

VOL X

# AGRÁRIAS

PESQUISA E INOVAÇÃO NAS CIÊNCIAS QUE  
ALIMENTAM O MUNDO

EDUARDO EUGÊNIO  
SPERS  
(Organizador)

 EDITORA  
ARTEMIS

2023

VOL X

# AGRÁRIAS

PESQUISA E INOVAÇÃO NAS CIÊNCIAS QUE  
ALIMENTAM O MUNDO

EDUARDO EUGÊNIO  
SPERS  
(Organizador)

 EDITORA  
ARTEMIS

2023



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

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

<b>Editora Chefe</b>	Prof. <sup>a</sup> Dr. <sup>a</sup> Antonella Carvalho de Oliveira
<b>Editora Executiva</b>	M. <sup>a</sup> Viviane Carvalho Mocellin
<b>Direção de Arte</b>	M. <sup>a</sup> Bruna Bejarano
<b>Diagramação</b>	Elisangela Abreu
<b>Organizador</b>	Prof. Dr. Eduardo Eugênio Spers
<b>Imagem da Capa</b>	Shutterstock
<b>Bibliotecário</b>	Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

#### Conselho Editorial

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



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

Prof.ª Dr.ª Maria Lúcia Pato, Instituto Politécnico de Viseu, Portugal  
Prof.ª Dr.ª Maritza González Moreno, *Universidad Tecnológica de La Habana, Cuba*  
Prof.ª Dr.ª Mauriceia Silva de Paula Vieira, Universidade Federal de Lavras, Brasil  
Prof.ª Dr.ª Ninfa María Rosas-García, Centro de Biotecnología Genómica-Instituto Politécnico Nacional, México  
Prof.ª Dr.ª Odara Horta Boscolo, Universidade Federal Fluminense, Brasil  
Prof. Dr. Osbaldo Turpo-Gebera, *Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Peru*  
Prof.ª Dr.ª Patrícia Vasconcelos Almeida, Universidade Federal de Lavras, Brasil  
Prof.ª Dr.ª Paula Arcoverde Cavalcanti, Universidade do Estado da Bahia, Brasil  
Prof. Dr. Rodrigo Marques de Almeida Guerra, Universidade Federal do Pará, Brasil  
Prof. Dr. Saulo Cerqueira de Aguiar Soares, Universidade Federal do Piauí, Brasil  
Prof. Dr. Sergio Bitencourt Araújo Barros, Universidade Federal do Piauí, Brasil  
Prof. Dr. Sérgio Luiz do Amaral Moretti, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil  
Prof.ª Dr.ª Silvia Inés del Valle Navarro, *Universidad Nacional de Catamarca, Argentina*  
Prof.ª Dr.ª Solange Kazumi Sakata, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN)- USP, Brasil  
Prof.ª Dr.ª Stanislava Kashtanova, *Saint Petersburg State University, Russia*  
Prof.ª Dr.ª Teresa Cardoso, Universidade Aberta de Portugal  
Prof.ª Dr.ª Teresa Monteiro Seixas, Universidade do Porto, Portugal  
Prof. Dr. Valter Machado da Fonseca, Universidade Federal de Viçosa, Brasil  
Prof.ª Dr.ª Vanessa Bordin Viera, Universidade Federal de Campina Grande, Brasil  
Prof.ª Dr.ª Vera Lúcia Vasilévski dos Santos Araújo, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Brasil  
Prof. Dr. Wilson Noé Garcés Aguilar, *Corporación Universitaria Autónoma del Cauca, Colômbia*  
Prof. Dr. Xosé Somoza Medina, *Universidad de León, Espanha*

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**(eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)**

A277 Agrárias [livro eletrônico] : pesquisa e inovação nas ciências que alimentam o mundo X / Organizador Eduardo Eugênio Spers. – Curitiba, PR: Artemis, 2023.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

Edição bilíngue

ISBN 978-65-81701-05-5

DOI 10.37572/EdArt\_301123055

1. Ciências agrárias – Pesquisa. 2. Agronegócio. 3. Sustentabilidade.  
I. Spers, Eduardo Eugênio.

CDD 630

**Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422**



## APRESENTAÇÃO

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

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

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

Este Volume X traz 14 trabalhos de estudiosos de diversos países, divididos em dois eixos temáticos: *Produtividade e eficiência na produção vegetal* e *Sustentabilidade e reaproveitamento produtivo*.

Desejo a todos uma ótima leitura!

Eduardo Eugênio Spers

## SUMÁRIO

### PRODUTIVIDADE E EFICIÊNCIA NA PRODUÇÃO VEGETAL

#### **CAPÍTULO 1..... 1**

HIDROGELES DE QUITOSANO Y POLIACRILAMIDA SOBRE LAS PROPIEDADES EDÁFICAS Y EL CRECIMIENTO DE *Lupinus exaltatus*

Néstor Gutiérrez Pérez

Elizabeth García Gallegos

Oscar Gumersindo Vázquez Cuecuecha

Elizabeth Hernández Acosta

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_3011230551](https://doi.org/10.37572/EdArt_3011230551)

#### **CAPÍTULO 2..... 10**

FERTILIZANTE DE LENTA LIBERACIÓN COMPLEMENTARIO AL FERTIRRIEGO Y SU EFECTO EN PRODUCCIÓN DE LIMA MEXICANA

José C. García-Preciado

Silvia H. Carrillo Medrano

Miguel A. Manzanilla Ramírez

María Guzmán Martínez

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_3011230552](https://doi.org/10.37572/EdArt_3011230552)

#### **CAPÍTULO 3..... 17**

COLORIMETRIC CHARACTERISATION OF TROPICAL WOODS

José Amador Honorato-Salazar

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_3011230553](https://doi.org/10.37572/EdArt_3011230553)

#### **CAPÍTULO 4..... 26**

PANORAMA AGROECONÓMICO DE LA GUANÁBANA (*Annona muricata*) EN AMÉRICA

Emma Gloria Ramos Ramírez

Carlos García Pérez

María del Pilar Méndez Castrejón

Juan Alfredo Salazar Montoya

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_3011230554](https://doi.org/10.37572/EdArt_3011230554)

**CAPÍTULO 5..... 38**

DESCRIPCIÓN FÍSICA DE SEMILLAS DE GENOTIPOS DE MAÍZ AZUL

Germán Fernando Gutiérrez-Hernández

José Luis Arellano-Vázquez

Luis Fernando Ceja-Torres

Estela Flores-Gómez

Patricia Vázquez-Lozano

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_3011230555](https://doi.org/10.37572/EdArt_3011230555)

**CAPÍTULO 6..... 44**

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE MALEZAS TOLERANTES AL GLIFOSATO

David Antonio Moreno Medina

Carmen Yazmin Rojas Cardona

Alma Cuellar Sánchez

Victor Becerra Ruiz

Esteban Montiel Palacios

José Luis Gadea Pacheco

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_3011230556](https://doi.org/10.37572/EdArt_3011230556)

**CAPÍTULO 7..... 53**

ENFERMEDADES DE IMPORTANCIA ECONÓMICA EN EL CULTIVO DE LA CAÑA DE AZÚCAR (*SACCHARUM* SPP.) EN MÉXICO

Manuel de Jesús Bermúdez Guzmán

Francisco Javier Delgado Virgen

Jeovani Francisco Cervantes Preciado

Mario Orozco Santos

Claudia Yared Michel López

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_3011230557](https://doi.org/10.37572/EdArt_3011230557)

**CAPÍTULO 8..... 88**

APERTURAS Y ESTRATEGIAS COMO MÉTODO EN LA ENSEÑANZA AGROPECUARIA

Rafael Menendez

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_3011230558](https://doi.org/10.37572/EdArt_3011230558)



**CAPÍTULO 9.....92**

COMPOSTAJE-VERMICOMPOSTAJE, APROVECHAMIENTO SECUENCIAL DE RESIDUOS VINÍCOLAS: PRIMEROS RESULTADOS

Manuela Andrés Abellán  
Marta Isabel Picazo Córdoba  
Consolación Wic Baena  
Manuela Rubio García  
Rocío Ballesteros González  
Francisco Ramón López Serrano  
Francisco Antonio García Morote  
Eva María Rubio Caballero  
Soledad Ramírez Guijarro  
José Manuel Flores López-Pintor  
Carlos García Izquierdo

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_3011230559](https://doi.org/10.37572/EdArt_3011230559)

**CAPÍTULO 10..... 100**

BIOPROCESOS PARA EL TRATAMIENTO DE FECAS CANINAS

Ian Homer Bannister  
María Teresa Varnero  
Fabian Abarza Villalobos

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_30112305510](https://doi.org/10.37572/EdArt_30112305510)

**CAPÍTULO 11..... 114**

AS BEBIDAS DE LEGUMINOSAS COMO ALTERNATIVA AO LEITE: BEBIDAS DE GRÃO-DE-BICO E DE TREMOÇO COM DIGESTIBILIDADE MELHORADA E POTENCIAL BIOACTIVO PARA A SAÚDE HUMANA

Carla Margarida Duarte  
Joana Mota Guerreiro  
Ricardo Manuel Assunção  
Carla Martins  
Ana Cristina Ribeiro  
Ana Isabel Lima  
Anabela Raymundo  
Maria Cristiana Nunes  
Ricardo Boavida Ferreira

Isabel de Sousa

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_30112305511](https://doi.org/10.37572/EdArt_30112305511)

**CAPÍTULO 12 .....142**

USO DE ACOLCHADOS PLÁSTICOS PARA REDUCIR EL IMPACTO DEL HUANGLONGBING Y PROMOVER PRECOCIDAD DE LA PRODUCCIÓN EN LIMÓN MEXICANO

Mario Orozco Santos

Manuel de Jesús Bermúdez Guzmán

Karina de la Paz García Mariscal

José Concepción García Preciado

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_30112305512](https://doi.org/10.37572/EdArt_30112305512)

**CAPÍTULO 13 .....162**

MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF MIXED PIGS FOR SUSTAINABILITY IN THE LEGAL AMAZON, BRAZIL

Leandro Macedo Miranda

Thiago Machado da Silva Acioly

Diego Carvalho Viana

Valene da Silva Amarante

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_30112305513](https://doi.org/10.37572/EdArt_30112305513)

**CAPÍTULO 14 .....172**

MICROORGANISMOS E RESÍDUO AGROINDUSTRIAL VISANDO INCREMENTOS NA FERTILIDADE DE UM SOLO DEGRADADO

Jéssica Alves de Oliveira

Diego Gonçalves Feitosa

Flávia Mendes dos Santos Lourenço

Katia Luciene Maltoni

Ana Maria Rodrigues Cassiolato

 [https://doi.org/10.37572/EdArt\\_30112305514](https://doi.org/10.37572/EdArt_30112305514)

**SOBRE O ORGANIZADOR.....183**

**ÍNDICE REMISSIVO ..... 184**

# CAPÍTULO 1

## HIDROGELES DE QUITOSANO Y POLIACRILAMIDA SOBRE LAS PROPIEDADES EDÁFICAS Y EL CRECIMIENTO DE *Lupinus exaltatus*<sup>1</sup>

Data de submissão: 10/11/2023

Data de aceite: 24/11/2023

**Néstor Gutiérrez Pérez**

Universidad Autónoma de Tlaxcala

Centro de Investigación en

Genética y Ambiente

Tlaxcala, México

<https://orcid.org/0009-0004-0014-348X>

**Elizabeth García Gallegos<sup>2</sup>**

Universidad Autónoma de Tlaxcala

Centro de Investigación en

Genética y Ambiente

Tlaxcala, México

<https://orcid.org/0000-0001-6430-2866>

**Oscar Gumersindo Vázquez Cuecuecha**

Universidad Autónoma de Tlaxcala

Centro de Investigación en

Genética y Ambiente

Tlaxcala, México

<https://orcid.org/0000-0001-7482-5521>

**Elizabeth Hernández Acosta**

Universidad Autónoma Chapingo

Departamento de Suelos

Texcoco Estado de México, México

<https://orcid.org/0000-0002-1409-1623>

<sup>1</sup> El origen del trabajo deriva de proyecto de investigación a nivel maestría y fue parte de él presentado en la XII Reunión Nacional de Investigación Forestal, de las Reuniones Científicas 2023 del INIFAP-México.

<sup>2</sup> Autor de correspondencia: [egarciag@uatx.mx](mailto:egarciag@uatx.mx)

**RESUMEN:** Una alternativa para rehabilitar suelos degradados es el uso de hidrogeles, lo que permite mantener la humedad en el suelo. El objetivo del trabajo consistió en evaluar un hidrogel a base de quitosano y uno comercial de poli(acrilamida sobre las propiedades del suelo y variables de crecimiento de la leguminosa *Lupinus exaltatus*. Se realizó la preparación del hidrogel de quitosano y posteriormente junto con el de poli(acrilamida se verificó que el hidrogel de quitosano absorbió 117 % de agua y el de poli(acrilamida 144 %. Posteriormente, se estableció un diseño experimental en bloques al azar con un arreglo factorial 2 × 4, dos tipos de hidrogel (quitosano y poli(acrilamida) y cuatro dosis (0, 1.5, 3 y 4.5 g kg<sup>-1</sup>) y la leguminosa *L. exaltatus*. A los 90 días se trasplantó la planta de acuerdo con el diseño experimental, al término, a los 161 días, se determinaron las propiedades físicas, químicas y biológicas en suelo y en planta se evaluó la supervivencia, altura de planta, volumen radical, número de nódulos y biomasa seca. Los resultados mostraron que la densidad aparente disminuyó y por consecuencia aumentó la porosidad a una dosis de quitosano de 3 g kg<sup>-1</sup>, el pH se mantuvo como moderadamente ácido, la materia orgánica tuvo un valor mayor con 4.5 g kg<sup>-1</sup>, así mismo la actividad microbiana, dada su condición orgánica de este hidrogel. El N total no tuvo una variación en los diferentes tratamientos, no así en fósforo. Al evaluar las variables de crecimiento de *L. exaltatus* si bien no existieron diferencias significativas entre

tipo de hidrogel y dosis, se puede mencionar que el empleo de quitosano en dosis de 3 y 4.5 g kg<sup>-1</sup> favoreció el establecimiento de esta leguminosa, lo que permite que este hidrogel sea empleado en prácticas de rehabilitación de suelos degradados.

**PALABRAS CLAVE:** Polímero natural. Polímero sintético. Quitina. Leguminosas. Conservación del suelo.

## CHITOSAN AND POLYACRYLAMIDE HYDROGELS ON EDAPHIC PROPERTIES AND THE GROWTH OF *LUPINUS EXALTATUS*

**ABSTRACT:** An alternative to rehabilitate degraded soils is the use of hydrogels, which allows maintaining soil moisture. The objective of this work was to evaluate a chitosan-based hydrogel and a commercial polyacrylamide hydrogel on soil properties and growth variables of the legume *Lupinus exaltatus*. The chitosan hydrogel was prepared and then, together with the polyacrylamide hydrogel, it was verified that the chitosan hydrogel absorbed 117 % of water and the polyacrylamide hydrogel 144 %. Subsequently, a randomized block experimental design was established with a 2 × 4 factorial arrangement, two types of hydrogel (chitosan and polyacrylamide) and four doses (0, 1.5, 3 and 4.5 g kg<sup>-1</sup>) and the legume *L. exaltatus*. At 90 days, the plant was transplanted according to the experimental design, and at the end, at 161 days, the physical, chemical and biological properties were determined in soil and in plant survival, plant height, root volume, number of nodules and dry biomass were evaluated. The results showed that bulk density decreased and consequently porosity increased at a chitosan dose of 3 g kg<sup>-1</sup>, pH remained moderately acidic, organic matter had a higher value at 4.5 g kg<sup>-1</sup>, as well as microbial activity, given the organic condition of this hydrogel. Total N did not vary in the different treatments, but phosphorus did not. When evaluating the growth variables of *L. exaltatus*, although there were no significant differences between hydrogel type and dose, it can be mentioned that the use of chitosan in doses of 3 and 4.5 g kg<sup>-1</sup> favored the establishment of this legume, which allows this hydrogel to be used in rehabilitation practices of degraded soils.

**KEYWORDS:** Natural polymer. Synthetic polymer. Chitin. Legumes. Soil conservation.

### 1 INTRODUCCIÓN

El suelo es un recurso natural no renovable que proporciona diversos servicios ecosistémicos; sin embargo, el crecimiento de la población, el cambio de uso de suelo, la explotación no sostenible, la erosión, el cambio climático y la contaminación han ocasionado que este recurso se degrade y ha traído como consecuencia la pérdida de la cubierta vegetal, materia orgánica, cambios en el pH, compactación, lixiviación de nutrientes y reducción de la actividad microbiana del suelo (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2020). Por lo que es de suma importancia buscar la rehabilitación del suelo para su mejor aprovechamiento y de esta manera poder destinarse a otros usos (Delgado-Baquerizo et al., 2013).

La rehabilitación de los suelos degradados consiste en restablecer sus principales funciones al mejorar sus propiedades físicas, químicas y biológicas, para lograrlo se pueden implementar diferentes estrategias, tales como el uso de biopolímeros (Pillai et al., 2009). Los hidrogeles son una alternativa efectiva para la conservación de los recursos hídricos y del suelo, debido a que mejoran la liberación y retención de agua, logran una mayor productividad y proporcionan resistencia a las especies vegetales bajo condiciones de estrés hídrico (Barón-Cortes et al., 2007).

Uno de estos biopolímeros utilizados para elaborar hidrogel es el derivado de la quitina, segundo biopolímero natural más abundante después de la celulosa, que se le encuentra como uno de los principales componentes del caparazón de crustáceos, también contenido en la pluma de la pata, en las paredes celulares de los hongos y en el exoesqueleto de algunos insectos. El quitosano es un compuesto químico resultante de la desacetilación de la quitina, recientemente, esta sustancia ha recibido mucha atención, particularmente en aplicaciones agrícolas, debido a que potencializa el crecimiento radicular de las plantas, como agente antimicrobiano en el suelo, mejora propiedades del suelo, actúa como un gel controlador del deterioro de los productos post cosecha durante su almacenamiento y exportación, así como en la elaboración de cubiertas de fertilizantes para su liberación controlada (Bauer y Villegas, 2022).

Particularmente en las plantas El-Saied (2016) refiere que los hidrogeles son apropiados para aumentar el crecimiento, desarrollo y productividad de las plantas, tal es el caso de las leguminosas, las cuales aunado a su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico permiten recuperar por un lado, la fertilidad del suelo y por otro lado, realizar una mayor absorción y liberación controlada de agua, lo que ha permitido aplicarlos para resolver diferentes problemas en el área agrícola y forestal (Clemente et al., 2004).

Por lo que, el objetivo del presente trabajo consistió en evaluar el efecto de la aplicación de hidrogeles a base de quitosano y poliácridamida sobre las propiedades edáficas y el crecimiento de la leguminosa *Lupinus exaltatus*.

## 2 MATERIALES Y MÉTODOS

El quitosano a utilizar HUNAB® presentó un grado de desacetilación del 94.8 %, fue disuelto en 3 % m/v con ácido acético al 2 % v/v y se reticuló con glutaraldehído al 12.5 %. Al final del procedimiento, tuvo un 117 % de hinchamiento, lo que le confiere ser considerado un hidrogel superabsorbente. Por otro lado, el hidrogel Hidro-Gel® de poliácridamida presentó un 144 % de hinchamiento.

En campo se estableció un diseño experimental en bloques completamente al azar con un arreglo factorial de 2 x 4, el primer factor fueron dos tipos de hidrogel (quitosano y poliácridamida) y el segundo factor la dosis de hidrogel (0, 1.5, 3 y 4.5 g kg<sup>-1</sup> de suelo), lo que dio un total de 8 tratamientos con 3 repeticiones. Se establecieron 6 bloques, 24 unidades experimentales por bloque con un total de 144 plantas. La planta indicadora fue la leguminosa *L. exaltatus*, esta planta tiene las características de adaptarse a suelos con baja fertilidad.

El establecimiento del experimento consistió en desinfectar las semillas con agua oxigenada al 30% e hipoclorito de sodio al 5 %, para luego escarificar de forma mecánica. Se empleó un sustrato compuesto por corteza de pino, aserrín y agrolita en una proporción de 2:1:1 (p/p/p) para la germinación. Posterior, a los 90 días de crecimiento en condiciones controladas, las plántulas se trasplantaron, siguiendo el diseño experimental. El suelo previo a establecer los tratamientos presentó un pH de 4.9, materia orgánica de 1.35 %, densidad aparente de 1.38 g cm<sup>-3</sup>, porosidad del 44.9 %, humedad gravimétrica de 6.10 % y una textura arenosa.

A los 161 días de haber establecido el experimento se recolectaron 47 muestras simples de la zona rizosférica de *L. exaltatus* para secar a temperatura ambiente a la sombra por 24 h y tamizar por un tamiz con abertura de 2 mm de diámetro. Se determinó, densidad aparente, humedad gravimétrica, pH, materia orgánica, N total, fósforo extractable, todo de acuerdo con lo que indica la NOM-021-SEMARNAT-2000 (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT], 2002). La actividad microbiana por el método incubación en medio cerrado (CO<sub>2</sub>) como señala Anderson (1982). En planta se evaluó la supervivencia de la planta, altura de planta, longitud de la raíz, conteo de nódulos en la raíz y biomasa seca.

A los datos se les verificaron los supuestos homogeneidad de varianzas (Levene) y normalidad (Shapiro-Wilks) para someterlos a un análisis de varianza y a una prueba de comparación de medias Tukey a un valor de significancia ( $p < 0.05$ ). Para analizar los datos se empleó un modelo lineal de efectos mixtos;  $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$ , donde,  $Y_{ijk}$  = variable respuesta,  $\mu$  = media,  $\alpha_i$  = efecto del i-ésimo tratamiento,  $\beta_j$  = efecto del j-ésimo bloque,  $(\alpha\beta)_{ij}$  = efecto de la interacción entre el i-ésimo tratamiento y el j-ésimo bloque y  $\epsilon_{ijk}$  = error experimental. Todo lo anterior a través del programa estadístico InfoStat versión libre 2020.

### 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza de las propiedades edáficas y variables de planta se muestran en el cuadro 1, se observan diferencias estadísticamente significativas en la

humedad gravimétrica por tipo de hidrogel y por dosis probadas de cada hidrogel, por dosis la densidad aparente, pH y materia orgánica del suelo. En cuanto a la leguminosa *L. exaltatus*, las variables determinadas no presentaron diferencias significativas por tipo de hidrogel y dosis.

Cuadro 1. Valores de significancia en las propiedades edáficas y *L. exaltatus* a los 161 días.

Parámetros edáficos	Significancia (valor p)	
	Hidrogel	Dosis
Densidad aparente (g cm <sup>-3</sup> )	0.4123	0.0001
Humedad gravimétrica (%)	0.0083	0.0001
pH	0.4137	0.0001
Conductividad eléctrica (dS m <sup>-1</sup> )	0.1854	0.2424
Materia orgánica (%)	0.2306	0.0001
Actividad microbiana (mg C-CO <sub>2</sub> g <sup>-1</sup> 24 h <sup>-1</sup> )	0.6948	0.6010
<b>Variables de la planta</b>		
Supervivencia (%)	0.4961	0.4523
Altura de planta (cm)	0.4464	0.7539
Volumen radical (cm <sup>3</sup> )	0.9639	0.1865
No. nódulos	0.2160	0.5853
Biomasa seca (g)	0.7896	0.2626

Con el hidrogel de quitosano el valor de la densidad aparente (Cuadro 2) disminuyó en el tratamiento con 3.0 g kg<sup>-1</sup>, respecto al testigo, así mismo con el hidrogel de poliacrilamida, pero su valor aumento al incrementarse la dosis de este. La NOM-021-SEMARNAT-2000 (SEMARNAT, 2000) para suelos volcánicos menciona que la densidad aparente debe ser menor a 1 g cm<sup>-3</sup>, por lo que aún los valores indican una compactación que se refleja en una menor porosidad del suelo. En cuanto a la humedad esta aumentó con la aplicación de los hidrogeles a una dosis de 4.5 g kg<sup>-1</sup>. Los hidrogeles pueden modificar las propiedades edáficas, debido a que tienen la característica de absorber varias veces su peso en agua. Rivas-García et al. (2021) mencionan que un hidrogel es un complemento para los suelos arenosos, debido a su alta capacidad de retener humedad. Además, influyen en la porosidad, estructura del suelo y la infiltración, cambios que pueden ser permanentes o temporales, todo va a depender de las situaciones en las cuales se utilicen los hidrogeles (El-Saied et al., 2016).

Cuadro 2. Análisis de varianza de las propiedades edáficas y *L. exaltatus*.

Parámetros edáficos	Quitosano			Poliacrilamida			Testigo
	1.5 g kg <sup>-1</sup>	3.0 g kg <sup>-1</sup>	4.5 g kg <sup>-1</sup>	1.5 g kg <sup>-1</sup>	3.0 g kg <sup>-1</sup>	4.5 g kg <sup>-1</sup>	
Densidad aparente (g cm <sup>-3</sup> )	1.39 b	1.34 b	1.35 b	1.39 b	1.42 b	1.41 b	1.46 a
Humedad (%)	8.30 b	12.77 a	12.75 b	7.34 b	8.09 b	12.75 a	6.42 b
pH	4.88 b	5.01 b	5.40 a	4.78 b	4.95 b	4.97 a	4.70 b
CE (dS m <sup>-1</sup> )	0.02 a	0.02 a	0.02 a	0.02 a	0.02 a	0.02 a	0.02 a
Materia orgánica (%)	1.68 b	1.76 b	2.20 a	1.46 b	1.61 b	2.0 a	1.38 b
Actividad microbiana (mg C-CO <sub>2</sub> g <sup>-1</sup> 24 h <sup>-1</sup> )	18.82 b	13.50 b	33.0 a	17.20 b	30.0 a	16.0 b	16.47 b
N total (%)	0.12'	0.10	0.11	0.08	0.11	0.09	0.09
Fósforo (mg kg <sup>-1</sup> )	6.89'	8.31	7.66	7.31	7.46	6.71	7.35

Medias con la misma letra por fila son iguales ( $p > 0.05$ ). 'Valores de muestras compuestas.

El pH fue significativamente mayor con el tratamiento 4.5 g kg<sup>-1</sup> de hidrogeles en comparación con el testigo, clasificándose como moderadamente ácido (5-1-6.5) de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000 (SEMARNAT, 2000). La conductividad eléctrica no presentó incremento o disminución para cualquiera de las dosis de hidrogel de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000 (SEMARNAT, 2000) para valores < 1 dS m<sup>-1</sup>, lo que indica que el suelo tuvo efectos despreciables de salinidad. Katime et al. (2004) mencionan que un suelo con hidrogel reduce el contenido de sales. El contenido de materia orgánica fue también mayor en el tratamiento de 4.5 g kg<sup>-1</sup> de quitosano y de poliacrilamida, sin embargo, al comparar el valor con el que establece la normatividad mexicana para suelos volcánicos, este fue considerado pobre (<4.0%). En cuanto a la actividad microbiana esta fue mayor con el hidrogel de quitosano en una concentración de 4.5 g kg<sup>-1</sup>; mientras que, para el hidrogel de poliacrilamida presento mayor actividad con la concentración de 3 g kg<sup>-1</sup>, disminuyendo a mayor dosis de hidrogel (Cuadro 2).

Respecto al contenido de N total, éste tuvo un ligero incremento con respecto al testigo en los tratamientos con quitosano y poliacrilamida, pero los valores se encuentran dentro de la clase baja para suelos volcánicos (<0.30%), en cuanto al fósforo disponible, este al igual que el nitrógeno con el hidrogel elaborado a base de quitosano y poliacrilamida presentó un aumento, pero con base a lo que establece la norma mexicana



(SEMARNAT, 2000), los valores son bajos (<15 mg kg<sup>-1</sup>). Ramos-González et al. (2009) refieren que es recomendable mezclar a los hidrogeles con abonos orgánicos, ya que a la vez que proporcionan una reserva de agua para las primeras fases de adaptación en el establecimiento de plantas para reforestación, permiten con el abono obtener los nutrimentos necesarios para el crecimiento de la planta.

Si bien no hubo diferencias por tipo de hidrogel y dosis en las variables de *L. exaltatus* (Cuadro 3), es importante hacer notar que el porcentaje de supervivencia a una dosis de 4.5 g kg<sup>-1</sup> de quitosano disminuyó con respecto al testigo y lo mismo, pero con 1.5 g kg<sup>-1</sup> del hidrogel de poliácridamida. Los hidrogeles superabsorbentes, como es el caso, para aplicaciones agrícolas o forestales antes de emplearlos se recomienda evaluar su comportamiento, ya que pueden ocasionar problemas tanto al suelo como a la planta (Bauer y Villegas et al., 2022).

Cuadro 3. Variables de crecimiento en los diferentes tratamientos a los 161 días.

Parámetros edáficos	Quitosano			Poliácridamida			Testigo
	1.5 g kg <sup>-1</sup>	3.0 g kg <sup>-1</sup>	4.5 g kg <sup>-1</sup>	1.5 g kg <sup>-1</sup>	3.0 g kg <sup>-1</sup>	4.5 g kg <sup>-1</sup>	
Supervivencia (%)	1.73 a	1.04 a	0.69 a	0.69 a	1.38 a	1.38 a	2.19 a
Altura de planta (cm)	54.47 a	51.38 a	51.38 a	40.38 a	45 a	57.33 a	52.9 a
No. nódulos	79 a	113 a	124 a	55 a	52 a	78 a	75 a
Volumen radical (cm <sup>3</sup> )	80.39 a	58.43 a	100 a	45.50 a	30 a	99.17 a	81.83 a
Biomasa seca (g)	63.04 a	42.10 a	65.60 a	45.73 a	22.04 a	76.71 a	66.32 a

Medias con la misma letra por fila son iguales (p>0.05).

La altura de planta, volumen radical, número de nódulos y biomasa seca mostraron que con el hidrogel de quitosano existió un incremento, respecto al hidrogel de poliácridamida y al testigo (Cuadro 3). Parvathy et al. (2014) mencionan que los hidrogeles a base de almidón de yuca incrementan la porosidad del suelo y con ello permiten que las raíces de las plantas tengan más oxigenación y por la tanto exista un mayor crecimiento, lo que sin duda repercute en un incremento de la actividad biológica. Al mezclar hidrogel con suelo se aprovecha mejor el agua de lluvia, al perderse menor cantidad de agua por filtración, suficiente para mejorar la actividad biológica del suelo, con el biopolímero de quitosano se favorece el crecimiento de microorganismos benéficos, tal como las bacterias promotoras del crecimiento y hongos endomicorrízicos arbusculares (Laréz Velásquez et al., 2019).

## 4 CONCLUSIONES

Con el hidrogel de quitosano se disminuyó la densidad aparente, lo que mejora las condiciones de aireación en el suelo, además se tuvo un aumento en la humedad, el pH, la materia orgánica, la actividad microbiana y en el contenido de nitrógeno y fósforo, lo que se reflejó en las variables de crecimiento de las plantas de *L. exaltatus*. El utilizar un hidrogel a base de un biopolímero se aprovecha su condición fertilizante, lo que promoverá una mayor adaptación de las plantas, además de tener un uso más eficiente del agua. Por lo que el hidrogel a base de quitosano es una opción viable para los trabajos de rehabilitación de suelos degradados y reforestación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anderson, J. P. E. (1982). Soil respiration. In A. L. Page, R. H. Miller, & D. R. Keeney (Eds.), *Methods of soil analysis, Part 2. Chemical and microbiological properties* (2ª ed., pp. 831-871). Soil Science Society of America, Madison.

Barón Cortés, A., Barrera Ramírez, I. X., Boada Eslava, L. F., & Rodríguez Niño, G. (2007). Evaluación de hidrogeles para aplicaciones agroforestales. *Revista Ingeniería e Investigación*, 27(3), 35-44. <http://www.scielo.org.co/pdf/iei/v27n3/v27n3a04.pdf>

Bauer, J. L., Villegas, L. F., & Zucchetti, A. (2022). Aplicaciones del quitosano en la agricultura, la industria y la salud. *South Florida Journal Environmental Animal Science*, 2(2), 37-45. <https://doi.org/10.53499/sfjeasv2n2-001>

Clemente, A. S., Werner, C., Máguas, C., Cabral, M. S., Martins-Loução, M. A., & Correia, O. (2004). Restoration of a limestone quarry: effect of soil amendments on the establishment of native mediterranean sclerophyllous shrubs. *Restoration Ecology*, 12(1), 20–28. <https://doi.org/10.1111/j.1061-2971.2004.00256.x>

Delgado-Baquerizo, M., Maestre, F. T., & Gallardo, A. (2013). Biological soil crusts increase the resistance of soil nitrogen dynamics to changes in temperatures in a semi-arid ecosystem. *Plant and Soil*, 366, 35–47. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1404-3>

El-Saied, H., El-Hady, O. A., Basta, A. H., El-Dewiny, C. Y., & Abo-Sedera, S. A. (2016). Bio-chemical properties of sandy calcareous soil treated with rice straw-based hydrogels. *Journal Saudi Society Agriculture Sciences*, 15(2), 188–194. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2014.11.004>

Katime, A. I. A., Katime, T. D., & Katime, T. O. (2004). *Los materiales inteligentes de este milenio: Los hidrogeles macromoleculares. Síntesis, propiedades y aplicaciones*. Monografía. Universidad del País Vasco, Servicio Editorial = Euskal Herriko Unibertsitateko, Argitalpen Zerbitzua, DL2004, Bilbao, España. 335 p.

Lárez Velásquez, C., Chirinos, A., Rojas Avelizapa, L. (2019). Nuevos retos en agricultura para los biopolímeros de quitina y quitosano. 1. Efectos beneficiosos para los cultivos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 20(3), 118-136. <https://reviberpol.org/2019/05/01/nuevos-retos-en-agricultura-para-los-biopolimeros-de-quitina-y-quitosano-1-efectos-beneficiosos-para-los-cultivos/>

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2020). *Degradación del suelo*. <https://www.fao.org/soils-portal/soil-degradation-restoration/es/>

Parvathy, P. C., Jyothi, A. N., John, K. S., & Sreekumar, J. (2014). Cassava starch based superabsorbent polymer as soil conditioner: Impact on soil physico-chemical and biological properties and plant growth. *CLEAN-Soil, Air, Water*, 42(11), 1610–1617. <https://doi.org/10.1002/clen.201300143>

Pillai, C. K., Paul, W., & Sharma, C. P. (2009). Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science*, 34(7), 641–678. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2009.04.001>

Ramos-González, R., Velázquez-Manzano, K., de la Rosa-Loera, P., Valdés-Flores, M. A., & Segura-Ceniceros, E. P. (2009). Atrapamiento de sustancias húmicas en hidrogeles de gelatina con aplicación en agricultura. *Revista Electrónica Ciencia Cierta*, 20(5), 14-16. <http://www.cienciacierta.uadec.mx/articulos/CCPDF/CC20.pdf>

Rivas-García, T., González-Gómez, L. G., Boicet-Fabré, T., Jiménez-Arteaga, M. C., Falcón-Rodríguez, A. B., & Terrero-Soler, J. C. (2021). Respuesta agronómica de dos variedades de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) a la aplicación del bioestimulante con quitosano. *Terra Latinoamericana*, 39, 1-9. e796. <https://doi.org/10.28940/terra.v39i0.796>

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2002). *Norma oficial mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis*. <https://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/libros2009/DO2280n.pdf>

# CAPÍTULO 2

## FERTILIZANTE DE LENTA LIBERACIÓN COMPLEMENTARIO AL FERTIRRIEGO Y SU EFECTO EN PRODUCCIÓN DE LIMA MEXICANA

Data de submissão: 11/11/2023

Data de aceite: 24/11/2023

### José C. García-Preciado

Instituto Nacional de Investigaciones  
Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)  
Campo Experimental Tecomán  
Tecomán, Colima, México  
<http://orcid.org/0000-0001-7413-1829>

### Silvia H. Carrillo Medrano

Instituto Nacional de Investigaciones  
Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)  
Campo Experimental Tecomán  
Tecomán, Colima, México  
<http://orcid.org/0000-0002-5498-2906>

### Miguel A. Manzanilla Ramírez

Instituto Nacional de Investigaciones  
Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)  
Campo Experimental Tecomán  
Tecomán, Colima, México  
<http://orcid.org/0000-0003-1236-2271>

### María Guzmán Martínez

Universidad Autónoma de Guerrero  
Facultad de Matemáticas Chilpancingo  
Guerrero, México  
<http://orcid.org/0000-0001-9035-2699>

**RESUMEN:** El uso eficiente de los fertilizantes es una actividad relevante para incrementar

productividad y rentabilidad en cítricos. Producciones de lima mexicana tienen problemas de bajos rendimientos. En gran medida por la pérdida de la fertilidad del suelo, ocasionando desbalances de nutrientes en planta, igualmente un manejo nutricional deficiente ante un ambiente endémico de Huanglongbing. Para lograr mayor eficiencia en el manejo nutricional, se planteó evaluar el efecto en producción de lima mexicana con la aplicación de fertilizante de lenta liberación (FLL), complementario a un programa de nutrición vía fertirriego. El estudio se realizó en una plantación de tres años de establecimiento, ubicada en el municipio de Tecomán, Colima, México. Se evaluaron cinco tratamientos de fertilización, el primero consistió en la aplicación de fertirriego. El segundo empleó fertirriego más la adición de FLL, en dosis de 500 g planta<sup>-1</sup>. El tratamiento tres fue fertirriego más 667 g planta<sup>-1</sup> de FLL. Tratamiento cuatro, fue fertirriego más FLL 833 g planta<sup>-1</sup>. Por último, un tratamiento que no recibió ningún tipo de fertilización al suelo. Como variables de respuesta se registraron el número de frutos cosechados por árbol, peso de frutos cosechados y el peso promedio por fruto, durante cinco cosechas. Se realizó una comparación de medias del total de cosechas mediante la prueba Tukey ( $\alpha=0.05$ ) y ANOVA. El tratamiento que no recibió ningún tipo de fertilización fue menos productivo y diferente al que solo empleo fertirriego. Tratamientos que recibieron FLL adicional al fertirriego, fueron

los más productivos al igual que obtuvieron mayor tamaño de frutos. El tratamiento con fertirriego más 667 g planta<sup>-1</sup> de FLL, generó mayor producción, tamaño y homogeneidad de frutos.

**PALABRAS CLAVE:** Calibre. Frutos. Valor comercial.

## SLOW RELEASE FERTILIZER COMPLEMENTARY TO FERTIRIGATION AND ITS EFFECT ON MEXICAN LIME PRODUCTION

**ABSTRACT:** The efficient use of fertilizers is a relevant activity to increase productivity and profitability in citrus. Mexican lime productions have problems of low yields. Largely due to the loss of soil fertility, causing nutrient imbalances in the plant, as well as poor nutritional management in an endemic environment of Huanglongbing. To achieve greater efficiency in nutritional management, it was proposed to evaluate the effect on Mexican lime production with the application of slow release fertilizer (FLL), complementary to a nutrition program via fertigation. The study was carried out in a three-year-old plantation, located in the municipality of Tecomán, Colima, Mexico. Five fertilization treatments were evaluated, the first consisted of the application of fertigation. The second used fertigation plus the addition of FLL, at a dose of 500 g plant<sup>-1</sup>. Treatment three was fertigation plus 667 g plant<sup>-1</sup> of FLL. Treatment four was fertigation plus FLL 833 g plant<sup>-1</sup>. Finally, a treatment that did not receive any type of soil fertilization. As response variables, the number of fruits harvested per tree, weight of fruits harvested and the average weight per fruit, during five harvests, were recorded. A comparison of means of the total harvests was carried out using the Tukey test ( $\alpha=0.05$ ) and ANOVA. The treatment that did not receive any type of fertilization was less productive and different from that which only used fertigation. Treatments that received additional FLL to fertigation were the most productive and obtained larger fruit sizes. The treatment with fertigation plus 667 g plant<sup>-1</sup> of FLL generated greater production, size and homogeneity of fruits.

**KEYWORDS:** Caliber. Fruits. Commercial value.

### 1 INTRODUCCIÓN

El uso eficiente de los fertilizantes es un elemento relevante para el incremento del rendimiento y la rentabilidad, más aún ante el aumento de precios de tales insumos. Una forma eficaz de reducir costos y mejorar el rendimiento en cítricos es el uso de fertilizaciones equilibradas (Srivastava and Malhotra, 2014). En lima mexicana [*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle] el bajo rendimiento se debe a desbalances nutrimentales en las plantas (Maldonado *et al.*, 2001), consecuencia de manejo deficiente y los efectos del Huanglongbing (Robles *et al.*, 2017; Robles *et al.*, 2018). Se ha demostrado que con nutrición y riego eficiente las plantas infectadas con Huanglongbing muestran menores síntomas de severidad foliar y generan mejores rendimientos (Gómez *et al.*, 2013; Robles *et al.*, 2017). Ahora, el reto es lograr mayor eficiencia y precisión en el uso y manejo de los insumos para la nutrición de lima mexicana. Uno de los aspectos a considerar es

la eficiencia de recuperación del fertilizante (ERF), la cual es de 50% para productos nitrogenados, en potásicos 40%, mientras que para los micronutrientes 10% (Mortvet, 1999; Baligar *et al.*, 2001). La ERF se presenta y modifica debido a diversos factores, desde la selección del producto a utilizar, su manejo, momento de aplicación, interacción con otros insumos, con el agua, el suelo, el clima y desde luego con la planta. Para lograr mayor ERF en un sistema de producción, es importante considerar las características o elementos de “sitio”. Es decir, particularidades del cultivo, terreno o sitio donde se realiza la producción. Por ejemplo: demanda de elementos minerales del cultivo (Salmiaton y Firoozeh, 2015), la profundidad de suelo, topografía, física-química de suelo, climatología predominante, tipo de riego, disponibilidad, volumen y calidad de agua. Al tomar en cuenta la condición de sitio y su interacción con el cultivo, la efectividad de los insumos nutricionales tiende a incrementarse, debido a una mejor toma de decisiones. A pesar de ello, en un sistema de producción en suelo y a cielo abierto, dicha efectividad no se obtiene por completo, ya que intervienen e interactúan factores bióticos y abióticos de los cuales no se tiene control absoluto. Una alternativa para incrementar la ERF, es el uso de fertilizantes de lenta liberación (García-Preciado *et al.*, 2019) o de eficiencia mejorada. Dicha tecnología se basa en la utilización de partículas de arcilla, polímeros, sílice y materiales basados en carbono (Guo *et al.*, 2018); los cuales actúan como recubrimiento físico del compuesto mineral, para liberarlo en porciones lentas o controladas. Con dichos elementos, se planteó como objetivo evaluar el efecto en producción de lima mexicana, con la aplicación de fertilizante de lenta liberación complementario a un programa de nutrición vía fertirriego.

## 2 MATERIALES Y MÉTODOS

La evaluación se realizó en una plantación de lima mexicana variedad Colimex en portainjerto *Macrophylla* (*C. macrophylla*) de 36 meses de establecida. La distancia de plantación fue de 8 x 4 metros en marco real. La ubicación del estudio es en terrenos del Campo Experimental Tecomán del INIFAP, en Colima, México. El suelo es franco-arcilloso, con materia orgánica  $\leq 2.5\%$  y altos contenidos de carbonatos de calcio ( $\geq 20\%$ ). Respecto al manejo agronómico: establecimiento, riego y combate a plagas y enfermedades se empleó el paquete tecnológico sugerido por INIFAP (Orozco *et al.*, 2014). Para promover la emisión y formación de ramificaciones, así como para generar una forma esférica o arbolada, se realizaron cuatro podas durante los primeros 24 meses y a partir de estas una poda anual. La fertilización se efectuó de manera quincenal a través del riego, la cual se calculó en base a la demanda del cultivo, utilizando la extracción de nutrientes por

tonelada de fruta para lima mexicana (Maldonado *et al.*, 2001). Con dicha información se estimó una demanda para producción, generación y mantenimiento de órganos en planta completa de 12.0 Mg ha<sup>-1</sup>, utilizando la propuesta de García-Preciado *et al.* (2019); menos el suministro del suelo utilizando los resultados del análisis del mismo. Por cada nutrimento se llevó a cabo la determinación en unidades de elemento mineral por planta al año. Para N, P, K, Ca, Mg y S fueron: 0.28, 0.06, 0.28, 0.06, 0.01 y 0.01 kg planta<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> respectivamente, más  $1 \times 10^{-4}$  de microelementos, todos ellos racionados quincenalmente. Los fertilizantes comerciales utilizados fueron: fosfonitrato y nitrato de calcio como fuentes nitrógeno y calcio. Como fuente de P se empleó fosfato monopotásico, sulfato de potasio como K, sulfato de magnesio como Mg, los microelementos fueron sulfato ferroso y un mix de microelementos. Se evaluaron cinco tratamientos, el primero consistió en la aplicación solo del fertirriego, el cual fue antes descrito (T1). El segundo tratamiento (T2) empleó el fertirriego del T1, más la adición inyectada bajo el área de la copa del árbol con fertilizante de lenta liberación (FLL), en dosis de 500 g planta<sup>-1</sup> (150 kg ha<sup>-1</sup> aproximadamente). El FLL utilizado fue Jumbo Tabs®, de acuerdo a las especificaciones técnicas consiste en la proporción: 11-11-18-1% de N-P-K-Mg respectivamente con un tiempo de liberación de cuatro meses. El tratamiento tres (T3) fue el fertirriego más 667 g planta<sup>-1</sup> de FLL (200 kg ha<sup>-1</sup> aproximadamente). El tratamiento cuatro (T4) utilizó fertirriego y adicionalmente el FLL en dosis de 833 g planta<sup>-1</sup> (250 kg ha<sup>-1</sup> aproximadamente). Por último, un tratamiento que no recibió ningún tipo de fertilización al suelo, pero se le realizó riego y combate a plagas y enfermedades (T5). El diseño fue bloques completos al azar con 15 réplicas por tratamiento, donde la unidad experimental fue un árbol. Las variables evaluadas fueron: número de frutos cosechados por árbol, peso de frutos cosechados por árbol y variable de calidad el peso promedio por fruto, esto fue durante cinco cosechas. Para obtener el efecto de los tratamientos se realizó una comparación de medias del total de cosechas empleando la prueba Tukey ( $\alpha=0.05$ ) y el ANOVA, para lo cual se utilizó la herramienta estadística: R-Studio (R Core Team, 2018).

### 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al analizar el número de frutos por cosecha (NFC), se obtuvo que los tratamientos que recibieron FLL en dosis de 500 y 667 g planta<sup>-1</sup> (T2 y T3 respectivamente), obtuvieron valores altos respecto al resto (Cuadro 1). El tratamiento que no recibió fertilización al suelo (T5) fue diferente estadísticamente al T3 en NFC. Respecto al peso de frutos cosechados por árbol (PFA), fue directamente proporcional al NFC ( $R^2>0.9$ ). T3 fue el sobresaliente en producción, y todos los tratamientos que recibieron algún tipo de

nutrición fueron diferentes estadísticamente al T5. El FLL complementario al fertirriego vs solo el fertirriego en lima mexicana, se obtuvo mayor crecimiento de plantas, así como más frutos y de mayor tamaño con la incorporación de FLL (García-Preciado, 2021). El T4 que recibió 833 g planta<sup>-1</sup> de FFL, fue menor en producción respecto al T2 y T3, posiblemente a que la planta solo tomó los nutrientes necesarios utilizando las dosis consideradas de estos últimos. Además, la dosis considerada del T4 posiblemente generó alguna interacción antagónica de algún elemento(s) en el suelo del sitio. Castro et al., 2006, mencionan que la planta solo toma los nutrientes de acuerdo a su eficiencia fisiológica y del fertilizante, por tanto, las eficiencias de recuperación del FLL disminuyen con el aumento de la dosis aplicada. Bajo la condición particular de la evaluación, el adicionar dosis >833 g planta<sup>-1</sup> de FFL complementario al fertirriego no será necesario. Respecto al peso promedio de frutos (PPF), se observó que aumentó considerablemente con la aplicación de FLL. Dicha variable obtuvo menor correlación con el NFC y PFA, por lo cual es importante considerarla en pruebas de fertilización, paralela al registro de producción. Con ello es posible obtener un referente del tamaño de los frutos (“calibre”) como una variable de calidad. Respecto al análisis de varianza, T1 y T3 obtuvieron la menor dispersión en NFC entre las distintas cosechas (Cuadro 1). Para el PFA menores dispersiones de generaron en T1, T3 y T5, siendo este último el de menor producción. Las menores variaciones entre tamaños de fruto se obtuvieron en T2 y T3, al igual que un buen comportamiento en la productividad. Sin embargo, el uso del FLL aumentó costos de insumos para la nutrición del cultivo. Una alternativa para emplear el FLL complementario al fertirriego, es aplicar dicho insumo para periodos donde la fruta se comercialice a mejor precio. Al tratarse de un producto de liberación de cuatro meses, la aplicación del FLL podrá ser seis a cinco meses previos al periodo que se pretenda cosechar los frutos de alto valor comercial (Figura 1).

Cuadro 1. Comparación lineal de la producción y calidad de fruta de lima mexicana en tratamientos de fertirriego y fertilizante de lenta liberación.

