed.). (D446-93). DOI: <https://doi.org/10.1520/D0446-12>.

Bajaj, M; Freiberg, A; Winter, J; Xu, Y; Gallert, C. 2015. Pilot-scale chitin extraction from shrimp shell waste by deproteination and decalcification with bacterial enrichment cultures. Applied microbiology and biotechnology 99(22):9835-9846.

Briceño, S; Suarez, J; Gonzalez, G. 2017. Solvothermal synthesis of cobalt ferrite hollow spheres with chitosan. Materials Science and Engineering: C 78:842-846.

Bueno-Solano, C; López-Cervantes, J; Campas-Baypoli, O; Lauterio-García, R; Adan-Bante, N; Sánchez-Machado, D. 2009. Chemical and biological characteristics of protein hydrolysates from fermented shrimp by-products. Food chemistry 112(3):671-675.

Calderón, CS; Paz, RJG; Baudrit, JRV; Ruiz-Bravo, RM. 2015. Estrategia para el desarrollo sostenible del sector social costarricense de escasos recursos económicos mediante

- la alta tecnología (en línea). Revista Digital Universitaria 16(9). Disponible en <http://www.revista.unam.mx/vol.16/num9/art71/>.
- Chang, I; Prasadhi, AK; Im, J; Shin, HD; Cho, GC. 2015. Soil treatment using microbial biopolymers for anti-desertification purposes. *Geoderma*, 253, 39-47.
- Colina, M; Ayala, A; Rincón, D; Molina, J; Medina, J; Yncierte, R; Vargas, J; Montilla, B. 2014. Evaluación de los procesos para la obtención química de quitina y quitosano a partir de desechos de cangrejos escala piloto e industrial. *Revista Iberoamericana de Polímeros* 15(1):21-43.
- COVENIN. 1979. Determinación del pH (Acidez lónica). Alimentos Norma N° 1315:79.
- COVENIN 1986. Determinación de dureza total y calcio. Método volumétrico. Determinación de magnesio por cálculo. Agua Norma N° COVENIN 2408 – 86:10.
- COVENIN 1997. Determinación de humedad. Alimentos Norma N° COVENIN 1120-97.
- COVENIN 1999. Determinación de Cenizas. Alimentos Norma N° COVENIN 1220-99.
- Díaz Lugo, ÁA; Álvarez Castillo, RA; Méndez Martínez, JA; González Rodríguez, LV; Chocrón Castellano, MM; Guanipa Maldonado, MV. 2015. Análisis de la comunidad de peces asociada a la pesca artesanal de camarón blanco *Litopenaeus schmitti*, en el Golfo de Venezuela. *Zootecnia Tropical* 33(1):7-22.
- Francisco, FC; Simora, RMC; Nuñal, SN. 2015. Deproteinación and demineralization of shrimp waste using lactic acid bacteria for the production of crude chitin and chitosan. *AACL Bioflux* 8(1):107-115.
- Goodrich, JD; Winter, WT. 2007.  $\alpha$ -Chitin nanocrystals prepared from shrimp shells and their specific surface area measurement. *Biomacromolecules* 8(1):252-257.
- Guerra, ÁVA; Castro, LMM; Tovar, ALQ. 2013. Aprovechamiento del lactosuero como fuente de energía nutricional para minimizar el problema de contaminación ambiental. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* 4(2):55-65.
- Hofvendahl, K; Hahn-Hägerdal, B. 2000. Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources 1. Enzyme and microbial technology 26(2):87-107.
- Jung, W; Jo, G; Kuk, J; Kim, K; Park, R. 2006. Extraction of chitin from red crab shell waste by cofermentation with *Lactobacillus paracasei* sub sp. tolerans KCTC-3074 and *Serratia marcescens* FS-3. *Applied microbiology and biotechnology* 71(2):234-237.
- Katime, I; Cesteros, C. 2004. Química Física Macromolecular II. Servicio Editorial UPV/EHU. (España), 350-405.
- Larez, C; Chirinos, A; Tacoronte, M; Mora, A. 2012. Chitosan oligomers as bio-stimulants to zucchini (*Cucurbita pepo*) seed germination. *Agriculture* 58(3):113-119.
- Le, TH; Nguyen, TH. 2014. Biotechnological process of chitin recovery from shrimp waste using *Lactobacillus plantarum* NCDN4. *Journal of Vietnamese Environment* 6(3):251-255.
- Li, Y-C; Sun, X-J; Yang, B; Ge, Y-H; Yi, W. 2009. Antifungal activity of chitosan on *Fusarium sulphureum* in relation to dry rot of potato tuber. *Agricultural Sciences in China* 8(5):597-604.
- Lopez-Cervantes, J; Sánchez-Machado, D; Rios-Vazquez, N. 2006. High-performance liquid chromatography method for the simultaneous quantification of retinol,  $\alpha$ -tocopherol, and cholesterol in shrimp waste hydrolysate. *Journal of Chromatography A* 1105(1):135-139.
- Marcia, E; Malespín, J; Sánchez, M; Benavente, M. 2011. Estudio de la fermentación láctica para la extracción de quitina a partir de desechos de crustáceos. *Nexo Revista Científica* 24(1):33-42.

- Martínez González, L; Reyes Guerrero, Y; Falcón Rodríguez, A; Núñez Vázquez, M. 2015. Efecto del tratamiento a las semillas con quitosano en el crecimiento de plántulas de arroz (*Oryza sativa* L.) cultivar INCA LP-5 en medio salino. *Cultivos Tropicales* 36:143-150.
- Mogollón, JP; Rivas, W; Rivas, JG; Martínez, A. 2017. Procesos de degradación de suelos asociados a la desertificación en la península de Paraguaná, Venezuela. *Ágora de Heterodoxias*, 3(2), 94-110.
- Mwaheb, MA; Hussain, M; Tian, J; Zhang, X; Hamid, MI; El-Kassim, NA; Hassan, GM; Xiang, M; Liu, X. 2017. Synergetic suppression of soybean cyst nematodes by chitosan and *Hirsutella minnesotensis* via the assembly of the soybean rhizosphere microbial communities. *Biological control* 115:85-94.
- Myers, RH; Montgomery, DC; Anderson-Cook., CM. 2009. *Response Surface Methodology: Process and Product Optimization using Designed Experiments*. 3rd ed. Wiley (ed.). New York, 284-286
- Nascimento, WM. 2003. Muskmelon seed germination and seedling development in response to seed priming. *Scientia Agricola*, 60(1), 71-75.
- No, HK; Lee, SH; Park, NY; Meyers, SP. 2003. Comparison of physicochemical, binding, and antibacterial properties of chitosans prepared without and with deproteinization process. *Journal of Agricultural and food Chemistry* 51(26):7659-7663.
- Pacheco, N; Garnica-Gonzalez, M; Gimeno, M; Bárzana, E; Trombotto, S; David, L; Shirai, K. 2011. Structural characterization of chitin and chitosan obtained by biological and chemical methods. *Biomacromolecules* 12(9):3285-3290.
- Panesar, PS; Kennedy, JF; Gandhi, DN; Bunko, K. 2007. Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food Chemistry* 105(1):1-14.
- Parada, LG; Amashta, IAK; Crespín, G; Miranda, R. 2004. Caracterización de quitosano por viscosimetría capilar y valoración potenciométrica. *Revista iberoamericana de polímeros* 5(1):1-16.
- Peniche-Covas, C; Argüelles-Monal, W; San Román, J. 1993. A kinetic study of the thermal degradation of chitosan and a mercaptan derivative of chitosan. *Polymer Degradation and Stability* 39(1):21-28.
- Peña-Datoli, M; Hidalgo-Moreno, CMI; González-Hernández, VA; Alcántar-González, EG; Etchevers-Barra, JD. 2016. Recubrimiento de semillas de maíz (*Zea mays* L.) con quitosano y alginato de sodio y su efecto en el desarrollo radical. *Agrociencia* 50:1091-1106.
- Plascencia-Jatomea, M; Olvera-Novoa, MA; Arredondo-Figueroa, JL; Hall, GM; Shirai, K. 2002. Feasibility of fishmeal replacement by shrimp head silage protein hydrolysate in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L) diets. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82(7):753-759.
- Pozo, M; Azcón-Aguilar, C; Dumas-Gaudot, E; Barea, J. 1998. Chitinase and chitinase activities in tomato roots during interactions with arbuscular mycorrhizal fungi or *Phytophthora parasitica*. *Journal of Experimental Botany* 49(327):1729-1739.
- Rao, M; Munoz, J; Stevens, W. 2000. Critical factors in chitin production by fermentation of shrimp biowaste. *Applied Microbiology and Biotechnology* 54(6):808-813.
- Rao, MS; Stevens, WF. 2005. Chitin production by *Lactobacillus* fermentation of shrimp biowaste in a drum reactor and its chemical conversion to chitosan. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 80(9):1080-1087.
- Rinaudo, M; Milas, M; Le Dung, P. 1993. Characterization of chitosan. Influence of ionic strength and degree of acetylation on chain expansion. *International Journal of Biological Macromolecules* 15(5):281-285.

- Rodríguez, AT; Ramírez, M; Falcón, A; Guridi, F; Cristo, E. 2004. Estimulación de algunas enzimas relacionadas con la defensa en plantas de arroz (*Oryza sativa*, L.) obtenidas de semillas tratadas con quitosana. *Cultivos tropicales* 25(3):111-115.
- Rodríguez Beraud, M; Tampe Pérez, J; Hormazábal Vásquez, N; Araneda Durán, X; Tighe Neira, R; Cárcamo-Fincheira, P. 2017. Efecto de la escarificación y estratificación sobre la germinación in vitro de *Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz. *Gayana. Botánica* 74(2):282-287.
- Savadogo, A; Ouattara, AC; Bassole, HI; Traore, SA. 2006. Bacteriocins and lactic acid bacteria-a minireview. *African journal of biotechnology* 5(9):678-683.
- Sedaghat, F; Yousefzadi, M; Toiserkani, H; Najafipour, S. 2016. Chitin from *Penaeus merguensis* via microbial fermentation processing and antioxidant activity. *International journal of biological macromolecules* 82:279-283.
- Shirai, K; Guerrero, I; Huerta, S; Saucedo, G; Castillo, A; Gonzalez, RO; Hall, GM. 2001. Effect of initial glucose concentration and inoculation level of lactic acid bacteria in shrimp waste ensilation. *Enzyme and Microbial Technology* 28(4):446-452.
- Synowiecki, J; Al-Khateeb, NAAQ. 2000. The recovery of protein hydrolysate during enzymatic isolation of chitin from shrimp Crangon crangon processing discards. *Food chemistry* 68(2):147-152.
- Weska, R; Moura, J; Batista, L; Rizzi, J; Pinto, L. 2007. Optimization of deacetylation in the production of chitosan from shrimp wastes: Use of response surface methodology. *Journal of Food Engineering* 80(3):749-753.
- Xu, Y; Gallert, C; Winter, J. 2008. Chitin purification from shrimp wastes by microbial deproteination and decalcification. *Applied Microbiology and Biotechnology* 79(4):687-697.
- Zawadzki, J; Kaczmarek, H. 2010. Thermal treatment of chitosan in various conditions. *Carbohydrate Polymers* 80(2):394-400.
- Ziani, K; Ursúa, B; Maté, JI. 2010. Application of bioactive coatings based on chitosan for artichoke seed protection. *Crop Protection* 29(8):853-859.



## Nota técnica

# Evaluación de sustratos sobre la tasa de crecimiento radial de cultivos duales de *Trichoderma harzianum* Rifai y *Rhizoctonia solani* Kühn

Jesús Acosta Mata<sup>1</sup>, Maria Claudia Sánchez–Cuevas<sup>1\*</sup>, Ramón Silva–Acuña<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Oriente, Núcleo Monagas, Escuela de Ingeniería Agronómica, Maturín, Venezuela. <sup>2</sup>Postgrado de Agricultura Tropical, Clínica Universitaria de Diagnóstico Agrícola (CUDA), Maturín. \*Correo electrónico: mcsanchez@udo.edu.ve

## RESUMEN

*Rhizoctonia solani* Kühn es un patógeno del suelo que causa enfermedades, que afectan tanto partes aéreas como subterráneas de plantas, en un amplio rango de hospedantes. La eficacia de *Trichoderma* para controlar enfermedades causadas por *R. solani* se demuestra, tanto en condiciones controladas como de campo. El objetivo de la presente investigación fue evaluar la acción antagónica de *Trichoderma harzianum* sobre aislamientos de *R. solani*, en cultivos duales *in vitro*; y, determinar el efecto de diferentes sustratos sobre la tasa de crecimiento radial de las colonias de ambos hongos. El experimento se realizó en condiciones de laboratorio. Se utilizaron cápsulas de Petri con medios de cultivos preparados con agar-papa-dextrosa, agar-zanahoria-dextrosa, agar-remolacha-dextrosa y agar- auyama-dextrosa. En estas se colocaron simultáneamente y, en extremos opuestos de las cápsulas, discos de 1cm de diámetro con micelio de ambos hongos, criados en PDA. Al cumplirse 24 horas de la siembra de los hongos y por intervalos de 12 horas, hasta completar 96 horas, se midió el crecimiento radial de las colonias. La tasa de crecimiento radial de *R. solani* fue mayor que la de *T. harzianum* en el medio de cultivo auyama-dextrosa-agar y entre los aislamientos; indistintos del sustrato, la mayor tasa de crecimiento le correspondió a *R. solani*. En todos los sustratos, se verificó óptimo biocontrol de *Rhizoctonia* por parte de *Trichoderma*. La confrontación micelial siempre ocurrió en el hemisferio de la placa de Petri perteneciente a *T. harzianum*, comportamiento relacionado a la mayor velocidad de crecimiento de *R. solani*.

**Palabras clave:** biocontrol, *in vitro*, micelio, patógeno.

## Evaluation of substrates on the rate of radial growth of dual cultures of *Trichoderma harzianum* Rifai and *Rhizoctonia solani* Kühn

### ABSTRACT

*Rhizoctonia solani* Kühn is a soil pathogen that causes diseases, which affect both aerial and underground parts of plants, in a wide range of hosts. The effectiveness of *Trichoderma* in controlling diseases caused by *R. solani* is demonstrated, both under controlled and field conditions. The objective of the present investigation was to evaluate the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* on isolates of *R. solani*, in dual *in vitro* cultures; and, determine the effect of different substrates on the radial growth rate of the colonies of both fungi. Under laboratory conditions, using Petri dishes with culture media prepared with agar-potato-dextrose, carrot-dextrose agar, beet-beet-dextrose and agar-ayama-dextrose, they were placed simultaneously and at opposite ends of the capsules, 1cm diameter discs with mycelium of both fungi, raised in PDA. At the end of 24 hours after planting the fungi and at intervals of 12 hours to complete 96 hours, the radial growth of the colonies was measured. The radial growth rate of *R. solani* was higher than that of *T. harzianum* in the auyama-dextrose-agar culture medium and among the isolates; Indistinct of the substrate, the highest growth rate corresponded to *R. solani*. In all substrates, optimal biocontrol of *Rhizoctonia* by *Trichoderma* was verified. The mycelial confrontation always occurred in the hemisphere of the Petri dish belonging to *T. harzianum*, behavior related to the higher growth rate of *R. solani*.

**Key words:** biocontrol, *in vitro*, mycelium, pathogen.

Recibido: 24/10/17 Aprobado: 06/11/18

## INTRODUCCIÓN

*Rhizoctonia solani* Kühn es un patógeno del suelo que causa enfermedades en un amplio rango de hospedantes de cultivos agrícolas, hortícolas y florícolas (Van Den Boogert 1999); estas enfermedades afectan tanto partes aéreas como subterráneas de plantas. El patógeno sobrevive por largos periodos en ausencia del hospedero, mediante esclerocios o hifas de paredes gruesas. Su condición de sobrevivencia lo convierte en buen competidor saprofito, que puede colonizar muchos sustratos; tolerar cambios amplios de condición ambiental, tanto para su supervivencia como para su acción patogénica sobre tejidos juveniles o en estrés fisiológico (Tovar 2008).

Entre las enfermedades más comunes causadas por este fitopatógeno es el damping-off o salcocho de los semilleros, que induce la caída y muerte de plántulas como consecuencia del estrangulamiento y necrosis del tallo a nivel del cuello (Cedeño *et al.* 2001). Es notable la actividad micoparasítica contra *Rhizoctonia* spp., de aislamientos de *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. longibrachiatum*, *T. koningii*, *T. pseudokoningii*, *T. viridae*, *T. vires* y *Trichoderma* spp. (Howell *et al.* 2000, Lewis y Papavizas 1991).

Mathivanan *et al.* (2000) señalan que la eficacia de *Trichoderma* para controlar enfermedades causadas por *R. solani* se demuestra, tanto en condiciones controladas como de campo. En cultivos de algodón, lechuga, berenjena y girasol, los autores, lograron reducciones significativas del patógeno. *Trichoderma* es el género fúngico más estudiado como agente de control de enfermedades en plantas (Tondje *et al.* 2007).

Tovar (2008) indica que la utilización de especies de *Trichoderma* para el control de *R. solani* en esquejes de clavel es una estrategia promisoriosa para el manejo de enfermedades, en condiciones de invernadero; esto debido a que, la mayoría de los aislamientos evaluados redujeron la severidad de la enfermedad.

En pruebas *in vitro*, se evaluaron aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Sclerotium rolfsii* y *R. solani*. En estas se encontró 100% de actividad

antagónica contra el primero, mientras que para el segundo todos fueron efectivos excepto *T. asperellum* (Hoyos *et al.* 2008). De manera similar, Hernández *et al.* (2006) observaron inhibición entre 40-50% del crecimiento radial de *R. solani* (aislada de piña) en cultivo dual con diferentes aislados de *Trichoderma*. Reyes *et al.* (2006) observaron efectividad antagónica y micoparasítica de *Trichoderma* para el control de *R. solani* aislado de arroz. Cundom *et al.* (2003) al evaluar nueve aislamientos de *T. harzianum* sobre *R. solani* constataron a los siete días, efectivo antagonismo de todos los aislamientos de *Trichoderma* sobre *Rhizoctonia*, a excepción de uno que cesó su crecimiento y fue invadido por el patógeno.

En investigaciones realizadas con cultivos duales en capsulas de Petri, se ha demostrado la efectividad de los aislamientos de *Trichoderma* sobre varios fitopatógenos, en particular, patógenos de suelo. Entre esos estudios, Jaramillo (2014) evaluó el efecto antagonista de *Trichoderma koningii*, *Trichoderma harzianum* cepa Zamorano y cepa Choluteca sobre los hongos patógenos *Fusarium* sp., *Alternaria* sp. y *Phytophthora* sp. El autor constató que a los siete días todas las cepas de *Trichoderma* inhibieron el crecimiento radial de los patógenos. De manera similar, García (2015) empleó cepas del hongo *Trichoderma*, obtenidas a partir de muestras de suelo y de material vegetal contra los fitopatógenos *Fusarium* spp. y *Colletotrichum* spp, con la técnica de enfrentamiento dual. En el estudio observó que el porcentaje de inhibición de *Trichoderma* spp., sobre el crecimiento de *Fusarium* spp. fue de 72% y de 59%. contra *Colletotrichum* spp. También, Reyes *et al.* (2012) evaluaron el control de *Trichoderma* sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento de *Fusarium* sp., aislado de chile habanero (*Capsicum chinensis*). Todas las cepas de *Trichoderma* inhibieron el crecimiento del hongo fitopatógeno *Fusarium* sp., entre el 40 y el 82 %.

En la misma condición, Sánchez *et al.* (2015) valoraron el uso de especies del género *Trichoderma* como agentes de control biológico de *F. oxysporum*, causal del "mal de almácigos" en cebolla. *Trichoderma koningiiopsis*

y *T. atroviride* inhibieron en 50% al patógeno en cultivos duales. Sanmartín-Negredo *et al.* (2013) ponderaron la contribución de diferentes modos de acción en la actividad antagónica total *in vitro* de cuatro cepas de *Trichoderma asperellum* frente a los fitopatógenos *Colletotrichum gloeosporioides* y *Fusarium sp.*; constataron que la capacidad antagónica de las cepas se definió, principalmente, por el enfrentamiento directo y la actividad de los metabolitos volátiles. Todas las cepas de *T. asperellum* evaluadas, con excepción de *Ta. 78*, inhibieron el crecimiento de los aislamientos de *Fusarium* a partir de las 48 h. Las cepas *Ta.1* y *Ta. 79* presentaron los mayores porcentajes de inhibición del crecimiento, con valores máximos de 44 - 47 % y 41- 48,72 % para *F. dlamini* y *F. solani*, respectivamente, y la mayor cantidad de interacciones hifales.

La presente investigación se realizó con el objetivo de evaluar la acción antagónica de *T. harzianum* sobre aislamientos de *R. solani*, en cultivos duales *in vitro*, y determinar el efecto de diferentes sustratos sobre la tasa de crecimiento radial de las colonias de ambos hongos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sitio de los experimentos y aislamientos

Los experimentos se realizaron en condiciones de laboratorio, en la Clínica Universitaria de Diagnóstico Agrícola (CUDA), adscrita al Postgrado de Agricultura Tropical del Núcleo Monagas de la Universidad de Oriente, Maturín, estado Monagas.

Se empleó aislamientos puros de *R. solani* Kühn y *T. harzianum* Rifai cultivados en PDA (papa-dextrosa-agar). El primer aislamiento provino de la Micoteca de la CUDA, y el segundo aislamiento lo suministró el Instituto Autónomo de Sanidad Agrícola Integral del estado Monagas (INSAI-Monagas).

En cada cápsula de Petri, contentiva del respectivo medio de cultivo, se implantaron cultivos duales de *T. harzianum* y *R. solani* en discos de PDA de 1 cm. de diámetro (en los polos opuestos

de la placa y contiguos al borde de la misma). En estas se cuantificó la zona de crecimiento activo del micelio de los aislamientos.