Tratamientos	NFC			PFA (g)			PPF (g)		
Fertirriego (T1)	7.16	bc	±1.27	277.33	b	±48.98	32.50	ab	±2.04
Fertirriego + FLL 500 g planta <sup>-1</sup> (T2)	11.80	ab	±2.60	414.07	ab	±72.97	33.10	a	±1.97
Fertirriego + FLL 667 g planta <sup>-1</sup> (T3)	11.47	a	±1.86	434.83	a	±70.24	36.22	a	±1.86



Fertirriego + FLL 833 g planta <sup>-1</sup> (T4)	9.93	ab	±2.01	380.04	ab	±77.41	33.47	a	±2.07
Riego + combate de plagas y enfermedades (T5)	3.63	c	±0.96	145.00	c	±40.24	23.60	b	±3.54

NFC= número de frutos por corte; PFA= peso de frutos por árbol; PPF= peso promedio por fruto; ± =error estándar. Tukey  $\alpha=0.05$  (n= 75).

## 4 CONCLUSIÓN

Tratamientos que recibieron fertilizante de lenta liberación obtuvieron mayor producción y calidad de frutos en lima mexicana. Respecto a la variabilidad en producción durante la evaluación, esta fue menor en T1, T3 y T5, siendo este último el que obtuvo menor producción y tamaño de frutos. El tratamiento de fertirriego más 667 g planta<sup>-1</sup> de FLL (T3), generó mayor producción y tamaño al igual que homogeneidad en los frutos.

Figura 1. Cosecha de frutos por árbol de lima mexicana en mes de septiembre. T1= Aplicación solo fertirriego; T3= fertirriego + FLL.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Baligar, V. C., N. K. Fageria y Z. I. He. 2001. Nutrient use efficiency in plants. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 32(7-8): 921-950.
2. Castro-Luna, I., Gavi-Reyes, F., Peña-Cabriales, J. J., Núñez-Escobar, R., & Etchevers-Barra, J. D. (2006). Eficiencia de recuperación de N y K de tres fertilizantes de lenta liberación. Terra Latinoamericana, 24(2), 277-282.

3. García-Preciado, J. C., Carrillo-Medrano, S. H., Robles-González, M. M., Guzmán-Martínez, M., y Chávez-Cernas, O. A. (2019). Respuesta de limón mexicano (*Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle) a dos tipos de fertilización en un sistema de producción en contenedores. *Agro productividad* 12 (12): 47-53. doi.org/10.32854/agrop.vi0.1511.
4. García-Preciado José C. (2021). Fertilizante de lenta liberación para mejorar la nutrición de cítricos en suelo. *DeRiego* 18 (113): 74-75.
5. Gómez-Jaimes Rafael; Velázquez-Monreal José Joaquín; Hernández-Fuentes L. Martín; López-Arroyo J. Isabel y Urias-López Mario Alfonso. 2013. La fertilización y su impacto en la severidad de síntomas inducidos por HLB en limón persa. (Presidencia), *Simposio Internacional sobre HLB en Cítricos Ácidos*. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Memoria Científica No. 1. ISBN: 978-607-37-0224-9. Campo Experimental Tecomán. Tecomán, Colima.
6. Guo Huiyuan; White Jason C.; Wang Zhenyu; Xing Baoshan. 2018. Nano-enabled fertilizers to control the release and use efficiency of nutrients. *Current Opinion in Environmental Science & Health* (2018), doi: 10.1016/j.coesh.2018.07.009.
7. Maldonado T.R., Etchevers B. J.D., Alcántar G. G., Rodríguez A. J. y Colinas L. M.T. (2001). Estado nutricional del limón mexicano en suelos calcimorficos. *Terra Latinoamericana* 19: 163-174.
8. Mortvedt, J. J. 1994. Needs for controlled-availability micronutrient fertilizers. *Fert. Res.* 38: 213-221.
9. Orozco-Santos, M., Robles-González, M.M., Velázquez-Monreal, J.J., Manzanilla-Ramírez, M.A., Bermúdez-Guzmán, M.J., Carrillo-Medrano, S.H., Medina-Urrutia, V.M., Hernández-Fuentes, L.M., Gómez-Jaimes, R., Manzo-Sánchez, G., Farías-Larios, J., Nieto-Ángel, D., Mijangos-Hernández, E., Sánchez-de la Torre, J.A., y Varela-Fuentes, S. 2014. El limón mexicano (*Citrus aurantifolia*). Ciudad de México, México: Prometeo Editores. 449 p.
10. R Core Team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
11. Robles-González, M. Manuel, Velázquez-Monreal, José Joaquín, Manzanilla-Ramírez, Miguel Ángel, Orozco-Santos, Mario, Medina-Urrutia, Víctor Manuel, López-Arroyo, J. Isabel, & Flores-Virgen, Rigoberto. (2013). Síntomas del Huanglongbing (HLB) en árboles de limón mexicano [*Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle] y su dispersión en el estado de Colima, México. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 19(1), 15-31. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2012.01.005>
12. Robles-González M. M., Orozco-Santos M., Manzanilla-Ramírez M. A., Velázquez-Monreal1 J.J., Carrillo-Medrano S. H. (2017). Efecto del HLB sobre el rendimiento de limón mexicano en Colima, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. Vol.8 Núm.5. pp. 1101-1111.
13. Robles-González M. M., Orozco-Santos M., Manzanilla-Ramírez M. A., Velázquez-Monreal1 J.J., Medina-Urrutia V.M., Sanches-Stuchi E. (2018). Experiencias con huanglongbing en limón Mexicano en el Estado de Colima, México. *Citrus Research & Technology*. 39, e1039: 1-12 pp.
14. Salmiaton Ali and Firoozeh Danafar. 2015. Controlled-Release Fertilizers: Advances and Challenges *Life Science Journal*; 12 (11). 33-45.
15. Srivastava, A.K and S.K. Malhotra (2014). Nutrient management in fruit crops: Issues and strategies. *Indian Journal of Fertilisers*, 10:72-88.

# CAPÍTULO 3

## COLORIMETRIC CHARACTERISATION OF TROPICAL WOODS

Data de submissão: 15/11/2023

Data de aceite: 24/11/2023

**José Amador Honorato-Salazar**

National Research Institute of Forestry, Agriculture and Livestock San Martinito Experimental Field Puebla, Mexico

<https://orcid.org/0000-0001-9436-5438>

**ABSTRACT:** This study aimed to characterise the calorimetry of 28 tropical wood species in the CIELab colour space. Employing a Minolta CM-2500d spectrophotometer, chromatic axes  $L^*$  (Luminosity),  $a^*$  (green-red), and  $b^*$  (blue-yellow) were determined in xylarium samples, with six measurements per sample. The obtained values underwent an analysis of variance (ANOVA), a comparison of means using the LSD method ( $\alpha=0.05$ ) and cluster analysis by the average method. The observed and the average values of the chromatic axes were represented in the CIELab system using the Spectra Magic® software. Group representations of average values were done using the SigmaPlot program. The ANOVA showed significant differences ( $p \leq 0.05$ ) in the wood colour of the species in each of the chromatic axes, which allowed the formation of 7 similar groups with an explained variance

ratio of 90.1%. Within the wood samples, variations were observed in the luminosity ( $L^*$ , 24.6 – 81.2), in the  $a^*$  axis (2.7 – 19) tending towards red, and in the  $b^*$  axis (3.1 – 32.3) that tends towards yellow. The sapwood of the studied species has light colours due to its high luminosity with a tendency towards yellow on the  $b^*$  axis, such as the wood of *Bursera simaruba* ( $L^*$ , 79.66;  $b^*$ , 21.49) and *Zuelania guidonia* ( $L^*$ , 77.22;  $b^*$ , 28.58). In contrast, the heartwood of *Cordia dodecandra* ( $L^*$ , 30.49;  $a^*$ , 4.89) and *S. cubensis* ( $L^*$ , 27.01;  $a^*$ , 8.07) shows dark reddish colours with low luminosity. Colour quantification allows for a more objective and measurable characterisation of the wood, facilitating the grouping of similar colours among tropical species.

**KEYWORDS:** Colour. CIELab system. Heartwood. Sapwood.

### 1 INTRODUCTION

Colorimetry is defined as the science and technology used to quantify and describe human perception of colour (Choudhury, 2014). Colour is perceived by the human eye in the wavelength range of visible light, which spans approximately 380 nm to 740 nm, when light strikes an object or material. Depending on the material, some wavelengths can be absorbed while others are reflected, creating the basic

colour impression. The human eye's perception of colour is based on the sum of reflected wavelengths, which determines the perceived colour of the material. Furthermore, in visual observation of an object, three factors influence the recognition of its appearance and colour: the light source, the object itself, and the human observer (Choudhury, 2014).

Colour in wood is further recognised based on the reflected wavelength of visible light, surface roughness, the internal structure of the specific piece of wood and its refractive properties (Meints et al., 2017).

Wood colour characterisation is used to identify, classify, and quantitatively describe the surfaces of various types of wood. This process involves considering aspects such as texture, design, colour changes due to finishes, humidity, discolouration, and other aesthetic characteristics (Hon & Minemura, 2001; Meints *et al.*, 2017). In addition, colour studies have been carried out to evaluate, characterise and classify the wood of different species quantitatively using the CIELab system (Silva *et al.*, 2015; Meints *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2017; Sousa *et al.*, 2019).

In Mexico, various tropical woods are marketed and prized for their colour. However, until now, the description of the colour of these woods has been done qualitatively or comparatively through the use of Munsell colour boards designed for plant tissues or soils (Rebollar and Quintanar, 2000). Therefore, it is essential to quantify the colour of the wood to assess its commercial viability, especially in applications of high economic value, such as the manufacture of decorative panels, parquet, furniture, marquetry and fine joinery. Due to the relevance of this aspect in the market, this study aims to determine the colourimetry properties of 28 types of tropical woods using the CIELab colour system.

## 2 MATERIALS AND METHODS

Wood samples, measuring 1 cm x 6 cm x 15 cm, were selected from 28 different species of tropical woods sourced from the xylarium of the National Research Institute of Forestry, Agriculture and Livestock (INIFAP). Heartwood species included *Achras zapota* L. - Sapotaceae (Chicozapote), *Astronium graveolens* Jacq. - Anacardiaceae (Jobillo), *Budica buceras* L. - Combretaceae (Pukté), *Calophyllum brasiliense* Camb. - Guttiferae (Bari), *Cedrela odorata* L. - Meliaceae (Cedro rojo), *Cordia alliodora* Ruiz & Pav. - Boraginaceae (Bojón), *Cordia dodecandra* D.C. - Boraginaceae (Siricote), *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. - Leguminosae (Guanacaste), *Guaicum sanctum* L. - Zygophyllaceae (Guayacán), *Krugiodendron ferrum* (Vahl) Urb. - Rhamnaceae (Chintok), *Lysiloma latisiliquum* (L.) Benth. - Leguminosae (Tzalam), *Maclura tinctoria* (L.) Steud. - Moraceae

(Mora), *Metopium brownei* (Jacq.) Urban - Anacardiaceae (Chechen), *Piscidia piscipula* (L.) Sarg. - Leguminosae (Jabin), *Pithecolobium brevifolium* Benth. - Leguminosae (Chucum), *Platymiscium yucatanum* Standl. - Leguminosae (Granadillo), *Swartzia cubensis* (Britton & Wilson) Standl. - Leguminosae (K'atalox), *Sweetia panamensis* Benth. - Leguminosae (Cencerro) and *Swietenia macrophylla* King. - Meliaceae (Caoba). Samples with sapwood were from *Blepharidium mexicanum* Standl. - Rubiaceae (Popistle), *Bursera simaruba* (L.) Sarg. - Burseraceae (Chaca), *Gutteria anomala* R.E.Fr. - Annonaceae (Zopo), *Phoebe aff. effusa* Meisn. - Lauraceae (Aguacatillo), *Simarouba glauca* DC. - Simaroubaceae (Pasa'ak), *Tabebuia rosea* DC. - Bignoniaceae (Maculis), *Vitex gaumeri* Greenm. - Verbrenaceae (Yaxnic), *Vochysia hondurensis* Sprague - Vochysiaceae (Palo de agua) and *Zuelania guidonia* (Sw.) Britt. et Millsp. - Flacourtiaceae (Trementino).

For each species, three samples were taken and prepared by sanding them with 150 and 220-grit sandpaper to remove any dust or stains and enhance the colour of the wood. Then, six colour measurements were made on each sample using a Minolta CM-2500d spectrophotometer (Konica Minolta). These measurements were made in a wavelength range of 400 to 700 nm, under a standard D65 light source, with an observation angle of 10° and a field of view of 8 mm.

The resulting colour values for each type of wood were subjected to an analysis of variance (ANOVA), followed by a comparison of means using the LSD method ( $\alpha = 0.05$ ) and a multivariate analysis of groups using the average grouping method. The SAS program was used in the analyses (SAS, 2000).

Finally, the observed colour data and their average were plotted in the CIELab colour space (ISO 11664:2008), using the  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  (ISO/CIE, 2019) values using Spectra Magic® software. Cluster graphical visualisation of the  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  average values for each species was generated using the SigmaPlot program (Systat, 2011).

### 3 RESULTS AND DISCUSSION

In the CIELab\* system, quantitative colourimetry converts sensory impressions into the  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  colour axes. These axes define, describe, and characterise the colour intensity of materials (ISO/CIE, 2019). The colour axis  $a^*$  ranges from green ( $-a^*$ ) to red ( $a^*$ ), while the colour axis  $b^*$  extends from blue ( $-b^*$ ) to yellow ( $b^*$ ). On the other hand, the luminosity axis ( $L^*$ ) varies from 0 (black) to 100 (white). Therefore, it is possible to separate the colours of objects into bright and dark colours by comparing their luminosities (Konica Minolta, 2003). Luminosity increases to a value of 100 and decreases to 0. The point where the  $a^*$  and  $b^*$  axes intersect ( $L^*=50$ ) corresponds to a pure, balanced, neutral grey colour.

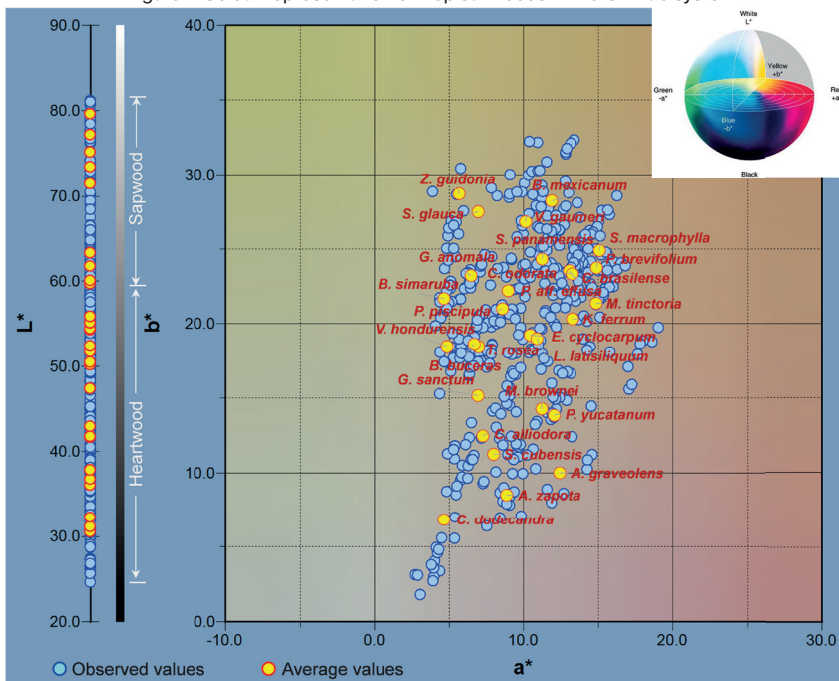
This study observes variations in the three chromatic axes among the tropical woods. The luminosity ( $L^*$ ) varies from 24.6 to 81.2; the  $a^*$  axis tends to be red and fluctuates between 2.7 and 19.0, while the  $b^*$  axis tends to be yellow and is between 3.1 and 32.3 (Figure 1, Table 1).

The analysis of variance indicated significant differences ( $p \leq 0.05$ ) in each of the chromatic axes for the wood of the species studied (Table 1).

The average sapwood values of *B. simaruba* (79.7) and *Z. guidonia* (77.2) exhibit light colours with high luminosities. In contrast, the heartwood of *C. dodecandra* (30.5) and *A. zapota* (31.1) shows dark colours with low luminosities (Table 1). These woods have extreme luminosity values.

On the other hand, the wood of *S. macrophylla*, *C. odorata*, *S. panamensis*, *P. brevifolium*, *E. cyclocarpum*, *P. piscipula*, *S. cubensis*, *B. buceras* and *L. latisiliquum* have luminosities around grey ( $L^*=50 \pm 5$ ). While the wood luminosity of *P. aff. effusa*, *C. brasiliense*, *T. rosea*, *V. hondurensis*, *S. glauca*, *B. mexicanum*, *V. gaumeri* and *G. anomala* tends to light colours ( $L^*$ , 55.8-71.5), in contrast, the luminosity of the wood of *C. alliodora*, *M. brownei*, *K. ferrum*, *P. yucatanum*, *G. sanctum*, *A. graveolens* and *M. tinctoria* tends towards dark colours ( $L^*$ , 32.2-42.9).

Figure 1. Colour representation of tropical woods in the CIELab system.



On average, the colour values on the a\* axis of the wood of the studied species range from grey to red. Wood species that have near-grey values include *B. simaruba* (4.8), *C. dodecandra* (4.9), and *V. hondurensis* (5.0), while those with near-red values include *P. brevifolium* (14.9), *M. tinctoria* (15.0), and *S. macrophylla* (15.1). Some woods, such as *Z. guidonia* (5.8), *G. anomala* (6.6), *B. buceras* (6.8) and *S. glauca* (7.0), tend towards shades of grey. In contrast, other woods, such as those of *K. ferrum* (13.4), *C. brasilense* (13.1), *C. odorata* (13.0) and *A. graveolens* (12.8), tend toward red hues. The rest of the woods have intermediate values between 7.1 and 12.3.

Regarding the b\* axis, the average values of the different woods show a wide range of colours, ranging from shades close to grey (7.0) to yellow-orange tones (28.6). These extreme colour values correspond to the wood of *C. dodecandra* and *Z. guidonia*. The woods of *A. zapota* (8.8) and *A. graveolens* (10.2) have values close to the wood of *C. dodecandra*, while the wood of *S. cubensis* (27.3), *S. glauca* (27.4) and *B. mexicanum* (28.1) more closely resemble the values of *Z. guidonia*. The other wood species have chromatic values ranging from 12.5 to 26.7.

Table 1. Average values of the chromatic L\*, a\*, b\* axes.

Species	L	a*	b*
<i>Achras zapota</i> (Chicozapote - H)	31.1 ± 1.5 n	9.2 ± 0.8 g h	8.8 ± 1.2 p
<i>Astronium graveolens</i> (Jobillo - H)	32.2 ± 1.9 n	12.8 ± 1.7 b c	10.2 ± 2.2 p o
<i>Blepharidium mexicanum</i> (Popistle - S)	60.1 ± 3.0 f	11.9 ± 1.0 e c d	28.1 ± 2.4 a b
<i>Bucida buceras</i> (Pukté - H)	55.0 ± 2.5 g h	6.8 ± 0.4 l k j	18.5 ± 1.5 k
<i>Bursera simaruba</i> (Chaca - S)	79.7 ± 1.0 a	4.8 ± 0.4 m	21.5 ± 0.9 g f h
<i>Calophyllum brasilense</i> (Barí - H)	55.8 ± 2.3 g	13.1 ± 1.1 b c	23.4 ± 2.0 c d e
<i>Cedrela odorata</i> (Cedro rojo - H)	54.4 ± 5.4 g h i	13.0 ± 1.5 b c	22.7 ± 2.9 g f d e
<i>Cordia alliodora</i> (Bojón - H)	36.0 ± 2.8 m	7.4 ± 1.2 i k j	12.5 ± 2.4 n m
<i>Cordia dodecandra</i> (Siricote - H)	30.5 ± 4.9 n	4.9 ± 1.2 m	7.0 ± 3.2 q
<i>Enterolobium cyclocarpum</i> (Guanacaste - H)	47.4 ± 1.9 k	10.5 ± 1.1 f	19.2 ± 1.7 j k i
<i>Guaicum sanctum</i> (Guayacán - H)	41.8 ± 6.3 l	7.1 ± 1.9 k j	15.4 ± 3.0 l
<i>Guatteria anomala</i> (Zopo - S)	71.5 ± 1.3 d	6.6 ± 0.5 l k	23.1 ± 0.8 c f d e
<i>Krugiodendron ferrum</i> (Chintok - H)	41.7 ± 4.0 l	13.4 ± 1.3 b	20.4 ± 2.1 j h i
<i>Lysiloma latisiliquum</i> (Tzalam - H)	52.4 ± 1.4 j h i	11.0 ± 0.5 e f	18.8 ± 0.8 j k
<i>Maclura tinctoria</i> (Mora - H)	43.0 ± 0.6 l	15.0 ± 0.6 a	21.5 ± 1.1 g f h
<i>Metopium brownei</i> (Chechén - H)	37.8 ± 3.6 m	11.3 ± 1.4 e f d	14.3 ± 2.5 l
<i>Phoebe aff. effusa</i> (Aguacatillo - S)	63.3 ± 1.4 e	9.0 ± 1.1 g h	22.1 ± 2.0 g f h e
<i>Piscidia piscipula</i> (Jabín - H)	51.7 ± 3.3 j i	8.7 ± 1.3 i h	20.9 ± 1.9 g h i
<i>Pithecolobium brevifolium</i> (Chucum - H)	50.2 ± 0.8 j k	14.9 ± 0.7 a	23.6 ± 0.8 c d e

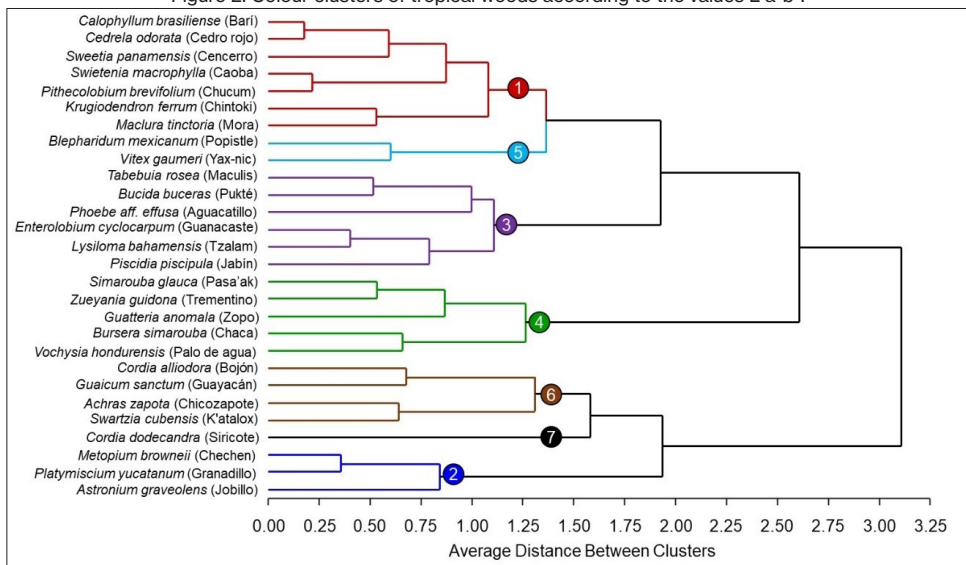
Species	L	a*	b*
<i>Platymiscium yucatanum</i> (Granadillo - H)	37.1 ± 2.0 m	12.5 ± 3.7 b c d	14.2 ± 3.0 l m
<i>Simarouba glauca</i> (Pasa'ak - S)	73.4 ± 6.3 c d	7.0 ± 2.3 l k j	27.4 ± 2.5 a b
<i>Swartzia cubensis</i> (K'atalox - H)	27.0 ± 3.2 o	8.1 ± 1.2 i h j	11.3 ± 2.6 n o
<i>Sweetia panamensis</i> (Cencerro - H)	54.2 ± 1.3 g h i	11.3 ± 0.4 e f d	24.2 ± 1.0 c d
<i>Swietenia macrophylla</i> (Caoba - H)	50.5 ± 5.0 j	15.1 ± 1.1 a	24.8 ± 1.8 c
<i>Tabebuia rosea</i> (Maculis - S)	61.8 ± 2.6 e f	7.1 ± 0.9 k j	18.3 ± 0.9 k
<i>Vitex gaumeri</i> (Yax-nic - S)	59.7 ± 0.6 f	10.2 ± 0.7 g f	26.7 ± 1.2 b
<i>Vochysia hondurensis</i> (Palo de agua - S)	75.2 ± 1.7 c b	5.0 ± 0.5 m	18.3 ± 0.8 k
<i>Zuelania guidonia</i> (Trementino - S)	77.2 ± 1.9 a b	5.8 ± 1.3 l m	28.6 ± 1.3 a

H: Heartwood, S: Sapwood.

The colour differences are distinct and significant for the wood of each species in the chromatic axes (Table 1). For example, *B. simarouba* wood has the highest value on the L\* axis (79.7), but the lowest value on the a\* axis (4.8), with an average value on the b\* axis (21.5). In addition, the wood of some species has similar values in each axis, suggesting the possibility of grouping them by employing a cluster analysis when considering the values of the three chromatic axes.

In the cluster analysis of the L\*a\*b chromatic values using the average method, it was observed that the wood colour of the studied species can be divided into seven groups (Figure 2). These groups explain a significant percentage of variance, reaching 90.1%.

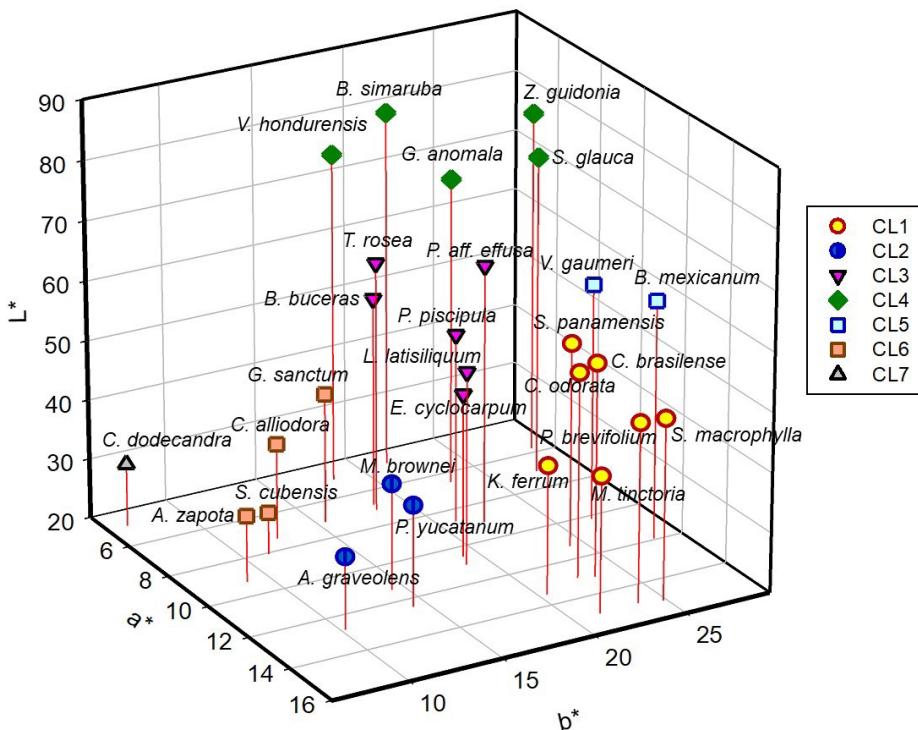
Figure 2. Colour clusters of tropical woods according to the values L\*a\*b\*.





In group 7, *C. dodecandra* wood stands out, characterised by low values in the three chromatic axes (Figure 3). In contrast, group 4, includes the wood of *B. simaruba*, *V. hondurensis*, *S. glauca*, *G. anomala* and *Z. Guidonia* with luminosity values higher than 71 and a tendency towards yellow because it corresponds to sapwood. Group 1, composed of *C. brasiliense*, *S. macrophylla*, *C. odorata*, *S. panamensis*, *K. ferrum*, *P. brevifolium* and *M. tinctoria*, shows values that tend towards red on the  $a^*$  axis and yellow on the  $b^*$  axis, with intermediate luminosities. The wood of *A. graveolens*, *M. brownie* and *P. yucatanum* are part of group 2 because they have low values in luminosity and in the  $b^*$  axis, with intermediate values in  $a^*$  axis. Intermediate values on all three axes characterise group 3, which includes the wood of *B. buceras*, *E. cyclocarpum*, *L. latisiliquum*, *P. aff. effusa*, *P. piscipula* and *T. rosea*. Group 5 shows the highest values on the  $b^*$  axis, which tend towards the yellow colour and includes the wood of *B. mexicanum* and *V. gaumeri*. Finally, group 6 consist of the wood of *A. zapota*, *C. alliodora*, *G. sanctum* and *S. cubensis*, which shows low values in all three chromatic axes.

Figure 3. Coordinates and colour values  $L^*a^*b^*$ .



Although no quantitative studies have been conducted on the colour of wood species in Mexico, studies carried out on tropical woods by Silva *et al.* (2015, 2017)

and Sousa *et al.* (2019) indicate that the quantification of colour in the CIELab system eliminates subjectivity in the appreciation of wood colour.

Therefore, colour quantification allows characterisation and classification into similar colour groups based on the values of the chromatic axes, which coincides with the approach of this study on the colour of tropical woods.

## 4 CONCLUSIONS

The colour of tropical woods varies according to their Lab\* colour values. Sapwood exhibits lighter colours with luminosities above 60, while heartwood exhibits darker colours with luminosities below 60. At the high-light end are the sapwood wood of *B. simaruba* and *Z. guidonia*, and at the low-light end are the heartwood of *C. dodecandra* and *S. cubensis*.

Tropical woods show colours distributed on the positive axes from grey to yellow (b\*) and to red (a\*). Sapwood tends towards the yellow colour, while heartwood tends towards the red colour.

The chromatic values of the colour made it possible to classify tropical woods into seven distinctive groups.

## REFERENCES

- Choudhury, A. K. R. (2014). *Principles of colour appearance and measurement. Volume 1: Object appearance, colour perception and instrumental measurement*. Woodhead Publishing Limited.
- Hon, D. N.-S., & Minemura, N. (2001). Colour and Discolouration. In D. N.-S. Hon & N. Shiraishi (Eds.), *Wood and Cellulosic chemistry*, 2nd edn (pp. 385-442). Marcel Dekker.
- Inpixon. (2011). SigmaPlot for windows (Version 12) [Computer program]. Inpixon HQ. <https://systatsoftware.com/sigmaplot/>
- International Organization for Standardization/International Commission on Illumination (ISO/CIE). (2019). *Colourimetry — Part 4: CIE 1976 L\*a\*b\* colour space*. (ISO/CIE 11664-4:2019).
- Konica Minolta. (2003). *Precise Colour Communication. Control from perception to instrumentation*. Konica Minolta Sensing Inc. Retrieved April 14, 2019, from [https://www.konicaminolta.com/instruments/knowledge/colour/pdf/colour\\_communication.pdf](https://www.konicaminolta.com/instruments/knowledge/colour/pdf/colour_communication.pdf)
- Meints, T., Teischinger, A., Stingl, R. & Hansmann, C. (2017). Wood colour of central European wood species: CIELAB characterisation and colour intensification. *European Journal of Wood and Wood Products* 75, 499–509. <https://doi.org/10.1007/s00107-016-1108-0>
- Rebollar, S. & Quintanar, A. (2000). Anatomía y usos de la madera de siete árboles tropicales de México. *Revista de Biología Tropical* 48(2-3), 569-578. <https://doi.org/10.15517/rbt.v48i2-3.18825>
- SAS Institute Inc. (2000). *SAS for windows* (Version 9.2). [Computer program]. Cary, NC. USED. <https://www.sas.com>

Silva, E, Stangerlin, D. M., Gatto, D. A., Calegri, L. & Pariz, E. 2015. Colorimetria da madeira de oito espécies nativas do estado do Rio Grande do Sul, Brasil Brazil. *Ciência da Madeira (Brazilian Journal of Wood Science)*. 6(1), 31–37. <https://doi.org/10.12953/2177-6830/rcm.v6n1p31-37>

Silva, R. A. F, Setter, C., Mazette, S. S., Melo R. R., & Stangerlin, D. M. (2017). Colorimetria da madeira de trinta espécies tropicais. *Ciência da Madeira (Brazilian Journal of Wood Science)* 8(1), 36–41. <https://doi.org/10.12953/2177-6830/rcm.v8n1p36-41>

Sousa, W. C. S., Barbosa, L. J., Soares, A. A. V., Goulart, S. L., & Protásio T. P. (2019). Wood colourimetry for the characterisation of Amazonian tree species: a subsidy for a more efficient classification. *Cerne*. 25(4), 451–462. <https://doi.org/10.1590/01047760201925042650>

# CAPÍTULO 4

## PANORAMA AGROECONÓMICO DE LA GUANÁBANA (*Annona muricata*) EN AMÉRICA<sup>1</sup>

Data de submissão: 28/09/2023

Data de aceite: 20/10/2023

### **Dra. Emma Gloria Ramos Ramírez<sup>2</sup>**

Investigadora Titular del  
Departamento de  
Biotecnología y Bioingeniería del  
Centro de Investigación y de  
Estudios Avanzados del  
Instituto Politécnico Nacional  
Ciudad de México, México  
<https://orcid.org/0000-0003-2597-148X>

### **IBQ. Carlos García Pérez**

Residente Profesional en el  
Departamento de  
Biotecnología y Bioingeniería del  
Centro de Investigación y de  
Estudios Avanzados del  
Instituto Politécnico Nacional  
Ciudad de México, México

### **Biol. María del Pilar Méndez Castrejón**

Auxiliar de Investigación  
Departamento de  
Biotecnología y Bioingeniería del  
Centro de Investigación y de  
Estudios Avanzados del  
Instituto Politécnico Nacional  
Ciudad de México, México

<sup>1</sup> Agradecimientos: al Cinvestav-IPN por el financiamiento de la investigación y al Sr. Alejandro Aranda por su apoyo técnico. El trabajo fue presentado en el Congreso Academia Journals-Hidalgo 2019.

<sup>2</sup> Declaración: Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

### **Dr. Juan Alfredo Salazar Montoya**

Investigador Titular del  
Departamento de  
Biotecnología y Bioingeniería del  
Centro de Investigación y de  
Estudios Avanzados del  
Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de  
México, México

**RESUMEN:** Se presenta una revisión del panorama económico del cultivo de la guanábana (*Annona muricata*) en el Continente Americano, considerando las estadísticas locales sobre la producción y exportación, en los principales países productores del Continente. Se enlistan los principales países consumidores en el mundo, con base en lo mencionado por diversos autores y agencias oficiales. Se analizaron los datos correspondientes a los años 2017 y 2018, para poder comparar las cifras agroeconómicas de la guanábana. Las cifras presentadas fueron consultadas en los sitios oficiales de internet de los organismos especializados de los países involucrados, tales como los ministerios de agricultura, institutos de estadística y bancos nacionales. Además, se menciona el aprovechamiento actual de esta fruta como materia prima, para la elaboración de diversos productos en la industria alimentaria, así como otros usos no convencionales. Se concluye sobre la importancia de la información agroeconómica actualizada de esta fruta para su aprovechamiento.

**PALABRAS CLAVE:** Guanábana. Producción. Exportación. Aprovechamiento. América.

## AN OVERVIEW OF AGROECONOMICAL LANDSCAPE OF SOURSOUP (*Annona muricata*) IN AMERICA CONTINENT

**ABSTRACT:** An overview of the agroeconomic landscape of soursop (*Annona muricata*) in the American continent is presented, considering local statistics on production and export, in the main producing countries of the continent. Likewise, the main consumer countries in the world are listed, according to official agencies and what is mentioned in the scientific literature. The data corresponding to the years 2017 and 2018 were analyzed, in order to compare the agroeconomic information of the soursop. The data presented were consulted on the official websites of the specialized agencies of the countries involved, such as the ministries of agriculture, statistical institutes, and national banks. In addition, the current use of this fruit as raw material is mentioned, to produce various products in the food industry, as well as other unconventional uses. It concludes about the importance of updated agroeconomic information on this fruit for its use.

**KEYWORDS:** Soursop. Production. Export. Exploitation. Americas.

## 1 INTRODUCCIÓN

La revisión expuesta en este artículo se centra en el panorama agroeconómico del fruto de la guanábana (*Annona muricata*) en el Continente Americano, se analizan los datos contemporáneos nacionales e internacionales disponibles en la literatura. Considerando la descripción general de la guanábana, se aborda su origen geográfico, características de cultivo, productividad y composición nutricional, así como la distribución de las anonáceas y la guanábana a nivel mundial. También se describe la importancia económica de esta fruta en 26 países productores, de los cuales 19 se encuentran en América y el resto se ubican en África, Oceanía y Australia; además de 17 países consumidores a nivel mundial. Las cifras agroeconómicas de la guanábana en los principales países productores, abarca información acerca de los valores de producción y exportación del producto en cuestión; dichas cifras, fueron consultadas en los sitios oficiales de internet de los organismos especializados en materia de agricultura y estadística de los países mencionados. Finalmente, la importancia de la publicación de cifras agroeconómicas describe el amplio potencial de la guanábana, así como su aprovechamiento local e industrial.

## 2 ANTECEDENTES

### 2.1 GENERALIDADES

El guanábano (*Annona muricata*) es un árbol perennifolio, con altura de 3 a 8 metros, puede presentar ramificaciones desde la base del tronco y sus hojas son alternas

y simples. Las flores presentan estambres y pistilos, tienen simetría radial, son solitarias o pueden presentarse en agrupaciones de dos a cuatro flores y pueden crecer en diversas partes del árbol; sus pétalos al principio son de color verde y posteriormente amarillo, miden de 3.5 cm de longitud por 2.4 cm de ancho. La fruta tiene cáscara delgada, de color verde oscuro, con prominencias delgadas ligeramente curvas (Figura 1); está conformada por numerosos frutillos carnosos agrupados alrededor en un receptáculo también carnoso; la fruta mide entre 14 y 40 cm de largo y entre 10 y 20 cm de ancho; su peso es de 1 a 5 kg; su forma puede variar debido a la deficiencia en la polinización; su pulpa es blanca, jugosa y aromática. Las semillas son de color café oscuro y con albumen ruminado (Rivera, 2006); generalmente suelen hallarse más de 100 semillas con longitud de 1 a 2 cm (Jiménez *et al*, 2014).

Figura 1. Fruto de *Annona muricata* y sus diferentes formas y tamaños.



## 2.2 COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LA GUANÁBANA

Los principales componentes de la guanábana son agua y carbohidratos, así como proteínas, vitaminas y minerales (Cuadro 1), los cuales son aprovechados tras su consumo para la obtención de energía a partir de dichos nutrientes.

Cuadro 1. Composición nutricional de la guanábana (Hernández *et al*, 2013).

Compuesto	Cantidad en 100 g de pulpa	Compuesto	Cantidad en 100 g de pulpa
Calorías	53.1 – 61.3 cal	Calcio	10.30 mg
Agua	82.80 g	Fósforo	27.70 mg
Carbohidratos	14.63 g	Hierro	0.64 mg
Grasas	0.97 g	Tiamina	0.11 mg
Proteínas	1.00 g	Riboflavina	0.05 mg
Fibra	0.79 g	Niacina	1.28 mg
Cenizas	0.60 g	Ácido ascórbico	29.60 mg

## 2.3 CULTIVO

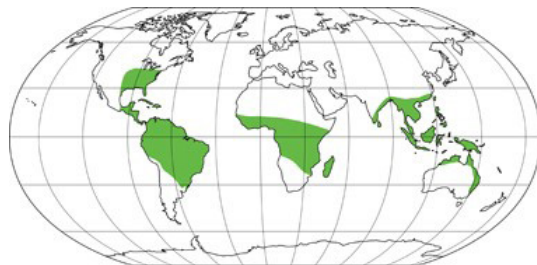
La guanábana se puede propagar por semilla o por injertos (siendo más eficientes las técnicas de enchape lateral y el de yema); en ambos casos, se seleccionan los mejores frutos de los árboles con mayor productividad, tanto en cantidad como en calidad (Flores, 2018). Este frutal requiere clima tropical, altitudes menores a 1,000 m.s.n.m., temperatura de 25 a 28 °C y una precipitación media anual de 1,000 a 3,000 mm. Cuando la fruta alcanza su desarrollo completo se cosecha y madura en 2 a 3 días en zonas costeras, y de 4 a 8 días en zonas serranas (Blacio, 2010).

Este cultivo produce de 10 a 15 kg de fruta por árbol al año; un árbol de plantación tradicional de 18 años, propagado por semilla, produce cerca de 30 kg de fruta anualmente, equivalente a 20 guanábanas de 1.5 kg/planta (Reyes *et al*, 2018). Los rendimientos de producción varían debido a factores de cultivo, como la edad de la plantación, el sistema de manejo y las condiciones ambientales (Andrés, 2011).

## 2.4 DISTRIBUCIÓN MUNDIAL DE LA GUANÁBANA

La familia *Annonaceae* está distribuida en áreas tropicales de América, África y Asia (Figura 2); comprende 135 géneros y 2,500 especies, de las cuales, 40 géneros y 900 especies se encuentran en América, 450 especies en África y casi 1,200 especies en Asia y Australia (Andrés, 2011). La chirimoya (*A. cherimola*), la anona (*A. reticulata*), el saramuyo (*A. squamosa*) y la guanábana (*A. muricata*) destacan por su importancia comercial; ésta última es la de mayor tamaño en comparación con las otras especies (Worrell *et al*, 1994). La guanábana es nativa de las regiones tropicales de América del Sur (Ulloa, 2017), probablemente se originó en las Antillas (islas del Caribe) (Blacio, 2010). *A. muricata* fue uno de los principales árboles que se introdujeron en los trópicos del viejo mundo (Blacio, 2010); actualmente se encuentra distribuida en regiones tropicales y subtropicales de América Central y del Sur, África Occidental y Sudeste Asiático, a menos de 1,200 m s. n. m., con temperaturas de 25 y 28 °C, humedad relativa de 80% entre 60 y 30 °C y precipitación anual superior a 1,500 mm (Zorofchian *et al*, 2015).

Figura 2. Distribución geográfica de la familia *Annonaceae* (UDELAR, 2017).



## 2.5 IMPORTANCIA ECONÓMICA DE *A. muricata*

Debido a sus cualidades organolépticas, la guanábana se ha considerado como la fruta más deliciosa del género *Annona*, siendo ideal para su comercialización y procesamiento industrial (Jiménez *et al*, 2014); es uno de los frutales más apreciados en los trópicos del centro y sur de América; posee gran potencial económico, por su demanda en el mercado externo y por su valor comercial intrínseco (Hernández *et al*, 2008), el cual se usa como producto alimenticio, por el aroma agradable y sabor agridulce de la pulpa, con alto valor nutritivo (Cuadro 1); además es considerada como una fruta exótica (Hernández *et al*, 2013). Su potencial de exportación se centra en el procesamiento del producto, pues dicha fruta es altamente perecedera por lo cual requiere de una estrategia de conservación. Es difícil de encontrar en mercados internacionales debido a su tamaño voluminoso, lo cual es un impedimento a la hora de su comercialización. La oferta del fruto es absorbida en su mayoría por el mercado interno y para comercialización en las cadenas de supermercados; esto debido a que su precio de exportación es alto (Flores, 2018).

## 2.6 PAÍSES PRODUCTORES Y CONSUMIDORES DE GUANÁBANA EN EL MUNDO

Como se mencionó, la guanábana es una fruta con alta importancia económica y es producida en su mayoría en países tropicales con las condiciones de cultivo apropiadas. Con base en esto, los principales países productores de guanábana en América son: Bahamas, Bolivia, Brasil, Colombia, Costa Rica, Cuba, Ecuador, El Salvador, Estados Unidos (Florida, Hawái, Puerto Rico, Bermudas), Granada, Guatemala, Honduras, Jamaica, México, Nicaragua, Perú, República Dominicana y San Vicente; en Asia: China, Filipinas, India, Malasia y Vietnam; y en Oceanía: Australia y Nueva Zelanda. Como países consumidores en América se tiene a: Canadá, Chile, Costa Rica, Granada, Jamaica y Estados Unidos; en Asia: China, India, Israel, Malasia, Singapur y Tailandia (FAO *et al*, 2014); en Europa: Alemania (Blacio, 2010), España, Holanda e Italia; y en Oceanía: Nueva Zelanda (FAO *et al*, 2014).

## 2.7 AGROECONOMÍA DE LA GUANÁBANA EN AMÉRICA

Para revisar la producción de guanábana en los países americanos se consultaron las cifras publicadas en los sitios oficiales de internet de los organismos especializados de los países mencionados, tales como los ministerios de agricultura, institutos de estadística y bancos nacionales. De las bases de datos mencionadas,



se tomaron los datos correspondientes a los años 2017 y 2018, para poder comparar las cifras agroeconómicas de la guanábana en términos de producción, exportación y su valor económico. Las cifras agroeconómicas que se muestran a continuación corresponden sólo a los países que han publicado su información actualizada. En el caso de los países que no presentan datos agroeconómicos sobre la guanábana, se ha supuesto que su producción no es para consumo interno o regional.

## 2.8 PRODUCCIÓN EN AMÉRICA EN LOS AÑOS 2017 Y 2018

En el Cuadro 2 se muestran los datos de producción de guanábana en los años 2017 y 2018, comparando las cifras del 2018 con las del 2017, se tiene que en la producción, Colombia, México y Perú tuvieron un incremento del 18.84, 1.30 y 2.14%, respectivamente; considerando el valor de producción, México y Perú tuvieron un incremento del 21.85 y 13.06%, respectivamente. Al comparar la producción en toneladas de Colombia con la de México, se tiene que, en los años 2017 y 2018, Colombia produjo 52.90% y 79.37% más que México, respectivamente. Con base en los datos presentados en el Cuadro 2, se tiene que Colombia fue el principal productor de esta fruta en América, seguido de México en el segundo lugar en producción.

Cuadro 2. Producción de guanábana de los principales países americanos productores en 2017 y 2018.

País	Producción (t)		Rendimiento (t/ha)		Valor de producción (USD)*	
	2017	2018	2017	2018	2017	2018
1. Colombia	44,116.00 <sup>1</sup>	52,427.00 <sup>2</sup>	10.73 <sup>1</sup>	11.06 <sup>2</sup>	- <sup>1</sup>	- <sup>2</sup>
2. México	28,853.66 <sup>3</sup>	29,228.46 <sup>4</sup>	10.00 <sup>3</sup>	9.81 <sup>4</sup>	12,918,291.23 <sup>3</sup>	15,751,455.7 <sup>4</sup>
3. Perú	6,970.00 <sup>5</sup>	7,119.00 <sup>6</sup>	8.34 <sup>5</sup>	8.10 <sup>6</sup>	3,360,430.42 <sup>5</sup>	3,799,239.44 <sup>6</sup>
4. San Vicente <sup>7</sup>	0.12	-	-	-	-	-
5. República Dominicana <sup>8</sup>	-	7,181.00	-	110.48	-	-

t: Tonelada; ha: Hectárea; USD: dólar estadounidense; \*: Valor equivalente de la moneda nacional, al 29/07/2019. -: Dato no mencionado en la referencia; <sup>1</sup>: (Agronet, 2018a); <sup>2</sup>: (López, 2019); <sup>3</sup>: (SIAP, 2017a); <sup>4</sup>: (SIAP, 2018a); <sup>5</sup>: (SIEA, 2018a); <sup>6</sup>: (SIEA, 2018b); <sup>7</sup>: (SO, 2018); <sup>8</sup>: (ONE, 2019a).

El incremento en ambos parámetros agroeconómicos representa también el aumento de la importancia de este frutal en dichos países. En algunos casos, no se tiene una fracción arancelaria (F.A.) exclusiva para la guanábana, ya que puede estar incluida con “la chirimoya y otras anonas similares” o en la categoría de “las demás frutas u otros frutos frescos”.

## 2.9 EXPORTACIONES DE GUANÁBANA EN AMÉRICA

En el Cuadro 3 se muestran las Fracciones Arancelarias referentes a dicha fruta, de acuerdo con lo descrito por los organismos especializados en comercio exterior de los países americanos con cifras de producción; así como los valores de exportación en los años 2017 y 2018.

Cuadro 3. Exportaciones de guanábana de los principales países productores en los años 2017 y 2018.