### Tratamientos y diseño experimental

Se elaboraron cuatro medios de cultivos, en los que se utilizó como base el agar y la dextrosa, combinándolos con la decocción de la papa (*Solanum tuberosum* L.), de la remolacha [*Beta vulgaris* (L.) Koch], de la zanahoria (*Daucus carota* L.) y de la auyama (*Cucúrbita máxima* Dutch); cada uno, de forma independiente.

Para cada medio de cultivo se emplearon 200 g de trozos pelados de papa, remolacha, zanahoria y auyama, respectivamente; estos se colocaron en un litro de agua y se hirvieron. Durante la cocción de la auyama, remolacha y zanahoria hubo necesidad de reponer agua, debido a la pérdida por evaporación, hasta que los trozos se ablandaron. Una vez colada la decocción, de cada una de estas, en dos capas de gasa, el filtrado se colocó en un erlenmeyer de 2 L; se le agregó 20 g de sacarosa y 15 g de agar (mantenidos sobre agitación constante y a la temperatura de 100°C en calentador-agitador Orbital PC-351, hasta su completa dilución) enrasándolos a 1 L. Cada uno de los medios se llevó al autoclave MARKET FORGE, por 15 minutos, 15 psi y 121 °C, para su esterilización. Los cultivos puros de los aislamientos de *T. harzianum* y *R. solani* se mantuvieron en medio PDA (Rivero *et al.* 2013).

Se empleó el diseño experimental de bloques al azar, con organización factorial de ocho tratamientos (dos aislamientos fúngicos x cuatro medios de cultivo) y tres repeticiones. Cada repetición estuvo constituida por seis cápsulas de Petri con el respectivo medio de cultivo y sembradas con cultivos duales puros de *T. harzianum* y *R. solani*. Una vez transcurridas las primeras 24 horas después de la inoculación de las diferentes cápsulas de Petri con los cultivos duales de los hongos, y a intervalos de 12 horas hasta 96 horas (3 días a partir de la siembra de discos), se midió el crecimiento radial en centímetros (cm) de las respectivas colonias en cada cápsula.

### Análisis estadístico

Previo al análisis de varianza, los valores calculados de la tasa de crecimiento usando como base el crecimiento radial se exploraron en relación a la normalidad de los errores por la prueba de Shapiro Wilk y la de homogeneidad de varianza de Bartlett. Las tasas de crecimiento radial obtenidas se examinaron por análisis de varianza y la comparación de medias por la prueba de Tukey al nivel de 5 % de probabilidad. Los análisis se realizaron con el programa estadístico Infostat versión 2017 (Di Rienzo *et al.* 2017).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del análisis para la variable tasa de crecimiento radial, tanto para la prueba de Shapiro-Wilk como para la de Bartlett, se constató normalidad en los errores y homogeneidad de la varianza, respectivamente.

Los valores promedios de las tasas de crecimiento radial (cm), de las colonias de *T. harzianum* y *R. solani* obtenidos mediante los cultivos duales, medidos cada 12 horas, en los diferentes sustratos evaluados están indicados en el Cuadro 1. Se puede observar, de manera consistente, que en todos los casos, con excepción de la repetición

tres para el sustrato PDA, el crecimiento radial experimentado por la colonia de *R. solani* siempre fue mayor que la de *T. harzianum*.

El análisis de varianza de las tasas de crecimiento (Cuadro 2) evidenció la existencia de diferencias significativas por la prueba de F a 5 y 1% de probabilidad, para los medios de cultivo, así como también entre los aislamientos fúngicos, respetivamente; mientras que, no se detectó diferencias para la interacción medios de cultivo y aislamientos.

La comparación para medios de cultivo (Cuadro 3) permitió constatar, por la prueba de Tukey al 5 % de probabilidad, que el medio Auyama-Dextrosa-Agar presentó la mayor tasa, con diferencias estadísticas del medio Zanahoria-Dextrosa-Agar que mostró la menor tasa de crecimiento radial. Los medios Remolacha-Dextrosa-Agar y Papa-Dextrosa-Agar formaron un grupo intermedio similares estadísticamente y que no difieren de los otros dos medios de cultivo evaluados.

En el Cuadro 4, están indicadas las tasas promedio de crecimiento radial de las colonias de *R. solani* y *T. harzianum*, indiferentemente del tipo sustrato que se utilizó. Se constata por la prueba

Cuadro 1. Tasas promedio de crecimiento radial (cm) de colonias de *R. solani* y *T. harzianum* en cultivos duales sobre diferentes sustratos.

| Medios de cultivo       | Aislamiento                  | Repetición |      |      | Promedio |
|-------------------------|------------------------------|------------|------|------|----------|
|                         |                              | I          | II   | III  |          |
| Papa-Dextrosa-Agar      | <i>Rhizoctonia solani</i>    | 0,82       | 0,92 | 0,57 | 0,77     |
|                         | <i>Trichoderma harzianum</i> | 0,73       | 0,60 | 0,65 | 0,66     |
| Zanahoria-Dextrosa-Agar | <i>R. solani</i>             | 0,66       | 0,69 | 0,69 | 0,68     |
|                         | <i>T. harzianum</i>          | 0,60       | 0,62 | 0,56 | 0,59     |
| Remolacha-Dextrosa-Agar | <i>R. solani</i>             | 0,76       | 0,80 | 1,02 | 0,86     |
|                         | <i>T. harzianum</i>          | 0,58       | 0,61 | 0,76 | 0,65     |
| Auyama-Dextrosa-Agar    | <i>R. solani</i>             | 1,02       | 0,95 | 1,03 | 1,00     |
|                         | <i>T. harzianum</i>          | 0,63       | 0,74 | 0,68 | 0,68     |

Cuadro 2. Análisis de varianza de las tasas de crecimiento de colonias de *R. solani* y *T. harzianum* en cultivos duales sobre diferentes sustratos.

| Fuente de variación              | Gl | Suma de cuadrados | Cuadrados medios | F                  |
|----------------------------------|----|-------------------|------------------|--------------------|
| Medios de cultivo                | 3  | 0,130             | 0,0436           | 4,30*              |
| Aislamientos                     | 1  | 0,196             | 0,1962           | 9,68**             |
| Medios de cultivo x Aislamientos | 3  | 0,049             | 0,0165           | 2,15 <sup>ns</sup> |
| Bloques                          | 2  | 0,001             | 0,0009           | 0,08 <sup>ns</sup> |
| Error                            | 14 | 0,141             | 0,0101           |                    |
| CV (%)                           |    |                   | 13,66            |                    |

Gl: Grado de libertad; CV: Coeficiente de variación; ns: no significativo; \*, \*\* significativo a 5 y 1% de probabilidad por la prueba de F.

Cuadro 3. Promedios de las tasas de crecimiento radial (cm) entre los diferentes medios de cultivo de colonias de *R. solani* y *T. harzianum*, en cultivos duales independiente del aislamiento evaluado.

| Medios de cultivo       | Ámbito estadístico |
|-------------------------|--------------------|
| Auyama-dextrosa-agar    | 0,84 a             |
| Remolacha-dextrosa-agar | 0,75 ab            |
| Papa-dextrosa-agar      | 0,71 ab            |
| Zanahoria-dextrosa-agar | 0,63 b             |
| Dms                     | 0,16               |

Medias seguidas de la misma letra no difieren entre sí por la prueba de Tukey a 5 % de probabilidad

Cuadro 4. Promedios entre las tasas de crecimiento radial (cm) de colonias de *R. solani* y *T. harzianum*, en cultivos duales independiente del sustrato.

| Aislamiento                  | Ámbito estadístico |
|------------------------------|--------------------|
| <i>Rhizoctonia solani</i>    | 0,82 a             |
| <i>Trichoderma harzianum</i> | 0,64 b             |
| Dms                          | 0,08               |

Medias seguidas de la misma letra no difieren entre sí por la prueba de Tukey a 5 % de probabilidad.



de Tukey a 5 % de probabilidad que la mayor tasa de crecimiento le correspondió a *Rhizoctonia*, en relación al aislamiento de *Trichoderma*.

Los resultados obtenidos en esta investigación señalan que al momento de la última evaluación (96 horas después de la siembra de cultivos duales), en todas las combinaciones de tratamientos se evidenció un efectivo antagonismo de *T. harzianum* sobre *R. solani*; a pesar del más rápido crecimiento de este último (Figura 1). Es resaltante lo traslúcido de los micelios de ambos hongos en las placas con Zanahoria-Dextrosa-Agar (C) y Auyama- Dextrosa-Agar (D).

En cada caso el encuentro micelial de ambas colonias con efectivo antagonismo de *T. harzianum* sobre *R. solani* ocurrió en el hemisferio de la placa perteneciente al primer aislamiento; lo que se atribuye a la mayor tasa de crecimiento de *R. solani*. Este resultado concuerda con lo reportado por Hoyos *et al.* (2008), quienes evaluaron *in vitro* y en invernaderos aislamientos de *Trichoderma* spp. frente a *R. solani* y *S. rolfsii*. Encontraron que era necesario el establecimiento inicial de *Trichoderma* spp., en las capsulas de Petri de 12 a 24 horas antes, ya que el crecimiento del antagonista era menor comparado con el del fitopatógeno durante los tres a cinco días iniciales. Osorio *et al.* (2016) obtuvieron resultados similares, al evaluar las cepas T18 y T16 de *T. asperellum*. Los autores reportaron que las cepas de *T. asperellum* mostraron efecto antagónico contra *R. solani* (TJ53, ACH42 y HSO56).

Tovar (2008), en su trabajo de evaluación de la capacidad antagonista *in vivo* de aislamientos de *Trichoderma* spp., frente al hongo entomopatógeno *R. solani* en cultivos duales, encontraron que a las 72 horas había un porcentaje de inhibición micelial en *R. solani* entre 40 y 60%. Eso ocasionado por los seis aislamientos de *Trichoderma* objetos de evaluación. Inhibiciones generales de entre 50 y 90 % del crecimiento micelial en tres grupos anastomóticos de *R. solani* las reportaron Infante *et al.* 2013; como resultado del efecto antibiótico *in vitro* de trece aislamientos de *Trichoderma* spp.

Con dos aislamientos de *Trichoderma* spp., y el uso del método de cultivo dual Martínez *et al.* 2008, lograron inhibir más del 50% del crecimiento radial de *R. solani*. De igual manera, Reyes *et al.* 2008, observaron la actividad antagónica de trece aislamientos de *Trichoderma* spp., sobre *Rhizoctonia* sp. Los autores encontraron que a las 96 horas todos los aislamientos habían presentado efecto inhibitorio sobre el patógeno.

La efectividad del control de *T. harzianum* sobre otros hongos fitopatógenos se ratifica en esta investigación como fue señalada por Jaramillo (2014) sobre *Fusarium* sp., *Alternaria* sp. y *Phytophthora* sp; de manera similar por García (2015) sobre *Fusarium* spp., y *Colletotrichum* spp, Reyes *et al.* (2012), sobre *Fusarium* sp., aislado de chile habanero (*Capsicum chinensis*). Aún en cultivos duales, Sánchez *et al.* (2015) indican que *Trichoderma koningiopsis*

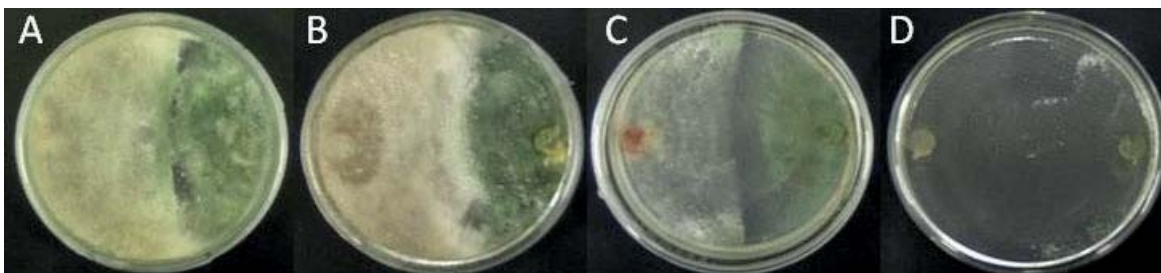


Figura 1. Crecimiento radial de *T. harzianum* (derecha) y *R. solani* (izquierda) en cada placa de los diferentes medios de cultivo estudiados: [A] Papa-Dextrosa-Agar (PDA); [B] Remolacha-Dextrosa-Agar (RDA); [C]: Zanahoria-Dextrosa-Agar (ZDA) y [D]: Auyama-Dextrosa-Agar (ADA).

y *T. atroviride* actuaron como controladores biológicos de *F. oxysporum*, agente causal del “mal de almácigos” en cebolla. La capacidad antagónica de las cepas de *Trichoderma* ocurre principalmente, por el enfrentamiento directo y la actividad de los metabolitos volátiles (Sanmartín-Negredo et al. 2013).

Es pertinente señalar que, por primera vez se indica el uso de medio de cultivo con auyama, en vez de la papa, que se emplea tradicionalmente. Así, se ofrece una alternativa promisoriosa para el estudio de hongos fitopatógenos y controladores biológicos, donde se observó la mayor tasa de crecimiento de las colonias fúngicas evaluadas.

### CONCLUSION

Ocurrió efectivo antagonismo de *T. harzianum* sobre *R. solani* en todas las combinaciones de los tratamientos evaluados; aun con la tasa de crecimiento radial de *R. solani* superior a la de *T. harzianum*, particularmente en el medio Auyama-Dextrosa-Agar.

### LITERATURA CITADA

- Cedeño, L; Carrero, C; Quintero, K; Araujo, Y; Pino, H; García, R. 2001. Identificación y virulencia de grupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani* Kühn asociados con papa en Mérida, Venezuela. *Interciencia* 26(7): 296-300.
- Cundom, M; Mazza, S; Gutiérrez, S. 2003. Short communication. Selection of *Trichoderma* spp. isolates against *Rhizoctonia solani*. *Spanish Journal of Agricultural Research* 1(4): 79-82.
- Di Rienzo JA; Casanoves F; Balzarini MG; González L; Tablada M; Robledo CW. 2017. InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- García, LA. 2015. Evaluación del antagonismo de cepas de *Trichoderma* spp., frente a cepas de *Fusarium* spp. y *Colletotrichum* spp., aisladas de cultivos orgánicos de sábila (*Aloe vera*) y arándano (*Vaccinium corymbosum*). *Revista TECKNE* 13 (1):56-66.
- Hernández, MA; Sierra, PA; Carr, P. 2006. Evaluación *in vitro* del antagonismo de especies de *Trichoderma* sobre hongos fitopatógenos que afectan las vitroplantas de piña (*Ananas comosus* L. Merr.). Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Ciudad de la Habana, Cuba. *Revista Fitosanidad* 10(2):105-108.
- Howell, CR; Hanson LE; Stipanovic RD; Puckhaber LS. 2000. Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*. *Phytopathology* 90: 248-252.
- Hoyos C, L; Chaparro, P; Abramsky, M; Chet, I; Orduz, S. 2008. Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones *in vitro* y de invernadero. *Agronomía Colombiana* 26(3):451-458.
- Jaramillo C, GV. 2014. Evaluación *in vitro* de la capacidad antagónica de *Trichoderma* spp. frente a *Fusarium* sp. *Alternaria* sp. y *Phytophthora* sp. Proyecto especial graduación de Ingeniero Agrónomo. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras 17p. Disponible en <https://pdfs.semanticscholar.org/7d21/4ca68ef4232f2f89490dcc45fa902faa0319.pdf>
- Lewis, JA; Papavizas GC. 1991. Biocontrol of damping-off caused by *Rhizoctonia solani* in the field with formulations of *Trichoderma* spp. and *Gliocladium virens*. *Crop Protection* 10: 396-402.
- Mathivanan, N; Srinivasan, K; Chelliah, S. 2000. Biological control of soil-borne diseases of cotton, eggplant, okra and sunflower by *Trichoderma viride*. *Z. Pflanzenk. Pflanzen.* 107:235-244.
- Martínez, B; Reyes, Y; Infante, D; González, E; Baños, H; Cruz, A. 2008. Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp., candidatos a biofungicidas para el control de *Rhizoctonia*

- sp., en arroz. *Revista Protección Vegetal* 23(2):118-125.
- Osorio H, E; Hernández C, FD; Rodríguez H, R; Varela F, SE; Estrada D, B; López S, JA. 2016. Actividad antagonista de *Trichoderma* spp., sobre *Rhizoctonia solani* *in vitro*. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*. 67:5-11.
- Reyes, RT; Rodríguez, GG; Pupo, ZD; Alarcón, PL; Limonta, CY. 2006. Efectividad *in vitro* de *Trichoderma harzianum* (Rifai) para el biocontrol de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Piricularia grisea* (Sacc) aislados en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal Ciudad de la Habana, Cuba. *Revista Fitosanidad* 11(1):29-33.
- Reyes, Y; Martínez, B; Infante, D. 2008. Evaluación de la actividad antagonista de trece aislamientos de *Trichoderma* spp., sobre *Rhizoctonia* sp. *Revista Protección Vegetal* 23(2):112-117.
- Reyes, RA; Alejo, JC; Ruiz, SE; Tun S, JM. 2012. Inhibición del crecimiento *in vitro* de *Fusarium* sp., aislado de chile habanero (*Capsicum chinensis*) con hongos antagonistas. *Fitosanidad* 16(3):161-165.
- Rivero, QC; Sánchez-Cuevas, MC; Silva-Acuña, R. 2013. Evaluación de extractos acuosos de diferentes especies vegetales para el control *in vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis*. *Revista Científica UDO Agrícola* 13(1):66-70.
- Sánchez, AD; Barrera, V; Reybet, GE; Sosa C, MC. 2015. Biocontrol con *Trichoderma* spp., de *Fusarium oxysporum* causal del “mal de almácigos” en pre y post emergencia en cebolla. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata*, 114 (1):61-70.
- Sanmartín-Negredo, P; López, X; Pemberthy, MP; Granada-Sinar, D; Rueda-Lorza, EA. 2012. Análisis del modo de acción y de la capacidad antagonista de *Trichoderma asperellum* sobre *Colletotrichum gloeosporioides* y *Fusarium* sp. *Revista Tumbaga*, 2(7):29-49.
- Tondje, PR; Roberts, DP; Bon, MC; Widmer, T; Samuel, GJ; Ismaiel, A. 2007. Isolation and identification of mycoparasitic isolates of *Trichoderma asperellum* with potential for suppression of black pod disease of cacao in Cameroon. *Biological Control* 43(2):202-212.
- Tovar C, JC. 2008. Evaluación de la capacidad antagonista *in vivo* de aislamientos de *Trichoderma* spp., frente al hongo fitopatógeno *Rhizoctonia solani*. Tesis de grado. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 81 p.
- Van Den Boogert P, HJ. 1999. Mycoparasitism and biocontrol of *Rhizoctonia solani*. *Summa Phytopathologica* 25:107-110.

## Nota Técnica

## Evaluación de almidón de maíz y sagú sobre el crecimiento *in vitro* de *Sclerotium rolfsii*

Milagros Rondón Asuaje<sup>1</sup>, María Claudia Sánchez–Cuevas<sup>1\*</sup> y Ramón Silva–Acuña<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Clínica Universitaria de Diagnóstico Agrícola (CUDA), Postgrado en Agricultura Tropical, Universidad de Oriente, Núcleo Monagas, Maturín-Venezuela. <sup>2</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Maturín, Monagas, Venezuela. \*Correo electrónico: mcsanchez@udo.edu.ve

## RESUMEN

El alto costo del agar ha tornado prohibitivo su uso en laboratorios de fitopatología y biotecnología; tal limitación exige la búsqueda de solidificantes alternativos para facilitar el proceso de investigación agrícola. Se realizaron ensayos con el objetivo de evaluar dosis de almidón de maíz y de sagú como agentes solidificantes, para sustituir el agar de los medios de papa-dextrosa-agar (PDA). El almidón de maíz (Maizina®) se evaluó en las dosis de 50, 75, 100 y 125 g.L<sup>-1</sup>, y el sagú, almidón de tubérculos de *Maranta* sp, en las dosis de 60, 70, 80 y 90 g.L<sup>-1</sup>. Para cada dosis evaluada se utilizó medio litro de la decocción de papa y 20 g de sacarosa por litro del medio de cultivo. Para ambos ensayos se colocó un tratamiento testigo de PDA. Del aislamiento de *S. rolfsii* proveniente de placas de Petri con PDA, se retiraron discos de la periferia de la colonia y se sembraron en las cápsulas de Petri de las dosis evaluadas de almidón de maíz y sagú. El crecimiento radial fue cuantificado a las 24, 48 y 72 horas posteriores a la siembra del aislamiento del hongo. Se empleó el diseño experimental completamente aleatorio, con cinco tratamientos y cuatro repeticiones. De acuerdo con los resultados obtenidos, la dosis más promisoría de almidón de maíz fue la de 125g.L<sup>-1</sup> y para el caso del sagú resultó la de 60g.L<sup>-1</sup>. Ambos almidones pueden ser aprovechados como fuentes alternativas solidificantes para los medios de cultivo en condiciones de laboratorio.

**Palabras clave:** agar, almidón, cultivo de tejido, medio de cultivo.

## Evaluation of cornstarch and sagú on *in vitro* growth of *Sclerotium rolfsii*

## ABSTRACT

High cost of agar commonly employed in the preparation of culture media has become prohibitive in Venezuela. This situation requires searching for alternative sources of national origin to facilitate the process of agricultural research. This research was conducted with the aim of evaluating dose of cornstarch and sagú as solidifying agents to replace agar in potato dextrose agar (PDA) culture medium. Cornstarch obtained from the commercial product Maizina Americana®, was evaluated at dose of 50, 75, 100 and 125 g/l, and sagú starch obtained from the tuber *Maranta* sp at doses of 60, 70, 80 and 90g/l. For all doses was used 15 g of dextrose, 500 cc of the decoction of 200 g of potatoes and 20 g of sucrose per liter of culture medium. For each of the tests a control treatment with PDA alone was used. Discs were removed from the periphery of the colony from PDA plates with pure isolation of *S. rolfsii* and were planted in the petri dishes used to test doses of cornstarch and sagú. The radial growth of the fungus was quantified at 24, 48 and 72 h after planting. A completely randomized statistical design was used, with five treatments, four replications and the experimental unit consisted of four Petri dishes. According to the results obtained, the most promising cornstarch dose was 125 g/l and, in the case of sagú, was 60 g/l. Both may be employed as alternative sources for solidifying culture media used in laboratory conditions, particularly for *S. rolfsii*.