País	Fracción Arancelaria (F. A.)	Descripción	Países importadores	Valor de exportación			
				Toneladas (t)		USD	
				2017	2018	2017	2018
México	0811.90.99 <sup>1</sup>	Los demás <sup>1</sup>	-	43,753.1 <sup>2</sup>	48,929.7 <sup>3</sup>	79,328,092.4 <sup>2</sup>	88,753,319.3 <sup>3</sup>
Perú	0810.90.90.00 <sup>4</sup>	Las demás frutas u otros frutos frescos <sup>4</sup>	Holanda, Inglaterra, Bélgica <sup>4</sup>	29,075.00 <sup>5</sup>	34,426.0 <sup>6</sup>	58,285,000.00 <sup>5</sup>	67,792,000.0 <sup>6</sup>
Colombia	0810.90.20.00 <sup>7</sup>	Chirimoya, guanábana y demás anonas frescas	-	183.00	-	351,100.00	-
Costa Rica	0810.90.90.00.90 <sup>9</sup>	Las demás frutas u otros frutos, frescos <sup>9</sup>	Canadá, Estados Unidos <sup>8</sup>	69.22 <sup>8</sup>	45.33 <sup>9</sup>	253,126.98 <sup>8</sup>	115,131.54 <sup>9</sup>
República Dominicana	0810.90.30 <sup>11</sup>	Guanábana <sup>10</sup>	Bélgica, Islas Vírgenes Británicas, Canadá, Francia, Alemania, Haití, Países Bajos, España, Reino Unido <sup>10</sup>	7.05 <sup>10</sup>	.. <sup>11</sup>	4,500.00 <sup>10</sup>	.. <sup>11</sup>

--: Dato no mencionado en la referencia; 1: (SIICEX, 2002); 2: (SIAP, 2017b); 3: (SIAP, 2018b); 4: (BCRP, 2017); 5: (Mendieta, 2018); 6: (Mendieta, 2019); 7: (Agronet, 2018b); 8: (MHCR, 2017); 9: (MHCR, 2019); 10: (ONE, 2019b); 11: (ONE, 2019c).

Analizando las cifras, se tiene que México y Perú presentaron un incremento en el valor de producción en toneladas del 11.83 y 18.40%, respectivamente; en el caso de Costa Rica, se tuvo una disminución del 34.52%. De manera similar, en el valor de producción en dólares estadounidenses, México y Perú tuvieron un aumento del 11.88 y 16.31%, respectivamente; mientras que Costa Rica presentó un decremento del 54.52%.

### 3 APROVECHAMIENTO DE LA GUANÁBANA

#### 3.1 APROVECHAMIENTO LOCAL E INDUSTRIAL

A nivel local, la pulpa de la guanábana se consume principalmente fresca, y es utilizada para preparar múltiples alimentos tales como batidos de fruta, conservas, helados, jugos (Vit *et al*, 2014), bebidas, jugo concentrado, dulces, ensalada de frutas, gelatina, jaleas, mermeladas, néctares, tortas caseras, sopas (en Indonesia cuando la fruta está inmadura), además de trozos de fruta con cáscara tostados o fritos (en Brasil) (FAO *et al*, 2014), galletas (Ulloa, 2017), paletas y licores (Hernández *et al*, 2013). A nivel industrial, es procesada para elaborar barras de pulpa de guanábana liofilizada, concentrados, conservas jarabes, mermeladas, néctares, polvos, productos lácteos, pulpa líquida, refrescos, té de hoja del árbol de guanábana (Ulloa, 2017) y pulpa congelada (Vit *et al*, 2014). El aprovechamiento del fruto es más amplio a nivel local, posiblemente porque es fácil de conseguir y es procesado para elaborar alimentos de consumo inmediato y conservas; en cambio, a nivel industrial, se elaboran productos capaces de ser almacenados durante tiempos prolongados, favoreciendo la preservación de sus propiedades organolépticas, transporte y comercialización.

#### 3.2 USOS NO CONVENCIONALES

Además del aprovechamiento alimentario de la guanábana, existen múltiples usos no convencionales practicados regionalmente, en su mayoría, con fines terapéuticos (Cuadro 4).

Cuadro 4. Algunos usos no convencionales de la guanábana.

Parte del fruto o árbol	Forma de utilización	Uso
Hojas del árbol	Baño	Para tratar enfermedades de la piel en Indonesia, las Antillas y los países del Pacífico Sur <sup>2</sup>
	Decocción	Como analgésico en Brasil, Martinica, México y Nicaragua <sup>2</sup> Contra molestias asociadas con resfriados, gripe y asma en Benin, el Caribe, Cuba y México <sup>2</sup>
Pulpa del fruto	Jugo	Como diurético y remedio para hematuria y uretritis <sup>1,3</sup>
		Para tratar enfermedades cardíacas y hepáticas en América del Sur <sup>2</sup>
	Pulpa	Como galactogogo, para aumentar la producción de leche materna después del parto <sup>4</sup>
Para tratar la artritis, diarrea, disentería, dolor artrítico, fiebre, malaria, neuralgia, reumatismo y parásitos <sup>4</sup>		

<sup>1</sup>: (Blacio, 2010); <sup>2</sup>: (Coria *et al*, 2018); <sup>3</sup>: (FAO *et al*, 2014); <sup>4</sup>: (Zorofchian *et al*, 2015).

### 3.3 PANORAMA DEL USO POTENCIAL

La guanábana es un fruto con amplio potencial: 1) económico, debido a su aprovechamiento alimenticio, mediante el procesamiento y comercialización local e industrial de la fruta; y 2) de investigación, por sus diversos usos como medicina tradicional. Particularmente, el potencial de investigación radica en la identificación de los bioproductos que componen las diferentes partes de la fruta y del árbol y en la validación científica de sus efectos benéficos sobre la salud humana, lo cual representa un potencial de aprovechamiento como medicina novedosa y sustentable.

### 3.4 IMPORTANCIA DE LAS CIFRAS AGROECONÓMICAS DE LA GUANÁBANA

La importancia agroeconómica de esta fruta se fundamenta en sus cifras de producción y exportación, especialmente en el aumento de éstas, ya que permiten apreciar el panorama nacional e internacional de la situación actual del fruto en los países productores. Cifras elevadas de producción son un indicativo de, una mejora en las técnicas desarrolladas, así como en el aprovechamiento de las tecnologías de cultivo (siembra, riego, control de plagas), de cosecha y poscosecha del fruto (transporte y almacenamiento); esto se ve reflejado en el aumento del valor de producción en términos monetarios, ya que demuestran la inversión en tecnología para garantizar un buen rendimiento del cultivo, con respecto al área cosechada. La publicación de información agroeconómica sobre esta fruta, indica la importancia que tiene en el país productor, pues su producción, procesamiento y exportación generan ingresos.

## 4 CONCLUSIONES

El panorama agroeconómico de la guanábana brinda una visión de la situación actual del fruto en América, mediante las cifras de producción y exportación de los años 2017 y 2018, así como la mención de su aprovechamiento usual y no convencional, además de su potencial importancia comercial a nivel nacional y mundial. La mayoría de los países americanos productores de guanábana no muestran cifras agroeconómicas a través de sus organismos especializados en materia de agricultura y estadística, lo cual supone que la producción de dicho fruto es principalmente con fines de consumo local. Es deseable que los productores o las organizaciones regionales aporten esta información para ampliar la comprensión del impacto socioeconómico de este cultivo.

## REFERENCIAS

Andrés, J. "Diversidad de géneros y especies de *Annonaceae* en México," en Gonzáles, A., Luna, L., Gutiérrez, J., Schlie, M. y Vidal, D. *Anonáceas. Plantas antiguas, estudios recientes*. México: Editorial UNICACH, 2011.

Banco Central de Reserva del Perú (BCRP). "Correlacionador exportaciones no tradicionales por sector económico," 2017, consultada por internet el 10 de Julio de 2019. Dirección de internet: <http://www.bcrp.gob.pe/estadisticas/correlacionador-exportaciones-no-tradicionales-por-sector-economico.html>

Blacio, K. "Proyecto de prefactibilidad para la exportación de pulpa de guanábana al mercado alemán en el periodo 2008-2018 (Tesis de grado)," *Universidad Tecnológica Equinoccial (UTE)*, Quito, Ecuador, 2010, consultada por internet el 04 de Julio de 2019. Dirección de internet: [http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/6677/1/40868\\_1.pdf](http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/6677/1/40868_1.pdf)

Coria, A., Montalvo, E., Yahia, E. y Obeldo, E. "*Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity," *Arabian Journal of Chemistry*, Vol. 11, 2018.

Flores, L. "Caracterización de la agrocadena de guanábana en el departamento del valle del Cauca Colombia municipios Cartago y Ansermanuevo (Tesis de licenciatura)," *Universidad de La Salle*, Bogotá, Colombia, 2018, consultada el 04 de Julio de 2019. Dirección de internet: [http://repositorio.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/28588/12102022\\_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/28588/12102022_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Programa Cooperativo de Desarrollo Rural para América Latina y el Caribe (PRODAR). e Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (ICCA). "Fichas técnicas. Productos frescos de frutas," 2014, consultada por internet el 03 de Julio de 2019. Dirección de internet: <http://www.fao.org/3/a-au173s.pdf>

Hernández, L., Bautista, N., Carrillo, J., Sánchez, H., Urías, M. y Salas, M. "Control del barrenador de las semillas, *Bephratelloides cubensis* ashmead (Hymenoptera: Eurytomidae) en guanábana *Annona muricata* L. (Annonales: Annonaceae)," *Acta Zoológica (n. s.)*. Vol. 24. No. 1, 2008.

Hernández, L., Gómez, R. y Andrés, J. "Importancia, plagas insectiles y enfermedades fungosas del cultivo del guanábano," *Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)*, 2013, consultada el 04 de Julio de 2019. Dirección de internet: [http://inifapcirpac.gob.mx/publicaciones\\_nuevas/Importancia,%20plagas%20insectiles%20y%20enfermedades%20fungosas%20del%20cultivo%20del%20Guanabano.pdf](http://inifapcirpac.gob.mx/publicaciones_nuevas/Importancia,%20plagas%20insectiles%20y%20enfermedades%20fungosas%20del%20cultivo%20del%20Guanabano.pdf)

Jiménez, V., Gruschwitz, M., Schweiggert, R., Carle, R. y Esquivel, P. "Identification of phenolic compounds in soursop (*Annona muricata*) pulp by high-performance liquid chromatography with diode array and electrospray ionization mass spectrometric detection," *Food Research International*, Vol. 65, 2014.

López, J. "La guanábana nacional llegaría a 60,000 toneladas producidas al cierre de este año," *Agronegocios (noticiero en línea)*, 2019, consultada por internet el 04 de Julio de 2019. Dirección de internet: <https://www.agronegocios.co/agricultura/la-guanabana-nacional-llegaria-a-60000-toneladas-producidas-al-cierre-de-este-ano-2844095>

Mendieta, J. "Anuario estadístico de comercio exterior agrario 2017," *Ministerio de Agricultura y Riego*, 2018, consultada el 09 de Julio de 2019. Dirección de internet: [http://siea.minagri.gob.pe/siea/sites/default/files/anuario-comercio-exterior-2017\\_140219.pdf](http://siea.minagri.gob.pe/siea/sites/default/files/anuario-comercio-exterior-2017_140219.pdf)

Mendieta, J. "Anuario estadístico de comercio exterior agrario 2018," *Ministerio de Agricultura y Riego*, 2019, consultada el 09 de Julio de 2019. Dirección de internet: <http://siea.minagri.gob.pe/siea/sites/default/files/anuario-comercio-exterior-2018-260319.pdf>

Ministerio de Hacienda de Costa Rica (MHCR). "Estadísticas de exportaciones 2018," 2019, consultada por internet el 10 de Julio de 2019. Dirección de internet: <https://www.hacienda.go.cr/contenido/14376-estadisticas-de-exportaciones-2018>

Ministerio de Hacienda de Costa Rica (MHCR). "Exportaciones 2017," *Estadísticas de exportación*, 2017, consultada por internet el 10 de Julio de 2019. Dirección de internet: <https://www.hacienda.go.cr/contenido/13986-estadisticas-de-exportacion>

Oficina Nacional de Estadística (ONE). "Anuario comercio exterior 2017 (Archivo .xlsx)," *República Dominicana*, 2019b, consultada por internet el 10 de Julio de 2019. Dirección de internet: <https://www.one.gob.do/publicaciones?ID=5101#>

Oficina Nacional de Estadística (ONE). "Informaciones. Consolidado nacional de principales cultivos agrícolas, según mes, 2018," *República Dominicana*, 2019a, consultada por internet el 07 de Julio de 2019. Dirección de internet: <https://www.one.gob.do/economicas/agropecuarias>

Oficina Nacional de Estadística (ONE). "Informaciones," *República Dominicana*, 2019c, consultada por internet el 10 de Julio de 2019. Dirección de internet: <https://www.one.gob.do/economicas/sector-externo>

Red de información y comunicación del sector Agropecuario Colombiano (Agronet). "Anuario estadístico del sector agropecuario 2017. Resultados Evaluaciones Agropecuarias Municipales", 2018a, consultada por internet el 04 de Julio de 2019. Dirección de internet: [https://www.agronet.gov.co/estadistica/EVA/story\\_content/external\\_files/\\_ANUARIO%202017.pdf](https://www.agronet.gov.co/estadistica/EVA/story_content/external_files/_ANUARIO%202017.pdf)

Red de información y comunicación del sector Agropecuario Colombiano (Agronet). "Reporte: Histórico - EVA. Tablas Anuario Definitivo 2017," 2018b, consultada por internet el 09 de julio de 2019. Dirección de internet: [https://www.agronet.gov.co/Lists/Boletin/Attachments/2609/Tablas%20Anuario\\_Definitivo\\_2017.xlsb](https://www.agronet.gov.co/Lists/Boletin/Attachments/2609/Tablas%20Anuario_Definitivo_2017.xlsb)

Reyes, J., Aceves, E., Caamal, J. y Alamilla, J. "Producción de guanábana (*Annona muricata* L.) en alta densidad de plantación, como alternativa para productores con superficies reducidas," *Agroproductividad*, Vol. 11, No. 9, 2018.

Rivera, J. "Estudio de opinión en el municipio de Actopan, Ver., sobre las ventajas para la comercialización de la guanábana basado en el proyecto de investigación <<Tecnología de obtención de pulpa de guanábana en el Instituto Tecnológico de Veracruz>> (Tesis de maestría)," *Universidad Veracruzana*, Xalapa, Veracruz, 2006, consultada el 04 de Julio de 2019. Dirección de internet: <https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/31038/riveramoreno.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). "Anuario estadístico de la producción agrícola, año: 2017, ciclo: cíclicos-perennes, modalidad: riego+temporal, cultivo: guanábana," 2017a, consultada por Internet el 08 de Julio de 2019. Dirección de Internet: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). "Anuario estadístico de la producción agrícola, año: 2018, ciclo: cíclicos-perennes, modalidad: riego+temporal, cultivo: guanábana," 2018a, consultada por Internet el 03 de Julio de 2019. Dirección de Internet: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). "Consulta por la tarifa arancelaria 08119099. Información: resumen anual; tipo de operación: exportación; año: 2017," 2017b, consultada por internet el 09 de Julio de 2019. Dirección de internet: <https://w6.siap.gob.mx/comercio/AjaxFraccs/conajaxFracc.gobmx.php>

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). "Consulta por la tarifa arancelaria 08119099. Información: resumen anual; tipo de operación: exportación; año: 2018," 2018b, consultada por internet el 09 de Julio de 2019. Dirección de internet: <https://w6.siap.gob.mx/comercio/AjaxFraccs/conajaxFracc.gobmx.php>

Sistema Integrado de Estadística Agraria (SIEA). "2018 Anuario Estadístico de Producción Agrícola," 2018b, consultada por internet el 06 de Julio de 2019. Dirección de internet: <http://siea.minagri.gob.pe/siea/?q=publicaciones/anuario-de-produccion-agricola>

Sistema Integrado de Estadística Agraria (SIEA). "Anuario Estadístico de Producción Agrícola 2017," 2018a, consultada por internet el 06 de Julio de 2019. Dirección de internet: <http://siea.minagri.gob.pe/siea/?q=publicaciones/anuario-de-produccion-agricola>

Sistema Integral de Información de Comercio Exterior (SIICEX). "Tarifa de la ley de impuestos generales de importación y de exportación," 2002, consultada por internet el 09 de Julio de 2019. Dirección de internet: <http://www.siicex-caaarem.org.mx/Bases/TIGIE2002.nsf/d58945443a3d19d886256bab00510b2e/1d9c239bbe53354606256b49005b31e2?OpenDocument>

Statistical Office (SO). "Production of Legumes, Vegetables, Fruits, 2013 to 2018", *Ministry of Finance, Economic Planning, Sustainable Development, and Information Technology, Government of Saint Vincent and the Grenadines*, 2018, consultada por internet el 07 de Julio de 2019. Dirección de internet: [http://stats.gov.vc/stats/?page\\_id=812](http://stats.gov.vc/stats/?page_id=812)

Ulloa, E. "Oportunidades de comercialización de productos agrícolas incipientes," *Promotora del Comercio Exterior de Costa Rica (PROCOMER)*, 2017, consultada el 05 de Julio de 2019. Dirección de internet: <https://www.procomer.com/uploads/downloads/f62761458ba1270c78d0d69f8c0d341229912033.pdf>

Universidad de la República Uruguay (UDELAR). "*Annonaceae* Juss.," 2017, consultada por internet el 19 de Julio de 2019. Dirección de Internet: [http://www.thecompositaehut.com/www\\_tch/webcurso\\_spv/familias\\_pv/Annonaceae.html](http://www.thecompositaehut.com/www_tch/webcurso_spv/familias_pv/Annonaceae.html)

Vit, P., Santiago, B. y Pérez, E. "Composición química y actividad antioxidante de pulpa, hoja y semilla de guanábana *Annona muricata* L.," *Interciencia*, Vol. 39, No. 5, 2014.

Worrell, D., Sean, C. y Huber, D. "Growth, maturation and ripening of soursop (*Annona muricata* L.) fruit," *Scientia Horticulturae*, Vol. 57, 1994.

Zorofchian, S., Fadaeinasab, M., Nikzad, S., Mohan, G., Mohd, H. y Abdul, H. "*Annona muricata* (*Annonaceae*): A review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities," *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 16, 2015.

# CAPÍTULO 5

## DESCRIPCIÓN FÍSICA DE SEMILLAS DE GENOTIPOS DE MAÍZ AZUL

Data de submissão: 05/11/2023

Data de aceite: 21/11/2023

### **Germán Fernando Gutiérrez-Hernández**

Instituto Politécnico Nacional  
Unidad Profesional  
Interdisciplinaria de Biotecnología  
Av. Acueducto s/n  
La Laguna Ticomán  
C. P. 07340  
Ciudad de México, México  
ORCID: 0000-0003-3312-3747

### **José Luis Arellano-Vázquez**

Instituto Nacional de Investigaciones  
Forestales, Agrícolas y Pecuarias  
Campo Experimental Valle de México  
C. P. 56250  
Coatlinchán, Estado de México, México  
ORCID: 0000-0002-2231-2940

### **Luis Fernando Ceja-Torres**

Instituto Politécnico Nacional  
Centro Interdisciplinario de  
Investigación para el  
Desarrollo Integral Regional  
Unidad Michoacán  
Justo Sierra 28. C. P. 59510  
Jiquilpan, Michoacán, México  
ORCID: 0000-0002-8397-0701

### **Estela Flores-Gómez**

Instituto Politécnico Nacional  
Unidad Profesional  
Interdisciplinaria de Biotecnología  
Av. Acueducto s/n  
La Laguna Ticomán  
C. P. 07340  
Ciudad de México, México  
ORCID: 0000-0002-4634-455X

### **Patricia Vázquez-Lozano**

Instituto Politécnico Nacional  
Unidad Profesional  
Interdisciplinaria de Biotecnología  
Av. Acueducto s/n  
La Laguna Ticomán  
C. P. 07340  
Ciudad de México, México  
ORCID: 0000-0002-5945-6307

**RESUMEN:** El maíz es alimento primordial de la humanidad, su cultivo se ha extendido a África subSahariana, Europa y Asia, además de Latinoamérica. La amplia variabilidad genética de este cereal le ha posibilitado incursionar en un sinnúmero de ambientes y el grano aporta carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales. Las variedades pigmentadas de maíz (de grano rojo, amarillo o azul) se consideran un alimento funcional debido a su contenido de sustancias nutraceuticas que son benéficas para la salud y la nutrición humanas. El maíz azul contiene antocianinas



en el grano, ya sea en el pericarpio o en la capa de aleurona, este colorante vegetal les da su color peculiar y exótico. Este tipo de maíz es muy apreciado y consumido en la cocina mexicana; sin embargo, su producción es insuficiente por lo que se ha recurrido a formar híbridos con características sobresalientes, entre las que destacan las dimensiones de semilla por ser un factor determinante para la comercialización de los híbridos. El objetivo del presente trabajo fue determinar las diferencias en las dimensiones de las semillas de los genotipos parentales del híbrido de maíz azul HAZUL 10E. Se utilizaron semillas del híbrido trilineal experimental de maíz azul y de sus progenitores. Se empleó un diseño experimental de bloques al azar con cuatro repeticiones de 25 semillas, se evaluaron el peso de 100 semillas, la anchura, el espesor y la longitud de las semillas; también se calcularon el volumen, el volumen y la densidad relativos de las referidas semillas. Se llevó a cabo un análisis de varianza de los resultados y la prueba de comparación de medias (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). Se obtuvo que las líneas provenientes de las cruces simple y trilineal tuvieron dimensiones mayores que las líneas parentales, hecho que se atribuyó a efectos de heterosis.

**PALABRAS CLAVE:** *Zea mays*. Antocianinas. Maíz azul. Tamaño de semilla.

## PHYSICAL DESCRIPTION OF BLUE CORN GENOTYPE SEEDS

**ABSTRACT:** Corn is the essential food of humanity. Its cultivation has spread to sub-Saharan Africa, Europe, and Asia, as well as Latin America. The wide genetic variability of this cereal has allowed it to grow in countless environments, and the grain provides carbohydrates, proteins, vitamins, and minerals. Pigmented varieties of corn (red, yellow, or blue grain) are considered functional food due to their content of nutraceutical substances that are beneficial for human health and nutrition. Blue corn contains anthocyanins in the grain, either in the pericarp or in the aleurone layer. This vegetable pigment gives them their peculiar and exotic color. This type of corn is highly appreciated and consumed in Mexican cuisine. However, its production is insufficient, so hybrids with outstanding characteristics have been developed. The seed dimensions stand out as being a determining factor for the commercialization of hybrids. The objective of this work was to determine the differences in the dimensions of the seeds of the parental genotypes of the blue corn hybrid HAZUL 10E. Seeds from the experimental trilinear hybrid of blue corn and its parents were used. A randomized block experimental design was used with four repetitions of 25 seeds. The weight of 100 seeds, width, thickness, and length of the seeds were evaluated. The volume, relative volume, and relative density of the seeds were also calculated. An analysis of variance of the results and the comparison of means test were carried out (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). It was obtained that the lines coming from the simple and trilinear crosses had larger dimensions than the parental lines, a fact that was attributed to heterosis effects.

**KEYWORDS:** *Zea mays*. Anthocyanins. Blue corn. Seed size.

## 1 INTRODUCCIÓN

Las antocianinas originan el color azul del grano de maíz (Salinas *et al.*, 2013), las cuales son pigmentos vegetales sintetizados a partir de la cianidina (Salinas *et al.*,

1999). Se localizan en el pericarpio y en la aleurona (Betrán *et al.*, 2001; Hernández-Uribe *et al.*, 2007); son hidrosolubles y tienen efectos metabólicos favorables: son antiinflamatorias, antioxidantes, reducen el colesterol y los triglicéridos en la sangre, inhiben la peroxidación de lípidos en el hígado y se relacionan con la reducción de cáncer (Wang y Zeng, 2009; Soto-Vaca *et al.*, 2012). Por otra parte, de las antocianinas del maíz se derivan colorantes de vinos, mermeladas, jugos de fruta y textiles (Boo *et al.*, 2012). Pese a su importancia, la cuantificación de antocianinas solo se ha hecho en algunas razas de maíz (López-Martínez *et al.*, 2009).

La misma situación anterior prevalece en la caracterización física de las semillas, la cual tiene relación estrecha con su aptitud germinativa y con el vigor que potencialmente poseen y también es útil para identificar el híbrido o la variedad mejorada. En el presente estudio se hace la descripción física de las semillas de un híbrido trilineal experimental de maíz azul, cuyos atributos agronómicos y de rendimiento son sobresalientes y, por tanto, pasará a la etapa de validación en campos de cultivo de los productores y a su liberación comercial posterior.

Un factor crucial para la adopción de los híbridos de maíz por parte de los agricultores es que las semillas sean de calidad óptima en todas sus facetas; es decir, en su identidad genética, sanidad, capacidad germinativa y características físicas. En estas últimas se encuentra el peso, tamaño, densidad, etc. Precisamente, con la finalidad de contribuir al conocimiento de estos atributos de las semillas se llevó a cabo el presente estudio, cuyo objetivo fue describir físicamente las semillas de la secuencia parental de genotipos que integran el híbrido trilineal de maíz azul HAZUL 10E.

## 2 MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron semillas del híbrido trilineal experimental de maíz azul HAZUL 10E y de los genotipos que lo conformaron (líneas endogámicas parentales CH1, CH2 y CH3; y cruza simple, CH4 y triple, CH5). Se midieron el peso (g) de 100 semillas (P100, en balanza analítica AE Adam P W 184, precisión de 0.1 mg), la anchura (AG), el espesor (EG) y la longitud (LG) de las semillas (vernier digital Mitutoyo CD-6 CSX); también se calcularon el volumen (VOL, mm<sup>3</sup>), el volumen relativo (VR, g/cm<sup>3</sup>) y la densidad relativa (DR, g/cm<sup>3</sup>) de las semillas (IBPGR, 1991; SNICS, 2014). Los experimentos se manejaron según un diseño experimental completamente al azar con cuatro repeticiones de 25 semillas. Se hicieron análisis de varianza de los resultados y prueba de comparación de medias por el método de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

### 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todas las variables analizadas fueron altamente significativas ( $P \leq 0.05$ ) (Cuadro 1), con coeficientes de variación menores al 7 %, siendo el más alto el correspondiente al volumen (VOL), con un valor de 6.6 %, y el más bajo correspondió a la longitud del grano (LG), esos datos denotaron una consistencia alta y uniforme en los resultados obtenidos.

Cuadro 1. Cuadros medios y significancia estadística de las variables evaluadas en el estudio.

Variable (gl=4)	C. V. (%)	R <sup>2</sup> (%)	Cuadrado medio	Significancia
P100	4.2	98	157.6	**
VR100	4.8	96	94.4	**
LG	3.4	89	4.4	**
AG	3.5	87	1.6	**
EG	4.2	72	0.4	**
VOL	6.6	91	24534.6	**
DR	6.5	80	0.1	**

g l = Grados de libertad, C. V. = Coeficiente de variación, R<sup>2</sup> = Coeficiente de determinación, \*\* = Altamente significativo ( $P \leq 0.01$ ).

Con base en los coeficientes de determinación (R<sup>2</sup>), se puede afirmar que el modelo experimental utilizado fue adecuado porque en su mayoría fueron mayores al 80 %, siendo la única excepción el espesor del grano (EG) en el que fue de 72 %.

Ahora bien, por los resultados del análisis de varianza antes referidos, es factible afirmar que el material genético empleado presentó una variabilidad alta entre genotipos y en todas las mediciones realizadas, esto permitió efectuar la comparación de sus valores medios (Cuadro 2).

Con fundamento en los niveles significativos arrojados por la prueba de Tukey, se obtuvo que las semillas de ambas cruzas tuvieron valores mayores ( $P \leq 0.05$ ) que las líneas en todos los descriptores físicos evaluados (P100, VR, LG, AG, EG, VOL y DR) (Cuadro 2), hecho que se puede atribuir a efectos heteróticos (Pfeiffer y McClafferty, 2007), dado que las citadas cruzas se derivaron del cruzamiento de las líneas parentales con alto nivel de endogamia.

Comparando las líneas entre sí, CH1 y CH2 fueron mayores que CH3 en todas las evaluaciones, excepto en AG y DR, y en ésta alcanzó el valor mayor ( $P \leq 0.05$ ), así que fue la más compacta junto con CH4.

En el mismo sentido, al comparar las cruzas, se observó que resultaron estadísticamente iguales en todas las mediciones, con excepción de VOL, medición en que la cruza trilineal (CH5) fue superior.

Fue claro que las mediciones físicas efectuadas variaron estadísticamente entre la secuencia de los genotipos parentales del híbrido trilineal bajo estudio, esto permitirá identificar cuantitativamente a cada uno de ellos y también, en un estudio subsiguiente, relacionar esa descripción física con su aptitud germinativa y nivel de vigor.

Cuadro 2. Comparación de medias de tratamientos de las dimensiones de semilla de los genotipos de maíz pigmentado bajo estudio.

Genotipo	P100 (g)	VR (mm <sup>3</sup> )	LG (mm)	AG (mm)	EG (mm)	VOL (mm <sup>3</sup> )	DR
Líneas							
CH1	22.1 b	20.8 b	11.6 bc	7.2 b	4.4 b	367.3 c	1.1 b
CH2	21.7 b	20.5 b	10.9 c	6.3 c	5.1 a	353.2 c	1.1 b
CH3	16.7 c	12.2 c	9.8 d	6.6 c	4.5 b	290.2 d	1.4 a
Cruzas							
CH4	31.4 a	23.0 a	12.1 ab	7.5 ab	4.8 ab	433.8 b	1.4 a
CH5	30.3 a	25.0 a	12.4 a	7.9 a	5.0 a	494.0 a	1.2 ab
DSH	2.3	2.1	0.9	0.5	0.4	55.7	0.2

En columnas, letras distintas indicaron tratamientos diferentes (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

## 4 CONCLUSIONES

Las características físicas de las semillas de la secuencia de genotipos del híbrido de maíz azul HAZUL 10E fueron significativamente diferentes entre sí. Las líneas mostraron dimensiones menores que las cruzas simple y trilineal, y éstas solo resultaron diferentes entre sí en su volumen. Se obtuvo la caracterización física, en términos cuantitativos y estadísticos de las semillas de las líneas y las cruzas simple y triple del HAZUL 10E.

## REFERENCIAS

Betrán, F.J.; Bockholt, A.J.; Rooney, L.W. 2001. Blue corn. In: A.R. Hallauer (ed.). Speciality corns. Iowa State University. Ames, Iowa, USA. pp. 293-337.

IBPGR (International Board for Plant Genetic Resources). 1991. Descriptores para maíz. Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). Roma, Italia. 88 p.

Boo, H.O.; Hwang, S.J.; Bae, C.S.; Park, S.H.; Heo, B.G.; Gorinstein, S. 2012. Extraction and characterization of some natural plant pigments. *Industrial Crops and Products*, 40: 129-135.

Hernández-Urbe, J.P.; Agama-Acevedo, E.; Islas-Hernández, J.J.; Tovar, J.; Bello-Pérez, L.A. 2007. Chemical composition and *in vitro* starch digestibility of pigmented corn tortilla. *Journal Science of Food Agriculture*, 87: 2482-2487.

López-Martínez, L.X.; Oliart-Ros, R.M.; Valerio-Alfaro, G.; Lee, C.H.; Parkin, K.L.; García, S.H. 2009. Antioxidant activity, phenolic compounds, and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT-Food Science and Technology*, 42: 1187-1192.

Pfeiffer, W.H.; McClafferty, B. 2007. HarvestPlus: breeding crops for better nutrition. *Crop Science*, 47: S88-S105.

Salinas M., Y.; García S., C.; Coutiño E., B.; Vidal M., V.A. 2013. Variabilidad en contenido y tipos de antocianinas en granos de color azul/ morado de poblaciones mexicanas de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36: 285-294.

Salinas M.Y.; Soto H.M.; Martínez B.F.; González H.V.A.; Ortega P.R. 1999. Análisis de antocianinas en maíces de grano azul y rojo provenientes de cuatro razas. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 22: 161-174.

SNICS (Sistema Nacional de Inspección y Certificación de semillas). 2014. Guía técnica para la descripción varietal de maíz (*Zea mays* L.). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación. Ciudad de México, México. 39 p.

Soto-Vaca, A.; Gutiérrez, A.; Losso, J.N.; Xu, Z.M.; Finley, J.W. 2012. Evolution of phenolic compounds from color and flavor problems to health benefits. *Journal of Agricultural Food Chemical*, 60: 6658-6677.

Wang, Y.; Zeng, M. 2009. Studies on Zhuo-Zi N° 1, a purple hybrid in maize (*Zea mays* L.). *Maize Genetics Cooperation Newsletter*, 83: 2-3.

# CAPÍTULO 6

## IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE MALEZAS TOLERANTES AL GLIFOSATO

Data de submissão: 05/11/2023

Data de aceite: 21/11/2023

### David Antonio Moreno Medina

Universidad Autónoma del  
Estado de Morelos  
Escuela de Estudios  
Superiores de Xalostoc  
Ayala, Morelos, México  
<https://orcid.org/0000-0003-1035-6935>

### Carmen Yazmin Rojas Cardona

Universidad Autónoma del  
Estado de Morelos  
Escuela de Estudios  
Superiores de Xalostoc  
Ayala, Morelos, México  
<https://orcid.org/0009-0005-8834-5736>

### Alma Cuellar Sánchez

Instituto Tecnológico y de  
Estudios Superiores de Monterrey  
Campus Puebla  
Puebla, Puebla, México  
<https://orcid.org/0000-0002-9866-6227>

### Victor Becerra Ruiz

Instituto Tecnológico y de  
Estudios Superiores de Monterrey  
Campus Puebla  
Puebla, Puebla, México  
<https://orcid.org/0009-0001-6695-5219>

### Esteban Montiel Palacios

Universidad Autónoma del  
Estado de Morelos  
Escuela de Estudios  
Superiores de Xalostoc  
Ayala, Morelos, México  
<https://orcid.org/0000-0001-8949-4112>

### José Luis Gadea Pacheco

Universidad Autónoma del  
Estado de Morelos  
Escuela de Estudios  
Superiores de Xalostoc  
Ayala, Morelos, México  
<https://orcid.org/0000-0001-9341-9289>

**RESUMEN:** El glifosato es un herbicida organofosforado utilizado mundialmente en la agricultura, el incremento en sus dosis de aplicación genera problemas ambientales y selecciona plantas más resistentes. Es necesario conocer el tipo de resistencia para generar estrategias de control de malezas. Así, el objetivo de este trabajo fue identificar molecularmente especies que resistan a este herbicida y analizar su mecanismo molecular de resistencia. En este estudio se colectaron 12 muestras de la zona oriente del estado de Morelos (México) con tolerancia a glifosato. Para la identificación se extrajo el ADN, se amplificó por PCR, se obtuvieron y analizaron las secuencias del gen *trn*. Para demostrar el mecanismo de resistencia se amplificó la

*EPSPS*, posteriormente se realizó un perfil de restricción con *AluI*, finalmente se generaron árboles filogenéticos de los biotipos que mostraron resistencia, resultando *Spermacoce* sp., *Helianthus* sp., *Ipomoea* sp., *Commelina* sp., *Echinochloa* sp. como géneros principales. Concluimos que son cinco especies que presentan resistencia, no obstante, no se encontró presencia de *EPSPS*, el crecimiento de los arvenses en cuestion podría deberse a una resistencia en sitio target o también por modificación fisiológica.

**PALABRAS CLAVE:** Herbicida. Glifosato oxidoreductasa. Plantas. Mecanismo de resistencia.

## MOLECULAR IDENTIFICATION OF GLYPHOSATE-TOLERANT WEEDS

**ABSTRACT:** Glyphosate is an organophosphorus herbicide used worldwide in agriculture. In addition, the increase in application doses generates environmental problems and selects more resistant plants. It is necessary to know the type of resistance to develop weed control strategies. Thus, the objective of this work was to molecularly identify species that resist this herbicide, especially to analyze its molecular resistance mechanism. In this study, 12 samples, with apparent tolerance to glyphosate, were collected in different locations in the eastern part of the state of Morelos. At least 4 species were repeatedly found at the sampling sites. For the identification of each specimen the DNA was extracted, amplified by PCR, and visualized in agarose gel electrophoresis. In addition, the sequences of the *trn* gene were obtained and analyzed. To demonstrate the mechanism of resistance of the biotypes, an amplification of *EPSPS* was performed. However, it was not possible to amplify due to an incorrect performance of the techniques used or the oligonucleotides design. Subsequently, a restriction profile was performed with *AluI*, the *in silico* analysis agreed with these results. Finally, phylogenetic trees were generated to identify the biotypes that showed resistance; *Spermacoce* sp., *Helianthus* sp., *Ipomoea* sp., *Commelina* sp., and *Echinochloa* sp. were found as main genera. We conclude that there are five species that have resistance to glyphosate, tests are needed to study the *EPSPS* sequences to demonstrate the resistance mechanism of these biotypes. However, it could be due to resistance at the target site, where the objective of the process cannot be achieved at the site of action, since mutations occur in the DNA sequence, or also an expression of the gene that is inhibited by glyphosate.

**KEYWORDS:** Herbicide. Glyphosate oxidoreductase gene. Plants. Mechanism of resistance.

## 1 INTRODUCTION

Glyphosate is a non-selective herbicide commonly used by farmers to control weeds growth, as these are the most harmful biotic factors that may affect the yield in a crop (Chauhan, 2020). Glyphosate works by inhibiting the 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (*EPSPS*) (Funke *et al.*, 2006), affecting the synthesis of chorismite, the precursor of aromatic amino acids (Dosselaere and Vanderleyden, 2001), leading

finally to plant death. Initially this herbicide was applied before the crops started to grow or after these were harvested, but with the creation of genetically modified glyphosate resistant crops glyphosate consumption increased, as this allowed the herbicide to be applied multiple times during crop growth (Benbrook, 2016).

At first glyphosate and glyphosate-based herbicides (GBH) were widely accepted as a harmless and very effective way to improve crop yields, however due to the increase on its use, concern about the effects of this compound on the environment and human health arose among scientists (Tarazona *et al.*, 2017). Further investigation has led to the conclusion that glyphosates and GBH affect non-target plants growth and health (Kanissery *et al.*, 2019; Martinez *et al.*, 2018) and its presence has been associated with various adverse health conditions including cancer (Meftaul *et al.*, 2020), although that matter is still widely discussed (Tarazona *et al.*, 2017). Although glyphosate has a relatively short half-life due to bacterial degradation (Kanissery *et al.*, 2019; Mercurio *et al.*, 2014), it has been discovered that it has a great capacity to distribute widely, and degradation may take longer under certain circumstances (Castrejón-Godínez *et al.*, 2021; Kanissery *et al.*, 2019; Mercurio *et al.*, 2014), like others organophosphates (Moreno-Medina *et al.*, 2014).

Besides the environmental and health problems that prolonged and extensive use of glyphosates imposes, a new economic challenge may begin. In 1996 Australian scientists reported the possibility that a species of weed present in the country, rigid ryegrass (*Lolium rigidum*), may have developed resistance to glyphosate, however in 1997 the possibility of weed resistance to glyphosate was still discussed and considered improbable, however in 1998 the presence of weed resistance in the plant mentioned before was demonstrated, encouraging more discussion on the matter (Bradshaw *et al.*, 1997; Powles *et al.*, 1998). By 2021 glyphosate resistance was found on at least 48 different species of weed within 30 countries, being Australia, USA, and Argentina the most affected with over 10 different weed-resistance species (Baek *et al.*, 2021).

Glyphosate resistance mechanisms in weeds are caused by different mutations across species which may change the active site of the targeted enzyme, making the herbicide useless. Another mechanism is the duplication of the *EPSPS* gene, that results in an overproduction of the enzyme that leads to an incomplete inhibition of the enzyme by using normal glyphosate doses. Other type of resistance known as non-target site mechanism consists in hampering glyphosate transportation across plant tissue by either sequestration or rapid plant tissue death. Some plants use both mechanisms, resulting in a more robust resistance mechanism (Duke, 2019).



In Mexico glyphosate and GBH products are widely used in the agricultural sector and weed resistance to glyphosate is reported in at least 4 species of weeds, *Lolium perenne*, *Bidens pilosa*, *Leptochloa virgata*, and *Aster squamatus* (Baek *et al.*, 2021; Domínguez-Valenzuela *et al.*, 2021). Although in Mexico around 13% of the workforce is dedicated to agriculture, this sector is one of the lowest contributors to national Gross Domestic Product (GDP) (*Higher Education in Mexico*, 2019). The presence of weed resistance in Mexico endangers this already vulnerable sector.

In this work the presence of weed in glyphosate treated land is studied, giving a wider insight on the presence of glyphosate-resistant weeds in Mexico.

## 2 MATERIALS AND METHODS

### 2.1 GENETIC MATERIAL EXTRACTION

Plant tissue was collected from weeds present in fields in Tetela del Volcán, Jonacatepec, Cuautla, Tepalcingo, and Ayala municipalities in Morelos state (Mexico), treated with glyphosate-based herbicides. A total of twelve samples were collected and kept at freezing temperatures until the extraction was made.

The sample was washed with sodium hypochlorite 0.5% and water. Then 200 mg were macerated with 1 mL of extraction buffer and transferred to a 2 mL centrifuge tube. The extraction buffer was prepared modifying the method reported by Doyle and Doyle *et al.* (1987). The sample was then vortexed until sample homogenization and heated at 65°C for 60 minutes, after which it was centrifuged at 8000 rpm for 1 minute. The upper phase was recovered and transferred to a new tube and isoamyl alcohol was added at a 24:1 ratio and it was mixed by inversion. The mix was then centrifuged at 8000 rpm for 15 minutes and the upper phase was transferred to a clean tube where 2 volumes of -20°C ethyl alcohol was added. Further mixing was done by inversion followed by a centrifugation at 8000 rpm for 2 minutes at 4°C and the supernatant was discarded. The DNA pellet was washed with 70% ethyl alcohol by inverting the tube several times and then centrifuged again at 8000 rpm for 2 minutes at 4°C. The ethanol was aspirated and let dry by leaving the tube open at room temperature for 15 minutes. Finally, the DNA was resuspended in TE solution and incubated for 1 hour at 65°C. The DNA was stored in a refrigerator at 4°C. Concentration and purity of the DNA extract were measured using NanoDrop® One spectrophotometer.

## 2.2 PCR ASSAYS

For species determination the *trnL* gene was amplified using the primers designed by Taberlet *et al.* (1991), while primers RR01 and RR04 reported by Tengeli *et al.* (2001) were used for detection of possible glyphosate resistance amplifying *EPSPS* gene in the collected samples.

For the *trnL-F* gene amplification a mix of 5  $\mu$ L of 5x Green GoTaq Buffer (Promega), 5  $\mu$ L of  $MgCl_2$  50 mM, 1  $\mu$ L of dNTPs, 1  $\mu$ L of the forward primer 10 mM, 1  $\mu$ L of the reverse primer 10 mM, 0.25  $\mu$ L of Taq DNA polymerase (Thermo Scientific), and 31  $\mu$ L of nuclease-free water was made. The PCR amplification was done with a first denaturing of the DNA at 94°C for 5 minutes, followed by 35 cycles of 1 minute at 94°C for denaturing, 48°C for 1 minute for the annealing step and an extending stage of 2 minutes at 72°C; at the end of these cycles there is a final annealing stage of 10 min at 72°C.

## 2.3 PHYLOGENETIC ANALYSIS

The *trnL-F* PCR products were purified using the AxyPrep MAG PCR Clean-Up Kit (Axygen) and the region was then sequenced by INSTITUTION. The sequences were inputted in the *Nucleotide Basic Local Alignment Search Tool (blastn)*. For every query sequence at least two different species were considered for the phylogenetic analysis, with BLAST similarity above 80%. The sequences were aligned using ClustalW for posterior phylogenetic analysis with MEGA X. For estimating distances 5 different models (Jukes-Cantor, Tajima-Nei, Kimura 2-Parameter, Tamura 3-Parameter & Tamura-Nei) were compared, choosing it by considering the Bayesian Information Criterion, Akaike Information Criterion and Maximum Likelihood value displayed by MEGA X. Finally, to construct the phylogenetic tree, the Maximum Likelihood Tree option was used. Bootstrap method was employed with 1000 replications using the Tamura 3-Parameter model with uniform rates among sites, as this had the best scores according to the model analysis.

## 3 RESULTS AND DISCUSSION

From the twelve samples, five were selected by morphology, avoiding the analysis of the same plant species. The DNA concentration upon extraction had values between 80 to 250 ng/ $\mu$ L and a A260/280 ratio value of ~1.8 supporting an absence of contaminants like proteins, however the A260/230 ratio value below 2.0 indicating

possible contamination. In spite of this, all further experiments were conducted successfully.

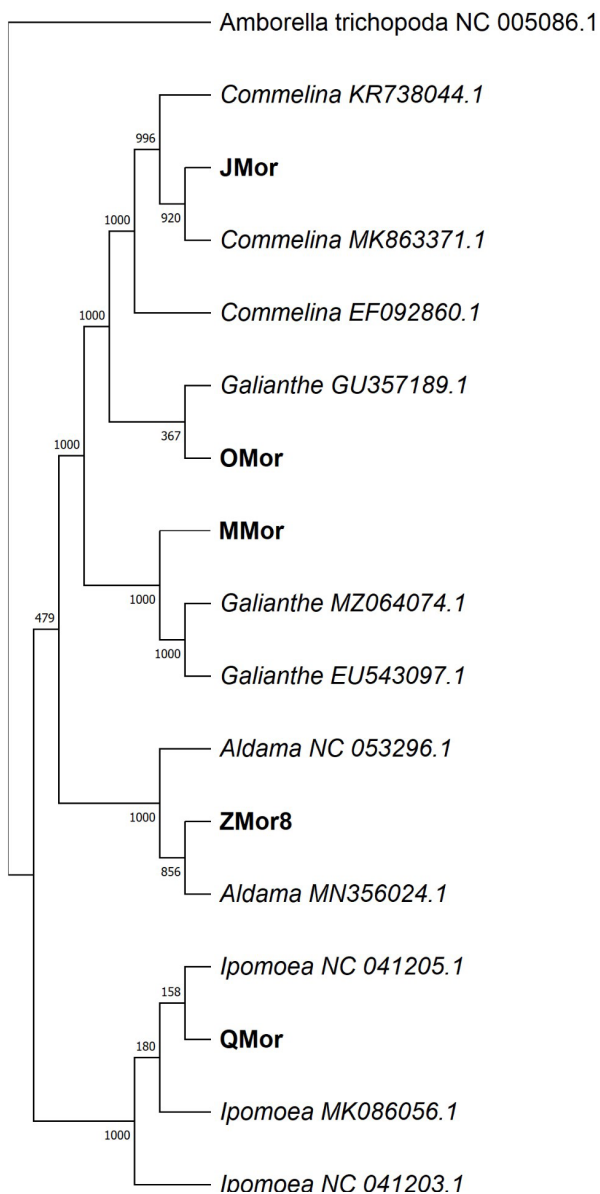
The PCR products of the *trnL* gene had a length of between 1000 and 1500 bp, which supports the information supplied by Taberlet *et al.* (1991) whose paper suggest that the expected product size could be around ~500-1050 bp depending on the species.

The *trnL* sequences firstly were registered in the GenBank of NCBI (applications code: 2761360, 2761358, 2761355, 2761284 and 2761077) and aligned with other registered using the BLAST software obtaining 10 results with an E-value of zero from which only three of these showed an identity percentage (IP) above 95% from which two belong to the *Commelina communis* species. As for MMor there are three results with an E-value of zero, which all have an IP below 86%. On the other hand, OMor sequence has more than a hundred results with an E-value of zero all with an IP above 94% that belong to various genus including *Xanthium spp.*, *Ambrosia spp.*, *Acmella spp.*, among others. QMor sequences equally had more than a hundred results with an E-value of zero, all of them with an IP above 96%, with most results showing a similarity to sequences of *Ipomoea spp.*

Finally, the ZMor BLAST also had more than a hundred results with an E-value of zero, all with a similarity above 98% that belong mainly to the genera *Aldama* and *Helianthus*.

As all the BLAST results were angiosperm, *Amborella trichopoda* was used as an outgroup for the phylogenetic analysis (Figure 1), as it is a representative sister lineage to all flowering plants (Albert *et al.*, 2013). The analysis of the *trnL* gene of the collected samples showed that these corresponded to different genus being JMor identified as *Commelina communis* with a bootstrap support of 92% and ZMor as *Aldama dentata* with a support of 85.6%. On the other hand, MMor and QMor could only be classified by genus as *Galianthe spp.* and *Ipomoea spp.* respectively with a bootstrap support of 100%. OMor could not be correctly grouped as the bootstrap support value for the nearest node was calculated below 50% and the next node included both *Commelina spp.* and *Galianthe spp.*

Figure 1. Phylogenetic analysis.



Glyphosate resistance has been reported in both the *Commelina* and *Ipomoea* genus in Brazil (Lucio *et al.*, 2019) and also specifically in *Commelina communis* in United States (Ulloa and Owen, 2009) supporting the possibility of glyphosate resistance presence in the analyzed samples. This is the first work describing potential glyphosate resistance of such species in Mexico and its presence on *Galianthe* genus and *Aldama dentata* species.

*Commelina communis* glyphosate resistance mechanisms have not been entirely determined; however, it has been reported that this genre does accumulate shikimate, showing that EPSPS inhibition does take place (Ulloa and Owen, 2009). Equally *Ipomoea* genus resistance mechanism has not been fully elucidated (Ribeiro *et al.*, 2015).

## 4 CONCLUSION

Intensive use of glyphosate-based herbicides has led to the development of glyphosate-resistant weed, which endangers the local economy. In this work the presence of such resistance in Mexico is suggested to be present in *Commelina*, *Ipomoea*, *Galianthe* and *Aldama* genus, which have not been reported in Mexico yet for the first two while for the other two there was no article suggesting such trait. Thus, this work is the first to report the potential presence of glyphosate resistance in these species in the country, suggesting that further tracking should be done to confirm the presence of glyphosate-resistant weeds and their mechanisms of resistance.