**Key words:** agar, starch, tissue culture, culture media.

Recibido: 26/07/17      Aprobado: 06/11/18



## INTRODUCCIÓN

El aislamiento en cultivo puro de microorganismos en placas con agar se convirtió en una metodología standard en microbiología, desde que Robert Koch y sus colaboradores encontraron que el agar era un agente gelificante muy efectivo. En investigaciones recientes, se demuestra que otros agentes solidificantes permiten el crecimiento de algunos organismos que no se pueden cultivar en medios con agar (Tamaki *et al.* 2009). Los agentes solidificantes proveen la firmeza al medio e influyen en sus características de difusión (Das *et al.* 2015). En biotecnología, el éxito del cultivo de tejidos vegetales depende primordialmente del medio de cultivo. Este medio, además de poseer los requerimientos nutricionales de la especie, su efectividad obedece tanto de los ingredientes básicos como de los nutrimentos, azúcares y hormonas contenga y, de manera particular, del agente solidificante (Szabados *et al.* 1993).

El agente solidificante usado de manera tradicional es el agar (Puchooa *et al.* 1999). Es un compuesto inerte. Una sustancia coloidal disecada, que proviene de diversas algas rojas, que es estable a varias temperaturas, no tiene efectos tóxicos a la mayoría de los microorganismos, presenta buena difusión, no es digerida por la mayoría de las bacterias, es transparente y metabólicamente inerte. Por otro lado, su alto precio ha hecho que su utilización sea muy costosa y debido a su uso generalizado en laboratorios, las fuentes naturales del agar (*Gelidium*, *Gracillaria* y *Pterocladia*) están siendo sobre-explotadas, por lo que es imperativo buscar agentes solidificantes alternativos (Basu *et al.* 2015).

Para el caso específico del uso de medios en biotecnología, donde los volúmenes de medio de cultivo requeridos son altos, se generan elevados costos y la búsqueda de opciones de menor costo, ha sido uno de los objetivos más resaltantes en estos experimentos. Tanto Chacón *et al.* (2000) como Szabados *et al.* (1993) constataron que Gelrite® y Phytigel® representan una opción alentadora como agentes gelificantes y agregan que el uso del Phytigel® a 1,3 y 1,8 g.L<sup>-1</sup> favorece el crecimiento *in vitro* de *Dioscorea trifida* y *D. alata*. Por su parte Teixeira da Silva y Tanaka

(2009), en la propagación de cuerpos semejantes a protocormos de una orquídea *Cymbidium* híbrida, lograron superiores resultados al añadir 4 g.L<sup>-1</sup> de almidón de maíz y 4 g.L<sup>-1</sup> de agar en el medio de cultivo en lugar de agar solo (8 g.L<sup>-1</sup>). También se han utilizado solidificantes alternativos para la conservación *in vitro* de cambur (AAB, subgrupo Mysore), tal como lo señalan Agrawal *et al.* (2010), quienes utilizaron Isabgol en el medio y obtuvieron una sobrevivencia del 100 % a los 12 meses, comparada con 79-83 % de agar y 51-57 % de Phytigel, además de una reducción del 59 % del costo del medio de cultivo, comparado con agar. Por su parte, Petrovski y Tillett (2012) señalan que se puede reducir el costo del solidificante para el cultivo de microorganismos al utilizar agar grado comestible en lugar del agar grado bacteriológico, comúnmente usado en la preparación de medios de cultivo en los laboratorios.

Otros agentes solidificantes, como la goma de xanthano, proveniente de la fermentación de la bacteria *Xanthomonas campestris*, ha sido utilizada exitosamente, sola o en combinación con agar, en la preparación de medios para el cultivo de hongos y bacterias y muchos de los microorganismos evaluados se desarrollaron mejor en los medios solidificados con xanthano solo o xanthano y agar que con agar solo (Babbar y Jain 2006). Una experiencia similar reportan Gangotri *et al.* (2012) al utilizar la goma Guar como gelificante en medio de cultivo de microorganismos. Así mismo, la goma Katira, proveniente de la corteza de *Cochlopermum religiosum*, ofrecen ventajas en relación al agar y puede sustituirlo de forma práctica para el cultivo de tejidos vegetales, sin que esto signifique disminución de la calidad del medio de cultivo (Jain y Babbar 2002).

La alternativa de uso de almidones, como fue señalado por Romay *et al.* (2006) y, más reciente, por Kwoseh *et al.* (2012), han abierto la posibilidad de emplear estos compuestos, por sus componentes amilosa y amilopectina (Alarcón y Dufour 2002). Los gránulos de almidón, al ser calentados entre 55 y 80 °C, absorben agua y se hinchan, aumentan varias veces su tamaño, y la gelificación forma una pasta o engrudo que



aporta consistencia al medio donde se encuentre agregado. Romay *et al.* (2006), constataron que el almidón AIM TF-351 podía sustituir al Phytigel® en la micropropagación de la yuca e indicaron que su valor es ocho veces más barato que el Phytigel®; estos resultados indican que el almidón es una alternativa económica como agente endurecedor de los medios de cultivo; sin embargo, al ser su consistencia viscosa, recomiendan no calentarlo sino colocar la cantidad requerida por el volumen de medio. También se ha reportado la formación de un mayor número de brotes en medios gelificados con almidón de yuca (Maliro y Lameck 2004), probablemente por el hecho de que el almidón de yuca actúa como una fuente de carbono adicional y de otros suplementos iónicos (Onuweme 1982). Otro factor que parece ser responsable por la respuesta favorable de los explantes a los almidones vegetales utilizados como gelificantes en los medios de cultivo, es la ausencia de inhibidores que están presentes en el agar (Puchooa *et al.* 1999).

Por su parte, Kwoseh *et al.* (2012) utilizaron almidón de yuca para solidificar medios para cultivar los hongos *Fusarium oxysporum* y *Aspergillus niger* y concluyeron que los medios permitieron tanto el crecimiento como la esporulación de los hongos. Ante las posibilidades de uso de los almidones o alimentos que lo contengan como agentes solidificantes, esta tecnología podría constituirse en una alternativa de uso práctico en medios de cultivo para estudios de biología de hongos fitopatógenos y hacer más económica las labores en condiciones de laboratorio. Basados en los anteriores argumentos, la presente investigación se realizó con el objetivo de evaluar diferentes dosis de almidón de maíz y sagú como agentes gelificantes del medio de cultivo. Se utilizó como indicador al hongo *Sclerotium rolfsii*, fitopatógeno que causa importantes pérdidas económicas en muchos cultivos comerciales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sitio experimental

Los experimentos se realizaron en condiciones de laboratorio, en la Clínica Universitaria

de Diagnóstico Agrícola (CUDA) adscrita al Postgrado de Agricultura Tropical del Núcleo Monagas de la Universidad de Oriente, Campus Juanico, Maturín, estado Monagas, Venezuela.

### Tratamientos

El almidón de maíz obtenido del producto comercial Maizina Americana® de Alfonso Rivas & Cía., se usó como agente solidificante del medio de cultivo en dosis de 50; 75; 100 y 125 g.L<sup>-1</sup>; y, el sagú, almidón obtenido artesanalmente del tubérculo de *Maranta* sp., se empleó en las dosis de 60; 70; 80 y 90 g.L<sup>-1</sup>. Para cada una de las dosis evaluadas en ambos ensayos, se utilizó medio litro de la decocción de 200 g de papa y 20 g de sacarosa por litro de medio de cultivo, conjuntamente con la dosis correspondiente de almidón de maíz o sagú. Para el testigo, el medio se preparó con la misma cantidad de la decocción de la papa y de sacarosa, pero con 15 g de agar como agente gelificante (PDA).

### Preparación de los medios de cultivo

En un Erlenmeyer de 2 L se colocaron 500 mL de la decocción de 200 g de papa, previamente filtrados en dos capas de gasa, y se le agregó los 20 g de sacarosa. De acuerdo a la constitución de los tratamientos se agregaron cada una de las dosis de almidón, luego se completó el volumen con agua, a un litro. La mezcla se mantuvo sobre agitación constante, a 100 °C en calentador-agitador Orbital PC-351. Los medios de cultivo fueron vertidos en cápsulas de Petri y colocados en envases porta placas, esterilizados en autoclave Market Forge a 1,5 libras de presión y 121 °C por 15 minutos (Rivero *et al.* 2013).

### Cuantificaciones del crecimiento micelial

Durante el periodo de conducción de los ensayos, con una regla milimetrada, se cuantificó el diámetro de la colonia fúngica de *S. rolfsii*, en dos dimensiones por el reverso de las placas. Después de transcurridas 24; 48 y 72 horas de la siembra del aislamiento de *S. rolfsii* proveniente

de placas de PDA, y con el valor promedio de ambas medidas se calculó el área (cm<sup>2</sup>) de crecimiento micelial.

### Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental para ambos experimentos fue el completamente aleatorio, con cinco tratamientos, cuatro repeticiones y la unidad experimental constituida por cuatro cápsulas de Petri. Las evaluaciones se realizaron a las 24, 48 y 72 horas, en unidades experimentales independientes en el tiempo.

Los valores provenientes de la variable área de crecimiento del aislamiento fúngico de *S. rolfsii*, fueron examinados mediante análisis de varianza y sus promedios comparados por la prueba de Tukey al 5 % de probabilidad. Previo al análisis de varianza, los valores cuantificados se exploraron por el programa estadístico Infostat versión 2017 (Di Rienzo *et al.* 2017) en relación a la normalidad de los errores por la prueba de Shapiro Wilk y la de homogeneidad de varianza de Bartlett, respectivamente.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En ambos experimentos se cumplieron los supuestos de normalidad de los errores y de homogeneidad de varianza correspondientes a las pruebas de Shapiro-Wilk y de Bartlett, para realizar en análisis de varianza paramétrico.

### Almidón de maíz

De manera general, a las 24 horas después de la siembra del aislamiento de *S. rolfsii* se observó la mayor área de crecimiento del hongo en el tratamiento con la mayor concentración de almidón de maíz. En este, el crecimiento en PDA convencional no superaba al crecimiento del hongo en las dosis de 60 y 75 g.L<sup>-1</sup>. A las 48 horas se mantuvo la misma tendencia observada las 24 horas, en relación a la dosis más elevada; sin embargo, el crecimiento en área de la colonia de *S. rolfsii* en PDA supera las tres primeras dosis (50; 75 y 100 g.L<sup>-1</sup>). A las 72 horas el área que se colonizó por el hongo, en el PDA, supera numéricamente a todas las dosis del almidón de maíz.

En el análisis de varianza (Cuadro 1) se constató diferencias entre tratamientos para las 24 y 72 horas en el crecimiento del área colonizada por *S. rolfsii*; mientras que, no se detectó diferencias entre los tratamientos a las 48 horas. Se observó (Cuadro 2) que a las 24 horas después de la siembra (HDS), del aislamiento de *S. rolfsii*, en el tratamiento con la dosis de 125 g.L<sup>-1</sup> la mayor área de crecimiento y difiere de las demás. Los otros tratamientos que presentaron menores áreas colonizadas por el patógeno son estadísticamente similares entre sí por la prueba de Tukey a 5 % de probabilidad.

A las 48 horas, se mantuvo tendencia numérica similar a la observada a las 24 horas de

Cuadro 1. Resumen del análisis de varianza de la variable diámetro de la colonia a las 24; 48 y 72 horas después de la siembra en los medios de cultivo con las dosis de almidón de maíz.

| Fuente de variación | Grados de libertad | Cuadrados Medios |                      |          |
|---------------------|--------------------|------------------|----------------------|----------|
|                     |                    | Horas            |                      |          |
|                     |                    | 24               | 48                   | 72       |
| Tratamientos        | 4                  | 11,12**          | 178,60 <sup>ns</sup> | 749,63** |
| Error               | 15                 | 3,53             | 85,40                | 188,84** |
| CV (%)              |                    | 30,01            | 34,87                | 36,00    |

Significativo a 1 % de probabilidad por la prueba de F; y NS=no significativo.

Cuadro 2. Valores promedios para las áreas de crecimiento del aislamiento de *Sclerotium rolfsii* en las diferentes dosis de almidón de maíz comparadas por la prueba de Tukey a 5 % de probabilidad.

| Tratamientos<br>(Maizina <sup>2</sup> g.L <sup>-1</sup> ) | Tiempo de cuantificación (horas) |         |          |
|---|----------------------------------|---------|----------|
|   | 24                               | 48      | 72       |
| 50  | 4,13 c                           | 16,57 a | 24,17 b  |
| 75  | 6,40 b                           | 25,99 a | 25,99ab  |
| 100   | 6,09 bc                          | 25,70 a | 36,67 ab |
| 125   | 8,79 a                           | 34,95 a | 48,88 ab |
| PDA <sup>1</sup>  | 5,89 bc                          | 29,27 a | 55,15 a  |

<sup>1</sup>Medio de cultivo constituido de 200 g de papa, 15 g de agar y 20 g de sacarosa por litro de agua y en el medio de cultivo con maizina<sup>2</sup> este componente sustituyó al agar en cada una de las dosis indicadas.

crecimiento de la colonia fúngica, donde la mayor área colonizada correspondió al tratamiento con 125 g.L<sup>-1</sup>, pero estadísticamente no se detectaron diferencias entre los tratamientos. Para el caso de la evaluación de las 72 horas, el tratamiento con PDA presentó la mayor área colonizada y, estadísticamente, entre los tratamientos estudiados solo difirió de la dosis de 50 g.L<sup>-1</sup>; los demás tratamientos son estadísticamente similares entre sí por la prueba de Tukey a 5 % de probabilidad.

### Sagú

De manera general, se puede observar en el Cuadro 4 que a las 24 horas del aislamiento de *S. rolfsii*, entre los medios de cultivo, el tratamiento con la mayor área de crecimiento fue la dosis de 70 g.L<sup>-1</sup>; el tratamiento de 80 g.L<sup>-1</sup> presentó el menor crecimiento. A las 48 horas se observa que el mayor crecimiento de la colonia fúngica ocurrió en la dosis de 60 g.L<sup>-1</sup> y el menor crecimiento de la colonia se presenta en la dosis de 80 g.L<sup>-1</sup>. A las 72 horas el mayor crecimiento se constata en el tratamiento control (PDA) y el menor en el tratamiento de 70 g.L<sup>-1</sup>.

Por el análisis de varianza (Cuadro 3) se constató diferencias entre los tratamientos, en los tres

momentos de cuantificación del área colonizada por el hongo, en las cápsulas de Petri.

En relación a la comparación de los valores promedios por la prueba de Tukey al 5 % de probabilidad (Cuadro 4) se observó a las 24 horas los tratamientos sagú 60 y 70 g.L<sup>-1</sup> presentaron el mayor crecimiento del aislamiento de *S. rolfsii*; estos fueron similares entre sí y difieren de los demás. El tratamiento constituido por el PDA presentó un comportamiento estadístico intermedio en relación al crecimiento del hongo, que también difiere de los demás. Finalmente, el grupo formado por los tratamientos con 80 y 90 g.L<sup>-1</sup> que son similares entre sí, difieren de los demás y presentan la menor área de crecimiento de la colonia fúngica de *S. rolfsii*.

A las 48 horas se observó que los tratamientos con sagú a 60 g.L<sup>-1</sup> y el PDA presentaron las mayores áreas de crecimiento del aislamiento fúngico; estos fueron estadísticamente similares entre sí y difieren de los demás, mientras que el tratamiento correspondiente a la dosis de 90 g.L<sup>-1</sup> formó un grupo intermedio de área colonizada; finalmente, las dosis de 70 y 80 g.L<sup>-1</sup> son similares entre sí y presentan las menores áreas de crecimiento de la colonia fúngica.

Cuadro 3. Resumen del análisis de varianza de la variable áreas de crecimiento de las colonias de *Sclerotium rolfsii*, a las 24; 48 y 72 horas después de la siembra en los medios de cultivo con las dosis de sagú.

| Fuente de variación | Grados de libertad | Cuadrados Medios |          |          |
|---------------------|--------------------|------------------|----------|----------|
|                     |                    | Horas            |          |          |
|                     |                    | 24               | 48       | 72       |
| Tratamientos        | 4                  | 0,50**           | 130,81** | 667,62** |
| Error               | 15                 | 0,02             | 17,53    | 44,31    |
| CV (%)              |                    | 8,08             | 14,86    | 16,22    |

Significativo a 1 % de probabilidad por la prueba de F.

Cuadro 4. Valores promedios para las áreas de crecimiento del aislamiento de *Sclerotium rolfsii* en las diferentes dosis de sagú comparadas por la prueba de Tukey a 5 % de probabilidad.

| Tratamientos<br>(sagú g.L <sup>-1</sup> ) | Tiempo de cuantificación (horas) |          |         |
|---|----------------------------------|----------|---------|
|   | 24                               | 48       | 72      |
| 60  | 2,07 a                           | 35,29 a  | 51,27 a |
| 70  | 2,15 a                           | 23,30 b  | 25,89 b |
| 80  | 1,26 c                           | 21,38 b  | 27,82 b |
| 90  | 1,41 c                           | 30,14 ab | 44,35 a |
| PDA <sup>1</sup>                          | 1,75 b                           | 30,71 a  | 54,60 a |

<sup>1</sup>Medio de cultivo constituido de la decocción de 200 g de papa, 15 g de agar y 20 g de sacarosa por litro de agua. En el medio de cultivo empleando sagú, el agar fue sustituido por las dosis indicadas.

A las 72 h se observó la formación de dos grupos estadísticos por la prueba de Tukey a 5 % de probabilidad, el primero formado por los tratamientos con las dosis de 60 y 90 g.L<sup>-1</sup> de sagú y el PDA (Testigo), con los mayores valores de área colonizada y similar entre sí. Por el otro lado, el segundo grupo constituido por los tratamientos con 70 y 80 g.L<sup>-1</sup> que presentaron las menores áreas de crecimiento, similares entre si y diferentes de los demás. No se observó ninguna variación visible en las características de las colonias fúngicas en las diferentes dosis de sagú evaluadas.

Los resultados estadísticos de esta investigación consolidan que hasta las 72 h el área de crecimiento de la colonia de *S. rolfsii* hubo similitud entre el tratamiento PDA (testigo) y la dosis de 125 g.L<sup>-1</sup> de almidón de maíz. Esa dosis siempre estuvo entre los mejores tratamientos en las evaluaciones realizadas a 24 y 48 h en área de crecimiento del fitopatógeno. Para el caso del sagú, la dosis de 60 g.L<sup>-1</sup> de forma consistente superó en área de crecimiento en las dos primeras evaluaciones (24 y 48 h) al tratamiento PDA y, de manera similar a las 72 h fue estadísticamente similar al testigo PDA. Estos hallazgos

consolidan la efectividad de uso del almidón de maíz y del sagú como gelificantes, más aún cuando *S. rolfsii* exhibió un crecimiento normal durante el período de evaluación en todos los tratamientos.

La alternativa de uso del almidón de maíz y del sagú como agentes solidificantes ofrecen una opción en laboratorios donde se emplea con frecuencia medios de cultivos, tanto en estudios de naturaleza fitopatológica como biotecnológica, siendo el primero un almidón manufacturado y el otro un almidón extraído artesanalmente de un tubérculo. Los resultados de estos ensayos, al igual que los obtenidos por Mateen *et al.* (2012) con la goma Guar, producto veinte veces más barato que el agar, que permitió la formación de un mayor número de esporas de los hongos *Alternaria solani* y *Trichoderma harzianum* y el crecimiento de colonias de mayor diámetro de *Alternaria alternata* y *T. harzianum* que el agar, señalan la posibilidad de utilizar otros gelificantes alternativos para el cultivo de hongos fitopatógenos *in vitro*. Sin embargo, Puchooa *et al.* (1999) encontraron que el almidón de maíz, a una dosis de 90 g.L<sup>-1</sup>, indujo la formación del menor número de brotes y el peso fresco y seco más bajo de explantes que los otros gelificantes utilizados en el ensayo de cultivo de tejidos de tabaco.

Kuria *et al.* 2008 resaltan la importancia de utilizar almidones como gelificantes de medios de cultivo para micropropagación, debido a su bajo costo comparado con el agar, disponibilidad en países de bajos recursos. Señalan que la menor fuerza gelificante de los almidones puede resolverse incrementando la dosis del almidón, agregando agar en bajas concentraciones o modificando la composición química de los almidones para incrementar su fuerza solidificante. Estos investigadores destacan la necesidad de continuar las investigaciones en el uso de este compuesto, como solidificante de medio de cultivo. Ante la posibilidad de uso de los almidones o alimentos que los contengan y que actuarían como agentes gelificante, se abre otra alternativa válida y de uso práctico en condiciones de laboratorio para paliar los elevados costos que

implican el empleo del agar, componente importado, como agente solidificante en los medios de cultivo.

## CONCLUSIONES

Tanto el almidón de maíz (Maizina) como el sagú pueden ser empleados como fuentes solidificantes alternativas para los medios de cultivo empleados en condiciones de laboratorio, en relación al crecimiento de la colonia de *S. rolfsii*.

La dosis de almidón de maíz más promisorio fue 125 g.L<sup>-1</sup> y para el caso del sagú fue 60 g.L<sup>-1</sup>.