## REFERENCES

ALBERT, V. A.; BARBAZUK, W. B.; DEPAMPHILIS, C. W.; DER, J. P.; LEEBENS-MACK, J., MA, H.; PALMER, J. D.; ROUNSLEY, S.; SANKOFF, D.; SCHUSTER, S. C.; SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S.; WESSLER, S. R.; WING, R.; ... The *Amborella* Genome and the Evolution of Flowering Plants. *Science*, v. 342, n. 6165, 2013. <https://doi.org/10.1126/science.1241089>.

BAEK, Y.; BOBADILLA, L. K.; GIACOMINI, D. A.; MONTGOMERY, J. S.; MURPHY, B. P.; TRANEL, P. J. Evolution of Glyphosate-Resistant Weeds, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 255, p. 93-128, 2021. [https://doi.org/10.1007/398\\_2020\\_55](https://doi.org/10.1007/398_2020_55)

BENBROOK, C. M. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environmental Sciences Europe*, v. 28, n. 3, 2016. <https://doi.org/10.1186/s12302-016-0070-0>

BRADSHAW, L. D.; PADGETTE, S. R.; KIMBALL, S. L.; WELLS, B. H. Perspectives on Glyphosate Resistance. *Weed Technology*, v. 11, n. 1, p. 189-198, 1997. <https://doi.org/10.1017/S0890037X00041567>

CASTREJÓN-GODÍNEZ, M. L.; TOVAR-SÁNCHEZ, E.; VALENCIA-CUEVAS, L.; ROSAS-RAMÍREZ, M. E.; RODRÍGUEZ, A.; MUSSALI-GALANTE, P. Glyphosate Pollution Treatment and Microbial Degradation Alternatives, a Review. *Microorganisms*, v. 9, n. 11, p. 2322, 2021. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112322>

CHAUHAN, B. S. Grand Challenges in Weed Management. *Frontiers in Agronomy*, v. 1, 2020. <https://doi.org/10.3389/fagro.2019.00003>

DOMÍNGUEZ-VALENZUELA, J. A.; ALCÁNTARA-DE LA CRUZ, R.; PALMA-BAUTISTA, C.; VÁZQUEZ-GARCÍA, J. G.; CRUZ-HIPOLITO, H. E.; DE PRADO, R. Non-Target Site Mechanisms Endow Resistance to Glyphosate in Saltmarsh Aster (*Aster squamatus*). *Plants*, v. 10, n. 9, p. 1970, 2021. <https://doi.org/10.3390/plants10091970>

DOSSELAERE, F.; VANDERLEYDEN, J. A Metabolic Node in Action: Chorismate-Utilizing Enzymes in Microorganisms. *Critical Reviews in Microbiology*, v. 27, n. 2, p. 75-131, 2001. <https://doi.org/10.1080/20014091096710>

DOYLE, J.; DOYLE, J. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical bulletin*, v. 19, p. 11-15, 1987.

- DUKE, S. O. Enhanced Metabolic Degradation: The Last Evolved Glyphosate Resistance Mechanism of Weeds? *Plant Physiology*, v. 181, n. 4, p. 1401-1403, 2019. <https://doi.org/10.1104/pp.19.01245>
- FUNKE, T.; HAN, H.; HEALY-FRIED, M. L.; FISCHER, M.; SCHÖNBRUNN, E. Molecular basis for the herbicide resistance of Roundup Ready crops. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 103, n. 35, p. 13010-13015, 2006. <https://doi.org/10.1073/pnas.0603638103>
- HIGHER EDUCATION IN MEXICO. OECD. 2019. <https://doi.org/10.1787/9789264309432-en>
- KANISSERY, R.; GAIRHE, B.; KADYAMPAKENI, D.; BATUMAN, O.; ALFEREZ, F. Glyphosate: Its Environmental Persistence and Impact on Crop Health and Nutrition. *Plants*, v. 8, n. 11, p. 499, 2019. <https://doi.org/10.3390/plants8110499>
- LUCIO, F. R.; KALSING, A.; ADEGAS, F. S.; ROSSI, C. V. S.; CORREIA, N. M.; GAZZIERO, D. L. P.; DA SILVA, A. F. Dispersal and Frequency of Glyphosate-Resistant and Glyphosate-Tolerant Weeds in Soybean-producing Edaphoclimatic Microregions in Brazil. *Weed Technology*, v. 33, n. 1, p. 217-231, 2019. <https://doi.org/10.1017/WET.2018.97>
- MARTINEZ, D. A.; LOENING, U. E.; GRAHAM, M. C. Impacts of glyphosate-based herbicides on disease resistance and health of crops: a review. *Environmental Sciences Europe*, v. 30, n. 1, p. 2, 2018. <https://doi.org/10.1186/s12302-018-0131-7>
- MEFTAUL, I. MD.; VENKATESWARLU, K.; DHARMARAJAN, R.; ANNAMALAI, P.; ASADUZZAMAN, M.; PARVEN, A.; MEGHARAJ, M. Controversies over human health and ecological impacts of glyphosate: Is it to be banned in modern agriculture? *Environmental Pollution*, v. 263, p. 114372, 2020 <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114372>
- MERCURIO, P.; FLORES, F.; MUELLER, J. F.; CARTER, S.; NEGRI, A. P. Glyphosate persistence in seawater. *Marine Pollution Bulletin*, v. 85, n. 2, p. 385-390, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.01.021>
- MORENO-MEDINA, D.A.; SANCHEZ-SALINAS, E.; ORTIZ-HERNANDEZ, M.L. Removal of methyl parathion and coumaphos pesticides by a bacterial consortium immobilized in *Luffa cylindrica*. *Rev. Int. Contam. Ambient*, v. 30, n.1, p.51-63. 2014.
- POWLES, S. B.; LORRAINE-COLWILL, D. F.; DELLOW, J. J.; PRESTON, C. Evolved resistance to glyphosate in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) in Australia. *Weed Science*, v. 46, n. 5, p. 604–607, 1998. <https://doi.org/10.1017/S0043174500091165>
- RIBEIRO, D. N.; NANDULA, V. K.; DAYAN, F. E.; RIMANDO, A. M.; DUKE, S. O.; REDDY, K. N.; SHAW, D. R. Possible Glyphosate Tolerance Mechanism in Pitted Morningglory (*Ipomoea lacunosa* L.) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 63, n. 6, p. 1689-1697, 2015. <https://doi.org/10.1021/jf5055722>
- TABERLET, P.; GIELLY, L.; PAUTOU, G.; BOUVET, J. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology*, v. 17, n. 5, p. 1105-1109, 1991. <https://doi.org/10.1007/BF00037152>
- TARAZONA, J. V.; COURT-MARQUES, D.; TIRAMANI, M.; REICH, H.; PFEIL, R.; ISTACE, F.; CRIVELLENTI, F. Glyphosate toxicity and carcinogenicity: a review of the scientific basis of the European Union assessment and its differences with IARC. *Archives of Toxicology*, v. 91, n. 8, p. 2723-2743, 2017. <https://doi.org/10.1007/s00204-017-1962-5>
- TENGEL, C.; SCHÜBLER, P.; SETZKE, E.; BALLE, J.; SPRENGER-HAUBELS, M. PCR-Based Detection of Genetically Modified Soybean and Maize in Raw and Highly Processed Foodstuffs. *BioTechniques*, v. 31, n. 2, p. 426-429, 2001. <https://doi.org/10.2144/01312pf01>
- ULLOA, S. M.; OWEN, M. D. K. Response of Asiatic Dayflower (*Commelina communis*) to Glyphosate and Alternatives in Soybean. *Weed Science*, v. 57, n. 1, p. 74-80, 2009. <https://doi.org/10.1614/WS-08-087.1>

# CAPÍTULO 7

## ENFERMEDADES DE IMPORTANCIA ECONÓMICA EN EL CULTIVO DE LA CAÑA DE AZÚCAR (*SACCHARUM SPP.*) EN MÉXICO<sup>1</sup>

Data de submissão: 10/10/2023

Data de aceite: 31/10/2023

### Dr. Manuel de Jesús Bermúdez Guzmán

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)  
Campo Experimental Tecomán  
Laboratorio de Biotecnología  
Tecomán, Colima, México  
ORCID: 0000-0003-1949-1922

### Dr. Francisco Javier Delgado Virgen

Instituto Tecnológico Nacional de México (TecNM)  
Campus Colima  
Laboratorio de Microbiología  
Colima, Colima, México  
ORCID: 0000-0002-2650-3170

### M. C. Jeovani Francisco Cervantes Preciado

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)  
Campo Experimental Tecomán  
Laboratorio Agroindustrial  
Tecomán, Colima, México  
ORCID: 0000-0002-2448-7904

### Dr. Mario Orozco Santos

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)  
Campo Experimental Tecomán  
Laboratorio de Fitopatología  
Tecomán, Colima, México  
ORCID: 0000-0002-9451-2626

### Dra. Claudia Yared Michel López

Universidad Autónoma de Baja California (UABC)  
Instituto de Ciencias Agrícolas (ICA)  
Ejido Nuevo León, Mexicali  
Baja California, México  
ORCID: 0000-0002-3595-1768

**RESUMEN:** La caña de azúcar constituye el principal cultivo agroindustrial en México, debido a su importancia económica y social. Este cultivo se ha visto afectado en su productividad a nivel mundial por factores abióticos y bióticos, entre estos últimos, están las enfermedades causadas por hongos, bacterias y virus. Actualmente, entre los hongos de importancia económica se destacan *Puccinia melanocephala* y *P. kuehni*, agentes causales de la roya café y la roya naranja en caña de azúcar, respectivamente. Entre las bacterias reportadas en México para este cultivo se encuentran *Xanthomonas albilineans*, *X. vasicola* pv. *vasculorum* y *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, agentes causales de las enfermedades de escaldadura de la

<sup>1</sup> Esta información corresponde a una serie de trabajos publicados previamente como folletos técnicos por el INIFAP, los cuales fueron generados con el proyecto de investigación titulado "Diagnóstico molecular de enfermedades en caña de azúcar", el cual fue financiado por recursos fiscales del INIFAP. Esta obra cuenta con información actualizada sobre la producción de caña de azúcar.

hoja, gomosis y raquitismo de las socas, respectivamente. Finalmente, entre los virus de importancia económica se destacan el *Virus del mosaico de la caña de azúcar* (ScMV) y el *Virus de la hoja amarilla de la caña de azúcar* (ScYLV). Todas estas enfermedades han causado cuantiosas pérdidas económicas en cultivos de caña de azúcar de México y el mundo. La presente obra tiene la finalidad de poner a disposición de técnicos y productores información sobre la importancia que tienen estas enfermedades en el cultivo, así como conocimientos acerca de su distribución, síntomas y métodos de control.

**PALABRAS CLAVE:** Bacterias. Caña de azúcar. Enfermedades. Hongos. Virus.

## DISEASES OF ECONOMIC IMPORTANCE IN SUGARCANE CROP (*SACCHARUM* SPP.) IN MEXICO

**ABSTRACT:** Sugarcane is the main agro-industrial crop in Mexico, due to its economic and social importance. This crop has been affected in its productivity worldwide by abiotic and biotic factors, among the latter, there are diseases caused by fungi, bacteria, and viruses. Currently, among the economically significant fungi are *Puccinia melanocephala* and *P. kuehnii*, causal agents of brown rust and orange rust in sugarcane, respectively. Among the bacteria reported in Mexico for this crop are *Xanthomonas albilineans*, *X. vasicola* pv. *vasculorum* and *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, causal agents of leaf scald, gummosis, and ratoon stunting diseases, respectively. Finally, among economically important viruses are Sugarcane mosaic virus (ScMV) and Sugarcane yellow leaf virus (ScYLV). All these diseases have caused substantial economic losses in sugarcane crops in Mexico and the world. The purpose of this work is to provide technicians and producers with information about the importance of these diseases in cultivation, as well as knowledge about their distribution, symptoms, and control methods.

**KEYWORDS:** Bacteria. Sugarcane. Diseases. Fungi. Viruses.

### 1 INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar (híbridos de *Saccharum* spp.) es una gramínea tropical perenne que constituye uno de los cultivos de mayor importancia económica y social en México, representa una fuente de empleo directo en el campo e industria, en la producción de azúcar y en la elaboración de subproductos como el alcohol, piloncillo, alimento para el ganado, entre otros. Además, también es empleada como materia prima para la fabricación de edulcorantes naturales y para la producción de etanol utilizado como biocombustible (Almazan et al., 1998).

Aproximadamente el 80% de las enfermedades que afectan a este cultivo son de origen fungoso, entre estas destacan los fitopatógenos de *Puccinia melanocephala* y *P. kuehnii* y, causantes de las enfermedades conocidas como roya café y roya naranja, respectivamente. El 20% restante es causado por bacterias, fitoplasmas y virus; entre los patógenos bacterianos de importancia económica a nivel mundial, destacan *Xanthomonas albilineans*, *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum* y *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, causantes



de las enfermedades de la escaldadura de la hoja, gomosis y raquitismo de las socas, respectivamente. Finalmente, en relación con los fitopatógenos virales en México se ha reportado la presencia del *Virus del mosaico de la caña de azúcar* (ScMV) y el *Virus de la hoja amarilla de la caña de azúcar* (ScYLV), causantes de las enfermedades conocidas como mosaico de la caña de azúcar y síndrome de la hoja amarilla de la caña de azúcar, respectivamente. Todas estas enfermedades tienen una amplia distribución en México y el mundo. Los fitopatógenos de origen bacteriano y viral están confinados a los haces vasculares (xilema) de las plantas de caña de azúcar (Gillaspie y Teakle, 1989; Ricaud y Autrey, 1989; Ricaud y Ryan, 1989).

El presente capítulo de libro recopila información general sobre el impacto económico que tienen las diversas enfermedades que afectan el cultivo de la caña de azúcar, ocasionadas por hongos, bacterias y virus a nivel mundial, así como la clasificación taxonómica de los fitopatógenos, distribución geográfica, síntomas y métodos de manejo y control.

## 2 IMPORTANCIA DEL CULTIVO DE LA CAÑA DE AZÚCAR

El género *Saccharum* está compuesto por seis especies: *S. robustum*, *S. spontaneum*, *S. officinarum*, *S. barberi*, *S. sinense* y *S. edule*. En la actualidad, todas las variedades comerciales de caña de azúcar que se cultivan en el mundo son híbridos interespecíficos que se han derivado principalmente del germoplasma de 20 variedades de *S. officinarum* y 10 variedades de *S. spontaneum* (Arcenaux, 1967; Daniels y Roach, 1987; Tai et al., 1995).

Durante el año 2021 se produjeron a nivel mundial un total de 2,020,705,298 toneladas de caña de azúcar. Los cinco principales países que contribuyeron con esta cifra fueron Brasil, India, China, Pakistán y Tailandia, ocupando México el sexto lugar con una producción de 55,485,309 toneladas (Figura 1). Los países que registraron los mayores rendimientos de campo, expresados en t/ha, fueron: Perú, Guatemala, Senegal y Malawi. En el año 2021 México ocupó el lugar 36 con un rendimiento de 68 t/ha, el cual es superior a la media mundial de 59 t/ha (Figura 2) (FAO, 2023).

En México, la industria azucarera es históricamente una de las más importantes, debido a su relevancia económica y social en el campo; generando más de dos millones de empleos, tanto en forma directa como indirecta. Esta actividad se desarrolla en 16 estados de la República Mexicana, y en el año 2022 se obtuvo una producción primaria que tiene un valor cercano a los 52 mil millones de pesos.

Figura 1. Producción mundial de caña de azúcar en el año 2021 (FAO, 2023).

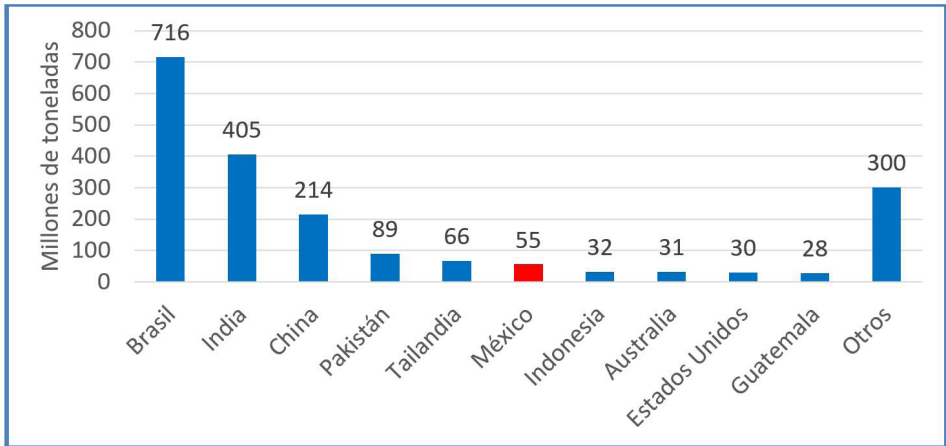
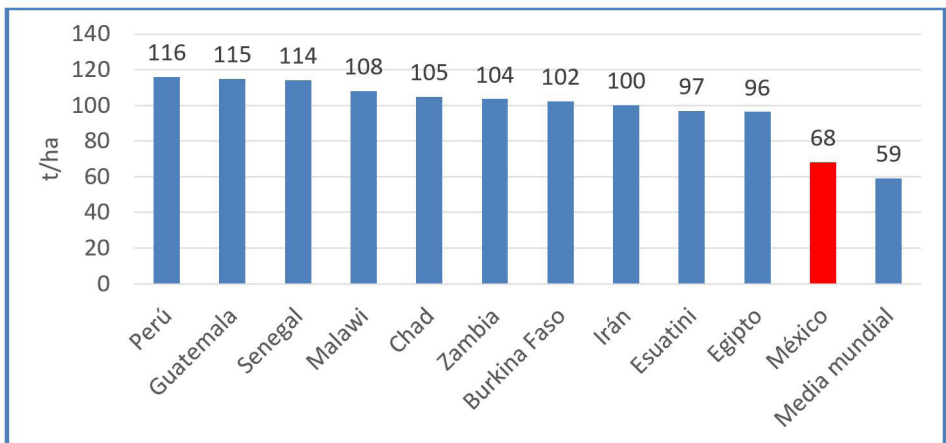


Figura 2. Rendimientos de campo a nivel mundial obtenidos de caña de azúcar en el año 2021 (FAO, 2023).



Esta cifra se ha elevado, ya que en el 2016 alcanzó los 31 mil millones de pesos, es decir, que el valor monetario de la producción actual de caña de azúcar en México ha aumentado 21 mil millones de pesos en los últimos 6 años. Lo anterior, a pesar de que la producción obtenida de caña de azúcar (toneladas) no ha aumentado, y contrariamente ha disminuido según los datos del SIAP, ya que en el año 2016 se registró una producción de 56.44 millones de toneladas de caña de azúcar y en el 2022 disminuyó a 55.55 millones de toneladas (SIAP, 2023). Lo anterior, probablemente se deba a un envejecimiento del campo cañero, ocasionado principalmente por el deterioro genético del cultivo de dos variedades (CP 72-2086 y Mex 69-290) que se han sembrado durante un largo periodo de tiempo, aunado a la susceptibilidad de ataques de plagas y enfermedades.

Una muestra clara del deterioro genético se ve reflejado en el rendimiento de caña de azúcar que tiene México actualmente (cerca de 70 t/ha) comparado con su

rendimiento en el 2016 (72 t/ha). Resulta necesario rejuvenecer el campo cañero con nuevas variedades de caña de azúcar adaptadas para cada región agroclimática para poder elevar los rendimientos.

Los estados de la República Mexicana que contribuyen con la mayor superficie sembrada con caña de azúcar son: Veracruz, San Luis Potosí, Jalisco, Tamaulipas y Oaxaca. La primera de estas entidades es la más importante ya que tuvo casi 298 mil hectáreas cosechadas durante el año 2022; además de que ahí se cuenta con más de 20 ingenios azucareros, generando una importante derrama económica. Por otra parte, a nivel nacional, el rendimiento de campo promedio en el 2022 fue estimado en 70 t/ha (SIAP, 2023).

Los estados más sobresalientes en este parámetro son: Puebla, México, Morelos y Chiapas, que superan las 90 t/ha. A pesar de la importancia que representa el estado de Veracruz, el rendimiento que registra esta entidad se encuentra prácticamente en la media nacional con 69.7 t/ha (Cuadro 1).

Cuadro 1. Producción agrícola de caña de azúcar en México en el año 2022 (SIAP, 2023).

Entidad	Cosechada	Producción	Rendimiento
Puebla	16,716.00	1,862,284.30	111.41
México	134	13,728.30	102.45
Morelos	20,066.00	1,993,631.65	99.35
Chiapas	32,214.20	3,021,677.32	93.8
Jalisco	79,276.00	7,011,454.52	88.44
Michoacán	13,849.87	1,170,812.79	84.54
Sinaloa	5,610.00	409,852.00	73.06
Colima	15,993.08	1,132,553.68	70.82
Veracruz	297,708.96	20,750,194.42	69.7
Campeche	17,281.00	1,196,751.74	69.25
Nayarit	28,098.00	1,884,935.69	67.08
San Luis Potosí	90,458.00	5,456,201.74	60.32
Quintana Roo	32,673.00	1,862,772.45	57.01
Oaxaca	57,436.50	3,215,628.99	55.99
Tabasco	39,742.00	2,101,565.60	52.88
Tamaulipas	47,948.64	2,472,038.25	51.56
<b>Total</b>	<b>795,205.25</b>	<b>55,556,083.44</b>	<b>69.86*</b>

\*Promedio.

## 3 IMPORTANCIA ECONÓMICA DE LAS ENFERMEDADES EN EL CULTIVO DE LA CAÑA DE AZÚCAR

### 3.1 HONGOS

Aproximadamente el 80% de las enfermedades que afectan a cultivos de importancia económica en el mundo son ocasionados por hongos patógenos. Estos microorganismos afectan directamente a las plantas disminuyendo la calidad y el valor de su producción agrícola.

#### 3.1.1 Royas (*Puccinia* spp.)

Dentro del grupo de los hongos, las royas son de gran importancia por causar pérdidas económicas considerables. Aproximadamente más de 200 familias de plantas, tanto silvestres, como cultivadas, son atacadas al menos por un tipo de roya. Estos fitopatógenos producen diversos síntomas como: defoliación, deformación, manchado, marchitamiento, y cuando es severa, la muerte de la planta (López-Ramírez, 1998).

Históricamente, entre las enfermedades de mayor importancia económica para el cultivo de caña de azúcar en el mundo se encuentran las royas: *P. melanocephala* y *P. kuehni*, que han ocasionado pérdidas diez veces mayores a las producidas por el carbón (*Sporisorium scitamineum*) en variedades susceptibles (Purdy et al., 1983; Molina, 1999).

El hongo comienza a colonizar la superficie de las hojas de caña, las cuales constituyen la principal fábrica fotosintética para que estas plantas puedan producir y almacenar la sacarosa, que finalmente es extraída del tallo. Al verse afectadas las hojas por las royas, la tasa fotosintética disminuye, lo que ocasiona un retraso en el crecimiento de las plantas, así como una baja en la producción y acumulación de azúcar. La roya café fue causante de grandes epidemias en la India desde 1949 y subsecuentemente con regularidad en varias provincias de esta región (Egan, 1964).

En México, no se conoce información precisa sobre las pérdidas ocasionadas por la roya; en algunos países la consideran sin importancia y no se ha establecido una metodología para evaluar los daños causados por esta enfermedad en caña de azúcar. Sin embargo, las pérdidas han sido cuantificadas en México mediante la comparación de la producción obtenida en variedades cultivadas de caña de azúcar antes y después de ser afectadas por la roya.

Osada y Reyes (1980) compararon la producción de la variedad B-4362 en 1978-1979, antes de que fuera afectada por roya café, con la producción en 1979-1980, cuando se presentó el daño. Estos autores reportaron pérdidas que oscilaron de 1.5 a 21.7 t/ha

de caña de azúcar, con un promedio de 12.6 t/ha en cuatro zonas cañeras de México. En 1978-1979 había 10,588 hectáreas con la variedad B-4362, y en 1979-1980, 10,668 hectáreas, en las cuatro áreas utilizadas en la comparación. Estos datos podrían indicar que 1,344,168 toneladas de caña de azúcar de la variedad B-4362 se perdieron a causa de la roya café de 1979-1980 en México.

El impacto de los daños ocasionados por *P. melanocephala* fue en aumento en las áreas del Caribe donde estaba cultivada la variedad B-4362. En 1978 y 1980 Cuba aumentó la superficie cultivada con la variedad antes mencionada en un 40 y 28%, respectivamente. Las pérdidas en la producción fueron similares a las reportadas en México y se atribuyó a la roya café la pérdida de 1,300,000 toneladas de azúcar (Purdy y Dean, 1981).

La roya naranja no había sido considerada como una enfermedad de importancia económica por su incapacidad de iniciar y propagar una epidemia (Egan, 1964). *P. kuehnii* constituye una amenaza para la producción cañera del continente americano, después de su aparición en Costa Rica, Estados Unidos y Guatemala (Braithwaite, 2005). *P. kuehnii* se encuentra ampliamente distribuido en el sur de Florida, donde ha presentado síntomas moderadamente severos en variedades que ocupan aproximadamente el 25% del área comercial, y en numerosos clones del programa de selección de variedades (Comstock et al., 2008).

## 3.2 BACTERIAS

Las bacterias fitopatógenas causan enfermedades en plantas cultivadas y son responsables anualmente de cuantiosas pérdidas económicas en todos los países del mundo. Entre los géneros de este tipo de patógenos, *Pseudomonas*, *Xanthomonas* y *Leifsonia* son los más importantes debido a que causan afectaciones a la caña de azúcar (CONADESUCA).

### 3.2.1 Escaldadura de la hoja (*Xanthomonas albilineans*)

La severidad de la enfermedad de la escaldadura de la hoja, así como la resistencia o tolerancia de algunas variedades de caña difieren de un lugar a otro, debido principalmente a la diferencia de las condiciones climáticas, la variación del patógeno y carga bacteriana. Las estaciones lluviosas son favorables para la diseminación de la enfermedad, mientras que los periodos de estrés (por sequía y bajas temperaturas) en plantas maduras, aumentan su severidad (Ricaud y Ryan, 1989). La escaldadura de la hoja afecta el rendimiento de la caña de azúcar en campo, así como la calidad del jugo en fábrica, debido a que detiene el crecimiento, reduce el número de tallos y retarda el

desarrollo de brotes en las plantas. La escaldadura de la hoja se manifiesta en cuatro fases: la forma crónica, la aguda, de latencia y eclipse. La fase aguda de la enfermedad ha ocasionado las mayores pérdidas, las cuales a nivel mundial se han calculado que son de 15-20%, sin embargo, en variedades susceptibles tales pérdidas se estiman de 90-100% debido a la muerte de las plantas (Ricaud y Ryan, 1989).

En México, se detectó la presencia de *X. albilineans* en 1992, y en 1994, fue responsable de la eliminación y sustitución de 800 hectáreas de la variedad Mex 64-1487 en el estado de Veracruz. La mayor incidencia de escaldadura de la hoja se presentó en las variedades Mex 68-P23 (50.60%), Mex 69-290 (23.52%) y Mex 64-1487 (18.75%), en las cuales el rendimiento se redujo en 13.27, 12.01 y 14.56 t/ha, respectivamente. Los grados Brix también fueron afectados significativamente en las variedades mencionadas anteriormente (Huerta et al., 2003). A sí mismo, la enfermedad fue responsable de la eliminación de más de 100 cepas de otros clones utilizados dentro del programa de mejoramiento genético de la Estación Nacional de Hibridación de nuestro país localizada en Tapachula, Chiapas (Flores, 1997).

### 3.2.2 Gomosis (*Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum*)

La gomosis fue descrita como una enfermedad de origen bacteriano por Cobb (1893) en Australia. Históricamente, *X. vasicola* pv. *vasculorum* ha causado serias pérdidas en las áreas donde fue detectada a partir de 1930, afectando a los cultivos de las cañas nobles (*Saccharum officinarum*), las cuales son altamente susceptibles a este patógeno. La sustancia gomosa característica de la enfermedad al estar presente en los tejidos vasculares y mezclarse con el jugo de la caña (lo que retarda la cristalización) afecta el proceso de elaboración del azúcar en fábrica (Barret, 1930). El tonelaje de producción de caña decrece notablemente y las plantas afectadas pierden aproximadamente 25% de sacarosa, así como también una reducción en la pureza de su jugo de hasta 6% con aumento de la glucosa, comparativamente con la caña sana (Faris, 1927; Earle, 1928).

La importancia económica de la gomosis ha disminuido a partir de que las cañas nobles (*S. officinarum*) fueron reemplazadas por híbridos interespecíficos en 1930 (Ricaud y Autrey, 1989). Esto permitió la erradicación del patógeno en algunos países como Australia, Fiji y Brasil. En las Islas Mascareñas, hubo reportes de pérdidas en híbridos, específicamente en variedades susceptibles a la infección sistémica (Ricaud, 1969). Durante la epidemia de 1980-1981, los rendimientos de azúcar de tallos infectados sistémicamente de la variedad M377/56 bajaron en un 19.5% (Ricaud y Autrey, 1989); además se reportó una disminución en el rendimiento de azúcar de hasta un 45% en la variedad antes mencionada después de la inoculación en ensayos de campo (Autrey et al., 1986).

Actualmente no hay información reciente sobre los daños que ocasiona esta enfermedad al cultivo de la caña de azúcar. Específicamente para México no existe información histórica ni reciente sobre la patología de esta enfermedad bacteriana.

### 3.2.3 Raquitismo de las socas (*Leifsonia xily* subsp. *xily*)

A nivel mundial se estima que las pérdidas asociadas con esta enfermedad son del 5-10%. Los daños causados por el raquitismo posiblemente son mayores que los ocasionados por cualquier otra enfermedad en caña de azúcar. Al igual que con la escaldadura de la hoja, las dimensiones de las pérdidas están influenciadas por la incidencia de la enfermedad, el tipo de variedad, condiciones climáticas, grado de infección, así como presencia de otras enfermedades. La disminución del tonelaje es generalmente el resultado de la reducción del peso del tallo (Gillaspie y Teakle, 1989).

Las pérdidas expresadas en toneladas por hectárea de variedades de caña de azúcar susceptibles al raquitismo de las socas varían de un 17-35% en clones de Estados Unidos. Por otra parte, en Australia, el clon Q 28, presentó pérdidas de un 37% en el ciclo plantilla y un 67% en soca 1; estudios posteriores, con mayor número de clones demostraron que las pérdidas varían de 10-15% en plantaciones de ciclo plantilla y de un 20-25% en plantaciones de socas (Davis et al., 1984).

## 3.3 VIRUS (SCMV Y SCYLV)

Los virus de plantas son patógenos de amplia distribución e importancia económica. Todas las especies vegetales cultivadas son afectadas por al menos un virus. Éstos patógenos son responsables de pérdidas económicas a gran escala, pues el daño que ocasionan a los suministros de alimentos constituye un efecto negativo indirecto para el hombre.

Los virus no pueden penetrar la cutícula ni la celulosa de la pared celular de las plantas, constituyéndose así una barrera a la infección. Sin embargo, son capaces de superar este obstáculo mediante la transmisión por semilla o propagación vegetativa o por algunos métodos que involucran la penetración a través de heridas en la superficie de las plantas, tales como inoculación mecánica y transmisión por insectos.

Histórica y potencialmente, los virus ocasionan las enfermedades más importantes en caña de azúcar a nivel mundial, causando grandes epidemias y pérdidas de enormes proporciones. En variedades susceptibles infectadas con ScMV las pérdidas en rendimiento son de 11-50% (Singh et al., 2003; Singh et al., 2005). De igual manera en variedades afectadas por ScYLV se registran pérdidas en rendimiento de 40-50% (Vega

et al., 1997), mientras que en plantas asintomáticas con este mismo virus las mermas son de 10-30% (Lehrer y Komor, 2009; Lehrer et al., 2010). Como consecuencia de esto, los patógenos de este tipo que afectan a la caña de azúcar deben ser considerados en los programas de mejoramiento genético del mundo, en los que la selección y eliminación de clones susceptibles seguido de pruebas de patogenicidad se han vuelto procedimientos rutinarios (Gonçalves et al., 2012).

Entre las primeras epidemias sobre el cultivo de la caña de azúcar reportadas en el mundo a comienzos del siglo XX están las causadas por el ScMV. La enfermedad fue responsable de drásticas epidemias en Argentina, Brasil, Cuba, Puerto Rico y Estados Unidos (Abbott, 1961; Yang y Mirkov, 1997). Lo anterior condujo a la introducción de híbridos interespecíficos del género *Saccharum* importados de Java, con el fin de controlar la rápida propagación de la enfermedad en las cañas nobles (*S. officinarum*) obtenidas en aquel entonces en esos países (Koike y Gillaspie, 1989).

En México, el primer reporte del ScMV fue realizado en 1929, en El Potrero, Veracruz. En 1947 más del 80% de las áreas del ingenio Independencia, de ese mismo estado, plantadas con variedades criollas presentaban la enfermedad. Actualmente, el mosaico se considera un problema fitosanitario de importancia potencial en México y se encuentra distribuido en todas las zonas cañeras del país (CONADESUCA).

El síndrome de la hoja amarilla (YLS) de la caña de azúcar, causado por ScYLV, fue observado por primera vez en Hawaii en el año de 1988 y en Brasil en 1990 (Vega et al., 1997; Schenck et al., 2001). El ScYLV se ha reportado en las áreas productoras de caña de azúcar de todo el mundo. Por esta razón es la enfermedad viral más estudiada en este cultivo desde su aparición. Este virus fue responsable de drásticas pérdidas económicas en el sureste de Brasil a comienzos de 1990 y es el principal problema fitosanitario en los programas de mejoramiento genético de ese país (Gonçalves et al., 2012).

En México, el YLS fue observado por primera vez en el año de 1996 afectando a la variedad CP 72-2086 en la comunidad de La Margarita, Oaxaca. Ese mismo año se reportó su presencia en la misma variedad en Chiapas, Colima y Veracruz. También se detectó en Sinaloa afectando a la variedad Mex 57-473 (CONADESUCA).

## 4 AGENTES CAUSALES

### 4.1 HONGOS

Reino: Fungi

Filo: Basidiomycota

Clase: Pucciniomycetes

Orden: Pucciniales



Familia: Pucciniaceae  
Género: *Puccinia*  
Especies: *Puccinia melanocephala* (roya café)  
*Puccinia kuehnii* (roya naranja)

(CABI)

## 4.2 BACTERIAS

### 4.2.1 Escaldadura de la hoja

Reino: Bacteria  
Filum: Proteobacteria  
Clase: Gammaproteobacteria  
Orden: Xanthomonadales  
Familia: Xanthomonadaceae  
Género: *Xanthomonas*  
Especie: *Xanthomonas albilineans*

(Ashby, 1929; Dowson 1943; EPPO)

### 4.2.2 Gomosis

Reino: Bacteria  
Filum: Proteobacteria  
Clase: Gammaproteobacteria  
Orden: Xanthomonadales  
Familia: Xanthomonadaceae  
Género: *Xanthomonas*  
Especie: *Xanthomonas axonopodis* pv. *vasculorum*  
Sinónimos: *Xanthomonas campestris* pv. *vasculorum*  
*Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum*

(Cobb, 1893; EPPO)

### 4.2.3 Raquitismo de las socas

Reino: Bacteria  
Clase: Actinobacteria  
Orden: Actinomycetales  
Familia: Microbacteriaceae  
Género: *Leifsonia*  
Especie: *Leifsonia xyli*  
Subespecie: *xyli*

(Davis et al., 1984; EPPO).

## 4.3 VIRUS

### 4.3.1 Mosaico de la caña de azúcar

La enfermedad del mosaico de la caña de azúcar es ocasionada por un complejo de virus: ScMV, Virus del mosaico del sorgo (SrMV) y Virus del mosaico estriado de la caña de azúcar (ScSMV), estos últimos dos no están presentes en México. Existen reportes de otros Potyvirus que también causan la enfermedad del mosaico pero que no infectan de manera natural a caña de azúcar (Gonçalves et al., 2012).

Dominio: Riboviria  
Reino: Orthornavirae  
Filum: Pisuviricota  
Clase: Stelpaviricetes  
Orden: Patatavirales  
Familia: Potyviridae  
Género: *Potyvirus*  
Especies: *Sugarcane mosaic virus* (ScMV)  
*Sorghum mosaic virus* (SrMV)

(ICTV, 2019).

Dominio: Riboviria  
Reino: Orthornavirae  
Filum: Pisuviricota  
Clase: Stelpaviricetes  
Orden: Patatavirales  
Familia: Potyviridae  
Género: *Poacevirus*  
Especies: *Sugarcane streak mosaic virus* (ScSMV)

(ICTV, 2019).

### 4.3.2 Síndrome de la hoja amarilla

El término “síndrome de la hoja amarilla” fue usado para referirse a una enfermedad causada por un fitoplasma, cuyos síntomas son similares a los de ScYLV, en ciertas partes del mundo (Moonan y Mirkov, 2002). Actualmente, este término se emplea para referirse a la forma viral de la enfermedad (Ahmad et al., 2007; Yan et al., 2009).

Reino: Virus y viroides  
Categoría: Virus

Familia: Luteoviridae  
Género: Polerovirus  
Especie: Sugarcane yellow leaf virus (ScYLV)

(ICTV, 2019).

## 5 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

### 5.1 HONGOS

#### 5.1.1 *Puccinia melanocephala*

En la figura 3 se observa la distribución de *P. melanocephala* en los países de África: Angola, Benín, Burundi, Camerún, Congo, Kenia, Madagascar, Malawi, Mauricio, Mozambique, Sudáfrica, Suazilandia, Tanzania, Uganda, Zambia y Zimbabue.

América: Antigua y Barbuda, Argentina, Barbados, Belice, Bolivia, Brasil, Bermudas, Colombia, Costa Rica, Cuba, Ecuador, El Salvador, Estados Unidos, Guadalupe, Guatemala, Guyana, Haití, Honduras, Jamaica, Martinica, México, Nicaragua, Panamá, Perú, Puerto Rico, República Dominicana, San Cristóbal y Nieves, Trinidad y Tobago y Venezuela.

Asia: China, Filipinas, India, Indonesia, Japón, Nepal, Pakistán, Taiwán y Vietnam. En Oceanía, únicamente se reporta su presencia en Australia (Raid y Comstock, 2000; EPPO).

#### 5.1.2 *Puccinia kuehnii*

Por otra parte, *P. kuehnii* se distribuye en los países de América: Brasil, Belice, Colombia, Costa Rica, Cuba, República Dominicana, Ecuador, El salvador, Estados Unidos, Guatemala, Honduras, Jamaica, México, Nicaragua y Panamá.

Asia: Birmania, China, India, Indonesia, Japón, Malasia, Pakistán, Filipinas, Sri Lanka, Taiwán, Tailandia y Vietnam.

Oceanía: Australia, Fiji, Guam, Islas Salomón, Micronesia, Nueva Caledonia, Papúa Nueva Guinea y Samoa (Raid y Comstock, 2000; EPPO). En el 2011 fue detectado por primera vez en África afectando a los países de Camerún y Costa de Marfil (Saumtally et al., 2011) (Figura 4).

Figura 3. Distribución mundial de *P. melanocephala* (EPPO).

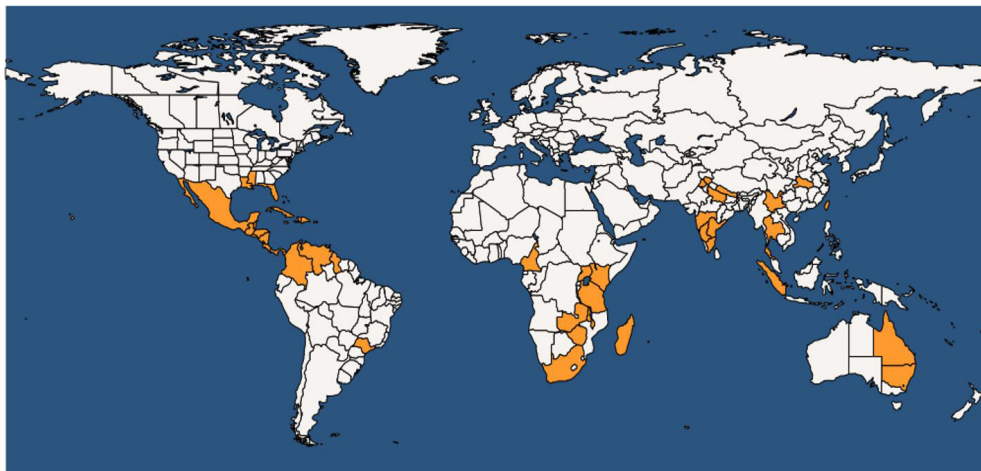
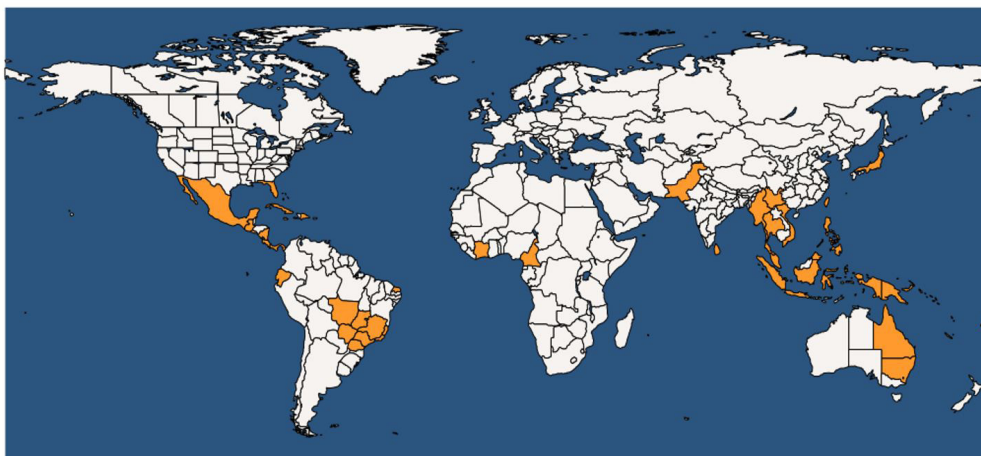


Figura 4. Distribución mundial de *P. kuehni* (EPPO).



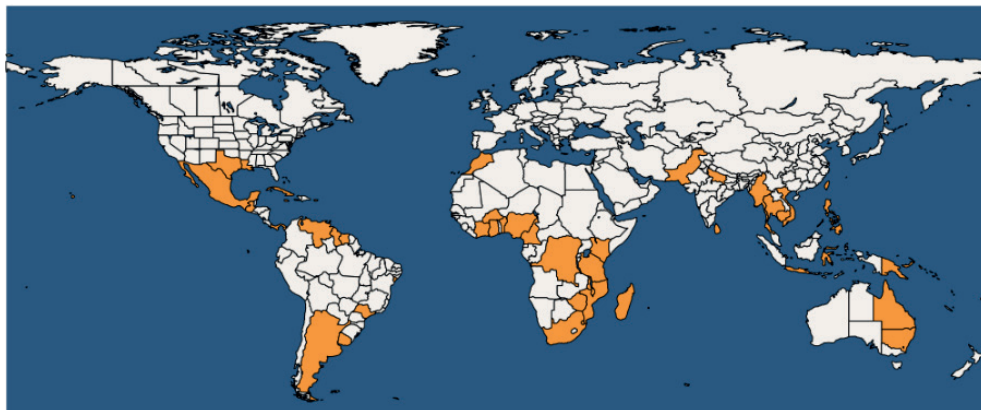
## 5.2 BACTERIAS

### 5.2.1 *Xanthomonas albilineans*

La bacteria *X. albilineans* posee una amplia distribución (Figura 5) y se encuentra presente en los siguientes países: África: Benín, Burkina Faso, Camerún, Congo, Costa de Marfil, Ghana, Kenia, Madagascar, Malawi, Mauricio, Marruecos, Mozambique, Nigeria, Reunión, Sudáfrica, Suazilandia, Tanzania y Zimbabue. En el continente americano está presente en: Argentina, Barbados, Brasil, Cuba, Estados Unidos, Granada, Guadalupe, Guatemala, Guyana, Jamaica, Martinica, México, Panamá, Puerto Rico, Santa Lucía, San Cristóbal y Nieves, San Vicente y las Granadinas, Surinam, Trinidad y Tobago, Uruguay

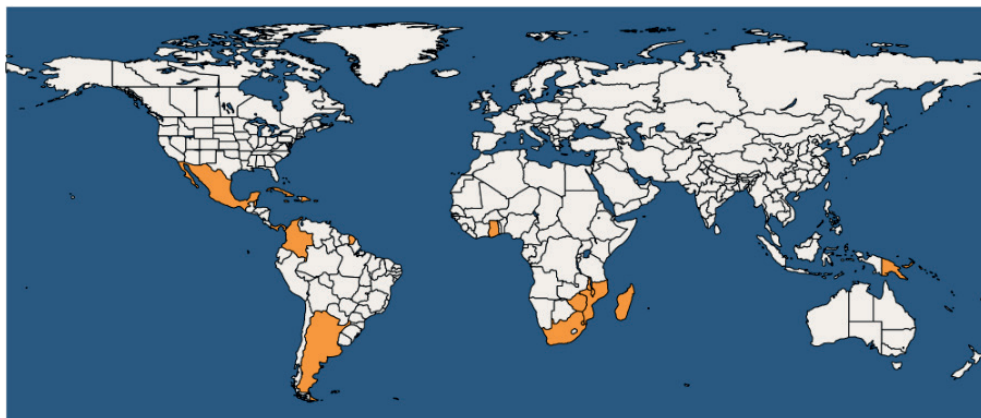
y Venezuela. Mientras que en Asia se ha localizado en Camboya, China, Filipinas, India, Indonesia, Japón, Myanmar, Pakistán, Sri Lanka, Taiwán, Tailandia y Vietnam. En Oceanía se ha reportado en Australia, Fiji y Papúa Nueva Guinea (EPPO).

Figura 5. Distribución mundial de *Xanthomonas albilineans*, agente causal de la escaldadura de la hoja en caña de azúcar (EPPO).



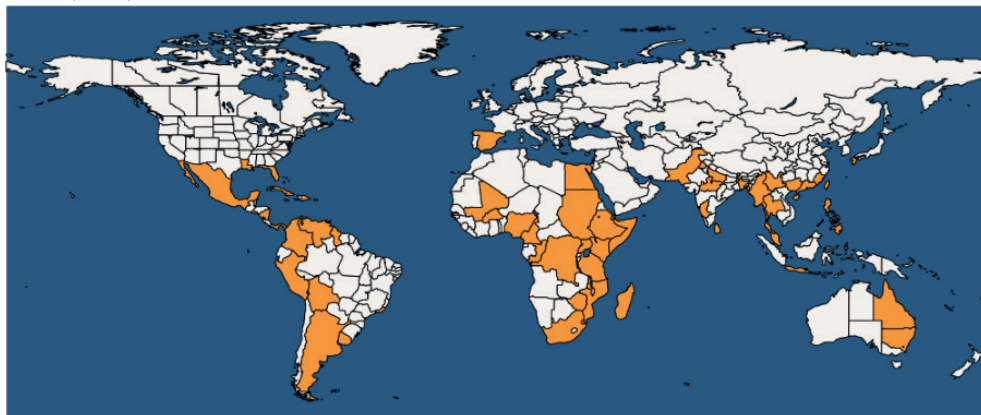
Por otra parte, *X. vasicola* pv. *vasculorum* está presente en los países de África: Ghana, Madagascar, Malawi, Mauricio, Mozambique, Reunión, Sudáfrica, Suazilandia y Zimbabwe. En el continente americano está presente en: Antigua y Barbuda, Argentina, Barbados, Belice, Brasil, Colombia, Cuba, Dominica, Guadalupe, Guyana Francesa, Jamaica, Martinica, México, Panamá, Puerto Rico, República Dominicana, Santa Lucía, San Cristóbal y Nieves, San Vicente y las Granadinas y Trinidad y Tobago. Mientras que la presencia de esta bacteria únicamente está limitada en India e Indonesia en Asia; y Portugal en Europa. Finalmente, en Oceanía se encuentra en Australia, Fiji y Papúa Nueva Guinea (Figura 6).

Figura 6. Distribución mundial de *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum*, agente causal de la gomosis de la caña de azúcar (EPPO).



En la Figura 7 se muestra la distribución mundial de *L. xyli* subsp. *xyli* en los países de África: Burkina Faso, Camerún, Comoras, Congo, Costa de Marfil, Yibuti, Egipto, Etiopía, Kenia, Madagascar, Malawi, Malí, Mauricio, Mozambique, Nigeria, Reunión, Seychelles, Somalia, Sudáfrica, Sudán, Suazilandia, Tanzania, Uganda y Zimbabue. En América está presente en: Antigua y Barbuda, Argentina, Barbados, Belice, Bolivia, Brasil, Colombia, Cuba, Estados Unidos, República Dominicana, El Salvador, Guadalupe, Guyana, Jamaica, México, Nicaragua, Panamá, Perú, Puerto Rico, San Cristóbal y Nieves, Trinidad y Tobago, Uruguay y Venezuela. Mientras que en Asia se encuentra en: Bangladés, China, Filipinas, India, Indonesia, Japón, Malasia, Myanmar, Pakistán, Sri Lanka, Taiwán y Tailandia. En el continente europeo únicamente se localiza en España. Finalmente, en Oceanía se reporta en: Australia y Fiji (EPPO).