## LITERATURA CITADA

- Agrawal, A; Sanayaima, R; Tandon, R; Tyagi, RK. 2010. Cost-effective *in vitro* conservation of banana using alternatives of gelling agent (isabgol) and carbon source (market sugar). *Acta Physiologiae Plantarum* 32(4):703-711.
- Alarcón M, F; Dufour, DL. 2002. Almidón agrio de yuca en Colombia. In: Ospina P., Bernardo; Ceballos, Hernán; Álvarez, Elizabeth; Bellotti, Anthony C.; Calvert, Lee A.; Arias V., Bernardo; Cadavid L., Luis Fernando; Pineda L., Benjamín; Llano R., Germán Alberto; Cuervo, Maritza I. (eds.). La yuca en el Tercer Milenio: Sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT); Consorcio Latinoamericano para la Investigación y el Desarrollo de la Yuca; Proyecto IP-3 de Mejoramiento de Yuca, Cali, CO. (Publicación CIAT N° 327). p. 470-502.
- Babbar, SB; Jain, R. 2006. Xanthan Gum: An Economical Partial Substitute for Agar in Microbiological Culture Media. *Current Microbiology* 52(4):287-292.
- Basu, S; Bose, C; Ojha, N; Das, N; Das, J; Pal, M; Khurana, S. 2015. Evolution of bacterial and fungal growth media. *Bioinformation* 11(4):182-184.
- Das, N; Tripathi, N; Basu, S; Bose, C; Maitra, S; Khurana, S. 2015. Progress in the



- development of gelling agents for improved culturability of microorganisms. *Frontiers in Microbiology* 6(698):1-7.
- Di Rienzo JA; Casanoves F; Balzarini MG; González L; Tablada M; Robledo CW. 2017. InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Gangotri, W.; Jain-Raina, R.; and Babbar, SB. 2012. Evaluation of guar gum derivatives as gelling agents for microbial culture media. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 28, 2279–2285.
- Jain, N; Babbar, SB. 2002. Gum katira - a cheap gelling agent for plant tissue culture media. *Plant Cell, tissue and Organ Culture* 71(3):223-229.
- Kuria, P; Demo, P; Nyende, AB; Kahangi, EM. 2008. Cassava starch as an alternative cheap gelling agent for the in vitro micropropagation of potato (*Solanum tuberosum* L.). *African Journal of Biotechnology* 7(3):301-307.
- Kwoseh, CK; Asomani-Darko, M; Adubofour, K. 2012. Cassava starch-agar blend as alternative gelling agent for mycological cultura media. *Botswana Journal of Agricultura Applied Sciences* 8(1):8-15.
- Maliro, MFA; Lameck, G. 2004. Potential of cassava flour as a gelling agent in media for plant tissue cultures. *African Journal of Biotechnology* 3(4):244-247.
- Mateen, A; Hussain, S; Rehman, SU; Mahmood, B; Khan, MA; Rashid, A; Sojail, M; Farooq, M; Shah, SJA. 2012. Suitability of various plant derived gelling agents as agar substitute in microbiological growth media. *African Journal of Biotechnology* 11(45):10362-10367.
- Onuweme, IC. 1982. *The Tropical Crops, Yams, Cassava, Sweet potatoes and Cocoyams*; University of Ife; Ile-Ife, Nigeria, 145p.
- Petrovski, S; Tillett, D. 2012. Back to the kitchen: food-grade agar is a low-cost alternative to bacteriological agar. *Anal. Biochem.* 429(2):140-145.
- Puchooa, D; Purseramen, PN; Rujbally, BR. 1999. Effects of medium support and gelling agent in the tissue culture of tobacco (*Nicotiana tabacum*). *Science and Technology* 3:129-144.
- Rivero C; Sánchez-Cuevas MC; Silva-Acuña, R. 2013. Evaluación de extractos acuosos de diferentes especies vegetales para el control *in vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. *Revista Científica UDO Agrícola* 13(1):66-70.
- Romay, G; Matheus, J ; Gerstl, A; Rueda, R; Santana, M. 2006. Almidón modificado de yuca como sustituto económico del agente solidificante para medios de cultivo de tejidos vegetales. *Interciencia* 31(9):1-7.
- Szabados, L; Nuñez, V; Tello, L; Mafla, G; Roa, J; Rocca, W. 1993. Agentes geletinizadores. En: Rocca, W. y Mroginski, L (Eds). *Cultivo de Tejidos Vegetales en la Agricultura. Fundamentos y Aplicaciones*. CIAT, Colombia, 1-4 p.
- Tamaki, H.; Hanada, S; Sekiguchi Y; Tanaka Y; Kamagata Y. 2009. Effect of gelling agent on colony formation in solid cultivation of microbial community in lake sediment. *Environmental Microbiology* 11(7):1827-1834.
- Teixeira da Silva, JA; and Tanaka, M. 2009. Impact of Gelling Agent and Alternative Medium Additives on Hybrid Cymbidium Protocorm-like Body and Callus Formation. *Floriculture and Ornamental Biotechnology* 3(1):56-58.

## REVISTAS CIENTÍFICAS DEL INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRÍCOLAS INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

Las revistas científicas del INIA, *Agronomía Tropical* y *Zootecnia Tropical*, se fundaron con el propósito de fomentar y mantener el intercambio de información entre los investigadores. Se divulgan resultados de la investigación e innovación en el campo de las ciencias agrícolas animales y vegetales, tanto por el INIA como por otras instituciones, nacionales e internacionales.

*Agronomía Tropical* inicia su publicación en el año 1951, mientras que *Zootecnia Tropical*, está vigente desde el año 1983. Ambas publican trabajos originales que presentan nuevos conceptos o tecnologías en el área agrícola.

*Agronomía Tropical* aborda las áreas temáticas: recursos fitogenéticos, protección vegetal, economía agrícola, edafología, biotecnología agrícola vegetal, tecnología de alimentos, ingeniería agrícola y sistemas de producción agrícola vegetal.

*Zootecnia Tropical* se enfoca en las áreas de producción, salud, genética y reproducción animal de especies de interés zootécnico, tecnología de alimentos de origen animal, pastos, forrajes, acuicultura marítima y continental, entre otros temas de interés.

### Tipo de contribuciones

Las revistas *Agronomía Tropical* y *Zootecnia Tropical* publican cuatro categorías de contribuciones: artículos científicos, notas técnicas, artículo de revisión y trabajos especiales. Los artículos científicos y notas técnicas pueden tener un enfoque cuantitativo o cualitativo.

**Artículo científico.** Documento no mayor a 25 páginas, donde se presentan resultados originales e inéditos. También serán aceptados datos o resultados presentados en resúmenes de congresos o seminarios, a condición de que el artículo completo no aparezca en las memorias del mismo.

**Nota técnica.** Documento de corta extensión con un máximo de 10 páginas, que describe técnicas experimentales, equipos, fenómenos naturales, especies nuevas o resultados parciales de un trabajo de interés. El texto tendrá las mismas secciones del artículo científico.

**Artículo de revisión y trabajo especial.** Documento que presenta reportes y estadísticas de un área temática actualizada de interés colectivo, de orden científico-técnico, con relevancia nacional o internacional en el cual el autor presenta un análisis crítico sobre un tema prioritario o emergente. Este será solicitado por el Comité Editorial a especialistas de trayectoria profesional y experiencia demostrada. Será sometido a las normas de revisión para un artículo científico y su extensión no debe ser mayor a 25 páginas, incluyendo cuadros y figuras.

### Remisión de artículos

Las Revistas *Agronomía Tropical* y *Zootecnia Tropical* recibirán sus trabajos a través de los correos electrónicos: [agronomia.tropical.inia@gmail.com](mailto:agronomia.tropical.inia@gmail.com) o [zootropi@gmail.com](mailto:zootropi@gmail.com), de acuerdo al área de interés. Las contribuciones podrán ser presentadas en español, inglés o portugués, acompañadas de la Carta de Fe, firmada por todos los autores, además de la planilla de datos de cada uno.

### Proceso editorial

Los trabajos recibidos serán evaluados inicialmente por el Comité Editorial, aquellos trabajos que superen la evaluación preliminar serán arbitrados por tres especialistas en el área de conocimiento, mediante el método de "doble ciego". Una vez que el autor reciba las observaciones de los evaluadores, tiene un plazo de 30 días para incorporar las modificaciones sugeridas en el texto y remitir la versión corregida a la revista. Transcurridos 30 días sin recibir respuesta de los autores, el Comité Editorial retirará el trabajo. Es importante destacar que el arbitraje es una orientación para aceptar o rechazar el documento y el Comité Editorial se reserva el derecho de seleccionar los artículos que cumplan con los criterios de calidad y pertinencia establecidos por las revistas.

El Comité Editorial tiene la potestad de ajustar el artículo para mantener la uniformidad de estilo de la revista, después de la edición y corrección de estilo, los autores recibirán la prueba de galera, la cual debe ser cuidadosamente revisada y devuelta al editor en un término máximo de una semana.

Los trabajos que no superen la evaluación preliminar o el proceso de arbitraje serán devueltos a los autores, con notificación de no publicable en la revista. Las apelaciones deben presentarse ante el Editor Jefe, quien revisará la apelación conjuntamente con el Comité Editorial y emitirá un dictamen en un plazo de dos semanas.

### **Formato.**

Los borradores deben ser escritos utilizando los procesadores de textos, como Libre Office Writer o Microsoft Office Word®. Las páginas serán numeradas consecutivamente en el lado inferior derecho, al igual que cada línea del texto, con inicio desde el título; fuente Arial tamaño 12; interlineado 1,5; márgenes a 2,5 cm por los cuatro lados.

En relación con los encabezamientos, el título de la contribución es el único de primer orden, se escribirá centrado en negrilla con la primera letra en mayúscula. Los títulos principales de sección (segundo orden): Resumen, Introducción, Materiales y métodos, Resultados y discusión, Conclusiones, Agradecimientos y Literatura citada, se indicarán centrados en negrilla y mayúsculas. El título de tercer orden, alineado a la izquierda, en negrilla y sólo la letra inicial en mayúscula; el texto continuará debajo del título. El título de cuarto orden, alineado a la izquierda, en negrilla seguido de un punto y sólo la letra inicial en mayúscula, el texto continuará en la misma línea

Los cuadros se presentarán en el mismo archivo del texto, acompañados del respectivo título, ubicado en la parte superior, el cual debe ser concreto y expresar el contenido del mismo, en letra Arial tamaño 11; identificados progresivamente con números arábigos, con orden de aparición inmediatamente después del párrafo donde se menciona por primera vez. El contenido de los cuadros no debe ser duplicado en las figuras. El encabezado de las columnas debe ser conciso e indicar claramente las unidades en que se expresa el contenido. El significado de las abreviaturas utilizadas se desarrollará como pie de cuadro. Cuando se presenten resultados numéricos, deben ir acompañados del nombre de la prueba estadística realizada. Los cuadros serán elaborados utilizando aplicaciones tales como Libre Office Writer, Microsoft Office Word®, Libre Office Calc o Microsoft Office Excel®; y no ser presentados en forma de imagen escaneada.

Las figuras se refieren a cualquier ilustración que se incluya en el trabajo como: gráficos, dibujos, fotografías, esquemas, mapas u otras representaciones, indicadas consecutivamente en el texto. El título se debe colocar en la parte inferior, en letra Arial tamaño 11. Las fotografías se deben presentar en formato JPEG y los gráficos, mapas, dibujos otras representaciones se presentarán en formato PNG. Además de los cuadros y figuras insertados en el texto, deben enviarse los archivos originales en el formato en el que fueron elaborados. Todos los cuadros y figuras deben estar indicados en el texto.

**Título.** Se presentará en español, inglés o portugués, con su respectiva traducción, cónsono con el idioma del manuscrito. Identifica y describe el contenido del trabajo, sin abreviaturas, con un máximo de 20 palabras. Los nombres científicos se incluirán solo para especies poco comunes o cuando sea indispensable.

**Autor(es) y afiliación (es).** Nombres y apellidos completos en minúsculas a excepción de las iniciales. Cuando los autores publican con dos apellidos, deben estar separados con un espacio, salvo aquellos apellidos extranjeros o que por tradición utilicen el guion. Se acompañarán con números en superíndices para identificar la institución a la que pertenece(n) el(los) autor(es) y correos electrónicos. Se incluirá el nombre completo de la institución y sus siglas entre paréntesis, ciudad y país. El autor de correspondencia se identificará con un asterisco.

**Resumen, Abstract o Resumen.** Párrafo entre 200 y 250 palabras, claro y comprensible. Los estudios con enfoque cuantitativo deben indicar brevemente: problema y justificación, objetivo(s), métodos experimentales, resultados y conclusiones, sin exceder el uso de valores numéricos. Para estudios con enfoque cualitativo se deben indicar: objeto de estudio, propósito, metodología, resultados y aproximaciones. El idioma del resumen será como se indica a continuación:

| Idioma del trabajo | Idioma del resumen          |
|--------------------|-----------------------------|
| Español            | Español e Inglés            |
| Inglés             | Inglés y Español            |
| Portugués          | Portugués, Inglés y Español |

**Palabras clave.** Se recomiendan términos simples o compuestos (máximo 6), que permitan identificar el contenido del artículo y que no hayan sido usados en el título. Para seleccionar las palabras clave se sugiere consultar y usar los descriptores del tesoro multilingüe de agricultura (AGROVOC), creado por la FAO u otro similar. Se deben incluir los nombres científicos de los organismos biológicos como palabras clave. Disponible en: <http://aims.fao.org/es/agrovoc>

**Introducción.** Constituye una breve referencia de los antecedentes que motivaron la realización de trabajo; igualmente pueden incluirse la revisión de literatura con las investigaciones más recientes que aporten ideas fundamentales para la realización del trabajo. También incluirá el objetivo del mismo.

**Materiales y Métodos o Metodología.** Esta sección debe ser clara y precisa, de manera suficiente para permitir la repetitividad del ensayo. Para estudios con enfoque cuantitativo, seguir un ordenamiento lógico de las técnicas empleadas y los materiales utilizados. Los procedimientos analíticos y estadísticos utilizados tienen que ser citados como referencias bibliográficas, describiendo solo las modificaciones o lo novedoso. Las investigaciones de campo deberán incluir una breve descripción agroclimática de la localidad donde se efectuó el trabajo. Cuando las contribuciones tengan un enfoque cualitativo se debe indicar el marco teórico que describe brevemente conceptos y modelos que orientaron la investigación; así como métodos, técnicas y procedimientos de acopio de la información, al igual que de procesamiento y validación de datos.

**Resultados y discusión o Resultados y hallazgos.** El contenido debe ser coherente con los objetivos señalados en la introducción. Es necesario detallar los resultados en orden lógico y de forma objetiva y secuencial. La información cuantitativa se podrá presentar en cuadros y figuras. La literatura citada no debe exceder de tres autores por idea a discutir.

**Conclusiones o Aproximaciones.** Deben responder al problema de la contribución. Indicar, de manera breve y precisa, los hallazgos más relevantes de la investigación, es decir, aquellos que constituyan un aporte significativo para el avance del campo temático explorado, además de brindar orientación para futuras investigaciones. Las conclusiones o aproximaciones no deben ser ambiguas, ni basarse en suposiciones.

**Agradecimientos.** Se incluirán los reconocimientos a aquellas personas que hayan realizado contribuciones sustanciales al trabajo, como: técnicos, productores, comunidades y revisores, entre otros. Igualmente, para reconocer a las instituciones que financiaron la investigación parcial o totalmente. El párrafo de esta sección debe ser breve, hasta un máximo de 10 líneas.

**Literatura citada.** Debe ser actualizada, con excepción de trabajos clásicos que se requiera incluir. Se debe ajustar al documento “Redacción de referencias bibliográficas: normas técnicas para ciencias agroalimentarias / IICA, CATIE” (2016). 5a ed. Disponible en: <http://repositorio.iica.int/bitstream/11324/6570/1/BVE18029707e.pdf>

### CONSIDERACIONES DE ESTILO

- La redacción del manuscrito será en voz activa y se debe utilizar la forma impersonal o tercera persona del singular.
- Restringir el uso del gerundio, utilice esta forma verbal únicamente para demostrar dos acciones que se realizan a la vez.
- Las palabras cuadro y figura se escriben, en el texto, con la primera letra en mayúscula.
- Las siglas deben ser escritas en mayúscula y entre paréntesis en su primera aparición en el texto y antecedidas por el término completo al que se refiere, a excepción de las unidades de medida.
- Los nombres de las variedades, cultivares e híbridos deberán acompañarse de comillas simples sólo cuando se mencionen por primera vez en el resumen, abstract o cuerpo del artículo. Esto siempre y cuando no le anteceda la palabra variedad o cultivar, en cuyo caso no se utilizarán.
- Los suelos deben ser identificados taxonómicamente; si el nombre de la serie no es conocido, deberá señalarse la familia.
- Los nombres de productos comerciales deben evitarse, utilizándose el nombre genérico o principio activo. En caso de ser estrictamente necesario, su uso debe acompañarse por el símbolo®.
- Los símbolos no tienen plural ni llevan punto (.) después de estos, y solo se escriben en mayúsculas aquellos derivados de nombre propios (Celsius, Kelvin, Joule, entre otros). Las siglas tampoco tienen plural, esto se mostrará con las palabras acompañantes, ejemplo: los SNP.
- Los decimales se deben separar con coma (,) y las unidades de mil o millón se expresarán con punto (.).

**Nomenclatura.** Se recomienda el uso del Sistema Métrico Decimal (SI) para la expresión de las unidades. Para los trabajos, los autores utilizarán las convenciones del International Code of Botanical Nomenclature, el International Code of Nomenclature of Bacteria, y el International Code of Zoological Nomenclature. Para la nomenclatura química se utilizará la International Union of Pure and Applied Chemistry, así como la Commission on Biochemical Nomenclature.

Para la nomenclatura de genes y proteínas, se recomienda utilizar los símbolos internacionalmente aceptados; los símbolos específicos pueden ser obtenidos en la base de datos de genes de Pubmed <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>. Las normas de nomenclatura para ganado y otras especies están disponibles en <http://www.genenames.org>, mientras que para ratones y ratas están disponibles en <http://www.informatics.jax.org/mgihome//nomen/strains.shtml>.

En cuanto a los polimorfismos nucleotídicos simples (SNP), deben ser identificados con su número de referencia único (rs) o el número de presentación (ss), como se indica en la base de datos pública dbSNP <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>.

En referencia a la nomenclatura de las mutaciones y otras variaciones en la secuencia de ADN, favor visitar [www.hgvs.org/](http://www.hgvs.org/) página oficial de la Genome Variation Society (HGVS).

A continuación, se presenta una lista de abreviaturas y símbolos para la expresión de términos y unidades de medida de uso común:



| <b>Término</b>                | <b>Símbolo</b> | <b>Término</b>                | <b>Símbolo</b> |
|-------------------------------|----------------|-------------------------------|----------------|
| Metros sobre el nivel del mar | m.s.n.m.       | Población total               | N              |
| Índice de conversión          | IC             | Probabilidad                  | P              |
| Peso al nacer                 | PN             | Coefficiente de variación     | CV             |
| Peso al destete               | PD             | Coefficiente de correlación   | r              |
| Bloques multinutricionales    | BM             | Coefficiente de determinación | R2             |
| Consumo de materia seca       | CMS            | Desviación estándar           | DE             |
| Energía digestible            | ED             | Error experimental            | EE             |
| Energía metabolizable         | EM             | Grados de libertad            | GL             |
| Fibra ácido detergente        | FAD            | Heredabilidad                 | h2             |
| Fibra de detergente neutra    | FDN            | Materia Orgánica              | MO             |
| Ganancia diaria de peso       | GDP            | Materia Seca                  | MS             |
| Aminoácido                    | aa             | Nitrógeno no proteico         | NNP            |
| Ad libitum                    | Ad lib         | Proteína Cruda                | PC             |
| Ácido Graso Volátil           | AGV            | Cantidad de sustancia         | mol            |
| Partes por millón             | ppm            |                               |                |

| <b>Unidad</b>          | <b>Símbolo</b> | <b>Unidad</b>         | <b>Símbolo</b> |
|------------------------|----------------|-----------------------|----------------|
| Gramo                  | g              | Hora                  | h              |
| Kilogramo              | kg             | Minuto                | min            |
| Gramos por kilogramo   | g.kg-1         | Segundo               | s              |
| Miligramos             | mg             | Porcentaje            | %              |
| Kilocalorías           | kcal           | Por mil               | ‰              |
| Kilogramo por hectárea | kg.ha-1        | Hectárea              | ha             |
| Kilómetro              | km             | Tonelada              | t              |
| Litro                  | L              | Tonelada por hectárea | t.ha-1         |
| Gramos por litro       | g.L-1          | Grados Celsius        | °C             |
| Mililitros             | mL             | Grados Fahrenheit     | °F             |
| Mililitros por litro   | mL.L-1         | Grados Kelvin         | °K             |
| Metro                  | m              | Joule                 | J              |
| Metro cuadrado         | m <sup>2</sup> | Milímetro             | mm             |
| Metro cúbico           | m <sup>3</sup> | Micrometro            | µm             |
| Decímetro              | dm             | Miliequivalente       | meq            |
| Centímetro             | cm             | Caloría               | cal            |

**CONSIDERACIONES ÉTICAS**

**Autoría.** Se incluirán como autores a las personas que hayan realizado contribuciones en la formulación del ensayo, diseño experimental, obtención de data cruda, aplicación del método estadístico, análisis de datos, interpretación de resultados, así como redacción del manuscrito o investigación bibliográfica.

**Originalidad.** Los trabajos sometidos para arbitraje y probable publicación deben ser inéditos, por lo tanto, se presentará una carta de fe donde el (los) autor(es) manifiestan que el mismo no ha sido enviado a otra(s) revista(s).

**Integridad.** La alteración de resultados y el plagio (alusión de resultados de otros investigadores sin dar crédito con la cita bibliográfica correspondiente) se considera inadmisibles y no ético.

**Conflicto de intereses.** Los autores presentarán por escrito, no mantener vínculos de interés comercial o personal en la investigación que dio origen al manuscrito sometido.



Gobierno  
**Bolivariano**  
de Venezuela

Ministerio del Poder Popular  
para la **Agricultura Productiva y Tierras**