Figura 7. Distribución mundial de *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, agente causal del raquitismo de las socas en caña de azúcar (EPPO).



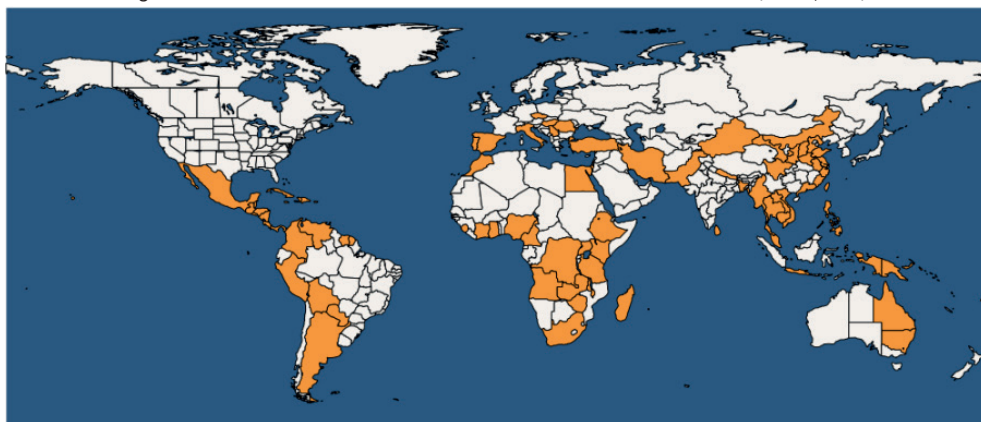
## 5.3 VIRUS

### 5.3.1 ScMV

La amplia distribución del ScMV se debe en gran medida a la enorme cantidad de especies vegetales hospederas que tiene. En la Figura 8 se observa que está presente en los países de África: Angola, Camerún, Congo, Costa de Marfil, Egipto, Etiopía, Ghana, Kenia, Madagascar, Malawi, Marruecos, Nigeria, Sierra Leona, Sudáfrica, Tanzania, Uganda, Zambia y Zimbabue. En el continente americano está presente en: Antigua y Barbuda, Argentina, Barbados, Belice, Bolivia, Brasil, Colombia, Costa Rica, Cuba, Ecuador, El Salvador, Estados Unidos, Guadalupe, Guatemala, Guayana Francesa, Haití, Honduras, Islas Vírgenes, Jamaica, Martinica, México, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, Puerto Rico, República Dominicana, San Cristóbal y Nieves, San Vicente y Las Granadinas,

Surinam, Trinidad y Tobago, Uruguay y Venezuela. Mientras que en Asia se ha localizado en: Bangladés, Camboya, China, Filipinas, India, Indonesia, Irán, Israel, Japón, Laos, Malasia, Myanmar, Nepal, Pakistán, Sri Lanka, Taiwán, Tailandia y Vietnam. Y en Europa se ha reportado en: Alemania, Bulgaria, Grecia, Hungría, Italia, Polonia, Portugal, República Checa, Rumania, Serbia, España y Turquía. En Oceanía se consigna su presencia en Australia, Fiji y Papúa Nueva Guinea (EPPO).

Figura 8. Distribución mundial del Virus del mosaico de la caña de azúcar (EPPO, 2011).



Por otra parte, el ScYLV se distribuye en los países de África: Kenia, Malawi, Marruecos, Mauricio, Mozambique, Senegal, Sudán, Sudáfrica, Uganda, Zambia y Zimbabue. En América está presente en: Argentina, Barbados, Brasil, Colombia, Cuba, Estados Unidos, El Salvador, Guadalupe, Guatemala, Jamaica, Martinica, México, Nicaragua, Perú, República Dominicana y Venezuela. Mientras que en Asia se encuentra en: India, Irán, China, Filipinas, Malasia, Sri Lanka, Taiwán y Tailandia. Finalmente, en Oceanía se reporta en: Australia y Papúa Nueva Guinea (Lockhart y Cronjé, 2000).

## 6 SÍNTOMAS

### 6.1 HONGOS

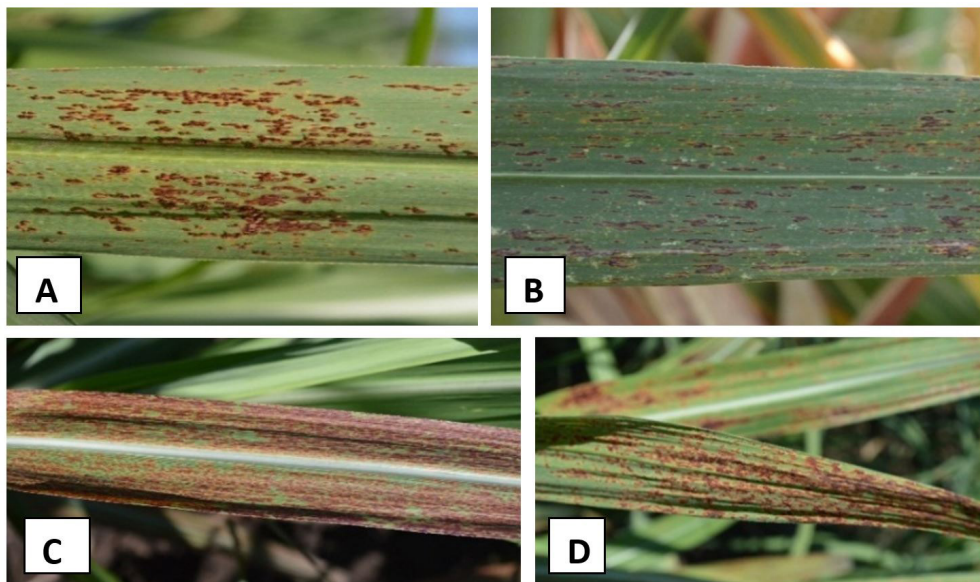
#### 6.1.1 Royas

De acuerdo con Egan (1964), los síntomas inducidos por *P. kuehnii* son casi idénticos a los ocasionados por *P. melanocephala*. De manera general, los síntomas iniciales de ambas royas en la caña de azúcar se presentan como lesiones diminutas y elongadas que forman un halo amarillento-verdoso.

### 6.1.1 *Puccinia melanocephala*

En el caso de esta roya aparecen pequeñas manchas alargadas de color amarillento, las cuales son visibles en ambas superficies de las hojas (Figura 9, A y B). Las manchas aumentan en tamaño hasta 1.5 mm de diámetro y por lo general se vuelven marrones o con tonalidades naranja-marrón o rojo-marrón (Figura 9, C y D).

Figura 9. Síntomas de roya café sobre lámina foliar de caña de azúcar. A) y B) Lesiones alargadas con halos amarillos; C) Síntomas sobre el haz de la hoja; D) Síntomas sobre el envés de la hoja.



Las lesiones forman abultamientos en la epidermis (pústulas) que se distribuyen irregularmente en la hoja y suelen oscilar entre 2-10 mm de longitud, y en algunas ocasiones pueden alcanzar los 30 mm. Las pústulas abultadas se forman predominantemente en el envés de las hojas; las urediniosporas que se forman en el interior de estas pústulas, son de color naranja a naranja-marrón (Figura 10). En variedades altamente susceptibles, un considerable número de pústulas pueden aparecer en una hoja, uniéndose para formar grandes áreas irregulares y necróticas (Figura 11). Si el grado de severidad de la roya es elevado pueden incluso causar la muerte prematura de las hojas jóvenes (Figura 12).



Figura 10. Pústulas de roya café en caña de azúcar. A) y B) Pústulas sobre el envés de hojas; C) Pústulas reventadas liberando esporas.

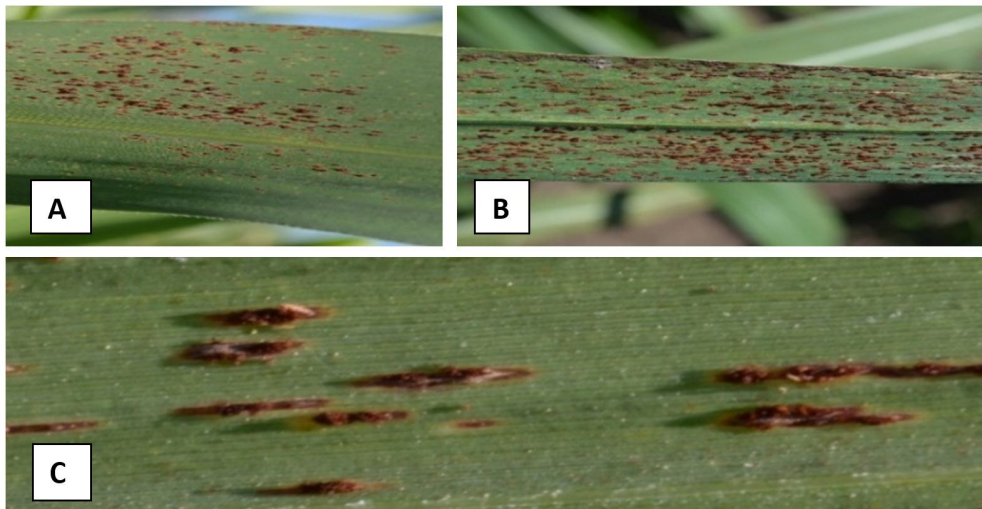


Figura 11. Lámina foliar de plantas de caña de azúcar con daño severo por roya café.



Figura 12. Muerte de hojas jóvenes de caña de azúcar ocasionada por la roya café.



Daños severos ocasionados por la roya café de la caña de azúcar han causado la reducción del número y biomasa de los tallos (Rao et al., 1999; Raid y Comstock, 2000) (Figura 13). Las plantas después de los seis meses de edad presentan una recuperación cuyo grado depende del nivel de susceptibilidad de la variedad.

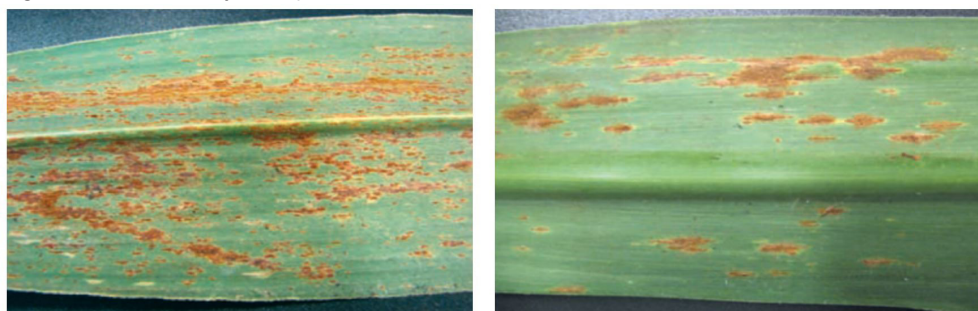
Figura 13. Daños severos ocasionados por la roya café en plantas de caña de azúcar de 4 meses de edad.



#### 6.1.1.2 *Puccinia kuehnii*

El agente causal de la roya anaranjada ocasiona pústulas muy pequeñas, a diferencia de la roya café. Las lesiones de esta roya en particular no son marrón oscuro, sino naranja óxido (Figura 14).

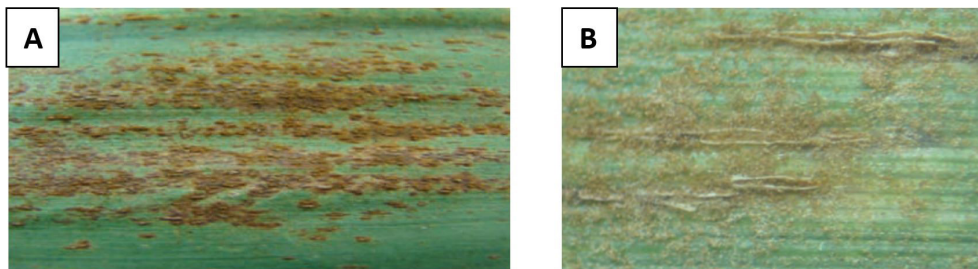
Figura 14. Síntomas de roya naranja sobre lámina foliar de caña de azúcar. Fuente: Cadavid-Ordóñez et al., (2010).



Las pústulas aparecen principalmente en la superficie abaxial de las láminas foliares (Figura 15, A), también en las vainas y en las partes florales, pero raramente en tallos, aunque predominan en la superficie foliar (Magarey, 2000; Infante et al., 2009). En algunos casos, las pústulas están rodeadas por un halo estrecho, blanquecino o amarillo y contienen masas de esporas pulverulentas anaranjadas. Las esporas pueden dispersarse de las pústulas y formar un polvo granulado anaranjado en la superficie de

la hoja (Magarey, 2000; Infante et al., 2009) (Figura 15, B). Con el aumento de la edad de las hojas, las lesiones viejas de la roya naranja empiezan a producir esporas negras en lugar de anaranjadas, las cuales pueden tornarse de un color marrón oscuro (Cadavid-Ordóñez et al., 2010).

Figura 15. Pústulas de roya naranja. A) Pústulas sobre la parte del envés de la hoja de caña de azúcar. B) Pústulas de roya naranja liberando urediniosporas de color naranja pálido sobre lámina foliar de caña de azúcar. Fuente: Cadavid-Ordóñez et al., (2010).



## 6.2 BACTERIAS

### 6.2.1 *Xanthomonas albilineans*

#### 6.2.1.1 Fase crónica

Se caracteriza por la presencia de algunos síntomas externos. El síntoma típico de la enfermedad es la aparición de finas rayas blancas (“white pencil line”) sobre la lámina foliar de 1 a 2 mm de ancho, las cuales siguen la dirección de las venas principales. El nombre del patógeno (*X. albilineans*) se deriva de la aparición de estas rayas, las cuales en ocasiones desarrollan una necrosis rojiza a lo largo de la hoja. Un síntoma común en plantas maduras es el desarrollo anormal de brotes laterales en los nodos del tallo principal (Figura 16). De manera interna, los tallos afectados muestran pequeños puntos con coloración rojiza, debidos a la necrosis de los haces vasculares (Figura 17). Estos puntos suelen ser más prominentes en los nodos, pero pueden estar presentes en los entrenudos (Ricaud y Ryan, 1989).

Figura 16. Presencia de brotes laterales en caña de azúcar afectadas por escaldadura de la hoja.



Figura 17. Corte transversal de tallos de caña de azúcar mostrando haces vasculares color rojo colonizados por la bacteria *X. albilineans*.



### 6.2.1.2 Fase aguda

La fase aguda se caracteriza por un marchitamiento repentino y la muerte de tallos maduros, por lo general, sin expresión de síntomas previos; en variedades susceptibles grandes extensiones de campo pueden verse afectadas de esta forma. En ocasiones pequeños brotes de la cepa de tallos muestran las rayas blancas características de la enfermedad, las cuales pueden ser más anchas y difusas y extenderse hasta el borde de la hoja provocando un marchitamiento y una necrosis. La enfermedad también puede presentar una clorosis parcial o total del limbo (Ricaud y Ryan, 1989). En Australia se ha presentado la fase aguda cuando se sembraron variedades altamente susceptibles en áreas donde la enfermedad era endémica (Martin y Robinson, 1961). Hasta el momento, en la región del Occidente de México no existen reportes sobre afectaciones al cultivo de caña de azúcar por escaldadura en fase aguda.

### 6.2.1.2 Fase de latencia

La forma latente de la enfermedad no manifiesta síntomas externos. En variedades tolerantes y cuando las condiciones ambientales son propicias para el desarrollo vegetativo (temperaturas entre 30-34°C), los tallos infectados parecen recuperarse, pero la bacteria continua presente en estado latente. Si las condiciones ambientales favorecen el desarrollo del patógeno (temperaturas entre 25-28°C) puede reaparecer la enfermedad. La fase aguda se manifiesta en socas donde la enfermedad subsiste en estado latente (Ricaud y Ryan, 1989).

### 6.2.1.3 Fase eclipse

Durante esta fase puede ocurrir la aparición temporal de rayas blancas en la lámina foliar, las cuales dejan de ser visibles después de la senescencia y muerte de las hojas más viejas, mientras que las hojas nuevas presentan un aspecto normal. Por lo anterior, un diagnóstico basado en síntomas puede ser erróneo debido a que una planta infectada puede estar visualmente sana (Martín et al., 2000).

## 6.2.2 *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum*

Se distinguen dos etapas de la enfermedad de la gomosis en caña de azúcar, una etapa inicial donde se presenta un rayado en las hojas y la etapa sistémica. El síntoma externo inicial de la enfermedad es la aparición de un rayado en las hojas, de color crema a amarillo. Estas rayas se tornan luego de color amarillo parduzco y se van cubriendo de una coloración rojiza que inicia desde el borde de las hojas hacia el interior, paralelas a la nervadura central (Figura 18). Por lo general miden 3 a 6 mm de ancho y su longitud se extiende dependiendo el largo de las hojas (Dowson, 1949; Ricaud y Autrey, 1989). En las variedades susceptibles las rayas recorren todo el limbo hasta la vaina, permitiendo a la bacteria penetrar en el tallo, iniciando así la etapa sistémica de la enfermedad, la cual se caracteriza por una clorosis tanto de hojas de tallos maduros como de los brotes jóvenes después de la zafra o de brotes que emergen de estacas infectadas (Ricaud y Autrey, 1989).

Figura 18. Síntomas causados por *Xanthomonas vasicola* pv. *vasculorum*, a la derecha se observan estrias de color amarillo a amarillo-pajoso.



Los síntomas internos son decoloración de los haces vasculares, tomando un color amarillo rojizo. También se puede observar el síntoma característico de la enfermedad que es el flujo de una sustancia gomosa, la cual es de color transparente en un principio, y que se oxida con la exposición al aire tornándose amarillo y posteriormente color anaranjado. En etapas finales de la enfermedad aparecen bolsas de goma, que son cavidades dentro del tejido las cuales contienen la sustancia gomosa y por lo general se localizan cerca del cogollo ocasionando la muerte del tallo. Estas mismas bolsas de goma ocasionan la deformación de los tallos y hojas, formando lesiones en forma de corte de machete con exudación de goma (Earle, 1928; Ricaud y Autrey, 1989).

### 6.2.3 *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*

De manera externa la enfermedad del raquitismo de las socas no muestra ningún síntoma específico, sino únicamente varios grados de achaparramiento y crecimiento reducido, sin embargo, estas características también se pueden deber a factores abióticos tales como deficiencias nutricionales y estrés hídrico. Las plantas infectadas son especialmente susceptibles a falta de agua. De manera interna, se distinguen dos tipos de decoloración en el tallo que pueden estar asociados con la enfermedad bacteriana, por una parte, el taponamiento de los haces vasculares (xilema) por una sustancia gomosa de coloración rojiza; y la otra por lo general de un color rosado en los nudos, por debajo de la región meristemática de los retoños viejos (4 a 8 semanas de edad) (Gillaspie y Teakle, 1989).

## 6.3 VIRUS

### 6.3.1 ScMV

El síntoma general causado por el ScMV en caña de azúcar se caracteriza principalmente por presentar decoloraciones en la lámina foliar, en la cual se observan

zonas de color verde normal alternado con áreas verde pálido o amarillentas; estas decoloraciones son resultado de los niveles de variación en la concentración de la clorofila en la hoja (Figura 19) (Grisham, 2000; Lapierre y Signoret, 2004; CONADESUCA).

Las áreas cloróticas son más evidentes en el tercio basal de hojas jóvenes en crecimiento. La intensidad de los síntomas varía con la variedad del cultivo, condiciones de crecimiento, temperatura y razas del virus (Figura 19). Las decoloraciones rojo o café-rojizo de la nervadura o la lámina foliar pueden resultar de la combinación de diferentes cepas del virus. En hojas maduras los síntomas tienden a desaparecer (Grisham, 2000; Lapierre y Signoret, 2004; CONADESUCA, 2015).

Figura 19. Síntomas severos causados por el Virus del mosaico de la caña de azúcar en lámina foliar.



### 6.3.2 ScYLV

El síntoma característico del ScYLV es un amarillamiento en la nervadura central de la hoja (Figura 20). Este patrón de coloración y la naturaleza de los síntomas están asociados a variables que dependen de la variedad y las condiciones ambientales (Lockhart y Cronjé, 2000).

Figura 20. Síntomas característicos del síndrome de la hoja amarilla en caña de azúcar.



Otros síntomas que se han reportado incluyen amarillamiento y necrosis desde el ápice de la hoja hasta la parte basal de la misma, expansión gradual del amarillamiento

a partir de la nervadura hacia los bordes, acortamiento de entrenudos terminales, acumulación de pigmentos de antocianina en las hojas, bloqueo en la translocación de azúcar desde las hojas hacia los tallos y acumulación de sacarosa en la nervadura de la hoja (Comstock et al., 1999; Lockhart y Cronjé, 2000).

En algunas variedades se puede observar una decoloración rojiza sobre el haz de las nervaduras, las cuales a la vez presentan amarillamiento en el envés. En general, los síntomas se acentúan hacia la madurez de la caña (Comstock et al., 1999; Lehrer y Komor, 2008).

En los casos en que el cultivo de caña de azúcar es abandonado por alguna razón, éste es invadido por una gran cantidad de maleza y la incidencia de la enfermedad causada por el ScYLV aumenta (Figura 21). Lo anterior, representa un foco de infección para la dispersión del virus por áfidos vectores.

Figura 21. Cultivo de caña de azúcar abandonado con problemas de virosis severa por el ScYLV.



## 7 TRANSMISIÓN Y DISPERSIÓN

### 7.1 HONGOS

Las urediniosporas de las royas de la caña de azúcar se propagan principalmente por factores climáticos como el viento y la precipitación. El movimiento de un lugar a otro de material vegetativo enfermo, equipo contaminado y trabajadores de campo también constituyen un medio de propagación. Una vez que ocurre la ruptura de las pústulas (uredinios) se liberan masas de esporas de color anaranjado-marrón, las cuales son



principalmente diseminadas por el viento a grandes distancias que pueden superar los 2,000 km (CABI, 2015).

## 7.2 BACTERIAS

La transmisión de las bacterias *X. albilineans*, *X. vasicola* pv. *vasculorum* y *L. xyli* subsp. *xyli* ocurre en gran medida por el tipo de propagación vegetativa de la caña de azúcar que es por semilla-estaca, pues el intercambio descontrolado de germoplasma entre las regiones cañeras del país se da indiscriminadamente transportando la carga patogénica a otras regiones donde no existía. También la semilla-estaca infectada permite la transmisión de la enfermedad a otros países cuando estos no tienen las precauciones necesarias en la estación cuarentenaria para el intercambio de material vegetativo.

Estas bacterias también son transmitidas por medios mecánicos, los cuales ocurren al momento de causar heridas en los tallos de las cañas de azúcar, por lo general mediante el uso de herramientas de trabajo como machetes, cuchillos y las navajas de las cosechadoras; estas herramientas infectadas al momento de causar heridas en plantas sanas son responsables de la transmisión de estos patógenos (Gillaspie y Teakle, 1989; Ricaud y Ryan, 1989).

## 7.3 VIRUS

La dispersión de las partículas virales del ScMV y el ScYLV ocurre de manera similar a las bacterias, en gran medida por el tipo de propagación vegetativa de la caña de azúcar que es por semilla-estaca. De manera natural, el ScMV y el ScYLV generalmente son transmitidos por áfidos de manera no persistente. Los virus son adquiridos por sus vectores al alimentarse de plantas huésped infectadas. Las principales especies de áfidos vectores de estos virus son: *Melanaphis sacchari*, *Rhopalosiphum maidis* y *Sipha flava* (Figueredo et al., 2004). El ScMV también es transmitido por inoculación mecánica, mientras que el ScYLV no. En caña de azúcar no se ha detectado la transmisión de estos virus por semilla “fuzz”.

# 8 MANEJO PREVENTIVO Y CONTROL

## 8.1 HONGOS

### 8.1.1 Control genético

El mejor método de control de la roya café y naranja de la caña de azúcar es el uso de variedades resistentes al patógeno. El desarrollo de variedades resistentes

ha reducido las pérdidas económicas causadas por esta enfermedad (Ryan y Egan, 1989). Sin embargo, las variedades resistentes actuales están amenazadas por el establecimiento de nuevas razas del patógeno. Por ejemplo, la variedad CP 78-1247 fue considerada como resistente o moderadamente resistente a roya café hasta 1988, luego exhibió una elevada susceptibilidad en todo el sur de Florida. Sin embargo, la resistencia no ha sido estable o duradera en determinadas variedades, presumiblemente a causa de las variantes del patógeno. Por esta razón, es muy recomendable que los productores diversifiquen sus variedades utilizadas (Raid y Comstock, 2000; Comstock et al., 2008) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Variedades de caña de azúcar sembradas en México con diferentes grados de reacción a la roya café (UNC).

Susceptibles	Tolerantes	Resistentes
B-4362, B51415, CL41-223, CL54-378, F134, H49-5, Q80, Mex60-445, Mex60-1474, Mex66-1428, Mex69-1456 y Mex70-421.	B3439, Co421, Mex58-1230, Mex64-1214, Mex69-1460, My5514 y PR1048.	Co213, Co331, Co997, CP44-101, CP29-203, CP72-1210, CP72-2086, CP74-2005, H37-1933, L60-14, Mex54-81, Mex56-18, Mex57-473, Mex59-32, Mex64-1487, Mex68-200, Mex68-P-23, Mex69-290, Q68, NCo310.

### 8.1.2 Control químico

Se han utilizado fungicidas como propiconazol/mancozeb, ciproconazol, triadimefon y triadimenol para el control de las royas en caña de azúcar. En Guatemala se evaluó la incidencia de la roya naranja con fungicida y sin fungicida. Las aplicaciones se hicieron con ciproconazol a intervalos de 10 días. Los resultados mostraron una buena efectividad del fungicida, sin embargo, al finalizar las aplicaciones a cinco meses de edad, la enfermedad se presentó en las parcelas tratadas, aunque con severidades menores a las de parcelas no tratadas (Ovalle et al., 2008).

### 8.1.3 Control biológico

Uno de los agentes de control biológico de la roya es *Sphaerellopsis filum*, el cual fue encontrado parasitando a *P. melanocephala*, y también se ha empleado *Cladosporium uredinicola*. Mientras que el hongo *Darluca filum* se ha encontrado parasitando a *P. kuehni* en cultivos de caña de azúcar infestados de roya (Soria et al., 1988; Abdel-Baky et al., 1998). Sin embargo, a la fecha no existe control biológico efectivo.

## 8.2 BACTERIAS

Las enfermedades bacterianas de escaldadura de la hoja, gomosis y raquitismo de las socas son controladas principalmente por la selección y cultivo de variedades resistentes o tolerantes. Por otra parte, es deseable el uso de material de siembra sano, el cual puede obtenerse mediante el tratamiento térmico de la semilla-estaca. Para lo anterior, se puede utilizar una cámara hidrotérmica automatizada (Figura 22). La temperatura recomendada para este propósito es de 50°C durante dos horas, eliminando la mayor parte de bacterias, bajando de esta forma la carga patogénica y sin causar daños a los meristemas.

También se ha utilizado el cultivo de tejidos vegetales para la obtención de semilla sana en diversos programas de mejoramiento genético de varios países donde se cultiva caña de azúcar. Se ha observado que las plantas procedentes de cultivo *in vitro* presentan en campo un crecimiento más rápido y vigoroso en comparación con las propagadas por semilla-estaca.

En México, las actividades realizadas por el Centro de Investigación y Desarrollo de la Caña de Azúcar (CIDCA) constituyen el mejoramiento genético del cultivo de caña de azúcar para aumentar los rendimientos y obtener resistencia a enfermedades y es considerado el mejor método de control (control genético).

Figura 22. Cámara hidrotérmica automatizada para la desinfección de semilla-estaca de caña de azúcar.



### 8.3 VIRUS

Existen cuatro rutas para controlar las enfermedades virales en plantas: evitar la infección, control del vector, inoculación de la planta con una cepa atenuada del virus y el mejoramiento genético para su resistencia.

En caña de azúcar, para el manejo y control del ScMV y el ScYLV se utilizan los métodos convencionales de eliminación de plantas enfermas, uso de semilla sana, siembra de variedades resistentes y algunas prácticas de cultivo para su prevención. Con la eliminación de plantas enfermas es posible mantener niveles bajos de incidencia, pero esto depende de la variedad, variante del virus y de la abundancia de los vectores presentes en la zona del cultivo. Además, resulta bastante complicado, costoso y poco práctico.

Las plantas de caña de azúcar pueden ser protegidas mediante inoculación con una cepa del virus (protección cruzada). Se prepara un extracto crudo de hojas infectadas con el ScMV en un buffer de fosfatos y en invernadero se llevan a cabo las inoculaciones de manera mecánica sobre las hojas. Este proceso se realiza después de que se germina la semilla verdadera o semilla “fuzz”, la cual en México es producto de diferentes cruces realizadas por el Centro de Investigación y Desarrollo de la Caña de Azúcar (CIDCA) para la generación de variedades más productivas y resistentes a enfermedades. El Campo Experimental Tecomán del INIFAP es uno de los 11 Campos Experimentales Regionales, distribuidos en las diferentes zonas cañeras del país, que tiene la tarea de evaluar las variedades generadas por el CIDCA.

Las actividades realizadas por el CIDCA en nuestro país constituyen el mejoramiento genético del cultivo de caña de azúcar para aumentar los rendimientos y obtener resistencia a enfermedades y es considerado el mejor método de control; sin embargo, requiere de una fuente de genes de especies sexualmente compatibles con *S. officinarum* y por lo general se utiliza para este propósito a *S. spontaneum*. En México, la variabilidad genética de la caña de azúcar es muy estrecha por lo que hace falta que se incorporen genes de variedades relacionadas como: *S. robustum*, *S. barberi*, *S. sinense* y *S. edule*, las cuales podrían aportar genes para generar variedades resistentes al ScMV y el ScYLV.

La resistencia a estos virus también puede obtenerse mediante biotecnología utilizando técnicas de ingeniería genética. En caña de azúcar se ha utilizado la tecnología del silenciamiento génico postranscripcional (PTGS) para la generación de plantas resistentes a la enfermedad del mosaico. Ingelbrecht et al. (1999) generaron plantas resistentes a la enfermedad del mosaico ocasionada por el SrMV utilizando la pistola de genes. De manera similar Joyce et al. (1998) también emplearon el bombardeo de

micropartículas para transformar callo embriogénico de caña de azúcar para conferirle resistencia al ScMV.

## 9 CONCLUSIONES

Las enfermedades en caña de azúcar ocasionadas por hongos, bacterias y virus se encuentran ampliamente distribuidas en las zonas cañeras de todo el país. Dado que en México los productores cañeros han estado sembrando las mismas variedades comerciales por más de 30 años (CP 72-2086 y Mex 69-290, principalmente), estas plantas han presentado una gran diversidad de síntomas de diferentes enfermedades tales como royas, escaldadura de la hoja, gomosis, raquitismo de la soca, mosaico, síndrome de la hoja amarilla, entre otras. Estos genotipos se siguen sembrando en la actualidad, debido a que se adaptan bien a diversas condiciones agroclimáticas. Sin embargo, los rendimientos en campo se han visto disminuidos por el deterioro genético de dichas variedades que los han hecho susceptibles a diversas enfermedades aunado al efecto negativo de las plagas. Lo anterior denota la necesidad de rejuvenecer el campo cañero mexicano con nuevas variedades más vigorosas, adaptadas a las distintas zonas agroecológicas de México y con resistencia a enfermedades para poder aumentar los rendimientos en campo. Por otra parte, hace falta realizar estudios que cuantifiquen el daño que ocasionan estas enfermedades (casadas por hongos, bacterias y virus) a la agroindustria cañera de México, para concientizar a los productores sobre la necesidad de sustituir los genotipos viejos que han utilizado por décadas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbott, E. V. 1961. Mosaic. In: Martin, J. P., Abbott, E. V., Hughes, C. G. (Eds). Sugarcane Diseases of the world (1<sup>st</sup> Ed, Vol I). pp 407-425. Elsevier. Amsterdam, The Netherlands.

Abdel-Baky, N. F., Arafat, S., Nehal, A. and Abdel-Ssalam, H. 1998. Three *Cladosporium* spp. as promising biological control candidates for controlling whiteflies (*Bemisia* spp.) in Egypt. Pakistan Journal of Biological Sciences 1:188-195.

Ahmad, Y. A., Girard, J. C., Fernandez, E., Pauquet, J., Lockhart, B. E. L., Letourmy, P. and Rott, P. 2007. Variation in virus populations and growth characteristics of two sugarcane cultivars infected by *Sugarcane yellow leaf virus* in different geographical locations. Plant Pathology 56:743-754.

Almazan, O., González, L. and Galvez, L. 1998. The sugar cane, its by-products and co-products. pp. 13-25. Food and Agricultural Research Council, Reduit, Mauritius.

Arcenaux, G. 1967. Cultivated sugarcane of the world and their botanical derivation. Proc. Congr. Int. Soc. Sugar Cane Technol. 12:844-854.

Autrey, L. J. C., Dhayan, S. and Sullivan, S. 1986. Effect of race three of gumming disease pathogen on growth and yield in two sugar cane varieties. Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol., 19: 420-428.

Barret, B. O. 1930. Los cultivos tropicales. Cultural, S. A. Habana, Cuba. p. 137-166.

Braithwaite. 2005. Assessing the impact that pathogen variation has on the sugarcane breeding program. Final report-SRAC Project BSS258. BSES.

CABI (Centre for Agricultural Bioscience International). Invasive Species Compendium (ISC). Disponible en: <http://www.cabi.org/isc/datasheet/45818> Consultado: 4 de octubre de 2023.

Cadavid-Ordóñez, M., Ángel-Sánchez, J. C. y Victoria-Kafure, J. I. 2010. Métodos de diferenciación en campo y laboratorio de los agentes causales de la roya café (*Puccinia melanocephala*) y la roya naranja (*Puccinia kuehni*) en caña de azúcar. Carta Trimestral. CEÑICAÑA. 32:30-36.

Cobb, N. A. 1893. Plant diseases and their remedies - Diseases of the sugar cane. Agric. Gaz. 4: 777-798.

Comstock, J. C., Miller, J. D. Tai, P. Y. P. and Follis, J. E. 1999. Incidence of and resistance to *Sugarcane yellow leaf virus* in Florida. Proceedings International Soc. Sugar Cane Technol. 23:366-372.

Comstock, J. C., Sood, S. G., Glynn, N. C., Shineii, J., McKemy, J. M. and Castlebury, L. A. 2008. First report of *Puccinia kuehni* Butler, causal agent of orange rust of sugarcane in the United States and western hemisphere. Plant Disease 92:175.

CONADESUCA (Comité Nacional para el Desarrollo Sustentable de la Caña de Azúcar) 2017. Fitopatologías. Disponible en: <http://www.conadesuca.gob.mx> Consultado el 28 de agosto de 2023.

Daniels, J. and Roach, B. T. 1987. Taxonomy and evolution. Chapter 2. pp. 7-84. In: D. J., Heinz, (Eds). Sugarcane improvement through breeding. Elsevier. Amsterdam, The Netherlands.

Davis, M. J., Gillaspie, A. G., Jr., Vidaver, A. K., and Harris, R. W. 1984. Clavibacter: A new genus containing some phytopathogenic coryneform bacteria, including *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* sp. nov., subsp. nov. and *Clavibacter xyli* subsp. *cynodontis* subsp. nov., pathogens that cause ratoon stunting disease of sugarcane and bermudagrass stunting disease. Int. J. Syst. Bacteriol. 34: 107-117.

Dowson, W. J. 1949. Manual of bacterial plant diseases. Adam and Charles Black. Londres. p. 104-115.

Earle, F. S. 1928. Sugar cane and its culture. John Wiley and Sons, Inc. New York. p. 109-161.

Egan, B. T. 1964. Rust. In: "Sugar-cane diseases of the world". pp. 61-68. C. G. Hughes, E. V. Abbott, and C. A. Wismer (Eds.). Vol. II, Elsevier, New York.

EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). Global Database. Disponible en: <https://gd.eppo.int/> Consultado: 29 de septiembre de 2023.

FAO (Food and Agriculture Organization). 2023. Statistic division (FAOSTAT) <http://faostat3.fao.org> Consultado: 28 de septiembre de 2023.

Faris, J. A. 1927. Algunas serias enfermedades de la caña de azúcar no conocidas como existentes en Cuba. Est. Exp. del Club Azucarero de Cuba. Central Baraguá, Provincia de Camaguey, Cuba. Bol. 4: 17-22.

Figueredo, L., Hernández, L. y Linares, B. 2004. Relación epidemiológica entre áfidos (Homoptera:Afididae) y enfermedades virales en el cultivo caña de azúcar en los valles de los ríos Turbio y Yaracuy, Venezuela. Caña de azúcar 22:5-19.

- Flores Cáceres, S. 1997. Las enfermedades de la caña de azúcar en México. Núñez (Ed). Córdoba, Veracruz, México. 285 p.
- Gillaspie, A. G. and Teakle, D. S. 1989. Ratoon stunting disease, chapter IV. In: C. Ricaud, B. T. Egan, A. G. Gillaspie, C. G. Hughes (eds). Diseases of sugarcane. Major diseases. ELSEVIER. Amsterdam, The Netherlands. pp 59-80.
- Gonçalves, M. C., Pinto, L. R., Souza, S. C. and Landell, M. G. A. 2012. Virus diseases of sugarcane. A constant challenge to sugarcane breeding in Brazil. *Funct. Plant Sci. Biotechnol.* 6:108-116.
- Grisham, M. P. 2000. Mosaic. *In: A guide to sugarcane diseases.* pp. 249–254. P. Rott, R. A. Bailey, J. C. Comstock, B. J. Croft and A. S. Saumtally (Eds). CIRAD Publications Service. Montpellier, France.
- Huerta Lara, M., Ortega Arenas, L. D., Landeros Sánchez, C., Fucikovskyy Zak, L. y Martín García, M. 2003. Respuesta de 10 variedades de caña de azúcar a la escaldadura de la hoja [Xanthomonas albilineans (ashby) downson], en la región central costera de Veracruz. *Agrociencia.* 37: 511-519.
- ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses). 2019. Virology Division. Montreal, Canada. Disponible en: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp> Consultado: 4 de octubre de 2023.
- Infante, D., Martínez, B., González, E. y González, N. 2009. *Puccinia kuehnii* (Krüger) Butler y *Puccinia melanocephala* H. Sydow y P. Sydow en el cultivo de la caña de azúcar. *Rev. Protección Veg.* 24:22-28.
- Ingelbrecht, I. L., Irvine, J. E., and Mirkov, T. E. 1999. Posttranscriptional gene silencing in transgenic sugarcane. Dissection of homology-dependent virus resistance in a monocot that has a complex polyploidy genome. *Plant Physiology* 119:1187-1197.
- Joyce, P. A., Mcqualter, R. B., Bernard, M. J., Smith, G. R. and Drew, R. A. 1998. Engineering for resistance to SCMV in sugarcane. *Acta Hort.* 461: 385-391.
- Koike H. and Guillaspie Jr., A. G. 1989. Mosaic. *In: Disease of sugarcane. Major Disease.* pp 287-288. C. G. Ricaud (Ed). Elsevier. Amsterdam, The Netherlands.
- Lapierre, H. and Signoret, P. A. 2004. Virus disease of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *In: Viruses and virus diseases of Poaceae (Gramineae).* 857 p. H. Lapierre and P. A. Signoret (Eds). INRA. Paris, France.
- Lehrer, A. T. and Komor, E. 2009. Carbon dioxide assimilation by virus-free sugarcane plants and by plants which were infected by *Sugarcane yellow leaf virus*. *Physiol. Mol. Plant P.* 70:180-188.
- Lehrer, A. T., and Komor, E. 2008. Symptom expression of yellow leaf disease in sugarcane cultivars with different degrees of infection by *Sugarcane yellow leaf virus*. *Plant Pathology* 57:178-189.
- Lehrer, A., Yan, S. L., Fontaniella, B., El-Sayed, A. and Komor, E. 2010. Carbohydrate composition of sugarcane cultivars that are resistant or susceptible to *Sugarcane yellow leaf virus*. *J. Gen. Plant Pathol.* 76:62-68.
- Lockhart, B. E. and Cronjé, C. P. R. 2000. Yellow leaf syndrome. *In: A Guide to Sugarcane Diseases.* pp. 291-295. P. Rott, R. A. Bailey, J. C. Comstock, B. J. Croft and A. S. Saumtally (Eds). CIRAD Publications Service. Montpellier, France.
- López-Ramírez, A. 1998. La importancia de las royas (Fungi: Uredinales) en la agricultura y silvicultura en México. *Foresta Veracruzana* 1:49-52.

- Magarey, R. C. 2000. Orange rust. pp. 121-125 *In: A Guide to Sugarcane Diseases* (P. Rott, R. A. Bailey, J. C. Comstock, B. J. Croft, and A. S. Saumtally, Eds.). CIRAD Publications Service, Montpellier, France.
- Martin, J. P. and Robinson, P. E. 1961. Leaf scald. In: J. P. Martin, E. V. Abbott and C. O. Hughes (eds). *Sugar-Cane Diseases of the World*. Vol. I. ELSEVIER. Amsterdam. pp. 79-107.
- Molina, P. L. 1999. Infección de vitroplántulas de caña de azúcar (*Saccharum* sp.) por *Puccinia melanocephala* H. y P. Syd. pp. 2-3. Trabajo de diploma, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba.
- Moonan F. and Mirkov, T. E. 2002. Analyses of the genotypic diversity among North, South, and Central American isolates of *Sugarcane yellow leaf virus*. Evidence for Colombian origins and for intraspecific spatial phylogenetic variation. *J. Virol.* 76:1339-1348.
- Osada, S. y Reyes, E. 1980. Estimación de pérdidas causadas por la roya de la caña de azúcar. Convención Nacional, Asociación de Técnicos Azucareros de México (ATAM), México.
- Ovalle, W., Orozco, H., Quemé, J., Melgar, M. y García, S. 2008. La roya anaranjada en Guatemala y estrategias para su manejo. Centro Guatemalteco de Investigación y Capacitación de la Caña de Azúcar. Km. 92.5 Carretera a Santa Lucía Cotzumalguapa, Escuintla, Guatemala.
- Purdy, L. H., and Dean, J. L. 1981. A system for recording data about the sugarcane rust/host interactions. *Sugarcane Pathol. Newsl.* 27:35-40.
- Purdy, L. H., Liu, L. J. and Dean, J. L. 1983. Sugarcane rust, a newly important disease. *Plant Dis.* 67:1292-1296.
- Raid, R. N. and Comstock, J. C. 2000. Common rust. pp. 85-89 *In: A Guide to Sugarcane Diseases* (P. Rott, R. A. Bailey, J. C. Comstock, B. J. Croft, and A. S. Saumtally, Eds.). CIRAD Publications Service. Montpellier, France.
- Rao, G. P., Bergamin, F., Magarey, Y. and Autrey, L. J. C. 1999. *Sugarcane Pathology*. Science Publishers Inc., Enfield, New Hampshire.
- Ricaud, C. 1969. Investigation on the systemic infection of gumming disease. *Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol.* 13: 1159-1169.
- Ricaud, C. and Autrey, L. J. C. 1989. Gumming disease, chapter II. In: C. Ricaud, B. T. Egan, A. G. Gillaspie, C. G. Hughes (eds). *Diseases of sugarcane. Major diseases*. ELSEVIER. Amsterdam, The Netherlands. pp 21-38.
- Ricaud, C. and Ryan, C. C. 1989. Leaf scald, chapter III. In: C. Ricaud, B. T. Egan, A. G. Gillaspie, C. G. Hughes (eds). *Diseases of sugarcane. Major diseases*. ELSEVIER. Amsterdam, The Netherlands. pp 39-58.
- Ryan, C. C. and Egan, B. T. 1989. Rust. pp. 189-210. *In: C. Ricaud, B. T. Egan, A. G. Gillaspie and C. G. Hughes (Eds.)*. *Diseases of sugarcane, major diseases*. Elsevier Science Publisher. Amsterdam, Netherlands.
- Saumtally, A. S., Viremouneix, T. R., Ahondokpe, B., Girard, J. C. R., Castlebury, L. A., Dixon, L., Glynn, N. C. and Comstock, C. 2011. First report of orange rust of sugarcane caused by *Puccinia kuehnii* in Ivory Coast and Cameroon. *Plant Disease* 95:357.
- Schenck, S., Lehrer, A. T. and Wu, K. K. 2001. Yellow leaf syndrome. Hawaii Agriculture Research Center, Pathology Report 68.



- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2023. Consultado: 28 de septiembre de 2023. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx>
- Singh, M., Singh, A., Upadhyaya, P. P. and Rao, G. P. 2005. Transmission studies on an Indian isolate of sugarcane mosaic potyvirus. *Sugar Tech.* 7:32-38.
- Singh, V., Sinha, O. K. and Kumar, R. 2003. Progressive decline in yield and quality of sugarcane due to sugarcane mosaic virus. *Indian Phytopathology* 56:500-502.
- Soria, E. M., Pérez, L. A y Cupull, S. R. 1988. Estudio sobre el micoparásito de la roya *Darluca filum* Cast en caña de azúcar. *Centro Agrícola.* 15:23-29.
- Tai, P. Y. P., Miller, J. D. and Legendre, B. L. 1995. Evaluation of the world collection of *Saccharum Spontaneum* L. *Proc Int. Soc. Sugar Cane Technol.* 21: 250-260.
- UNC (Unión Nacional de Cañeros). Fitopatologías. Disponible en: <http://www.caneros.org.mx>. Consultado el 5 de octubre de 2023.
- Vega, J., Scagliusi, S. M. M., and Ulian, E. C. 1997. Sugarcane Yellow Leaf Disease in Brazil: Evidence of Association with a Luteovirus. *Plant Disease* 81:21-26.
- Yan, S. L., Lehrer, A. T., Hajirezaei, M. R., Springer, A. and Komor, E. 2009. Modulation of carbohydrate metabolism and chloroplast structure in sugarcane leaves which were infected by Sugarcane yellow leaf virus (ScYLV). *Physiol. Mol. Plant P.* 73:78-87.
- Yang, Z. N. and Mirkov, T. E. 1997. Sequence and relationships of sugarcane mosaic and sorghum mosaic virus strains and development of RT-PCR-based RFLPs for strain discrimination. *Phytopathology* 87:932-939.

# CAPÍTULO 8

## APERTURAS Y ESTRATEGIAS COMO MÉTODO EN LA ENSEÑANZA AGROPECUARIA

Data de submissão: 04/11/2023

Data de aceite: 21/11/2023

**Rafael Menendez**

Docente I.P.E.A. N° 244

“Víctor S. Iraola”

Bulnes, Córdoba, Argentina

**RESUMEN:** A los alumnos que pertenecen en Instituciones de Enseñanza Agropecuaria, se los forma en las materias de la especialidad de una manera estructurada, y en algunos casos, alejados de la realidad económica, política y social. Se realiza un sistema que tiene como objetivo la integración de la asignatura para comprender el proceso productivo. Este método pedagógico que se implementa es semejante al desarrollo de una partida de ajedrez, porque así se plantean las situaciones críticas en la vida, una apertura problemática y diferentes estrategias para enfrentarlo, a su vez durante el desarrollo de la solución se presentan nuevos problemas que involucran al planteo principal, pero no se debe perder el foco en cuestión. Se forman grupos de alumnos y reciben un plan del trabajo, que involucra en resolver una situación problemática real o supuesta de un criadero de cerdos de sistema al aire libre, mixto o en confinamiento. Ellos deben hallar la solución

incorporando e integrando conocimientos propios de la asignatura e integrar de otras materias como herramientas participativas e importantes, consultas a productores y técnicos del sector, que abren la ventana para relacionar hacia un todo la situación planteada. Además, el educando debe saber que el lenguaje técnico también se aplica en el medio, presenta un resumen informativo caracterizando su estrategia, expone con presentación informática, y este es el desafío para con ellos, e incluso al final de la materia, la evaluación integradora es realizada por otras personas externas de la institución, como ej. productores, técnicos, profesionales relacionados con el medio. Se observó con este método de enseñanza, el alumno siente seguridad de sus conocimientos adquiridos, aprende a organizar y distribuir el tiempo, y confronta sus saberes con otras personas ajenas a la institución por haber integrado la teoría con la realidad del medio. Por último, planificar significa para el alumno a aprehender a predecir el futuro de una actividad, a corregir un problema en un emprendimiento productivo y a poder comparar productiva y económicamente con otros sistemas.

**PALABRAS CLAVES:** Ajedrez. Integrar. Problemas. Soluciones. Aprehender.

### 1 INTRODUCCIÓN

El principio de este método de innovación de la enseñanza es que el alumno

no solo aprenda a detectar que problemas hay en una producción, sino que además de aprender a hacer un proyecto, le debe permitir que el mismo sea un medio que le facilite a tener una visión de futuro de una empresa agropecuaria y las consecuencias que puede tener frente a los distintos escenarios que se presenten ya sea de tipo económico, político y ambientales que afectan a la producción como en este caso es cerdos.

El aprehender el conocimiento para abrir las limitaciones que pone la ignorancia hace que se desarrolle el espíritu crítico, así defiende lo que piensa para forjar una persona con ideas que resuelvan problemas.

## 2 OBJETIVOS

Se presenta como estrategia de enseñanza a los alumnos de quinto año, en la materia Producción Animal: Cerdos, en realizar una planificación sobre un criadero de cerdos ya sea en organizarlo o resolver una situación problemática o comparar con otro sistema productivo, de manera grupal (máximo cinco alumnos por grupo) con el fin de poder integrar e incorporar los conocimientos adquiridos durante el cursado de la asignatura, para afianzar su método ya sea inédito o no, como estrategia para encarar un problema, organizar el tiempo para su ejecución, exponer su estrategia desarrollada con diferentes actores sociales afectados al sector. También es integrar socialmente entre pares, compartir conocimientos entre los alumnos, distribuir estratégicamente las tareas, buscar respuestas en otros ámbitos externos a la institución, aprender a exponer con diferentes sistemas, desarrollar la oratoria, responder preguntas y ser evaluados por otros técnicos, profesionales o productores, y de esa manera comprender su evaluación final.

## 3 MATERIALES Y MÉTODOS

Se utiliza el criadero de la escuela, o de un productor de la región, se hace una caracterización del mismo, se determina la problemática del mismo y se incluyen diferentes aspectos a considerar como:

- Cronograma de producción y organización de los partos.
- Indicadores productivos (ej: partos/cerda/año, % mortandad, eficiencia de conversión, etc.)
- Infraestructura del criadero y sus diferentes instalaciones: identificación de las áreas productivas.
- Diagrama de flujos.
- Manejo de las diferentes categorías: uso de registros.

- Alimentación: Plan de alimentación.
- Genética y reproducción.
- Plan Sanitario.
- Cuidado del ambiente: manejo del estiércol y cadáveres.
- Instalaciones varias: caminos, viviendas, cargaderos, depósitos, etc.

A los alumnos se les entrega la situación del criadero con noventa días de anticipación a la fecha de entrega y tienen 60 horas reloj para resolverlo con estas herramientas, deben identificar cuál es el problema, y mediante diferentes estrategias que ellos mismos elaboran, utilizando los conocimientos áulicos, consulta bibliográfica e internet, uso de las horas de clases para trabajar con el proyecto, consultas con el profesor, maestros de prácticas, a diferentes actores docentes, productores, etc., organizar el tiempo, distribuir las tareas entre ellos, lograr un resultado, elaborar un informe de los distintos aspectos que afectan al criadero, confeccionar una presentación en diapositivas, exponer mediante un taller de sensibilización compartiendo con sus compañeros de curso y otros presentes, en un tiempo de 40 minutos de exposición oral.

## 4 RESULTADOS

Los principales resultados obtenidos son:

- **Desafío:** Los educandos actúan de manera coordinada para resolver la situación problemática.
- **Articulación:** Los alumnos logran integrar sus conocimientos, muchos alumnos de cursos superiores son consultados, de como organizarse, aplicando metodologías de autodictado de clases.
- **Responsabilidad:** Se pone de manifiesto las diferentes maneras de colaborar, de involucrarse con el proyecto, están los que son muy líderes del grupo, los que generan inquietudes y los sumisos,
- **Trabajo en equipo:** Hace que se conozcan sus actitudes, como son a la hora de formar un equipo de larga duración. Casi todos se involucran en el proyecto, y los que no, se debe a que no les interesa la materia o abandonan el grupo por razones debido al desinterés, y por no afectar a los demás integrantes.
- **Devolución:** Durante la evaluación, como los evaluadores no tienen ningún compromiso con la institución, les manifiestan a los alumnos la situación sobre el desarrollo de los diferentes contenidos, el manejo de los tiempos de la oratoria, la presentación el trabajo, la profundización de sus conocimientos, el vocabulario técnico aplicado, el comportamiento durante la exposición

y la atención prestada hacia sus compañeros, y además con el docente responsable se llega a diferentes notas por cada ítem involucrado.

## 5 CONCLUSIONES

Resolver un problema, deja como enseñanza comparativa como encarar situaciones semejantes, y les da seguridad que han aprendido la materia, les queda en la memoria esta vivencia. El ver una problemática puntual desde la globalidad del sistema productivo, como se corrige y los demás factores se acomodan para lograr la estabilidad del mismo.

Es muy interesante la participación desinteresada de otros actores del sector (con más interés los integrantes de instituciones como el INTA, asesores privados, productores), y además indican hacia adonde se inclina la realidad, porque allí es dónde está el secreto de este método.

Debido a la aplicación de esta metodología, el problema que se presenta es con otras materias, los alumnos toman con mucha responsabilidad a este desafío, es donde se sienten más interesados por lo que representa y confrontar sus conocimientos con otras personas ajenas a la institución, esto a ellos los motiva, pero se debe tener en cuenta el tiempo para con las demás asignaturas, por lo que es muy importante la confección de un cronograma de actividades para que no los desorganice. Otras manifestaciones que presentan es la exigencia hacia el docente, que no todo está facilitado, que debido a la falta de ejercicio de organización de las tareas y descubrir la existencia de conocimientos complementarios o la falta de los mismos, descubren que el docente no es la fuente del conocimiento sino el guía.

## BIBLIOGRAFÍA

Albergucci, R. *La Educación Polimodal*, 1997.

Azofeifa Rodríguez, R. *Actividades de aprendizaje para la fase de Práctica. Manual del extensionista.* Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica. 2010.

Brunori, J.; Rodríguez Fazzone M.; Figueroa M. *Planificación y gestión productivo-comercial de la actividad porcícola familiar-Buenas Prácticas Pecuarias para la comercialización porcina familiar.* INTA-FAO. 2012.

Proyecto Educativo Institucional. IPEA 244 "Víctor S. Iraola"- ME – Bulnes- Córdoba-2011.

Segundo Ciclo de la Modalidad Técnico Profesional. *Propuesta Curricular del Ciclo Básico de la Educación Secundaria.- DGET Y FP – ME Córdoba 2011-2015.*

Trayecto Técnico Profesional en Producción Agropecuaria. INET. ME. 2002.

# CAPÍTULO 9

## COMPOSTAJE-VERMICOMPOSTAJE, APROVECHAMIENTO SECUENCIAL DE RESIDUOS VINÍCOLAS: PRIMEROS RESULTADOS<sup>1</sup>

Data de submissão: 26/09/2023

Data de aceite: 16/10/2023

### **Manuela Andrés Abellán**

Escuela Técnica Superior de  
Ingeniería Agronómica, de Montes y  
Biotecnología (ETSIAMB, UCLM)  
Departamento de Ciencia y Tecnología  
Agroforestal y Genética  
Instituto de Investigación en  
Energías Renovables (IER, UCLM)  
Doctora Ingeniero Agrónomo  
Albacete-España  
<https://orcid.org/0000-0002-7960-3028>

### **Marta Isabel Picazo Córdoba**

Escuela Técnica Superior de  
Ingeniería Agronómica, de Montes y  
Biotecnología (ETSIAMB, UCLM)  
Departamento de Ciencia y Tecnología  
Agroforestal y Genética  
Instituto de Investigación en  
Energías Renovables (IER, UCLM)  
Grado en Ingeniería Agrícola y  
Medio Rural  
Albacete-España  
<https://orcid.org/0000-0001-9189-0683>

### **Consolación Wic Baena**

Instituto de Investigación en  
Energías Renovables (IER, UCLM)  
Doctora en Ciencia e  
Ingeniería Agrarias (UCLM)  
Albacete-España

### **Manuela Rubio García**

Escuela Técnica Superior de  
Ingeniería Agronómica, de Montes y  
Biotecnología (ETSIAMB, UCLM)  
Departamento de Producción  
Vegetal y Tecnología Agraria  
Doctora Ingeniero Agrónomo  
Albacete-España  
<http://orcid.org/0000-0002-1191-8437>

### **Rocío Ballesteros González**

Escuela Técnica Superior de  
Ingeniería Agronómica, de Montes y  
Biotecnología (ETSIAMB, UCLM)  
Departamento de Producción  
Vegetal y Tecnología Agraria  
Doctora en Ciencia e  
Ingeniería Agrarias (UCLM)  
<https://orcid.org/0000-0001-6496-4421>

<sup>1</sup> Este trabajo se ha realizado con apoyo financiero y técnico de la empresa Bodegas Hijos de Juan Gil (Jumilla, Murcia), mediante la firma de un Contrato para Apoyo Tecnológico y de Servicios (Art.83 de la L. O. 6/2011 de Universidades), con la Sección de Medio Ambiente del Instituto de Investigación en Energías Renovables (IER-UCLM) (Ref. UCTR190211). Ha contado también con el apoyo institucional de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, de Montes y Biotecnología, de la Universidad de Castilla-La Mancha que ha permitido a su vez la colaboración técnica de investigadores y de los estudiantes del Grado en Ingeniería Agrícola y Agroalimentaria Soledad Ramírez Guijarro y Juan Manuel Flores López-Pintor para la realización de sus respectivos Trabajos Fin de Grado, tutorados por las profesoras Manuela Rubio, Rocío Ballesteros y Manuela Andrés. Este trabajo se ha presentado a las XII Jornadas ceiA3 del Grupo de Sustratos de Sociedad Española de Ciencias Hortícolas (SECH) y ha sido publicado en su libro de actas (Actas de Horticultura nº85).

### Francisco Ramón López Serrano

Escuela Técnica Superior de  
Ingeniería Agronómica, de Montes y  
Biotecnología (ETSIAMB, UCLM)  
Departamento de Ciencia y Tecnología  
Agroforestal y Genética  
Instituto de Investigación en  
Energías Renovables (IER, UCLM)  
Doctor Ingeniero de Montes  
<https://orcid.org/0000-0002-3351-9023>

### Francisco Antonio García Morote

Escuela Técnica Superior de  
Ingeniería Agronómica, de Montes y  
Biotecnología (ETSIAMB, UCLM)  
Departamento de Ciencia y Tecnología  
Agroforestal y Genética  
Instituto de Investigación en  
Energías Renovables (IER, UCLM)  
Doctor en Ciencia e Ingeniería Agrarias  
<https://orcid.org/0000-0003-2884-0338>

### Eva María Rubio Caballero

Escuela de Ingenieros Industriales  
(EIIAB, UCLM)  
Departamento de Física Aplicada  
Instituto de Investigación en  
Energías Renovables (IER, UCLM)  
Doctora en Física Aplicada  
<https://orcid.org/0000-0003-4148-9845>

### Soledad Ramírez Guijarro

Escuela Técnica Superior de  
Ingeniería Agronómica, de Montes y  
Biotecnología (ETSIAMB, UCLM)  
Grado en Ingeniería  
Agrícola y Agroalimentaria

### José Manuel Flores López-Pintor

Escuela Técnica Superior de  
Ingeniería Agronómica, de Montes y  
Biotecnología (ETSIAMB, UCLM)  
Grado en Ingeniería  
Agrícola y Agroalimentaria

### Carlos García Izquierdo

Centro de Edafología y Biología Aplicada  
del Segura (CEBAS-CSIC)  
Departamento de Conservación de  
Suelos y Agua y Manejo de  
Residuos Orgánicos  
Doctor en Ciencias Químicas  
<https://orcid.org/0000-0002-8407-4845>

**RESUMEN:** La valorización de los residuos de industrias agroalimentarias es actualmente una línea prioritaria en economía circular. En este trabajo se presentan los primeros resultados del tratamiento combinado secuencial compostaje-vermicompostaje que se está aplicando para valorizar parte de los residuos generados en el proceso de elaboración de vino. Se analiza la composición de las materias primas de partida, y la evolución de parámetros fisicoquímicos en muestras de compost y vermicompost, recogidas secuencialmente, en tres periodos durante el proceso de compostaje y en tres periodos del proceso de vermicompostaje. Los residuos vinícolas se han mezclado en la proporción 2:1:1 (2 partes de raspajo, 1 de lodo y 1 de estiércol, en volumen). Los primeros resultados obtenidos tras el proceso conjunto y secuencial compostaje-vermicompostaje, muestran una valorización positiva de las materias de partida y una evolución favorable de los parámetros analizados. Tras 120 días en vermicompostaje, la relación carbono-nitrógeno (C/N) disminuye, pasando de 24,8 (90 días en compostaje) a 14,3. Al final del proceso también aumentan los valores de nitrógeno (N >1%). No obstante, dada la naturaleza antioxidante de algunas materias de partida, los tiempos de tratamiento son susceptibles de ajuste para regular mejor los valores de pH, CE y humedad (H), y alcanzar los estándares de madurez.

**PALABRAS CLAVE:** Compost. Vermicompost. Subproductos agroindustriales. Raspajo.

## COMPOSTING-VERMICOMPOSTING, SEQUENTIAL USE OF WINE WASTE: FIRST RESULTS

**ABSTRACT:** Waste recovery from agri-food industries is currently a priority line in the circular economy. This work presents

the first results of the combined sequential composting-vermicomposting treatment that is being applied to valorize part of the waste generated in the wine making process. The composition of the starting raw materials, and the evolution of physicochemical parameters in compost and vermicompost samples, collected sequentially, in three periods during the composting process and in three periods of the vermicomposting process, are analyzed. The wine waste has been mixed in a 2:1:1 ratio (2 parts of grape bunch stem, 1 of sludge and 1 of manure, by volume). The first results obtained after the joint and sequential composting-vermicomposting process show a positive valorization of the starting materials and a favorable evolution of the analyzed parameters. After 120 days in vermicomposting, the carbon-nitrogen (C/N) ratio decreases, going from 24,8 (90 days in composting) to 14,3. At the end of the process, nitrogen values also increase (N >1%). However, given the antioxidant nature of some starting materials, treatment times can be adjusted to better regulate pH, EC and moisture (M) values, and reach maturity standards.

**KEYWORDS:** Compost. Vermicompost. Agroindustrial byproducts. Grape bunch stem.

## 1 INTRODUCCIÓN

Entre las estrategias de Europa 2020, la valorización de los residuos en las industrias agroalimentarias ha adquirido mucha relevancia dentro de la gestión ambiental sostenible y de la economía circular. Empresas innovadoras y comprometidas con el medio ambiente, están implementado estos sistemas de gestión. Tal es el caso de la Bodega Hijos de Juan Gil (Murcia, España), que está apostando por el compostaje-vermicompostaje de sus residuos, para aplicarlos como abono orgánico a sus propios viñedos. En 2017, la empresa inició la construcción de una planta para la elaboración de humus con los residuos generados durante la elaboración de vino, aneja a las instalaciones de la bodega, donde se está llevando a cabo este estudio.

El sector vitivinícola es productor de residuos y subproductos orgánicos que pueden ser una fuente de recursos de alto valor añadido. Los lodos de depuradoras de aguas residuales, el raspajo, el orujo, los sarmientos, etc., que tradicionalmente han sido gestionados por diferentes vías, pueden ser tratados conjuntamente para producir un abono de gran calidad agronómica (Parelado et al., 2009).

La Bodega Hijos de Juan Gil (Jumilla, Murcia, España), genera anualmente alrededor de 500 mil kg de raspajo. La necesidad de gestionar este residuo, junto a la apuesta de la empresa por la protección del medio ambiente y la economía circular, le ha llevado a utilizarlo como una de las materias primas para la fabricación de su propio humus. Para ello se aplicará un sistema conjunto secuencial de compostaje seguido de vermicompostaje.

Ambos procesos se han estudiado, como biotransformaciones oxidativas de la materia orgánica, mediante las cuales se descomponen, estabilizan y valorizan los



residuos orgánicos, si bien de distinta manera y obteniéndose productos finales con características diferentes (Lazcano et al., 2008). En el compostaje, se produce la mineralización de la fracción orgánica más fácilmente atacada por los microorganismos quimioheterótrofos, en fases mesófilas y termófilas (Mendoza et al., 2011), y la humificación o formación de complejos coloidales relativamente estables y resistentes a la acción microbiana, más difíciles de ser atacados, obteniéndose como resultado final un compuesto parcialmente mineralizado (Negro et al., 2000). En el vermicompostaje, se lleva a cabo una biooxidación de la materia orgánica conjunta entre microorganismos y lombrices, en fase mesófila. Las lombrices a través de su tubo digestivo producen un fertilizante orgánico de excelente calidad, (Moreno & Moral, 2011). No obstante, se ha visto que la aplicación secuencial de ambos procesos (compostaje-vermicompostaje) permite obtener un producto aún más higienizado y fértil, de mayor calidad (Mendoza et al., 2011; López & Cabrera, 2017).

Las lombrices se consideran un recurso potencial de gran interés en agricultura sostenible, pues participan activamente en la regulación de las propiedades físicas del suelo, en la dinámica de la materia orgánica del entorno y en el crecimiento de las plantas, debido a su capacidad de descomponer la materia orgánica y de reciclar nutrientes (Räty & Huhta, 2004). Una de las especies más utilizadas en vermicompostaje es *Eisenia foetida*, conocida como “lombriz roja de California”, debido a su alto grado de adaptación a diferentes medios, así como a su alta tasa de reproducción.

Si bien el compostaje de residuos vinícolas ha sido suficientemente estudiado, algunos de los problemas que presentan (acidez, fitotoxicidad, presencia de polifenoles, etc.), dificultan su utilización (Bustamante et al., 2008). El objetivo de este trabajo es analizar la evolución de algunas propiedades físico-químicas más relevantes en un proceso combinado de compostaje-vermicompostaje de residuos vinícolas, con el fin de ajustar los tiempos de tratamiento mínimos necesarios para satisfacer las necesidades de la empresa de gestionar sus residuos, a la vez que se obtiene un humus de calidad a gran escala.

## 2 MATERIAL Y METODOS

El proceso se realiza en la planta de humus situada en las inmediaciones de la bodega, con una superficie aproximada de 3500m<sup>2</sup>, y se desarrolla en dos fases: i) compostaje (3 meses), mediante sistema abierto con pilas estáticas con volteo periódico. Como materias primas para el compostaje se utilizan: raspajo (residuo obtenido en la operación de despalillado), lodo de depuradora (de las aguas residuales de la planta) y

estiércol ovino (comprado de proveedores de la localidad), en la proporción 2:1:1 (50% raspajo, 25% estiércol y 25% lodo de depuradora, en volumen) (Bertran et al., 2004). ii) vermicompostaje (4 meses), disponiendo el compost obtenido en la fase anterior sobre bancadas de cemento (pilas de 25 m de longitud y 1,5m de altura), donde se añaden las lombrices en la parte superior de la pila (*Eisenia foetida*, 1500 lombrices/m<sup>2</sup>), acompañadas de riego con agua por aspersión. El humus final será almacenado para posteriormente aplicarlo en profundidad como abono en parcelas de viñedo.

Se han caracterizado las materias primas iniciales raspajo, lodo y estiércol y se han analizado muestras de compost y vermicompost recogidas en diferentes periodos. Las muestras de compost se han tomado a los 20 días (fase termófila), a los 60 días (final de la fase termófila) y a los 90 días (fase de maduración). En este periodo se añaden las lombrices, y se vuelve a muestrear a los 120 días (30 días en vermicompostaje), a los 180 días (90 días en vermicompostaje) y a los 210 días (120 días en vermicompostaje). Cada muestra de compost y vermicompost se compone de tres submuestras recogidas a lo largo de todo el perfil de las pilas, tanto de la parte interior como de la exterior.

Los parámetros medidos han sido: humedad gravimétrica (H, %, UNE-EN 13040:2008, mediante secado a 105°C hasta peso constante); pH (UNE-EN 13037:2012); conductividad eléctrica (CE, mS/cm, UNE-EN 13038:2012); materia orgánica (MO, %, UNE-EN 13039:2012, por calcinación a 550°C); nitrógeno Kjeldahl (N, %, UNE-EN 13654-1:2002); fósforo asimilable (P, %, método Olsen); carbono orgánico (C, %, determinado a partir de la materia orgánica); relación carbono nitrógeno (C/N); elementos mayoritarios y minoritarios (espectrofotómetro de absorción atómica, ICP).

Mediante análisis de varianza (ANOVA simple), se han relacionado los parámetros físico-químicos estudiados en muestras de compost y vermicompost, con el factor periodo temporal: a 20 días, a 60 días, a 90 días, en compostaje; y a 120 días, a 180 días, a 210 días, en vermicompostaje. Se ha aplicado el método de las menores diferencias significativas de Fisher (LSD) (intervalo de confianza del 95%), y con  $P < 0,05$ , en los casos en los que se ha obtenido un valor de F significativo.

### 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El raspajo utilizado como elemento estructurante, presenta bajo contenido de humedad (<30%). Se deja secar hasta un 20,27% de humedad gravimétrica, de base en peso, ya que es recomendable incorporarlo seco a la pila de compostaje para asegurar la volatilización de polifenoles inhibidores de la fermentación y garantizar mejor el proceso. También presenta adecuada cantidad de MO, K y buena relación C/N (Tablas

1 y 2). Por el contrario, el lodo aporta humedad a la mezcla (>95% en peso) y N (2%), aunque su pH es ligeramente básico, y presenta elevada CE, lo que puede dificultar más el manejo. El estiércol, presenta una relación C/N entre 20-30/1, y aporta también P y K a la mezcla.

Tabla 1. Caracterización fisicoquímica de las materias primas a compostar.

Muestra	H (%)	pH	CE (mS/cm)	MO (%)	N (%)	C (%)	C/N
raspajo	20,27	-	-	75,54	0,82	43,82	53,33
lodo	97,76	8,31	18,25	44,57	2,10	25,86	12,29
estiércol	42,06	8,77	15,70	43,28	0,85	25,11	29,63

H, humedad; pH; CE, conductividad eléctrica; MO, materia orgánica; N, nitrógeno total (Kjeldahl); C, carbono orgánico; C/N, relación carbono nitrógeno.

Tabla 2. Análisis de elementos mayoritarios (ppm en base seca  $\times 10^{-4}$ ) en ICP.

Materias Primas	Al	Ca	Fe	Mg	P	K	Ti	Mn	Ba	Na	Si
Raspajo	0,24	6,32	0,14	0,92	0,19	27,77	0,03	0,01	0,00	0,05	10,63
Lodo	0,17	1,60	0,14	0,99	0,58	11,39	0,02	0,01	0,01	10,53	0,00
Estiércol	1,14	9,87	0,53	1,37	0,51	3,49	0,07	0,02	0,01	0,44	13,17

Al, aluminio; Ca, calcio; Fe, hierro; Mg, magnesio; P, fósforo; K, potasio; Ti, titanio; Mn, manganeso; Ba, bario; Na, sodio; Si, silicio.

Por tanto, las materias primas son valorizadas positivamente por su adecuado contenido en N, C, P y K, macronutrientes esenciales para la elaboración de un subproducto mejorador de suelos (Tablas 1 y 2), si bien otros microelementos o metales pesados que podrían ser tóxicos, como el Cd, se encuentran en concentraciones de rango inferior al permitido (Tabla 3).

Tabla 3. Análisis de elementos minoritarios (ppm en base seca) en ICP.

Materias Primas	As	Cd	Cu	Cr	Ni	Pb	Sb	Mo	Se	V	Co	Tl	Be	Sn	Zn
Raspajo	0,00	0,39	12,82	25,01	0,00	4,49	0,00	0,00	0,00	56,89	5,65	0,00	0,06	45,68	59,26
Lodo	7,49	0,38	7,31	3,15	0,00	42,84	16,10	0,00	0,00	0,00	0,00	34,23	0,00	0,00	14,85
Estiércol	17,93	0,00	12,40	41,83	0,00	26,46	20,17	0,28	0,00	103,65	3,99	0,00	0,74	2,14	32,83

As, arsénico; Cd, cadmio; Cu, cobre; Cr, cromo; Ni, níquel; Pb, plomo; Sb, antimonio; Mo, molibdeno; Se, selenio; V, vanadio; Co, cobalto; Tl, talio; Be, berilio; Sn, estaño; Zn, cinc.

Todos los parámetros estudiados evolucionan a lo largo del proceso compostaje-vermicompostaje de forma significativa, si bien esta evolución es más clara en el caso de la MO, la relación C/N y el N (Tabla 4).

Tabla 4. Valores medios de parámetros fisicoquímicos en muestras de residuos (2:1:1; 50% raspajo, 25% lodo, 25% estiércol ovino) sometidas a proceso secuencial compostaje-vermicompostaje, y efecto significativo del periodo (20 días, 60 días, 90 días, 120 días, 180 días, 210 días).

Proceso	Compostaje			Vermicompostaje			P
	20 días	60 días	90 días	120 días	180 días	210 días	
<b>H (%)</b>	54,19 <sub>a</sub>	51,30 <sub>a</sub>	60,61 <sub>b</sub>	52,72 <sub>a</sub>	51,98 <sub>a</sub>	53,80 <sub>a</sub>	**
<b>pH</b>	8,97 <sub>b</sub>	9,29 <sub>c</sub>	8,63 <sub>a</sub>	8,79 <sub>ba</sub>	8,66 <sub>ab</sub>	8,73 <sub>a</sub>	**
<b>CE (mS/cm)</b>	3,40 <sub>b</sub>	4,53 <sub>c</sub>	0,61 <sub>a</sub>	1,29 <sub>a</sub>	1,49 <sub>b</sub>	3,22 <sub>a</sub>	***
<b>MO (%)</b>	61,83 <sub>d</sub>	50,21 <sub>c</sub>	52,11 <sub>c</sub>	50,12 <sub>c</sub>	41,60 <sub>a</sub>	29,59 <sub>b</sub>	***
<b>N (%)</b>	0,93 <sub>d</sub>	1,01 <sub>dc</sub>	1,22 <sub>a</sub>	1,18 <sub>ab</sub>	1,10 <sub>a</sub>	1,20 <sub>bc</sub>	***
<b>P (%)</b>	0,03 <sub>b</sub>	0,04 <sub>a</sub>	0,03 <sub>b</sub>	0,03 <sub>b</sub>	0,03 <sub>b</sub>	0,04 <sub>a</sub>	***
<b>C (%)</b>	35,87 <sub>d</sub>	29,13 <sub>c</sub>	30,23 <sub>c</sub>	29,07 <sub>c</sub>	24,13 <sub>a</sub>	17,1 <sub>b</sub>	***
<b>C/N</b>	38,62 <sub>d</sub>	28,87 <sub>c</sub>	24,80 <sub>b</sub>	24,64 <sub>b</sub>	22,08 <sub>a</sub>	14,28 <sub>b</sub>	***

Parámetros: H, humedad; pH; CE, conductividad eléctrica; MO, materia orgánica; N, nitrógeno total (Kjeldahl); P, fósforo asimilable; C, carbono orgánico; C/N, relación carbono nitrógeno. P: nivel de significación. ns, \*\* y \*\*\*, indican diferencias no significativas, diferencias significativas a  $P \leq 0,01$  y a  $P \leq 0,001$ , respectivamente. Valores dentro de la misma fila sin letra común difieren estadísticamente a  $P \leq 0,05$  (Diferencia mínima significativa LSD de Fisher).

A partir del periodo 120 días (tras 30 días en vermicompostaje) disminuye considerablemente la MO, como también la relación C/N, llegando a alcanzar un valor de 14,28 al final (a los 120 días en vermicompostaje), periodo en el cual también se alcanzan valores de N (>1%). No obstante, y a pesar de la tendencia estabilizadora de los parámetros, hay que destacar que en las primeras etapas del proceso se parte de un compost poco maduro, con alto contenido en MO (>60%), elevado pH (>8,5) y alta relación C/N (>38), así como también contenido de humedad elevado (>50%).

El producto obtenido al final del proceso secuencial compostaje-vermicompostaje, presenta una mejoría en las propiedades fisicoquímicas estudiadas. No obstante, estos valores son susceptibles de mejora, sobre todo la H, el pH y la CE. Aunque los valores registrados de estos parámetros podrían indicar falta de madurez, hay que tener en cuenta la naturaleza de las materias primas. El contenido en polifenoles del raspajo puede dificultar la actividad descomponedora de los microorganismos en la fase termófila, ralentizando el proceso, y alterando algunos parámetros (Bustamante et al., 2008). Por ello, sería necesario prolongar un poco más los periodos de tratamiento para que el producto obtenido cumpla estrictamente con los requisitos mínimos de estiércol orgánico según el Real Decreto 506/2013 de 28 de junio de fertilizantes y sus últimas actualizaciones (6/12/2017), y completar la analítica con la determinación de patógenos, del poder germinativo y de metales pesados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bertran, E., Sort, X., Soliva, M., & Trillas, I. (2004). Composting winery waste: sludges and grape stalks. *Bioresource Technology*, 95 (2), 203-208. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.07.012>

Bustamante, M.A., Moral, R., Paredes, C., Pérez-Espinosa, A., Moreno-Caselles, J., & Pérez-Murcia, M.D. (2008). Agrochemical characterisation of the soil by-products and residues from the winery and distillery industry. *Waste Management*, 28(2), 372-380. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2007.01.013>

Lazcano, C., Gómez Brandón, M., & Domínguez, J., (2008). Comparison of the effectiveness of composting and vermicomposting for the biological stabilization of cattle manure. *Chemosphere*, 72,1013-1019. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.04.016>

López, R., & Cabrera, F. (2017). *Reciclando los residuos para mejorar los suelos y el medioambiente*. V Jornadas de la Red Española de Compostaje. Edita Red Española de Compostaje. <http://hdl.handle.net/10261/152432>

Mendoza-Hernández, D., García-de la-Fuente, R., Belda, R.M., Fornes, F. y Abad, M. (2011). Compostaje y vermicompostaje de residuos hortícolas: evolución de parámetros físicos y químicos durante el proceso y consecuencias ambientales. *Actas de Horticultura*, 59, 22-27.

Moreno, J., y Moral, R. (2011). *Compostaje*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. <https://www.paraninfo.es/catalogo/9788484763468/compostaje>

Negro, M.J., Villa, F., Aibar, J., Alarcón, R., Ciria, P., Cristóbal, M.V., De Benito, A., García Martín, A., García Muriedas, G., Labrador, C., Lacasta, C., Lezaún, J.A., Meco, R., Pardo, G., Solano, M.L., Torner, C., Zaragoza, C. (2000). *Producción y Gestión del compost*. CIEMAT. Madrid. <https://digital.csic.es/bitstream/10261/16792/1/2000%20Compost%20CIEMAT.pdf>

Paraledo, R., Moldes, A.B., González, D., y Barral, M.T. 2009. Evaluación de compost y vermicompost de orujo agotado de uva como componentes de sustratos. *Actas de Horticultura*, 54, 675-680. <http://www.sech.info/ACTAS/>

Räty, M. & Huhta, V. (2004). Earthworm communities in birch stands with different origin in Central Finland. *Pedobiología*, 48, 283- 291. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pedobi.2004.02.002>

# CAPÍTULO 10

## BIOPROCESOS PARA EL TRATAMIENTO DE FECAS CANINAS

Data de submissão: 30/09/2023

Data de aceite: 20/10/2023

### Ian Homer Bannister

Departamento Ingeniería y Suelos  
Facultad de Ciencias Agronómicas  
Universidad de Chile  
Santa Rosa 11315, La Pintana  
Santiago Chile  
<https://orcid.org/0000-0002-3918-5765>

### Maria Teresa Varnero

Departamento Ingeniería y Suelos  
Facultad de Ciencias Agronómicas  
Universidad de Chile  
Santa Rosa 11315, La Pintana  
Santiago Chile  
<https://orcid.org/0009-0006-4937-2974>

### Fabian Abarza Villalobos

Departamento Ingeniería y Suelos  
Facultad de Ciencias Agronómicas  
Universidad de Chile  
Santa Rosa 11315, La Pintana  
Santiago Chile  
<https://orcid.org/0009-0004-0775-171X>

**RESUMEN:** Las fecas caninas pueden generar problemas en lugares como criaderos y hospitales veterinarios debido a su abundancia y falta de utilidad inmediata, causando malos olores, infecciones y atraer

vectores de enfermedades. Pero es posible degradarlos ya sea como compostaje, o bien mediante la digestión anaeróbica, la cual ofrece además la posibilidad de obtener energía, generando un material parcialmente estabilizado y semi sanitizado, que se puede utilizar como acondicionador de suelo. Así, las heces de criaderos, veterinarios o centros de salvataje, podrían satisfacer las necesidades energéticas, tratar sus residuos orgánicos y proporcionar un material útil. Sin embargo, no hay mucha información disponible sobre cuál es este potencial o si existe una mezcla óptima entre guano bovino y fecas caninas. En este estudio, se evaluaron dos tecnologías ambientales para el tratamiento de las fecas caninas: el compostaje y la fermentación metanogénica. En la fermentación metanogénica, se realizó primero una mezcla 1:1 de fecas caninas y guano bovino, y posteriormente se llevó a cabo un nuevo ensayo con otras proporciones (100%, 75%, 25% y 0% de fecas caninas) utilizando biodigestores tipo Batch sumergidos en una piscina con agua a 30 °C durante 97 días, con un 10% de sólidos totales. Se estimó la producción total de biogás registrando el volumen acumulado y utilizando un modelo cinético. No existieron diferencias estadísticas significativas en la producción de biogás según las proporciones de fecas caninas en la mezcla (0,2m<sup>3</sup>biogas/kg fecas). Sin embargo, se observa una leve tendencia que indica que las fecas caninas tienen un mayor potencial

de biogás que el guano bovino. Además, sugiere que los días necesarios para producir biogás combustible sugiere que las fecas caninas tardan aproximadamente 10 días más que el guano bovino en producir biogás.

**PALABRAS CLAVE:** Excretas de perro. Digestión anaeróbica. Residuos. Energía.

## BIOPROCESSES FOR THE TREATMENT OF CANINE FECES

**ABSTRACT:** Canine feces can cause problems in places like breeding facilities and veterinary hospitals due to their abundance and lack of immediate usefulness, causing bad odors, infections, and attracting disease vectors. However, it is possible to degrade them either through composting or anaerobic digestion, which also offers the possibility of obtaining energy by generating a partially stabilized and semi-sanitized material that can be used as a soil conditioner. Thus, the feces from breeding facilities, veterinary clinics, or rescue centers could meet their energy needs, treat their organic waste, and provide a useful material. However, there is not much information available on the potential of this or whether there is an optimal mixture between bovine manure and canine feces. In this study, two environmental technologies for the treatment of canine feces were evaluated: composting and methanogenic fermentation. In the methanogenic fermentation, a 1:1 mixture of canine feces and bovine manure was first made, and then a new trial was conducted with other proportions (100%, 75%, 25%, and 0% of canine feces) using batch digesters submerged in a pool with water at 30 °C for 97 days, with 10% total solids. The total biogas production was estimated by recording the accumulated volume and using a kinetic model. There were no statistically significant differences in biogas production based on the proportions of canine feces in the mixture (0.2m<sup>3</sup>biogas/kg feces). However, there is a slight trend indicating that canine feces have a greater biogas potential than bovine manure. Additionally, it suggests that the days required to produce combustible biogas indicate that canine feces take approximately 10 days longer than bovine manure to produce biogas.

**KEYWORDS:** Dog dung. Anaerobic digestion. Waste. Energy.

## 1 INTRODUCCIÓN

Las fecas de perro son un constante problema para los centros urbanos y lugares de concentración de estos animales (perreras, hospitales veterinarios y criaderos). Por ejemplo, en Santiago de Chile, se estima que la población canina de las calles es de aproximadamente 66.000 animales (Rivera, 2009), lo cual genera frecuentes problemas a la comunidad, como los ataques a personas y la transmisión de enfermedades. Esto podría repetirse en muchas otras ciudades.

Por dicha razón, la búsqueda de soluciones que permitan reducirlos impactos generados permitiría mitigar el problema, y una de esas alternativas sería la degradación aeróbica del compostaje, como también la degradación anaeróbica en el proceso de producción de biogás.

El biogás es un conjunto de gases generados por la descomposición de la materia orgánica. Este gas se produce en un medio anaeróbico (sin presencia de oxígeno), por la acción de un conjunto de microorganismos que degradan la materia orgánica y que, finalmente, es metabolizada por un grupo de bacterias que generan metano (CH<sub>4</sub>), las llamadas bacterias metanogénicas (Kossmann et al., 1999). La composición del biogás dependerá en gran medida de las características químicas y físicas de las materias primas que sean degradadas por los microorganismos. Para la evaluación teórica de la producción de biogás que puede generar un residuo se puede usar extrapolaciones sobre la producción de pequeños dispositivos, o también se puede usar una estimación en base a la composición química de los residuos usados (Espinosa, 2006).

Por dicha razón, el aprovechamiento de las fecas de perro para la producción de biogás podría contribuir a la reducción de costos energéticos en los lugares de albergue de perros y, en algunos casos, contribuir a una tenencia responsable, debido a que generarían beneficios a la población.

Son pocas las publicaciones científicas en las cuales se usa este tipo de residuos como materia prima para la producción de biogás. En Argentina, Corace *et al.* (2006) ha incursionado en este sentido, mezclando residuos madereros, de cocina, de huerta y fecas de perro. Sus resultados arrojan que se pueden obtener resultados satisfactorios mejorando las condiciones del sustrato.

Por su parte, en Nigeria (Okoroigwe *et al.*, 2010) utilizó fecas de perro en tres ensayos, donde evalúa la producción de biogás de las fecas solas, mezcla con pasto y mezcla con guano vacuno. Sus resultados arrojaron que la mezcla de fecas de perro y pasto genera más gas que el pasto sólo. Además, después de 50 días de retención en el biorreactor el sustrato de fecas de perro generó 178L de gas y continuó liberando gas por 9 días más. Otro aspecto importante de este estudio es la descripción de los microorganismos presentes en cada sustrato, durante las etapas de degradación anaeróbica.

Vivallos et al (2022), utilizando solamente fecas caninas en un biodigestor semi continuo, obtuvo bajos valores de producción de biogás, donde determinaba valores teóricos de 0,58 m<sup>3</sup>/Kg SV (sólidos volátiles), llegando en momentos a no obtener nada al bajar las temperaturas.

Sin embargo, en varios países, no existe una estimación empírica ni teórica del potencial de producción de biogás a partir de estos residuos, por lo cual, el presente estudio tiene como finalidad hacer una estimación teórica de la producción de biogás utilizando como sustrato las fecas de perros.



## 2 MATERIALES Y MÉTODO

Para ver alternativas al uso de las fecas caninas se realizaron dos ensayos, uno de ellos de compostaje (degradación aeróbica) y otro de producción de biogás (anaeróbico).

### 2.1 ENSAYO A DEGRADACIÓN AERÓBICA:

Se establecieron pilas de compostaje de  $0,35\text{m}^3$  (figura 1), con volteos periódicos, en base a fecas caninas y rastrojo de trigo, en relación de 3:1. Se registró diariamente la temperatura, para establecer las diferentes etapas del proceso aeróbico. Al producto final obtenido se determinó pH, CE, MO, N total, relación C/N, desprendimiento de  $\text{CO}_2$  y fitotoxicidad (descrito los procedimientos en 2.2).

Figura 1. Pila de compostaje ensayo A.



### 2.2 ENSAYO B DEGRADACIÓN ANAERÓBICA

#### 2.2.1 Tratamientos:

En 3 digestores tipo Batch de 50 litros c/u (figura 2), se cargaron con 8,3% de sólidos totales en base a fecas caninas y guano bovino en relación 1:1 para la digestión anaeróbica a temperatura constante de  $30^{\circ}\text{C}$ . Se monitoreó c/24 hr. La presión y volumen del gas generado. A contar del 55avo día, se analizó semanalmente la composición del biogás.

Figura 2. Tambores de ensayos Batch junto con sus gasometros.



Considerando los resultados de este ensayo, posteriormente se repitió el ensayo, pero con otros porcentajes de fecas caninas (HC) y guano bovino (0%, 25%, 75% y 100% de HC).

### 2.2.2 Composición Química de las Fecas de Perro

Se realizó por parte del Departamento de Fomento de la Producción Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, el análisis de fecas recolectadas en un estudio de digestibilidad sobre distintos alimentos caninos. Es importante considerar que estos animales son alimentados, aproximadamente, tres veces al día.

Con las características de las fecas de perro y la estimación de producción de biogás se evaluó la capacidad de este sustrato para generar metano y las impurezas que podría presentar.

Debido a que la proteína cruda contempla todo el nitrógeno presente en el sustrato (Obtenido por método Kjendahl), puede ser traducida a proteínas, aminoácidos, aminas, amidas, urea, glucósidos, vitaminas hidrosolubles, entre otros. Sin embargo, el análisis contemplará la fórmula química básica de las proteínas ( $C_{13}H_{25}O_7N_3S$ ). La fibra cruda puede ser traducida a compuestos lignocelulócicos como, celulosa, lignina, pentosanos, y cutina (Steubing *et al.*, 2001), los cuales son muy poco degradables por los microorganismos del proceso del proceso de formación de biogás. Por lo tanto, en este estudio no se considerará como sustrato para la producción de biogás. El extracto etéreo contempla una variedad de compuestos como, grasas, aceites, ceras, ácidos orgánicos, pigmentos, esteroides, vitaminas liposolubles, entre otros. Para la estimación de este estudio se asumirá una composición básica de las grasas ( $C_{12}H_{24}O_6$ ).

La interpretación del extracto no nitrogenado puede ser glúcidos digestibles como, monosacáridos, disacáridos, pectinas, almidón, resinas, ácidos orgánicos, pigmentos, vitaminas hidrosolubles, entre otros. Pero el extracto no nitrogenado también puede incluir taninos, celulosa, hemicelulosa, lignina, entre otros. Por esta razón, se considerará esta fracción como la fórmula básica de los sacáridos ( $C_6H_{12}O_6$ ).

### 2.2.3 Evaluación de Producción de Biogás y calidad del gas generado

Se determinará por medio de los gasómetros, donde el volumen de agua desplazada en el gasómetro corresponderá al volumen de gas generado en el biodigestor. Se analizó el volumen de biogás registrado durante los 97 días de puesta en marcha de las unidades experimentales, relacionándose con: Volumen registrado, volumen potencial, composición, período en que se inicia la actividad metanogénica y rendimiento por kg de biomasa orgánica.

El Tiempo de inicio de la fermentación metanogénica se determinó a partir de los días requeridos para el inicio de la fase metanogénica, donde se considerará la generación de gas combustible, metano ( $CH_4$ ), que en mezcla con el anhídrido carbónico ( $CO_2$ ), constituye el biogás. Esto será evaluado mediante la verificación de “quema de biogás”, a través de un mechero Bunsen conectado al gasómetro (Varnero, 2011), aproximadamente a contar de la segunda semana de la puesta en marcha de los ensayos.

Posteriormente, se realizó un análisis de varianza de una vía (unifactorial), y prueba de rangos múltiples de Tukey, para los siguientes parámetros: Días requeridos para el inicio de la actividad metanogénica, Volumen registrado de biogás (gas combustible), Volumen total de biogás (gas combustible), Volumen de biogás al Tiempo Retención Hidráulico (TRH), Tiempo de Retención Hidráulico (TRH), Rendimiento de biogás por kg MO, Rendimiento de metano por kg MO, contenido de  $CH_4$ ,  $CO_2$ ,  $O_2$ ,  $H_2S$  y  $CO$ .

### 2.2.4 Análisis del efluente y digestato

Se describió el efluente y digestato (parte líquida y parte sólida del material residual del interior del biodigestor) respecto de las siguientes características.

- Parte sólida (digestato): Porcentaje de humedad ( $\%H_2O$ ), porcentaje de materia orgánica ( $\%MO$ ), porcentaje de carbono orgánico ( $\%C$ ), porcentaje de Nitrógeno total ( $\%N$ ) y estabilidad biológica, mediante desprendimiento de  $C-CO_2/gMO/24$  h.
- Parte líquida (efluente): Potencial de hidrógeno (pH), conductividad eléctrica (CE), fitotoxicidad mediante el Índice de Germinación (IG).

La fitotoxicidad se evaluó usando el índice de germinación (Zucconi et al, 1981; Varnero et al, 2007) (formula 1).

$$IG = \frac{\%G \times \%LR}{100}$$

Formula 1.

Donde:

**%G:** Porcentaje de germinación, respecto del control

**%LR:** Porcentaje del largo radicular, respecto al control

Posteriormente, se realizó un análisis de varianza de una vía (unifactorial), y prueba de rangos múltiples de Tukey, para los siguientes parámetros: Porcentaje de Materia Orgánica (%), Estabilidad Biológica (mgC-CO<sub>2</sub>/gMO/24 h).

Se realizó una comparación de promedios para los siguientes parámetros: Potencial de Hidrógeno (pH), Conductividad Eléctrica (dS/m), Porcentaje de Germinación (%G), Índice de Germinación (IG)

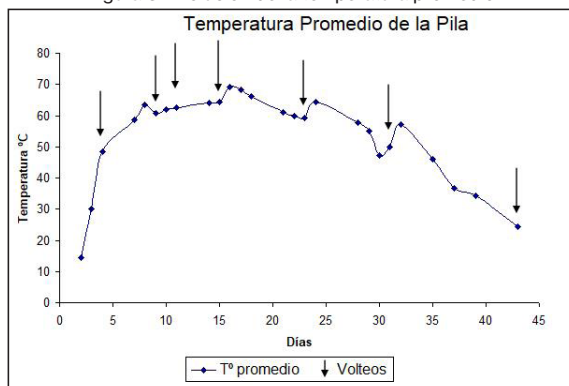
Adicionalmente, se comparó los resultados obtenidos con la Norma Chilena de Compost (NCh 2880) (INN, 2015).

### 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 ENSAYO A:

Se observa en la figura 3, que la etapa mesofílica inicial de la pila duró 3 días, dando lugar a la etapa termofílica a contar del cuarto día, con una duración de 34 días. Esto, permite alcanzar la sanitización del producto final, al tener más de 3 días temperaturas por sobre los 55°C, según la NCh 2880 (INN, 2015). Además, asegura la estabilización biológica (1,2 mgC-CO<sub>2</sub>/gMO/día). Sin embargo, al realizar los análisis de los niveles obtenidos de CE (5dSm<sup>-1</sup>) y del %IG (77%) indicarían que aún persisten metabolitos fitotóxicos.

Figura 3. Evolución de la temperatura promedio.



## 3.2 ENSAYOS B

### 3.2.1 Caracterización fecas caninas y guano bovino

A continuación, en el Cuadro 1 se presentan los resultados obtenidos de esta experiencia, respecto a su caracterización química y calidad del biogás obtenido, respectivamente. Además, en la figura 4, se presentan las curvas que describen el proceso de producción de biogás, en términos de volumen de producción, tiempo de partida, período de producción, contenido de  $\text{CH}_4$  y  $\text{CO}_2$ .

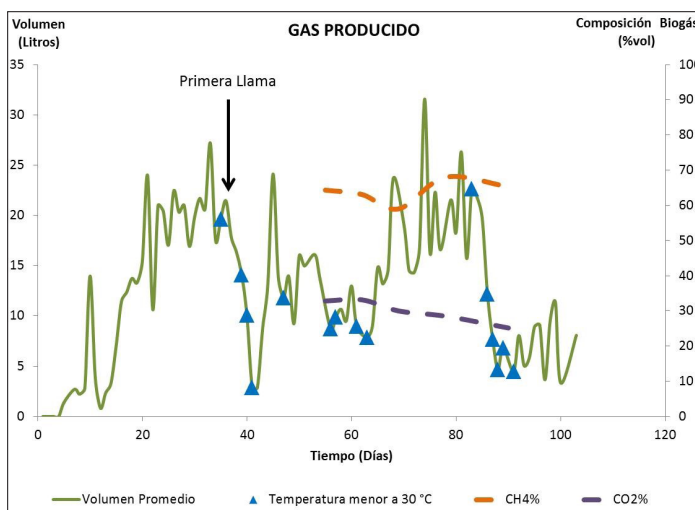
Cuadro 1. Caracterización de las materias primas.

Parámetro	Fecas Caninas	Guano Bovino	Mezcla 1:1
% Contenido de Agua	68,85	53,00	91,70
pH	7,20	7,70	8,01
Sólidos Volátiles (%MO)	23,52	86,10	54,69
Relación C/N	17,00	18,00	17,50

### 3.2.2 Evaluación de la Producción de Biogás

La producción de biogás por las fecas de un perro (producción promedio de fecas diarias), según cada componente, se muestra en la figura 4.

Figura 4. Evolución del volumen de biogás y su composición, considerando la temperatura.



La información anterior, nos permite estimar que, al final de la degradación anaeróbica (en condiciones ambientales y los microorganismos necesarios) de las fecas de semana de 5 perros (aproximadamente 6kg de fecas) se obtendrá cerca de 1m<sup>3</sup> de biogás, con un porcentaje de metano de 46,15% (0,483m<sup>3</sup>).

Si se comparan con otros estudios, según los resultados de Okoroigwe *et al.* (2010), donde el ensayo con 7kg de fecas y 21kg de agua generó 0,178m<sup>3</sup> de gas y el ensayo con 4kg de fecas caninas más 6kg de guano de vaca generó 0,2967m<sup>3</sup>. Ambos ensayos a los 50 días de retención en el biorreactor.

Según las estimaciones obtenidas en este estudio, con 7kg de fecas se puede obtener 1,29m<sup>3</sup> de biogás, lo cual supera los resultados obtenidos por Okoroigwe *et al.* (2010) y los esperados en el ensayo de Vivallos *et al.* (2022), que deberán haber sido 0,97m<sup>3</sup> considerando su valor estimado de 0,58 m<sup>3</sup>/kg SV. En el caso del estudio de Okoroigwe *et al.* (2010), se observa que la estimación es 5,8 veces lo obtenido para el ensayo de fecas de perro solamente. Mientras que, para el ensayo con mezcla de fecas de perro y guano de vaca la estimación es 2,5 veces lo obtenido empíricamente, sin embargo, la relación debe estimarse más exactamente, utilizando sólo los valores de biogás obtenido exclusivamente por las fecas caninas.

Las diferencias encontradas entre las estimaciones y los resultados de Okoroigwe *et al.* (2010) podrían explicarse por los supuestos de este estudio, principalmente, porque la degradación completa de la materia no menciona producción, orgánica y su transformación a biogás es muy difícil de lograr. Además, el estudio citado no entrega información acerca de los posibles inhibidores del proceso, lo que podría estar condicionando el proceso, y en el caso de Vivallos *et al.* (2022), no menciona cantidad producida, solo que fue baja y al bajar la temperatura no hubo, dando solo el valor estimado, mencionado anteriormente.

### 3.2.3 Composición biogas

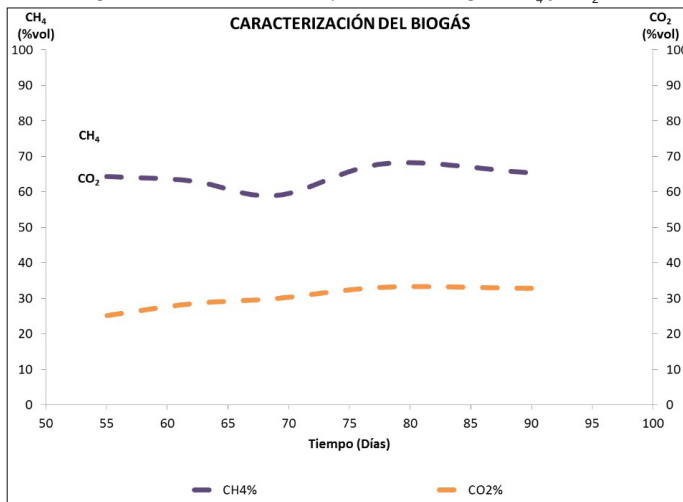
La composición del biogas, para el tratamiento de mezcla 1:1 fecas caninas con guano de bovino, se muestra en el cuadro 2.

Cuadro 2. Composición del biogás.

Compuesto	Día					
	55	62	69	78	90	104
CH <sub>4</sub> (%)	64,33	63,10	59,00	68,00	65,33	58,67
CO <sub>2</sub> (%)	32,83	33,17	30,00	28,50	25,17	28,00
O <sub>2</sub> (%)	0,57	0,23	0,23	0,25	0,40	1,27
H <sub>2</sub> S (ppm)	7,67	10,00	14,00	11,00	10,00	18,67
CO (ppm)	25,33	32,33	30,67	20,50	23,00	13,00

A continuación, se presentan el gráfico que describe la evolución de los parámetros más importantes del trabajo.

Figura 5. Evolución de la composición del biogás (CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>)



Al analizar el ensayo efectuado posteriormente, usándose otras relaciones de mezclas, mediante el cuadro 3, y las figuras 6 y 7, los tratamientos 100 y 75% de FC tienen un atraso estadísticamente significativo en el tiempo de inicio de la fase metanogénica, aunque el volumen de gas acumulado al final del ensayo no presento diferencia con respecto al resto, ni tampoco hay diferencias en el TRH.

Por último, tampoco hay diferencias entre la composición del biogás.

Cuadro 3. Descripción del biogás obtenido en cada tratamiento.

Parámetro	Tratamientos			
	1	2	3	4
	100% HC	75% HC	25% HC	0% HC
Volumen combustible registrado (después de PIFM <sup>s</sup> ) (L)	160,15	132,20	156,30	121,05
Volumen Potencial Teórico" (L)	426,03	353,36	348,46	47,56
Volumen Potencial Teórico" Combustible (L)	386,23	320,06	336,06	285,11
Volumen de gas al TRH estimado (L)	298,22	247,35	243,92	207,42
TRH estimado (días)	141,82	146,00	195,66	192,67
Período Combustible hasta el TRH estimado (días)	141,82	146,00	195,66	192,67
Rendimiento de gas al TRH (L/kg de MO)	104,29	85,39	84,07	67,95
Rendimiento de CH <sub>4</sub> al TRH (L/kg de MO)	59,91	51,21	47,23	38,39
CH <sub>4</sub> (%)	57,60	61,33	56,17	56,77
CO <sub>2</sub> (%)	41,04	43,75	42,47	41,78
O <sub>2</sub> (%)	1,36	1,13	1,36	1,44

H <sub>2</sub> S (ppm)	5,67	4,38	2,75	0,88
CO (ppm)	11,83	21,13	71,88	63,25

‡ Se estimó la producción usando la ecuación modificada de Luna-del Risco et al. (2011) (Fórmula 5) § Período de Inicio de la Fase Metanogénica, a partir del cual se obtiene gas combustible  
 ¶ Volumen alcanzado cuando la tasa de producción es igual a 0,1 L/día.

En la Figura 6 y Figura 7 se aprecian los días en que los biodigestores fueron sometidos a bajas temperaturas (cercano a 10 °C, simbolizado por flechas celestes hacia abajo) por problemas con el sistema térmico. Se observa, la fuerte correlación entre las temperaturas +/- 10 °C y el comportamiento de la producción de biogás.

Figura 6. Comportamiento promedio diario de la producción de biogás y el efecto de la temperatura cercana a 10 °C.

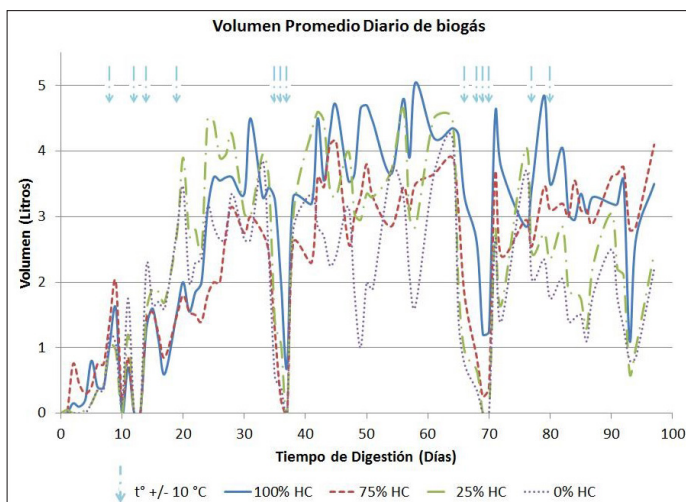
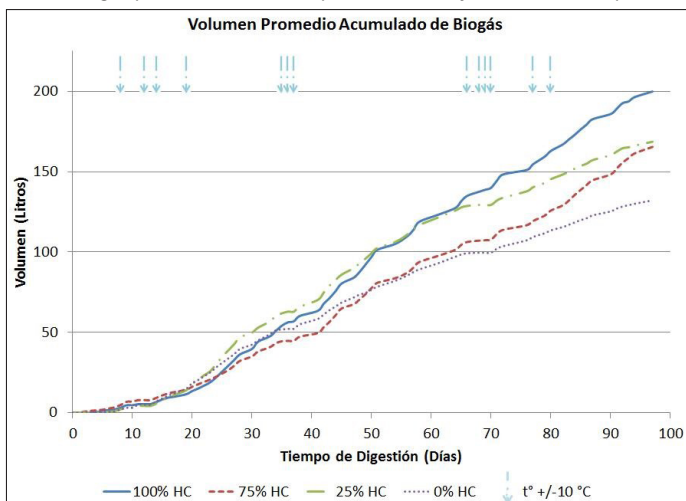


Figura 7. Producción de biogás promedio acumulada por tratamiento y el efecto de temperatura cercana a 10 °C.





### 3.2.4 Análisis digestato producido

Los principales datos del digestato obtenido de los tratamientos de fecas caninas mezcladas con guano bovino en relación 1:1, en la fermentación metanogénica se aprecian en el cuadro 4.

Cuadro 4. Promedios de los parámetros químicos y biológicos del digestato.

% de agua	%C org.	%N total	C/N	% MO	pH	CE dS/m	mgC-CO gMO <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup>	% Germinación	% IG
85,2	41,71	2,3	18,1	75,07	7,0	5,2	0,95	2,7	0

Los datos obtenidos dan cuenta que el digestato no cumple con los requisitos de diferentes normativas en el parámetro de fitotoxicidad, por lo tanto, no puede ser catalogado como compost o enmienda orgánica (en CE quedaría como compost tipo B). Sin embargo, debido a que posee un contenido de nitrógeno interesante, se debería esperar que al ser estabilizado (corto periodo de compostaje), pueda resultar un sustrato con propiedades fertilizantes, que podría ser incorporado al suelo luego de disminuir la fitotoxicidad al diluirlo o mezclarlo con otro sustrato.

Si se comparasen los resultados del ensayo extra, con otros porcentajes (cuadros 5 y 6), también se mantienen los problemas con fitotoxicidad, pero en el caso de 100% fecas caninas, también habría problemas con la relación C/N.

Cuadro 5. Promedio de los parámetros químicos y biológicos del digestato, parte sólida.

. Trat.	Descripción	Contenido de H2O Digestato %	C Orgánico	N Total	C/N	M.O. Digestato %	C-CO2 (mg) MO (g) 24 h mg/g base seca
1	100% HC	80,93	31,84	4	7,96	57,31	2,01
2	75% HC	84,16	40,43	2,4	16,85	72,77	1,32
3	25% HC	86,24	42,98	2,2	19,54	77,36	0,58
4	0% HC	82,61	43,44	1,55	28,02	78,19	0,72

Como se puede observar en el Cuadro 5, el porcentaje de MO que queda por degradar es mayor a medida que aumenta el contenido de guano bovino en la mezcla, sin embargo, el nivel de estabilidad biológica indica que la disponibilidad de la MO es menor. Por lo tanto, aunque el contenido de MO del digestato sea menor a medida que aumentan las heces caninas, los tratamientos con mayor proporción de heces caninas poseen un potencial mayor de producción de biogás.

Cuadro 6. Promedio de los parámetros químicos y biológicos del efluente, parte líquida.

Trat.	Descripción	pH Efluente	C.E. Efluente dS/m	Rabanito Germinación %	Rabanito Índice de Germinación	Lechuga Germinación %	Lechuga Índice de Germinación
1	100% HC	7,3	7,82	0	0	0	0
2	75% HC	7,5	5,98	3,7	0	0	0
3	25% HC	6,96	3,8	0	0	0	0
4	0% HC	7,19	3,25	66,67	11,65	8,33	0,04

## 4 CONCLUSIONES

Las fecas caninas son un residuo óptimo para tratarse por compostaje, generando un producto estable y sanitizado, pero con ciertas limitaciones, por su presentar leves % de fitotóxicos.

La digestión anaeróbica de las fecas de canino se favorece al usar guano de bovino como co-sustrato por el aporte de inóculos metanogénicos.

El Tiempo de Inicio de la etapa metanogénica se obtiene a los 36 días y a partir del día 56, se registra una composición de CH<sub>4</sub> mayor al 60% y una cantidad de CO<sub>2</sub> aproximada del 30%.

La producción estimada en este estudio se basa en el supuesto de que se integrará al proceso los microorganismos suficientes para la producción de biogás, ya que el sustrato no cuenta con las especies necesarias. Además, se asume una producción óptima (con completa digestión de la materia lábil), lo cual implica, a lo menos, mantener las condiciones de temperatura, pH, humedad, tiempo de retención hidráulico, en las condiciones óptimas.

Otro supuesto importante para obtener estos resultados es el uso de perros sanos y sin tratamiento médico, lo cual implica la inexistencia de inhibidores del proceso, como antibióticos, desinfectantes o competencia interespecífica con microorganismos propios de las fecas de perro. Para evaluar las interacciones entre microorganismos podría usarse como base la información de Okoroigwe *et al.* (2010) que describe los microorganismos que habitan las fecas de perro. Para evaluar el potencial en condiciones inhibitorias, es necesario otro estudio.

Sin embargo, las condiciones necesarias (microorganismos y condiciones) para la producción de biogás, a partir de fecas de perros sanos, son posibles de suministrar y, por lo tanto, sería posible aprovechar el potencial de biogás que existe en las fecas de perros sanos, como lo sugiere Corace *et al.* (2010).

El alcance que puede tener el uso de este sustrato como fuente energética sobre la población canina y la calidad de vida en las calles de la ciudad es difícil de estimar, de

todas formas, con este estudio se aspira a aportar a la solución de muchos problemas generados por un mal manejo y convivencia entre las poblaciones humanas y caninas en las ciudades.

## BIBLIOGRAFÍA

Corace, J., Aeberhard, M., Martina, P. y García, E. (2010). Optimización del rendimiento de un biorreactor a partir de la utilización de diferentes sustratos orgánicos.- Comunicaciones Científicas y Tecnológicas, Universidad Nacional del Nordeste, Argentina.

Espinoza, M., López, M., Pellón, A., Mayarí, R. y Fernández, A. (2006). La fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos como fuente potencial de producción de biogás.- Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Dpto. de Estudios sobre Contaminación Ambiental, Ciudad de la Habana, Cuba.

Instituto Nacional de Normalización. (2015). NCh2880:2015: Compost - Requisitos de calidad y clasificación. Santiago, Chile: INN.

Kossmann, W., Pönitz, U., Habermehl, S., Hoerz, T., Krämer, P., Klingler, B., Kellner, C., Wittur, T., v. Klopotek, F., Krieg, A. and Euler, H. (1999). Biogas Digest Volume I Biogas Basics.- German Agency for Technical Cooperation (GTZ)

Okoroigwe, E., Ibeto, C. and Okpara, C. (2010). Comparative Study of the Potential of Dog Waste for Biogas Production.- *Trends in Applied Sciences Research*. 5(1): 71-77.

Rivera, P. (2009). Población Canina en las Calles de 34 Comunas de Santiago.- Tesis, Universidad Iberoamericana de Ciencias y Tecnología, Fac. Medicina Veterinaria, Ciencias Agrarias y Forestales. Santiago de Chile.

Steubing, L., Godoy, R. y Alberdi, M. (2001). Métodos de Ecología Vegetal.- Editorial Universitaria. Santiago de Chile.

Varnero, M.T., Rojas, C. y Orellana, R. 2007. Índices de fitotoxicidad en residuos orgánicos durante el compostaje. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal*, 7(1), pp.28-37.

Varnero, M.T. (2011). Biogas manual. FAO. Santiago, Chile. 119 p.

Vivallos, C.; Ruizn, F.; Robles, C.; Larionov, M.V.; Arias, P.J.; Cevallos, I. (2022). Biodigestion System Made of Polyethylene and Polystyrene Insulator for Dog Farm (on the Example of the Republic of Chile). *Life* 2022, 12, 2039.

Zucconi, F., Pera, A., Forte, M. and De Bertoldi, M., 1981. Evaluating toxicity of immature compost. *Biocycle*, 22(2), pp.54-57.

# CAPÍTULO 11

## AS BEBIDAS DE LEGUMINOSAS COMO ALTERNATIVA AO LEITE: BEBIDAS DE GRÃO-DE-BICO E DE TREMOÇO COM DIGESTIBILIDADE MELHORADA E POTENCIAL BIOACTIVO PARA A SAÚDE HUMANA

Data de submissão: 05/11/2023

Data de aceite: 21/11/2023

### **Carla Margarida Duarte**

LEAF-Linking Landscape  
Environment, Agriculture and Food  
Instituto Superior de Agronomia  
Universidade de Lisboa  
Tapada da Ajuda, Lisbon, Portugal  
IUEM, Instituto Universitário Egas Moniz  
Egas Moniz-Cooperativa de Ensino Superior  
CRL, Caparica, Portugal  
<http://orcid.org/0000-0003-0699-5611>

### **Joana Mota Guerreiro**

LEAF-Linking Landscape  
Environment, Agriculture and Food  
Instituto Superior de Agronomia  
Universidade de Lisboa  
Tapada da Ajuda, Lisbon, Portugal  
<http://orcid.org/0000-0002-8835-852X>

### **Ricardo Manuel Assunção**

IUEM, Instituto Universitário Egas Moniz  
Egas Moniz-Cooperativa de Ensino Superior,  
CRL, Caparica, Portugal  
Departamento de Alimentação e Nutrição  
Instituto Nacional de Saúde  
Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal  
CESAM, Centro de Estudos do  
Ambiente e do Mar  
Universidade de Aveiro  
Aveiro, Portugal  
<https://orcid.org/0000-0002-4375-0456>

### **Carla Martins**

Departamento de Alimentação e Nutrição  
Instituto Nacional de Saúde  
Doutor Ricardo Jorge  
Lisboa, Portugal  
NOVA Escola Nacional de  
Saúde Pública  
Centro de Investigação de  
Saúde Pública  
Universidade NOVA de Lisboa  
Lisboa, Portugal  
<https://orcid.org/0000-0001-7930-2914>

### **Ana Cristina Ribeiro**

LEAF-Linking Landscape  
Environment, Agriculture and Food  
Instituto Superior de Agronomia  
Universidade de Lisboa  
Tapada da Ajuda, Lisbon, Portugal  
Faculdade de Farmácia de Lisboa,  
Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal  
<https://orcid.org/0000-0001-9555-5735>

### **Ana Isabel Lima**

LEAF-Linking Landscape  
Environment, Agriculture and Food  
Instituto Superior de Agronomia  
Universidade de Lisboa  
Tapada da Ajuda, Lisbon, Portugal  
Faculdade de Medicina Veterinária  
Universidade Lusófona  
Lisboa, Portugal  
<https://orcid.org/0000-0001-8251-6286>

**Anabela Raymundo**

LEAF-Linking Landscape  
Environment, Agriculture and Food  
Instituto Superior de Agronomia  
Universidade de Lisboa  
Tapada da Ajuda, Lisbon, Portugal  
<https://orcid.org/0000-0001-5266-1685>

**Maria Cristiana Nunes**

LEAF-Linking Landscape  
Environment, Agriculture and Food  
Instituto Superior de Agronomia  
Universidade de Lisboa  
Tapada da Ajuda, Lisbon, Portugal  
<https://orcid.org/0000-0002-1281-8606>

**Ricardo Boavida Ferreira**

LEAF-Linking Landscape  
Environment, Agriculture and Food  
Instituto Superior de Agronomia  
Universidade de Lisboa  
Tapada da Ajuda, Lisbon, Portugal  
<http://orcid.org/0000-0002-5027-7564>

**Isabel de Sousa<sup>1</sup>**

LEAF-Linking Landscape  
Environment, Agriculture and Food  
Instituto Superior de Agronomia  
Universidade de Lisboa  
Tapada da Ajuda, Lisbon, Portugal  
<http://orcid.org/0000-0001-9384-7646>

**RESUMO:** Existe uma grande procura de substitutos do leite ( $\pm 3,5\%$  P) à base de plantas, a grande maioria das vezes com baixo teor em proteína ( $< 1,5\%$  P). No entanto é possível aproximarmo-nos do valor proteico do leite se utilizarmos sementes de leguminosas ricas em proteína e as tecnologias de processamento adequadas. O principal objectivo deste trabalho foi avaliar o impacto do processamento nas características das bebidas produzidas com tremço e grão de bico e avaliar o seu potencial impacto na saúde, nomeadamente na digestibilidade e em bioactividades específicas. Os resultados sugerem que as bebidas à base destas leguminosas possuem elevadores teores em proteína (3,2% para o grão-de-bico e 4,1% para o tremço) semelhante aos teores do leite de vaca. Os níveis de anti-nutrientes característicos das leguminosas foram reduzidos consideravelmente com um processamento estratégico. No entanto, quando presentes em pequenas quantidades, alguns destes factores anti-nutricionais oferecem benefícios para a saúde. O controlo das condições de processamento é um ponto fulcral neste equilíbrio sensível, e serve de ferramenta para se tirar vantagem destes benefícios. A

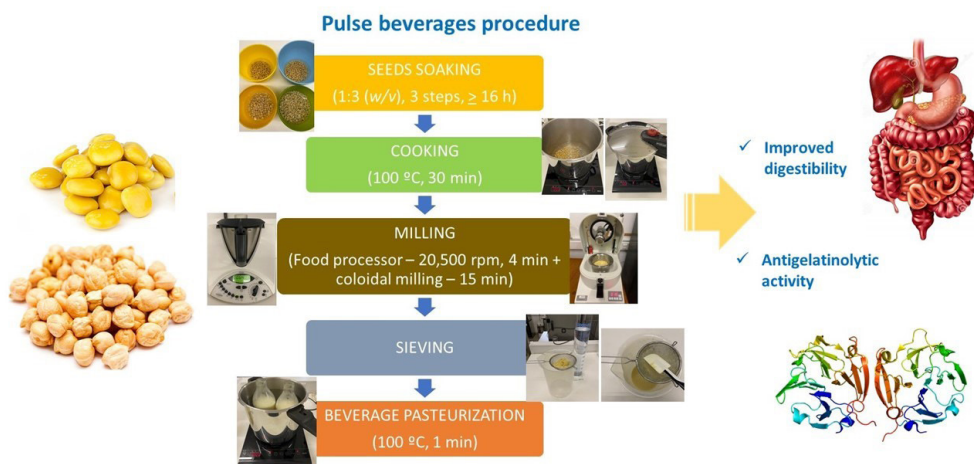
<sup>1</sup> Correspondência: Isabel Sousa [isabelsousa@isa.ulisboa.pt](mailto:isabelsousa@isa.ulisboa.pt)

hidrólise da proteína foi evidenciada na digestão *in vitro*, bem como a bioacessibilidade limitada de minerais. Estas bebidas de grão-de-bico e de tremço além de serem altamente digeríveis, também possuem potencial anti-inflamatório e anti-cancerígeno avaliado pela inibição da metaloproteinase MMP-9.

**PALAVRAS-CHAVE:** Bebidas não lácteas. Leguminosas. Digestibilidade. Bioacessibilidade. Bioatividade.

## PULSE DRINKS AS ALTERNATIVES TO MILK: CHICKPEA AND LUPIN BEVERAGES WITH IMPROVED DIGESTIBILITY AND POTENTIAL BIOACTIVITIES FOR HUMAN HEALTH

### VISUAL ABSTRACT:



**KEYWORDS:** Non-dairy beverages. Pulses. Digestibility. Bioaccessibility. Bioactivity.

## 1 INTRODUÇÃO

As bebidas vegetais representam uma grande tendência de consumo no segmento em rápido crescimento como é o mercado dos produtos vegetais. Actualmente, o mercado global de alternativas aos produtos lácteos apresenta um crescimento de 17,3 milhares de milhão de dólares em 2018 para 29,6 milhares de milhão de dólares em 2023 a uma taxa de crescimento anual de 11,4%, sendo a região Ásia-Pacífico a que representa a maior fatia de mercado (MINTEL, 2018; MARKET AND MARKETS, 2019). Tem havido uma grande procura de substitutos do leite, para além de bebidas à base de soja, devido a razões de saúde diversas (ex. intolerância à lactose, alergia às proteínas do leite, hipercolesterolemia, presença de hormonas, antibióticos ou resíduos de pesticidas),

problemas de sustentabilidade ou razões éticas tais como preocupações relacionadas com a criação de gado e os enormes impactos ambientais (SCRIMSHAW & MURRAY, 1988; LIFSCHITZ & SZAJEWSKA, 2015; MAKINEN *et al.*, 2016; TRANSPARENCY MARKET RESEARCH, 2019), representando 14,5% das emissões de CO<sub>2</sub> induzidas pelo ser humano (GERBER *et al.*, 2013), além de culturas relacionadas com o desmatamento e transporte de longa duração, como a soja. No entanto, as ofertas do mercado actual são pobres em proteína, com excepção das bebidas à base de soja (3 a 4% P), as bebidas à base de cereais e nozes, tais como arroz, aveia ou amêndoa que contêm teores entre 0,1% e 1,5% (p/v) (LOPES *et al.*, 2020) quando comparadas com 3,3 a 3,5% de proteína no leite de vaca. Portanto, a proposta de desenvolvimento de bebidas ricas em proteínas a partir de leguminosas, como o grão-de-bico e o tremço, pode ser uma alternativa eficaz ao leite de vaca.

As leguminosas são conhecidas pelas suas propriedades nutricionais e promotoras de saúde, e por serem culturas sustentáveis que incorporam azoto no solo, e reduzem significativamente o uso de fertilizantes. As leguminosas são uma boa fonte proteica, de minerais e de fibra, e as suas bebidas terão uma boa composição nutricional, possuindo um baixo índice glicémico (BERNAT *et al.*, 2014; BARMAN *et al.*, 2018). No entanto há uma questão que dificulta o desenvolvimento e a produção generalizada de alimentos a partir de leguminosas: o sabor a “feijão cru”, tão negativamente famoso e notório nas bebidas de soja. Esta característica (“sabor a cru”) pode estar associada à actividade de lipoxigenases e é fortalecida na presença de polifenóis (sabor amargo). Este facto é tipicamente relacionado com bebida de soja, pois a soja é muito rica em gordura (20% da matéria seca), enquanto no grão-de-bico e o tremço os teores são mais baixos (1-5%). A técnica utilizada para remover os *off-flavors* das bebidas à base de leguminosas é a inactivação térmica, mas as temperaturas elevadas conduzem à desnaturação, agregação e redução na solubilidade proteica e perdas de nutrientes (ex. vitaminas e minerais), o que levou à sua utilização restrita como tecnologia fácil de implementar. Além disso, alguns compostos bioactivos das sementes de leguminosas, tais como os inibidores da protease (IPs), proteínas de reserva da semente ( $\gamma$ -conglutina), lectinas, fitatos, oligossacáridos, saponinas e compostos fenólicos podem ter efeitos metabólicos importantes na saúde do consumidor (CHAMP, 2002; CAMPOS-VEJA *et al.*, 2010; MUÑOZ *et al.*, 2018; GRÁCIO *et al.*, 2021; GUZMÁN *et al.*, 2021). Algumas destas substâncias são benéficas, mas outras são consideradas factores anti-nutricionais, que em geral prejudicam a digestão, como os IPs, que diminuem a digestibilidade e absorção das proteínas (HATHCOCK, 1991). Os fitatos ligam-se aos microelementos e minerais reduzindo a sua disponibilidade e não

se degradam durante a cozedura (HATHCOCK, 1991). Por isso, a sua redução efetiva global só pode ser alcançada por degradação enzimática, queilação ou pela germinação e fermentação (MAKINEN *et al.*, 2016; LÓPEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2017), ou ainda por imersão intensiva, pois são bastante solúveis em água.

Alguns factores antinutricionais e os seus produtos de degradação podem ter efeitos benéficos para a saúde, sobretudo se estiverem presentes em pequenas quantidades. A manipulação das condições de processamento, além da remoção de certos compostos indesejados nos alimentos, pode ser necessária para eliminar os efeitos indesejáveis dos factores antinutricionais e aproveitar os seus benefícios para a saúde (GEMEDE & RATTA, 2014). Vários estudos têm mostrado o impacto positivo destas substâncias, nomeadamente na prevenção dos diabetes (MUÑOZ *et al.*, 2018), e também na prevenção do cancro e na sua terapia (GHAZARIAN *et al.*, 2011). No último exemplo, os trabalhos com modelos animais evidenciaram que os inibidores de Bowman-Birk da protease (BBI's) de várias fontes de leguminosas, incluindo a soja, a ervilha, a lentilha e o grão-de-bico, podem prevenir ou suprimir os processos inflamatórios e carcinogénicos do trato gastrointestinal (CLEMENTE & ARQUES, 2014; SRIKANTH & CHEN, 2016). Outros estudos, *in vitro* e *in vivo*, evidenciaram que as propriedades anti-oxidantes do ácido fítico têm um papel benéfico na prevenção do cancro e um efeito positivo na inibição do crescimento de vários tipos de cancro (KUMAR *et al.*, 2021). Trabalhos recentes evidenciaram que extractos proteicos de algumas sementes de leguminosas, nomeadamente as albuminas do *Lupinus albus*, conseguem inibir a metaloproteínase MMP-9 envolvida nos processos de inflamação e cancro, bem como na migração das células cancerígenas do cólon (LIMA *et al.*, 2016; MOTA *et al.*, 2021). Além disso, os IPs resistentes ao calor existentes na soja, mostraram-se mais eficazes e selectivos contra a MMP-9 do que os compostos não proteicos (ex. isoflavonas, saponinas) (LIMA *et al.*, 2017). Devido ao seu papel significativo nas doenças inflamatórias e oncológicas, a MMP-9 é um biomarcador de doença e alvo clínico relevante, e os seus inibidores são actualmente considerados importantes alternativas para lidar com várias doenças humanas, tais como as doenças inflamatórias intestinais, cancro, doenças cardiovasculares, osteoporose e até mesmo distúrbios neurológicos (SAFAVI & ROSTAMI, 2012). De facto, vários trabalhos (LIMA *et al.*, 2016; GUERREIRO, 2016; BASSO, 2020) evidenciaram que algumas sementes de leguminosas pouco estudadas, tais como o tremço e o grão-de-bico, possuem bioactividades mais altas do que outras, tal como a soja, e são muito eficazes na redução das metástases oncológicas e da colite ulcerosa em estudos *in vivo*.

Neste contexto, este trabalho teve como objectivo avaliar o impacto do processamento na manutenção das características nutricionais das bebidas à base de



grão-de-bico e de tremoço, procurando atingir a sua melhor digestibilidade, bem como a sua bioacessibilidade proteica e mineral. Pretendeu-se avaliar as bioatividades nas duas leguminosas selecionadas, quer depois do processamento quer da digestão. Em resumo, este estudo evidenciou que as duas bebidas à base de leguminosas são alternativas eficazes à proteína do leite de vaca e também a outras alternativas vegetais menos nutritivas e digeríveis, possuindo benefícios adicionais para a saúde humana.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 PRODUÇÃO DAS BEBIDAS VEGETAIS

O trabalho experimental consistiu no uso de duas sementes de leguminosas diferentes, o tremoço branco doce (*Lupinus albus* L.) e o grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) para produzir bebidas contendo 10% (p/v) de semente seca inteira (com casca). Produziram-se dois lotes de cada bebida de leguminosa e este procedimento foi repetido três vezes para verificação da sua repetibilidade. Em resumo, 150 g de sementes secas e demolidas previamente em água (1:3 p/v) durante 16 h, substituindo a água duas vezes na mesma proporção, foram cozidas durante 30 min numa panela de pressão (7,5 L, Mod. Qualix 8, Magefesa) em 1,5 L de água da torneira. Às sementes cozidas escorridas foram adicionados 1,5 L de água da torneira. A etapa da moenda foi efectuada num processador alimentar a 20.500 rpm (Bimby Worwerk, Wuppertal, Germany), durante 4 min, seguido de simulação de moenda coloidal num almofariz automático (Pulverisette 2, Fritsch GmbH, Germany) em escala laboratorial, a 70 rpm, por 45 min, à temperatura ambiente. Ambas as bebidas de tremoço e de grão-de-bico foram filtradas através de um coador e os diâmetros das partículas resultantes foram analisados num trabalho anterior (LOPES *et al.*, 2020). Por fim, as bebidas das leguminosas foram vertidas para garrafas esterilizadas e mantidas em banho-maria no interior da panela de pressão. Quando a temperatura da bebida atingiu um mínimo de 90 °C, as garrafas foram tapadas e mantidas dentro da panela de pressão fechada durante 1 min.

### 2.2 TESTES DE DIGESTIBILIDADE

As bebidas à base de grão-de-bico e de tremoço foram submetidas ao método de digestão *in vitro* estático (BRODKORB *et al.*, 2019) que compreende três fases de simulação digestiva sequencial: oral, gástrica e intestinal. Este procedimento foi realizado três vezes para verificar a repetibilidade dos valores de bioacessibilidade da proteína e dos minerais. Resumidamente, 2 mL de cada bebida foram diluídos 1:1 (v/v) em fluido salivar simulado com alfa-amilase de *Bacillus* sp. (75 UI/mL), e incubados durante 2 min

a 37 °C, sob agitação contínua num agitador rotativo (Reax 2, model 444-1113, Heidolph Instruments, Germany). O volume do fluido gástrico simulado com pepsina porcina (2.000 UI/mL) utilizado para diluir o bolo alimentar respeitou a proporção de 1:1 (v/v) e o pH foi ajustado a 3 com HCl na concentração de 10M. A mistura foi incubada 2h, a 37 °C sob agitação constante. O quimo gástrico foi posteriormente diluído 1:1 (v/v) com o fluido intestinal simulado e os sais biliares (10 mM), sendo a pancreatina (100 UI/mL da actividade de tripsina) adicionada com ajuste do pH a 7 (com NaOH a 1M). A incubação posterior a 37 °C, sob agitação constante foi interrompida após 2 horas com Pefabloc, um inibidor da protéase serina (5 mM). Incluiu-se nestes ensaios, um tubo para o branco enzimático, onde os 2 mL da bebida de leguminosa foram substituídos por água desmineralizada. Por forma a obter as fracções solúvel (potencialmente biodisponível) e insolúvel obtidas pela digestão *in vitro*, a *digesta* inteira foi centrifugada a 6,000 x g durante 10 min, a 4 °C.

### 2.3 CÁLCULO DA BIOACESSIBILIDADE

O termo bioacessibilidade refere-se à fração de proteínas e de elementos minerais que foram libertados das bebidas de leguminosas durante a digestão *in vitro* e presumivelmente se tornaram acessíveis (disponíveis) para absorção através das paredes do intestino delgado. A bioacessibilidade deve ser distinguida do termo biodisponibilidade, o qual é definido como a fracção de nutrientes ou componentes de um alimento que tenham sido eficientemente digeridos *in vivo*, assimilados e posteriormente absorvidos pelo organismo (FERNÁNDEZ-GARCÍA *et al.*, 2009). Daí que se possa dizer que a bioacessibilidade de um dado nutriente seja um pré-requisito para a sua biodisponibilidade. A bioacessibilidade das proteínas e dos minerais (ZHANG *et al.*, 2018) foi calculada em triplicado, utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Bioacessibilidade} = \frac{D}{B} \times 100$$

onde D é a concentração do nutriente solúvel na *digesta*, corrigido pelo nutriente correspondente no ensaio do branco enzimático, e B é a concentração inicial do mesmo nutriente na bebida, antes da digestão.

### 2.4 ANÁLISE DA HIDRÓLISE PROTEICA POR ELECTROFORESE EM GEL

Os perfis proteicos antes e após a digestão *in vitro*, foram analisados em duplicado por SDS PAGE (sodium dodecyl sulphate–polyacrylamide gel electrophoresis) em géis de poliacrilamina a 17,5% (p/v) (LAEMMLI, 1970) e corados com nitrato de prata (BLUM *et al.*, 1987).

Utilizaram-se volumes correspondendo a 15 µg de proteína para as bebidas de grão-de-bico e de tremoço, e de 7 µg para as *digesta* respectivas. O branco enzimático com um teor proteico de 7 µg também foi testado para se comparar as amostras com os perfis proteicos das enzimas adicionadas à *digesta* completa. Todas as amostras foram diluídas previamente em 1:5, num tampão Tris HCl a 100 mM, contendo NaCl a 0,3 M para promover a solubilização proteica.

## 2.5 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA

A determinação da proteína total foi realizada num equipamento Dumas Nitrogen Analyser NDA 702 (Velp Scientifica) e o facto de correção utilizado para a conversão de azoto em proteína foi de 5,4 (MARIOTTI *et al.*, 2018). Todas as análises foram realizadas em triplicado e expressas em gramas de proteína por 100 mL de amostra (ou % p/v).

A análise de amido total foi determinada de acordo com o kit Megazyme Total Starch Assay Procedure (K-TSTA) que se baseia no método oficial AOAC 996.11 (2005), tendo em conta procedimentos específicos para amostras nas quais o amido está presente sob a forma solúvel ou em suspensão. As análises foram realizadas em duplicado e expressas em gramas de amido por 100 mL de amostra.

O teor em D-glucose foi obtido por cromatografia HPLC (high-performance liquid chromatography) (SANTOS *et al.*, 2019). Em resumo, 2 mL de cada amostra foi centrifugada a 7.200 x g durante 10 min, e recolheram-se 500 µL do sobrenadante. Após a sua diluição em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (50 mM) (1:1 v/v), as amostras foram centrifugadas (7.200 x g, 10 min) para rejeitar o precipitado proteico, e filtradas sob vácuo através de um filtro com um diâmetro de poro de 0,20 µm. A glucose foi quantificada num sistema HPLC (Waters) equipado com um detector de índice de refração (Waters 2414) e uma coluna Rezex<sup>TM</sup> ROA de Ácido Orgânico H<sup>+</sup> (8%) de 300 mm × 7,8 mm (phenomenex), a 65 °C. O ácido sulfúrico (5 mM) foi utilizado como fase móvel a 0,5 mL.min<sup>-1</sup>. A análise foi realizada em triplicado e os resultados expressos em gramas de glucose por 100 mL de amostra.

O teor de hidratos de carbono total foi realizado em triplicado e de acordo com o método Dubois (DUBOIS *et al.*, 1951). Os resultados são expressos em gramas de hidratos de carbono total por 100 mL de amostra.

O teor em cinzas foi determinado por gravimetris através da incineração de triplicados a 550 °C numa mufla (Snol LHM01, Utena, Lithuania) de acordo com o método AOAC 923.03 (2005). Os resultados são expressos em gramas de cinzas por 100 mL de amostra.

A matéria seca também foi determinada por gravimetria através da secagem a 105 °C numa estufa (Binder, Germany) até a amostra atingir um peso constante, de acordo

com o método AOAC 934.01 (2000), e em triplicados. O resíduo sólido nas bebidas foi calculado em percentagem.

O valor energético de cada bebida à base de leguminosas foi calculado considerando os factores de conversão (Regulation (EC) No 1169/2011) para proteína (4 kcal/g; 17kJ/g), gordura (9 kcal/g; 37kJ/g) e hidratos de carbono (4 kcal/g; 17kJ/g). O cálculo do teor em gordura para cada bebida teve em conta que 10 g de semente de leguminosa seca (em 100 mL) contém 0,50 g de gordura no grão-de-bico e 0,24 g de gordura no tremçoço (PortFIR, 2019).

O conteúdo em minerais foi avaliado por espectrometria de emissão atômica (ICP-OES: iCAP 7000 Series Spectrometer equipado com um ASX-520 AutoSampler, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) baseado no método AOAC 984.27 (2000). Resumidamente, 5 mL de cada amostra foi transferida para recipientes de digestão, onde se adicionaram 9 mL de HCl (37%) e 3 mL de HNO<sub>3</sub> (65%). A digestão (SCP Science, DigiPREP MS, Baie d'Urfe, QC, Canada) ocorreu a 15 min/ 45 °C, 15 min/ 80 °C, e 60 min/ 105 °C. Após o arrefecimento, adicionaram-se 50 mL de água destilada, e deixou-se a solução em repouso. Por fim, o sobrenadante límpido foi utilizado para a análise no ICP. Foram identificados onze elementos (Na, K, Ca, Mg, P, S, Fe, Cu, Zn, Mn, B) nos triplicados. Os resultados são expressos em mg de mineral por 100 mL de amostra.

## 2.6 ANÁLISE DE ANTI-NUTRIENTES

O teor em ácido fítico nas bebidas foi determinado em triplicados utilizando o método de Gao e colaboradores (2007). Resumidamente, as amostras liofilizadas foram mantidas sob agitação a 220 rpm durante 16 h em solução de HCl a 2.4% (v/v) (1:20 p/v). As amostras foram posteriormente centrifugadas a 1,000 x g, durante 20 min a 10 °C, numa centrífuga Beckman Coulter™ Allegra™ 25R até se obterem sobrenadantes límpidos. Os sobrenadantes foram recolhidos para o desenvolvimento de cor. Obteve-se previamente uma curva de calibração a partir de uma solução de ácido fítico com uma concentração de 25 mg/mL (SC-250718, Santa Cruz Biotechnology) variando entre 0 a 3,5 mg/mL. Às amostras foi adicionado um volume do reagente de Wade modificado (0,03% (w/v) FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O + 0,3% ácido sulfosalicílico (p/v)) na proporção de 3:1 (v/v), seguindo-se a sua mistura completa num vortex e centrifugação a 1.000 x g por 10 min a 10 °C, numa centrífuga Himac CT15RE. A leitura da absorvância foi medida a 500 nm no espectrofotómetro Synergy HT, da Bio-TEK. Os resultados finais são expressos em gramas de ácido fítico por 100 mL de bebida e em mg/g de ácido fítico por peso de bebida.

A actividade das lectinas (actividade hemaglutinante) das amostras de extractos proteicos foi realizada de acordo com o método descrito por Ribeiro e colaboradores (2012). Resumidamente, ambas as bebidas de grão-de-bico e de tremçoço, bem como as suas *digesta*, foram primeiro desalinizadas através de colunas PD-10 previamente equilibradas em solução salina (0.9% p/v NaCl), seguida de ultra filtração a 1.400 x g e 4 °C (Macrosep MWCO: 10kD, Pall Corporation), por forma a lavar todas as amostras com a solução salina e a reduzi-las a volumes contendo 50 e 100 µg of protein. A última centrifugação foi efectuada com uma solução salina contendo CaCl<sub>2</sub> a 2 mM e MgCl<sub>2</sub> a 2 mM. Para a determinação da actividade hemaglutinante, foram utilizados 5 mL de eritrócitos de Coelho e as amostras foram lavadas três vezes em solução salina por centrifugação (1.800 x g, 12 °C, 6 min), tendo sido posteriormente incubadas com tripsina (Sigma, T0303), numa concentração final de 0,1% (w/v) de solução salina, e agitadas a 120 rpm por 1 h a 37 °C. A suspensão de 4% (v/v) de eritrócitos tripsinizados, foi armazenada a 4 °C e utilizada posteriormente nos ensaios da actividade hemaglutinante. As determinações da actividade hemaglutinante exigiram a análise de proteínas (50-100 µg em solução salina de 50-70 µL) diluídas em série (1:2) numa microplaca de 96 pocilhos. A suspensão de eritrócitos (50-70 µL) foi adicionada e a microplaca incubada por 30 min a 37 °C antes da avaliação visual. Os controlos positivo (lectina Con-A (concanavalina A) a 0,5 mg/mL) e negativo (salina) foram preparados. Uma U.H. (Unidade de Hemaglutinação) é definida como a concentração mínima de proteína que induz a aglutinação eritrocitária (n refere-se à diluição).

$$U. H. = \frac{\text{Concentração da Proteína Total}}{2^{n-1}}$$

## 2.7 ENSAIOS *IN VITRO* COM CÉLULAS HT-29

### 2.7.1 Culturas celulares HT29

Foi utilizada a linhagem celular de adenocarcinoma de cólon humano, HT29 (ECACC 85061109), obtida de uma mulher branca de 44 anos. As células HT29 foram mantidas de acordo com o trabalho de Lima e colaboradores (2016).

### 2.7.2 Ensaio de cicatrização de feridas

Para a análise da migração celular, realizou-se o ensaio de cicatrização de feridas (*wound healing assay*) de acordo com Lima e colaboradores (2016). As células HT29 foram crescidas em placas com 24 poços (5x10<sup>5</sup> células/poço) durante 24h ou

até 80% de confluência. Cada poço foi, subsequentemente, suplementado com meio RPMI fresco contendo as soluções aquosas dos extratos proteicos de ambas as bebidas, numa concentração de 100 µg.mL<sup>-1</sup>. A área invadida após as 48h foi calculada para cada tratamento e comparada com a área inicial do corte às 0 horas.

### 2.7.3 Ensaios de viabilidade e proliferação celular

A cultura celular HT29 foi semeada em placas de 96 poços (2x10<sup>4</sup> cells/well), os extratos proteicos solúveis de ambas as bebidas foram adicionados numa concentração de 100 µg.mL<sup>-1</sup> como descrito acima e as células foram incubadas durante 48h. O meio extracelular foi colhido e as células foram lavadas com PBS (tampão fosfato-salino) para remover a debris celular, e o crescimento e viabilidade celular foram determinados usando o ensaio do MTT (3-[4,5-dimethylthiazole-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) tal como descrito anteriormente (LIMA *et al.*, 2016).

### 2.7.4 Actividade catalítica da MMP-9 em células HT29

As actividades gelatinolíticas da MMP-9 em meio de cultura após a exposição a ambas as bebidas durante 48h foram determinadas usando o ensaio DQ (dye-quenched) gelatina como descrito por Lima *et al.* (2016).

## 2.8 BIOACTIVIDADE ANTIGELATINOLÍTICA DE AMBAS AS BEBIDAS E DIGESTA RESPETIVA

As bebidas de tremço e grão-de-bico tal como as respectivas frações solúveis das *digesta* foram testadas no ensaio de actividade gelatinolítica (descrito em 2.7.4) para se compreender a sua actividade inibitória contra a MMP-9.

Este ensaio consiste na proteólise de gelatina com fluorescência intrínseca adquirida na *Invitrogen* (Carlsbad, CA, EUA). A gelatina DQ foi dissolvida em água bidestilada, com uma concentração final de 1 mg/mL. Todas as soluções e diluições foram preparadas com o tampão de ensaio (50 mM Tris-HCl buffer, pH 7,6, containing 150 mM NaCl, 5 mM CaCl<sub>2</sub> and 0,01% v/v Tween 20). O ensaio foi realizado numa placa de 96 poços (chimney, 96-well, preta). Em cada poço foi adicionado 0,1 mM de MMP-9 (Sigma), 100 µg/mL da fração total proteica de cada bebida e também das *digesta* (para um volume final de 200 µL) e a placa foi incubada a 37 °C durante 1h. Subsequentemente, a DQ-gelatin (numa concentração final de 2,5 µg/mL) foi adicionada a cada poço e a placa foi incubada novamente durante 1h. Os valores de fluorescência foram medidos (ex. 485 nm/em. 530 nm). Em cada ensaio, um controlo positivo (sem fração proteica) e um negativo

(sem enzima) foram incluídos para todas as amostras, para corrigir possíveis actividades proteolíticas presentes nas amostras proteicas. Todos os dados foram corrigidos através da subtração dos controlos negativos correspondentes. Foram realizados triplicados por amostra.

## 2.9 DESENHO EXPERIMENTAL

O delineamento inteiramente casualizado (Complete Randomized Design (CRD)) foi utilizado devido à baixa variabilidade na produção e digestão das bebidas (2 factores). As duas bebidas de leguminosas foram submetidas a treze procedimentos analíticos diferentes (13 níveis) tendo resultado em nove resultados físico-químicos, valor de bioaccessibilidade, actividade inibitória da MMP-9 e avaliação da migração e proliferação das células cancerígenas. As duas *digesta* respectivas também foram testadas para a actividade da lectina, teor em minerais, estimativa da bioaccessibilidade e actividade inibitória sobre a MMP-9 (4 níveis). O número de réplicas foi no mínimo 3.

## 2.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O tratamento estatístico dos dados foi realizado no software SPSS Statistics (v.20, IBM SPSS Statistics, New York, USA). Procedeu-se à análise de variância (one-way ANOVA) para avaliar as diferenças significativas entre amostras com um nível de significância de 95% ( $p < 0,05$ ). Para comparações múltiplas utilizou-se o teste Tukey HSD.

# 3 RESULTADOS

## 3.1 COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL

O perfil nutricional das bebidas de leguminosas é mostrado na Tabela 1. A contribuição energética da proteína, dos hidratos de carbono e da gordura é de 24,2%, 6,4% e 8,4% na bebida de grão-de-bico e de 51,5%, 41,6% e 6,9% na bebida de tremçoço, respectivamente.

A avaliação da composição nutricional revelou que as bebidas de tremçoço e de grão-de-bico são importantes fontes de proteína. A bebida de tremçoço apresentou maior (4,05% p/v) valor significativo ( $p < 0,05$ ) do que a bebida de grão-de-bico (3,24% p/v).

O teor de amido significativamente maior na bebida de grão-de-bico (1,391 g/100 mL), comparativamente com o da bebida de tremçoço (0,008 g/100 mL), já era espectável pelo conteúdo em amido dessas leguminosas: 10 g de sementes secas (em 100 mL) contêm 4,5 g de amido no grão-de-bico e 0,7 g no tremçoço (PortFIR, 2019). Os

valores obtidos nas bebidas confirmaram a libertação de amido das sementes durante o processamento/cozimento e são compatíveis com a sua composição e teor de hidratos de carbono (também significativamente maior na bebida de grão-de-bico). Além disso, a bebida de grão-de-bico não continha amido resistente e apresentou hidrólise do amido em glucose, após se ter adicionado  $\alpha$ -amilase durante o processamento (dados não mostrados) com o objectivo de se ultrapassar a sua grande viscosidade/consistência causada pela gelatinização do amido (como observado em nosso trabalho anterior (LOPES *et al.*, 2020).

A bebida de tremoço apresentou um teor de glucose significativamente maior ( $p < 0,05$ ) do que a bebida de grão-de-bico (Tabela 1). O *Lupinus albus* não armazena glucose na forma de amido nas sementes como o grão-de-bico, mas é naturalmente rico em oligossacáridos contendo glucose (RAYAS-DUARTE & MOHAMED, 1995; BARNEVELD, 1999).

O baixo teor em cinzas em ambas as bebidas era espectável já que só contêm 10% (p/v) de semente seca.

Tabela 1. Comparação da composição nutricional nas bebidas à base de leguminosas. Os valores estão representados como média  $\pm$  desvio padrão (DP) (n=3). Letras distintas nas amostras por parâmetro, evidenciam diferenças significativas entre elas ( $p < 0,05$ ). \*cálculos explicados na secção 2.5.

Bebida	Energia (kcal/100 mL)  (kJ/100 mL)	Proteína (g/100 mL)	Total de Hidratos de carbono  (g/100 mL)	Amido (g/100 mL)	Glucose (g/100 mL)	Gordura* (g/100 mL)	Cinzas (g/100 mL)	Humidade (%)
<b>Grão-de-bico</b>	53,5 <sup>a</sup> $\pm$ 1,57 (226,7 $\pm$ 6,67)	3,2 <sup>b</sup> $\pm$ 0,16	9,0 <sup>a</sup> $\pm$ 0,34	1,38 <sup>a</sup> $\pm$ 0,220	0,06 <sup>b</sup> $\pm$ 0,000	0,50	0,16 <sup>b</sup> $\pm$ 0,010	93,9 <sup>a</sup> $\pm$ 0,15
<b>Tremoço</b>	31,4 <sup>b</sup> $\pm$ 1,96 (133,3 $\pm$ 8,31)	4,1 <sup>a</sup> $\pm$ 0,25	3,3 <sup>b</sup> $\pm$ 0,65	0,01 <sup>b</sup> $\pm$ 0,060	0,09 <sup>a</sup> $\pm$ 0,000	0,24	0,20 <sup>a</sup> $\pm$ 0,020	93,8 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02

### 3.2 ANÁLISE DE ANTI-NUTRIENTES

Tendo em conta o ácido fítico, este anti-nutriente pode formar complexos com as proteínas, alterando a sua estrutura, tornando-as menos solúveis, e isto afecta a degradação enzimática e a digestão peptídica (CHITRA *et al.*, 1996; KUMAR *et al.*, 2010). Apesar disso, os resultados mostraram que o teor em ácido fítico nas duas bebidas de



leguminosas (Tabela 2) não inibiu as enzimas digestivas durante a digestão estática, nem prejudicou a digestibilidade das suas proteínas. Este facto foi confirmado pela boa bioacessibilidade dos peptídeos produzidos durante a digestão *in vitro* de ambas (Tabela 3).

Tabela 2. Teor em ácido fítico nas bebidas à base de leguminosas. Os valores estão representados como média  $\pm$  DP (n=3). Letras distintas nas amostras evidenciam diferenças significativas entre elas ( $p < 0.05$ ).

Bebida	Ácido fítico (g/100 mL)
Grão-de-bico	0,78 <sup>b</sup> $\pm$ 0,010
Tremoço	0,83 <sup>a</sup> $\pm$ 0,000

Tabela 3. Teor em proteína antes e após a digestão *in vitro* das bebidas de grão-de-bico e de tremoço. As percentagens da bioacessibilidade são evidenciadas para cada par bebida-digesta. Os valores estão representados como média  $\pm$  DP (n=3). As mesmas letras no teor em proteína por amostrta evidenciam uma diferença não significativa entre os parâmetros ( $p \geq 0.05$ ).

	Teor em proteína na bebida (%)	Proteína solúvel após digestão (%)	Bioacessibilidade (%)
Grão-de-bico	3,2 <sup>a</sup> $\pm$ 0,16	3,3 <sup>a</sup> $\pm$ 0,07	100%
Tremoço	4,1 <sup>b</sup> $\pm$ 0,25	3,9 <sup>b</sup> $\pm$ 0,00	96%

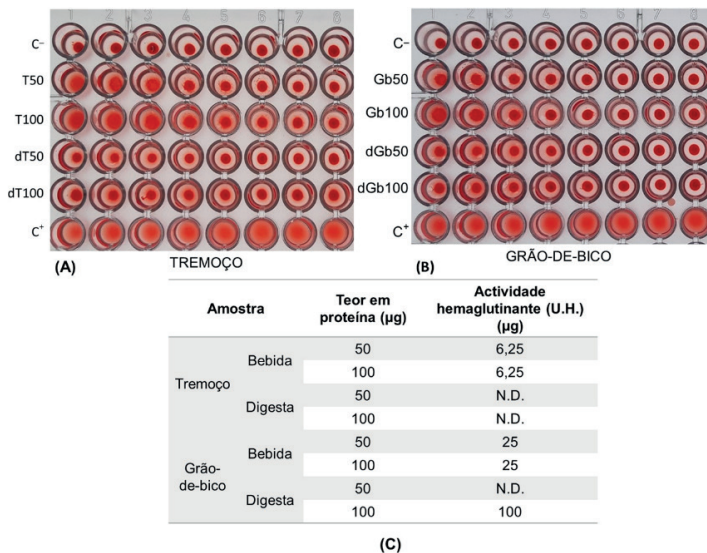
O ácido fítico também pode bloquear a absorção de minerais dos alimentos, interferindo na biodisponibilidade de nutrientes, afectando a absorção intestinal de alguns minerais essenciais importantes e necessários para atender às necessidades de cálcio, magnésio, ferro e zinco (FRONTELA *et al.*, 2011) no corpo humano. Ainda assim, o teor em ácido fítico existente nas bebidas (Tabela 2) não evidenciou interferência na digestão dos minerais já que os catiões bivalentes, tais como o Ca, o Mg e o Fe, mostraram bioacessibilidade após a digestão *in vitro* (Tabela 4). O efeito do tratamento térmico da etapa de cozedura foi mais eficiente para amolecer o tecido vegetal nas sementes de grão-de-bico do que nas do tremoço, permitindo uma maior permeabilidade dos minerais e do ácido fítico para a água de cozedura, sendo assim perdidos no processo. Isto pode explicar a bioacessibilidade relevante dos catiões bivalentes na bebida de tremoço, e a sua concentração ligeiramente superior (0,83 contra 0,78 g/100mL) de ácido fítico, quando comparado com a bebida de grão-de-bico.

Tabela 4. Teor em minerais antes e após a digestão *in vitro* das bebidas de grão-de-bico e de tremoço. As percentagens da bioacessibilidade são evidenciadas para cada par bebida-*digesta*. A contribuição mineral de 100 mL de bebida à base de leguminosas, tendo em conta os valores de ingestão dietética de referência (dietary reference intakes (DRI)) para adultos (Regulation (EC) No 1169/2011; THE NATIONAL ACADEMIES PRESS, 2019) está também apresentado como percentagem. Os valores estão representados como média ± DP (n=3). Letras diferentes por elemento mineral representam uma diferença significativa entre as bebidas (p < 0,05).

Teor em minerais								
	Bebida de grão-de-bico (mg/100 mL)	% DRI	Fracção solúvel após digestão (mg/100 mL)	Bioacessibilidade (%)	Bebida de tremoço (mg/100 mL)	% DRI	Fracção solúvel após digestão (mg/100 mL)	Bioacessibilidade (%)
<b>Na</b>	14,24 <sup>b</sup> ± 1,551	0,95	-	-	17,62 <sup>a</sup> ± 0,972	1,17	-	-
<b>K</b>	35,2 <sup>b</sup> ± 2,532	1,76	-	-	42,10 <sup>a</sup> ± 1,922	2,10	2,41 ± 1,091	5,73
<b>Ca</b>	15,27 <sup>b</sup> ± 0,660	1,91	-	-	23,62 <sup>a</sup> ± 0,800	2,95	0,69 ± 0,190	2,93
<b>Mg</b>	7,94 <sup>b</sup> ± 0,481	2,15	0,33 ± 0,01	4,15	10,64 <sup>a</sup> ± 0,643	2,87	1,32 ± 0,182	12,43
<b>P</b>	19,89 <sup>b</sup> ± 0,723	2,84	-	-	37,32 <sup>a</sup> ± 1,682	5,33	5,35 ± 0,551	14,33
<b>S</b>	13,92 <sup>b</sup> ± 0,721	-	-	-	19,28 <sup>a</sup> ± 0,261	-	1,86 ± 1,071	9,65
<b>Fe</b>	0,36 <sup>b</sup> ± 0,010	2,79	-	-	0,77 <sup>a</sup> ± 0,010	5,94	0,24 ± 0,000	31,43
<b>Cu</b>	0,06 <sup>a</sup> ± 0,000	6,50	-	-	0,05 <sup>a</sup> ± 0,000	6,05	0,005 ± 0,002	8,57
<b>Zn</b>	0,17 <sup>b</sup> ± 0,011	1,82	-	-	0,33 <sup>a</sup> ± 0,000	3,50	-	-
<b>Mn</b>	0,19 <sup>b</sup> ± 0,010	9,03	0,01 ± 0,000	2,94	3,36 <sup>a</sup> ± 0,171	163,68	0,19 ± 0,000	5,64
<b>B</b>	0,03 <sup>b</sup> ± 0,000	0,13	-	-	0,06 <sup>a</sup> ± 0,000	0,32	-	-

No que diz respeito à avaliação da actividade de lectina nas bebidas à base de leguminosas (Figura 1), obtida através do ensaio de hemaglutinação, foi evidenciado uma maior actividade na bebida de tremoço (U.H. 6,25 µg), apesar da concentração proteica, quando comparada com a respectiva *digesta* sem actividade de lectina (Figura 1 (A), (C)) e com a bebida de grão-de-bico (U.H. 25 µg) (Figura 1 (B) (C)). Quanto à bebida de grão-de-bico, a sua *digesta* não revelou nenhuma actividade hemaglutinante para as 50 µg de proteína testada, e um valor U.H. de 100 µg para o teor proteico mais elevado, o que significa uma actividade de lectina muito baixa.

Figura 1. Actividades hemaglutinantes (A) e (B): diluições seriadas (1:2) dos extractos das bebidas e das *digesta* (50 µg ou 100 µg de proteína; T - tremoço, dT – *digesta* de tremoço, Gb – grão-de-bico, dGb – *digesta* de grão-de-bico), controlos negativo (C-; salina) e positivo (C+; 35 µg Con-A). (C) Actividade hemaglutinante U.H. (µg) das amostras testadas. (N.D. não detectado)



### 3.3 BIOACESSIBILIDADE PROTEICA E DE MINERAIS

As bebidas de grão-de-bico e de tremoço evidenciaram muito boa digestibilidade da proteína, traduzidos em valores de bioacessibilidade de 102% e de 96%, respectivamente (Tabela 3). Os valores de bioacessibilidade acima de 100% podem ter resultado de um erro experimental relacionado com a metodologia de quantificação proteica. Apesar disso, não há diferença significativa entre os teores proteicos das bebidas e das fracções solúveis das *digesta*. Os resultados indicaram que as bebidas à base de leguminosas neste estudo contêm péptidos solúveis completamente digeridos, o que é promissor relativamente à disponibilidade de proteínas para absorção após a digestão das bebidas.

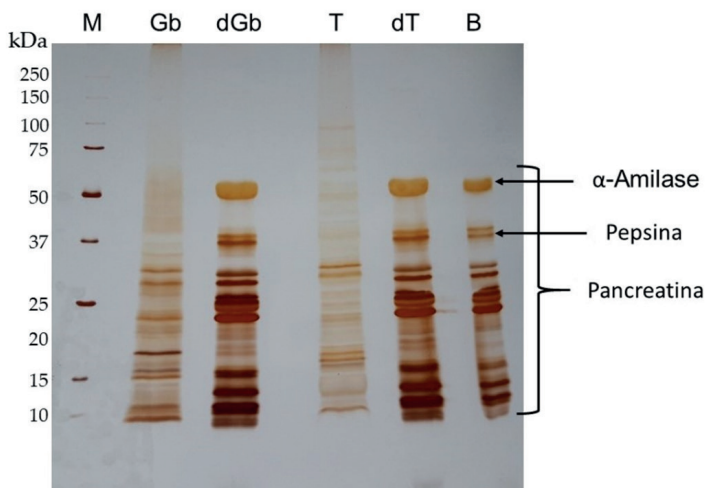
A bebida de tremoço apresentou o teor mais alto em minerais quando comparado com a bebida de grão-de-bico, e foi significativo ( $p < 0,05$ ) para a maioria dos elementos (Tabela 4). Tendo em conta as fracções solúveis (biodisponíveis) obtidas da digestão *in vitro*, a maioria dos elementos minerais da bebida de grão-de-bico não estava bioacessível, excepto para o magnésio e manganês com somente 4,15% e 2,94%, respectivamente. Por outro lado, a bebida de tremoço apresentou valores de bioacessibilidade para a maioria dos minerais, dos quais, o ferro com 3,43%, o fósforo com 14,33% e o magnésio com 12,43%. Estes valores podem ser explicados pela riqueza intrínseca em minerais do tremoço quando comparados com as sementes de grão-de-bico utilizadas.

### 3.4 ANÁLISE DA HIDRÓLISE PROTEICA

A digestão proteica pelo método *in vitro* estático (BRODKORB *et al.*, 2019) foi evidenciada por electroforese (Figura 2). As diferenças no perfil polipeptídico entre a bebida e a respectiva *digesta* total são evidentes no gel corado pelo método do nitrato de prata, que possui sensibilidade para revelar os polipeptídeos de baixo peso molecular. A bebida de tremoço (T) apresentou um amplo perfil polipeptídico com pesos moleculares mais representativos que a bebida de grão-de-bico (Gb), enquanto as *digesta* apresentaram polipeptídeos com pesos moleculares inferiores a 50 kDa misturados com as enzimas comerciais adicionadas. Comparando diferenças entre os perfis das *digesta* e do branco enzimático, as *digesta* exibiram alguns péptidos de baixo peso molecular (< 10 kDa) e vários polipéptidos inferiores a 25 kDa, que eram distintos do branco (B). Este facto revelou a grande digestibilidade sofrida pela *digesta* em resultado das enzimas utilizadas.

O perfil electroforético do controlo enzimático (B) tem uma correspondência com as *digesta* das bebidas, evidenciando todas as enzimas utilizadas durante o protocolo, tal como esperado. A  $\alpha$ -amilase que se utilizou evidenciou ter um peso molecular entre 58-62 kDa, a pepsina 36 kDa e a pancreatina engloba um grupo de várias enzimas com pesos moleculares desde 13 a 64 kDa (49) (Figura 2).

Figura 2. Hidrólise proteica após a digestão *in vitro*. Gel obtido em condições redutoras de SDS-PAGE e corado com nitrato de prata (17,5% p/v poliacrilamida). Os pesos moleculares expectáveis estão indicados para os padrões de pesos moleculares. A quantidade de proteína carregada em cada linha é de 15  $\mu$ g para as bebidas de grão-de-bico ou de tremoço, e de 7  $\mu$ g para as duas *digesta* e para o branco enzimático. Abreviaturas: M – marcadores de pesos moleculares proteicos; Gb – polipéptidos da bebida de grão-de-bico; dGb – polipéptidos da *digesta* inteira de grão-de-bico; T – polipéptidos da bebida de tremoço; dT – polipéptidos da *digesta* inteira de tremoço; B – controlo do branco enzimático.



### 3.5 BIOACTIVIDADES

Para se compreender se as condições de processamento das bebidas de ambas as sementes de leguminosas, mantiveram o seu potencial anti-inflamatório e anticancerígeno, particularmente em relação à sua capacidade inibitória da gelatinase MMP-9 (uma metaloprotease de matriz relacionada com a inflamação e o cancro), foi testada a actividade inibitória das frações proteicas solúveis de ambas as bebidas contra a MMP-9 *in vitro*, bem como o seu potencial contra a proliferação e migração de células de cancro do cólon, usando uma linhagem celular HT29. A Tabela 5 mostra a actividade inibitória dos extratos proteicos de ambas as bebidas (100 µg.mL<sup>-1</sup>) contra a actividade da MMP-9, migração de células cancerígenas HT29, usando o ensaio de cicatrização de feridas, bem como a proliferação de células cancerígenas HT29, usando o ensaio do MTT.

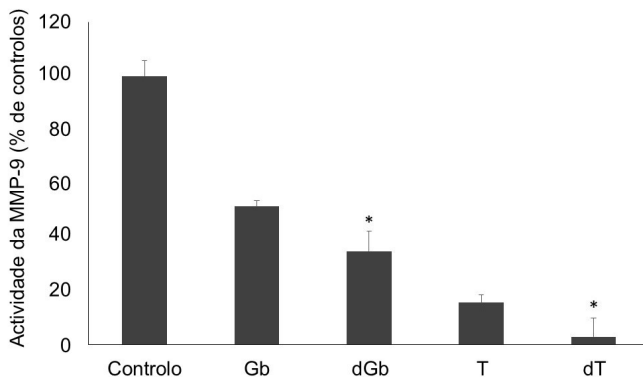
Tabela 5. Efeito dos extratos proteicos das bebidas de grão-de-bico e tremoço contra a actividade da MMP-9, migração e proliferação nas células HT29. As células foram expostas aos extratos proteicos de cada bebida com a concentração de 100 µg.mL<sup>-1</sup>. A actividade da MMP-9 foi avaliada através do ensaio de DQ-gelatina. A migração celular foi avaliada através do ensaio de cicatrização de feridas e a proliferação celular foi avaliada através do ensaio do MTT. Os valores são apresentados como percentagem de controlos e expressos como médias ± DP (n=3). As letras diferentes representam valores significativos para p < 0,05 vs. controlo.

	Actividade MMP-9 (% de controlos)	Migração celular (% de controlos)	Proliferação celular (% de controlos)
Bebida de grão-de-bico	23,01 ± 0,430 <sup>a</sup>	71,94 ± 17,372 <sup>a</sup>	89,33 ± 10,870
Bebida de tremoço	12,22 ± 1,211 <sup>a</sup>	43,35 ± 16,861 <sup>b</sup>	82,84 ± 4,912

Os resultados mostram que ambas as bebidas de leguminosas foram capazes de reduzir significativamente (p < 0,05) a actividade da MMP-9 e a migração das células cancerígenas HT29, embora não reduza a proliferação celular nas HT29 de maneira significativa. Embora ambas as bebidas apresentem resultados semelhantes na actividade da MMP-9 e na proliferação celular, a redução na migração celular foi significativamente maior (p < 0,05) com a bebida de tremoço quando comparada à bebida de grão-de-bico.

Avaliámos, ainda, se a actividade inibitória de ambas as bebidas contra a MMP-9 também se mantinha após a digestão, comparando o efeito de ambas as bebidas e as respectivas *digesta* na actividade da MMP-9 comercial usando o ensaio de DQ-gelatina. Os resultados obtidos estão presentes na Figura 3.

Figura 3. Efeito dos extratos de bebidas e *digesta* (T - tremçoço,dT – *digesta* tremçoço, Gb – grão-de-bico, dGb – *digesta* grão-de-bico) na actividade gelatinolítica da MMP-9, avaliada pelo método da DQ-gelatina. A actividade da MMP-9 é expressa como fluorescência relativa como % de controlo e corresponde à média de pelo menos 3 réplicas (n = 3) ± DP. \* p < 0,05.



No geral, ambas as bebidas apresentaram actividades inibitórias muito significativas contra a MMP-9 comercial ( $p < 0,001$ ), e foram consideravelmente maiores após a digestão *in vitro*, particularmente a bebida de tremçoço, com uma redução de 96% da actividade da MMP-9, em contraste com a bebida de grão-de-bico, para a qual foi obtida inibição de 48% ( $p < 0,05$ ).

#### 4 DISCUSSÃO

As sementes de leguminosas escolhidas para o desenvolvimento de novas bebidas vegetais, como o grão-de-bico e o tremçoço, apresentaram um teor em proteína semelhante ao do leite de vaca, sendo portanto boas alternativas não lácteas. Apenas a proteína da bebida de soja, com exceção das quantidades reduzidas de cisteína e metionina, é comparável à do leite de vaca, quando se discute as suas composições nutricionais e os benefícios para a saúde de entre as alternativas vegetais comercializadas (VANGA & RAGHAVAN, 2018). Diversas vantagens para a saúde humana são atribuídas às proteínas do grão-de-bico e às proteínas do tremçoço: a lectina  $\gamma$ -conglutina do tremçoço, uma globulina composta por subunidades de 42 kDa, apresentou propriedades benéficas através do seu efeito redutor da glicémia, sendo adequada para diabéticos (GRÁCIO *et al.*, 2021; MAGNI *et al.*, 2004); a proteína deflamina encontrada em sementes de leguminosas, nomeadamente tremçoço e grão-de-bico, demonstrou ser anti-inflamatória em modelos *in vitro* com várias linhas celulares de cancro do cólon, bem como em modelos *in vivo* de doença aguda e crónica, apresentando uma bioactividade inibitória contra a MMP-9 (MOTA *et al.*, 2021; GUERREIRO, 2016). Também a proteína de reserva da semente  $\beta$ -conglutina do *Lupinus albus*, exerceu acção na modulação

glicémica e reduziu o colesterol circulante (GUZMÁN *et al.*, 2021), e um fungicida glico-oligómero natural de 210 kDa, denominado “oligómero que contém Blad” presente em *Lupinus albus* mostrou uma potente actividade antifúngica contra fungos humanos e fitopatogénicos (CARREIRA *et al.*, 2018).

As etapas tecnológicas utilizadas para a produção de bebidas, como a demolha, a cozedura sob pressão e a pasteurização, juntamente com as águas descartadas da demolha e da cozedura, conduziram a valores de ácido fítico de 7,1 e 7,6 mg/g em bebidas de grão-de-bico e tremoço, respectivamente, comparando com os teores mais elevados de ácido fítico entre 9,6 e 12,1 mg/g para o grão-de-bico e para o tremoço cozido noutros estudos (SHI *et al.*, 2018). Esta diferença pode ser devida à combinação de um maior tempo de demolha (16 h) e maior lixiviação durante a etapa de cozedura, o que pode ter levado a uma redução do ácido fítico final e do conteúdo de outros factores anti-nutricionais nas bebidas.

Foram observadas várias diferenças entre os minerais na literatura disponível (CABRERA *et al.*, 2003; ÖZCAN *et al.*, 2013). Essas variações podem ser devido aos diferentes equipamentos utilizados na análise (espectroscopia de absorção atómica versus ICP-OES), concomitantemente com as diferenças de variedade de leguminosas, condições edafoclimáticas, período de colheita e/ou estado nutricional das plantas que podem influenciar o conteúdo mineral das sementes. Por outro lado, os diferentes métodos de digestão *in vitro* não permitem uma comparação precisa entre a biodisponibilidade mineral das sementes de leguminosas e os estudos realizados anteriormente. Apesar disso, os resultados de Zhang e colaboradores (2018) mostraram que a semente de tremoço doce cozida é uma boa fonte de K, Ca, Mg e Mn, e todas as bioacessibilidades minerais do tremoço encontradas eram superiores às obtidas neste trabalho. Estes resultados também podem ser explicados pela possível lixiviação de minerais durante a produção de bebidas, o que pode levar à redução da sua bioacessibilidade (ROUSSEAU *et al.*, 2020). A contribuição mineral de 100 mL das bebidas à base de leguminosas para atingir a ingestão dietética de referência (DRI) estabelecida para adultos (Regulation (EC) No 1169/2011; THE NATIONAL ACADEMIES PRESS, 2019) (Tabela 4) foi maior na bebida de tremoço para a maioria dos elementos minerais, excepto para o cobre na bebida de grão-de-bico, mas todos os valores obtidos foram inferiores ao do leite de vaca (MANUELIAN *et al.*, 2018) e às bebidas vegetais comerciais (SINGHAL *et al.*, 2017). Isto é explicado pelo facto das bebidas à base de plantas geralmente apresentarem grandes variações nas suas propriedades nutricionais e grande discrepância nos nutrientes e na sua biodisponibilidade quando comparadas com o leite (MAKINEN *et al.*, 2016; VANGA

& RAGHAVAN, 2018), o que conduz a potenciais deficiências nutricionais se não forem bem equilibradas através da dieta alimentar (SCHOLZ-AHRENS *et al.*, 2020). Em geral, a composição das bebidas vegetais comerciais contem diversos aditivos, incluindo minerais (especialmente cálcio) e vitamina D, para mimetizar as características nutricionais do leite de vaca (VANGA & RAGHAVAN, 2018). Porém, o objetivo deste trabalho foi desenvolver uma tecnologia para a obtenção de uma bebida à base de leguminosas que incorporasse a maior quantidade de componentes da semente (incluindo a casca), sem aditivos, indo ao encontro do conceito *clean label* e *zero waste*.

Apesar disso, as bebidas à base de leguminosas obtidas neste trabalho não podem ter alegação nutricional para os minerais, exceto no manganês (DRI > 7,5%) (Regulation (EC) No 1169/2011), cujos valores de bioacessibilidade foram de 2,94% e 5,64% para a bebida de grão-de-bico e bebida de tremoço, respectivamente. Esta informação é essencial para que os consumidores conheçam o conteúdo nutricional fiável da bebida (ou alimento), uma vez que deve ser considerada não só a concentração inicial do nutriente a reivindicar, mas também o seu valor de bioacessibilidade após a digestão. Assim, poderia ser legítimo considerar que se a bebida de tremoço (mesmo sem a alegação: “fonte de ferro”) apresenta uma bioacessibilidade do ferro de 31,43%, isto deverá ser considerado aquando da sua rotulagem, já que seria uma boa alternativa para os consumidores vegetarianos pois geralmente apresentam deficiências em ferro (PAWLAK *et al.*, 2016). Esta discussão é cada vez mais relevante quando pensamos no significado de uma alegação nutricional que, na nossa opinião, não pode ser completa a menos que seja considerada a bioacessibilidade do nutriente. Na verdade, o mesmo método *in vitro* e a avaliação da bioacessibilidade mineral do leite de vaca e do leite de soja devem ser usados em estudos futuros para comparar com precisão as diferenças entre estas duas bebidas à base de leguminosas.

O método *in vitro* (BRODKORB *et al.*, 2019) utilizado para mimetizar a digestão humana das bebidas à base de leguminosas, evidenciou sucesso na hidrólise das proteínas. No entanto, alguns polipéptidos com 10 kDa (80 a 90 resíduos de aminoácidos) foram revelados na *digesta* inteira e, se solúveis, estes péptidos provavelmente não serão absorvidos pelo intestino delgado. Aqueles que são transportados activamente nas células epiteliais intestinais são os tripéptidos, dipéptidos e aminoácidos livres. Mas a digestão de proteínas no intestino delgado resulta numa mistura de oligopéptidos dominados por di- a hexapéptidos (FREEMAN *et al.*, 1979). Esses oligopéptidos ainda são hidrolisados pela catálise de peptidases existentes na membrana plasmática apical dos enterócitos do lúmen intestinal (“brush border” peptidases). O modelo de digestão *in vitro* utilizado neste trabalho não inclui estas peptidases (BRODKORB *et al.*, 2019), portanto



não se pode esperar que as bebidas de leguminosas sejam completamente degradadas em aminoácidos livres, di- e tripéptidos (RIEDER *et al.*, 2021).

Os resultados também mostraram que as proteínas em ambas as bebidas foram bem digeridas e que, além disso, as poucas lectinas presentes foram na sua maioria hidrolisadas, sugerindo assim uma boa digestibilidade. Apesar da maioria das lectinas serem resistentes à degradação pelas enzimas digestivas, a sua actividade foi claramente reduzida após a digestão destas bebidas, evidenciando o sucesso da etapa de cozedura na inactivação destas proteínas, o que contribuiu para o aumento nutricional das bebidas (RIBEIRO *et al.*, 2018). Curiosamente, as poucas proteínas de baixo peso molecular que parece não terem sido afetadas pela digestão *in vitro*, apresentaram pesos moleculares semelhantes à proteína bioactiva identificada anteriormente em sementes de grão-de-bico e de tremoço, que possui bioactividades inibitórias para as gelatinases MMP-9 e MMP-2 (LIMA *et al.*, 2016; MOTA *et al.*, 2021), particularmente no tremoço, onde se descobriu que um oligómero de baixo peso molecular, com forte actividade inibitória da MMP-9, sobreviveu à proteólise durante a digestão e foi eficaz na redução da colite *in vivo* (MOTA *et al.*, 2021). Se estas bioactividades forem mantidas, poderão acrescentar mais valor às nossas bebidas.

De facto, os nossos resultados relativos às bioactividades das bebidas à base de tremoço e à base de grão-de-bico (tabela 5), mostraram que ambas apresentam uma forte actividade inibitória contra a MMP-9, enquanto também reduzem a migração de células cancerígenas. Outros estudos mostraram resultados semelhantes (LIMA *et al.*, 2016), onde extractos proteicos de grão-de-bico e de tremoço reduziram a actividade da MMP-9 e a migração de células cancerígenas, mas não exerceram qualquer toxicidade celular, mantendo-se inalterada a proliferação celular. É importante notar que embora os estudos anteriores tenham evidenciado a presença de inibidores eficazes da MMP-9 nas frações proteicas de baixo peso molecular (LIMA *et al.*, 2016), estas actividades foram encontradas em extractos proteicos de sementes destas leguminosas, quer cruas ou cozidas. O facto de ambas as bebidas de grão-de-bico e as de tremoço terem mantido a actividade inibitória contra a MMP-9 das suas sementes, mesmo após todos os procedimentos tecnológicos, e ter sido ainda mais pronunciada (possivelmente devido a um efeito de concentração) após a digestão *in vitro* (Figura 3), sugere um elevado potencial no combate a doenças digestivas relacionadas às actividades da MMP-9, como as doenças inflamatórias intestinais (DII) e o cancro colorretal. A resistência às enzimas digestivas pode estar relacionada com o facto destas proteínas serem por si só, inibidoras de proteases, mas apesar disso, este facto deve ser tido em consideração porque a maioria dos compostos bioactivos (particularmente no que diz respeito a doenças inflamatórias

do trato gastrointestinal) são ineficientes visto serem degradadas durante a digestão e perderem a sua actividade. Portanto, o facto desses polipéptidos bioativos resistirem à digestão e ainda realizarem as suas bioactividades após todo o processo digestivo, revela um grande potencial. Esta informação é consistente com trabalhos anteriores que evidenciaram a eficácia do inibidor isolado de *Lupinus* contra a metaloproteinase MMP-9, na redução da inflamação e das lesões provocadas em modelos animais de colite induzida (MOTA *et al.*, 2021; GUERREIRO, 2016) e de desenvolvimento de cancro (BASSO, 2020). Assim, e de um modo geral, como os nossos resultados parecem sugerir que as bebidas à base de leguminosas mantêm estas proteínas bioactivas, além do seu valor nutricional e digestibilidade, também apresentam elevado potencial como alimentos funcionais a incorporar em dietas preventivas contra a colite e as DII.

## 5 CONCLUSÃO

O simples processo tecnológico que foi utilizado neste trabalho, permitiu a formulação de bebidas à base de leguminosas palatáveis e ricas nutricionalmente que podem oferecer uma alternativa sustentável (resíduo tipo “okara” inferior a 2%) à intolerância às proteínas lácteas. As possíveis alegações nutricionais que poderiam ser utilizadas para ambas as bebidas de leguminosas são: “sem adição de açúcar”, “sem gordura”, “muito baixo teor em sódio” e “fonte de manganês”, mas para a bebida de tremço, é possível ainda ter uma alegação mais específica, a de “fonte de proteína” (Regulation (EC) No 1169/2011) tendo em conta o seu teor proteico. Os resultados também indicaram que as duas bebidas de leguminosas são completamente digeridas, nomeadamente em péptidos solúveis que estarão disponíveis para absorção posterior. Trabalhos futuros poderão considerar o estudo da biodisponibilidade das frações proteicas com baixo peso molecular.

Além disso, os compostos anti-nutricionais estudados (ácido fítico e lectinas), naturalmente presentes nas sementes das leguminosas, são extensivamente reduzidos pelo processamento das bebidas e não prejudicaram a biodisponibilidade dos minerais, nem potenciam eventos de má absorção intestinal.

No entanto, o teor em minerais nestas bebidas à base de leguminosas, nomeadamente em cálcio, magnésio e fósforo, é muito inferior ao do leite, tal como foi mencionado anteriormente, e para se obter uma alternativa vegetal sustentável ao leite utilizando uma abordagem de *clean label*, poderíamos adicionar algas para aumentar o seu conteúdo mineral, como aliás é utilizado comercialmente para algumas bebidas de aveia. Vários estudos foram realizados e confirmam esta abordagem: o trabalho de

Fradinho e colaboradores (2019) mostrou um aumento substancial em Ca, K, Mg e I de massas sem glúten enriquecidas com as algas marinhas *Laminaria ochroleuca*, e outro estudo (KHEMIRI *et al.*, 2020) aumentou em mais de 100%, o teor de cálcio e de ferro em pão sem glúten, com adição de microalgas. Neste último caso, independentemente da espécie utilizada, 1% p/p de adição de microalgas foi suficiente para aumentar em mais de 15%, o valor diário recomendado para o ferro (Regulation (EC) No 1924/2006).

Estas bebidas de tremoço e de grão-de-bico, além de serem muito nutritivas e digeríveis, também apresentaram bioactividades específicas de inibição da MMP-9, bem como capacidade de reduzir a migração de células cancerígenas do cólon. Além disso, esta actividade inibitória para a metaloproteinase MMP-9, evidenciou resistência ao processo de digestão, sendo significativamente elevada após esta, tornando estas bebidas alimentos funcionais, podendo ser incluídas em dietas preventivas eficazes contra doenças inflamatórias e cancerígenas, especialmente relacionadas com o sistema digestivo.

## 6 AUTORIZAÇÕES/ RECONHECIMENTO

Ao submeter o trabalho, os autores assumem responsabilidade por todo o conteúdo da obra.

## REFERÊNCIAS

AOAC (2000) **Loss on drying (moisture)**. Method 934.01. In: Official Methods of Analysis, 17th Edition, AOAC International Publisher, Gaithersburg, Maryland, USA.

AOAC (2000) **Determination of Nine Nutritional Elements in Food Products**. Method 984.27. In: Official Methods of Analysis, 17th Edition, AOAC International Publisher, Gaithersburg, Maryland, USA.

AOAC (2005) **Ash of Flour (Direct Method)**, Method 923.03. In: Official Methods of Analysis, 18th Edition, AOAC International Publisher, Gaithersburg, Maryland, USA.

BARMAN, A.; MARAK, C. M.; BARMAN, R.; SANGMA, C. S. **Nutraceutical properties of legume seeds and their impact on human health**. In: Jimenez-Lopez JC, Clemente A, editors. *Legume seed nutraceutical research*. IntechOpen, London, UK. (2018). p. 1-22.

BARNEVELD, R. J. **Understanding the nutritional chemistry of lupin (*Lupinus spp.*) seed to improve livestock production efficiency**. *Nutr Res Rev.* (1999) 12:203-230. doi: 10.1079/095442299108728938

BASSO, B. M. **An MMP-9 inhibitory protein isolated from *Lupinus albus* seeds in colon adenocarcinoma development**. Master Thesis. Lisbon University, Medicine Faculty, Instituto de Medicina Molecular João Lobo Antunes, 2020. Available online at: <http://hdl.handle.net/10451/45712> (accessed June 4, 2021).

BERNAT, N.; CHÁFER, M.; CHIRALT, A.; GONZALEZ-MARTÍNEZ, C. **Vegetable milks and their fermented derivative products**. *Int J Food Studies.* (2014) 3:93-124. doi: 10.7455/ijfs/3.1.2014.a9

BLUM, H.; BEIER, H.; GROSS, H. J. **Improved silver staining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrylamide gels**. *Electrophoresis.* (1987) 8:93-99. doi: 10.1002/elps.1150080203

BRODKORB, A.; EGGER, L.; ALMINGER, M.; ALVITO, P.; ASSUNÇÃO, R.; BALANCE, S., *et al.* **INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion.** *Nat Protoc.* (2019) 14:991-1014. doi: 10.1038/s41596-018-0119-1

CABRERA, C.; LLORIS, F.; GIMÉNEZ, R.; OLALLA, M.; LÓPEZ, M. C. **Mineral content in legumes and nuts: Contribution to the Spanish dietary intake.** *Sci Total Environ.* (2003) 308:1-14. doi: 10.1016/S0048-9697(02)00611-3

CAMPOS-VEJA, R.; LOARCA-PIÑA, G.; OOMAH, B. D. **Minor components of pulses and their potential impact on human health.** *Food Res Int.* (2010) 43:461-482. doi: 10.1016/j.foodres.2009.09.004

CARREIRA, A.; FERREIRA, J. B.; PEREIRA, I.; FERREIRA, J.; FILIPE, P.; FERREIRA, R. B.; MONTEIRO, S. **Blad-containing oligomer: a novel fungicide used in crop protection as an alternative treatment for *tinea pedis* and *tinea versicolor*.** *J Med Microbiol.* (2018) 67:198-207. doi: 10.1099/jmm.0.000675

CHAMP, M. **Non-nutrient bioactive substances of pulses.** *Brit J Nutr.* (2002) 88:S307-S319. doi: 10.1079/BJN2002721

CHITRA, U.; SINGH, U.; RAO, R. V. **Phytic acid, *in vitro* protein digestibility, dietary fiber, and minerals of pulses as influenced by processing methods.** *Plant Foods Hum Nutr.* (1996) 49:307-316. doi: 10.1007/BF01091980

CLEMENTE, A.; ARQUES, M. C. **Bowman-Birk inhibitors from legumes as colorectal chemopreventive agents.** *World J Gastroenterol.* (2014) 20:10305-10315. doi: 10.3748/wjg.v20.i30.10305

DUBOIS, M.; GILLES, K.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. **A colorimetric method for the determination of sugars and related substances.** *Nature.* (1951) 168:167. doi: 10.1038/168167a0

EGGER, L.; MÉNARD, O.; DELGADO-ANDRADE, C.; ALVITO, P.; ASSUNÇÃO, R.; BALANCE, S., *et al.* **The harmonized INFOGEST *in vitro* digestion method: from knowledge to action.** *Food Res Int.* (2016) 88:217-225. doi: 10.1016/j.foodres.2015.12.006

EUROPEAN COMMISSION. **Regulation (EC) No 1924/2006 of the European Parliament and of the Council of 20 December 2006 on Nutrition and Health Claims Made on Foods.** Available online at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006R1924&from=PT> (accessed September 25, 2019).

EUROPEAN COMMISSION. **Regulation (EC) No 1169/2011 of the European Parliament and of the Council of 25 October 2011 on the Provision of Food Information to Consumers.** Available online at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32011R1169&from=pt> (accessed September 25, 2019).

FERNÁNDEZ-GARCÍA, E.; CARVAJAL-LÉRIDA, I.; PÉREZ-GÉLVEZ, A. ***In vitro* bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency.** *Nutr Res.* (2009) 29:751-760. doi: 10.1016/j.nutres.2009.09.016

FRADINHO, P.; RAYMUNDO, A.; SOUSA, I.; DOMÍNGUEZ, H.; TORRES, M. D. **Edible brown seaweed in gluten-free pasta: technological and nutritional evaluation.** *Foods.* (2019) 8:1-18. doi: 10.3390/foods8120622

FREEMAN, H. J.; KIM, Y. S.; SLEISENGER, M. H. **Protein digestion and absorption in man - Normal mechanisms and protein-energy malnutrition.** *Am J Med.* (1979) 67:1030-1036. doi: 10.1016/0002-9343(79)90645-4

FRONTELA, C.; ROS, G.; MARTÍNEZ, C. **Phytic acid content and “in vitro” iron, calcium and zinc bioavailability in bakery products: The effect of processing.** *J Cereal Sci.* (2011) 54:173-179. doi: 10.1016/j.jcs.2011.02.015

GAO, Y.; SHANG, C.; MAROOF, M. A. S.; BIYASHEV, R. M.; GRABAU, E. A.; KWANYUEN, P., et al. **A modified colorimetric method for phytic acid analysis in soybean.** *Crop Sci.* (2007) 47:1797-803. doi: 10.2135/cropsci2007.03.0122

GEMEDE, H. F.; RATTA, N. **Antinutritional factors in plant foods: potential health benefits and adverse effects.** *Int J Nutr Food Sci.* (2014) 3:284-289. doi: 10.11648/j.ijnfs.20140304.18

GERBER, P. J.; STEINFELD, H.; HENDERSON, B.; MOTTET, A.; OPIO, C.; DIJKMAN, J.; FALCUCCI, A.; TEMPIO, G. (2013). **Tackling climate change through livestock - A global assessment of emissions and mitigation opportunities.** Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome. Available online at: <http://www.fao.org/3/a-i3437e.pdf> (accessed April 9, 2019).

GHAZARIAN, H.; IDONI, B.; OPPENHEIMER, S. B. **A glycobiology review: carbohydrates, lectins, and implications in cancer therapeutics.** *Acta Histochem.* (2011) 113:236-247. doi: 10.1016/j.acthis.2010.02.004

GRÁCIO, M.; ROCHA, J.; PINTO, R.; FERREIRA, R.; SOLAS, J.; FIGUEIRA, M. E.; SEPODES, B.; RIBEIRO, A. C. **A proposed lectin-mediated mechanism to explain the *in vivo* antihyperglycemic activity of gamma-conglutin from *Lupinus albus* seeds.** *Food Sci Nutr.* (2021) 9:5980-5996. doi: 10.1002/fsn3.252010.1002/fsn3.2520

GUERREIRO, J. P. **Deflamin bioactivities: A novel inhibitory protein of MMP-9 from *Lupinus albus*.** Master Thesis. NOVA Medical School - Faculdade Ciências Médicas (NMS-FCM), 2016. Available online at: <https://run.unl.pt/handle/10362/19541?mode=full> (accessed March 19, 2021).

GUZMÁN, T. J.; MARTÍNEZ-AYALA, A. L.; GARCÍA-LÓPEZ, P. M.; SOTO-LUNA, I. C.; GURROLA-DÍAZ, C. M. **Effect of the acute and chronic administration of *Lupinus albus*  $\gamma$ -conglutin on glycaemia, circulating cholesterol, and genes potentially involved.** *Biomed Pharmacother.* (2021) 133:1-12. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110969

HATHCOCK, J. N. **Residue trypsin inhibitor: data needs for risk assessment.** In: Friedman M, editors. *Nutritional and Toxicological Consequences of Food Processing. Advances in Experimental Medicine and Biology.* Springer: Boston, MA. (1991). Volume 289, p. 273-279.

KHEMIRI, S.; KHELIFI, N.; NUNES, M. C.; FERREIRA, A.; GOUVEIA, L.; SMAALI, I.; RAYMUNDO, A. **Microalgae biomass as an additional ingredient of gluten-free bread: Dough rheology, texture quality and nutritional properties.** *Algal Res.* (2020) 50:101998. doi: 10.1016/j.algal.2020.101998

KUMAR, A.; SINGH, B.; RAIGOND, P.; SAHU, C.; MISHRA, U. N.; SHARMA, S.; LAL, M. K. **Review. Phytic acid: blessing in disguise, a prime compound required for both plant and human nutrition.** *Food Res Int.* (2021) 142:110193. doi: 10.1016/j.foodres.2021.110193

KUMAR, V.; SINHA, A. K.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. **Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review.** *Food Chem.* (2010) 120:945-959. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.11.052

LAEMMLI, U. K. **Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4.** *Nature.* (1970) 227:680-685. doi: 10.1038/227680a0

LIFSCHITZ, C.; SZAJEWSKA, H. **Cow's milk allergy: evidence-based diagnosis and management for the practitioner.** *Eur J Pediatr.* (2015) 174:141-150. doi: 10.1007/s00431-014-2422-3

LIMA, A. I. G.; MOTA, J.; MONTEIRO, S. A. V. S.; FERREIRA, R. M. S. B. **Legume seeds and colorectal cancer revisited: Protease inhibitors reduce MMP-9 activity and colon cancer cell migration.** *Food Chem.* (2016) 197:30-38. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.10.063

LIMA, A.; OLIVEIRA, J.; SAÚDE, F.; MOTA, J.; FERREIRA, R. B. **Proteins in soy might have a higher role in cancer prevention than previously expected: soybean protein fractions are more effective MMP-9 inhibitors than non-protein fractions, even in cooked seeds.** *Nutrients.* (2017) 9:201. doi: 10.3390/nu9030201

LOPES, M.; PIERREPONT, C.; DUARTE, C. M.; FILIPE, A.; MEDRONHO, B.; SOUSA, I. **Legume beverages from chickpea and lupin, as new milk alternatives.** *Foods.* (2020) 9:1-16. doi: 10.3390/foods9101458

LÓPEZ-MARTÍNEZ, L. X.; LEYVA-LÓPEZ, N.; GUTIÉRREZ-GRIJALVA, E. P.; HEREDIA, J. B. **Effect of cooking and germination on bioactive compounds in pulses and their health benefits.** *J Funct Foods.* (2017) 38:624-634. doi: 10.1016/j.jff.2017.03.002

MAGNI, C.; SESSA, F.; ACCARDO, E.; VANONI, M.; MORAZZONI, P.; SCARAFONI, A.; DURANTI, M.  **$\gamma$ -Conglutin, a lupin seed protein, binds insulin *in vitro* and reduces plasma glucose levels of hyperglycemic rats.** *J Nutr Biochem.* (2004) 15:646 - 650. doi: 10.1016/j.jnutbio.2004.06.009

MAKINEN, O. E.; WANHALINNA, V.; ZANNINI, E.; ARENDT, E. K. **Foods for special dietary needs: non-dairy plant-based milk substitutes and fermented dairy-type products.** *Crit Rev Food Sci Nutr.* (2016) 56:339-349. doi: 10.1080/10408398.2012.761950

MANUELIAN, C. L.; PENASA, M.; VISENTIN, G.; ZIDI, A.; CASSANDRO, M.; DE MARCHI, M. **Mineral composition of cow milk from multibreed herds.** *Anim Sci J.* (2018) 11:1622-1627. doi: 10.1111/asj.13095

MARIOTTI, F.; TOMÉ, D.; MIRAND, P. P. **Converting Nitrogen into Protein – Beyond 6.25 and Jones' Factors'.** *Crit Rev Food Sci* (2008) 48: 177-184. doi:10.1080/10408390701279749.

MARKET AND MARKETS (2019). Available online at: <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/dairy-alternative-plant-milk-beverages-market-677.html> (accessed February 28, 2019).

MINTEL (2018). **Food and Drink. Consumer market research report.** Available online at: <https://www.mintel.com/press-centre/food-and-drink/us-non-dairy-milk-sales-grow-61-over-the-last-five-years> (accessed March 19, 2019).

MOTA, J.; DIREITO, R.; ROCHA, J.; FERNANDES, J.; SEPODES, B.; FIGUEIRA, M. E.; RAYMUNDO, R.; LIMA, A.; FERREIRA, R. B. **Lupinus albus protein components inhibit MMP-2 and MMP-9 gelatinolytic activity *in vitro* and *in vivo*.** *Int J Mol Sci.* (2021) 22:13286. doi: 10.3390/ijms222413286

MUÑOZ, E. B.; LUNA-VITAL, D. A.; FORNASINI, M.; BALDEÓN, M. E.; DE MEJIA, E. G. **Gamma-conglutin peptides from Andean lupin legume (*Lupinus mutabilis* Sweet) enhanced glucose uptake and reduced gluconeogenesis *in vitro*.** *J Funct Food.* (2018) 45:339-347. doi: 10.1016/j.jff.2018.04.021

ÖZCAN, M. M.; DURSUN, N.; JUHAIMI, F. A. L. **Macro- and microelement contents of some legume seeds.** *Environ Monit Assess.* (2013) 185:9295-9298. doi: 10.1007/s10661-013-3252-x

PAWLAK, R.; BERGER, J.; HINES, I. **Iron status of vegetarian adults: a review of literature.** *Am J Lifestyle Med.* (2016) 12:486-498. doi: 10.1177/15598276166682933

PortFIR. (2019). **Composição de alimentos.** Available online at: <http://portfir.insa.pt/foodcomp/search> (accessed February 21, 2019).

RAYAS-DUARTE, P.; MOHAMED, A. A. **Composition of *Lupinus albus***. *Cereal Chem.* (1995) 72:643-647. Available online at: <https://www.cerealsgrains.org/publications/cc/backissues/1995/Documents/CC1995a146.html>

RIBEIRO, A.; CATARINO, S.; FERREIRA, R. B. **Multiple lectin detection by cell membrane affinity binding**. *Carbohydr Res.* (2012) 352:206-210. doi: 10.1016/j.carres.2012.01.024

RIBEIRO, A. C.; FERREIRA, R.; FREITAS, R. **Chapter 1: Plant lectins: Bioactivities and bioapplications**. In: Atta-ur-Rahman, editors. *Studies in Natural Products Chemistry*. Elsevier. (2018). Volume 58, p. 1-42.

RIEDER, A.; AFSETH, N. K.; BÖCKER, U.; KNUTSEN, S. H.; KIRKHUS, B.; MÆHRE, H. K.; BALANCE, S.; WUBSHET, S. G. **Improved estimation of *in vitro* protein digestibility of different foods using size exclusion chromatography**. *Food Chem.* (2021) 358:1-9. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.129830

ROUSSEAU, S.; KYOMUGASHO, C.; CELUS, M.; HENDRICKX, M. E. G.; GRAUWET, T. **Barriers impairing mineral bioaccessibility and bioavailability in plant-based foods and the perspectives for food processing**. *Crit Rev Food Sci Nutr.* (2020) 60:826-843. doi: 10.1080/10408398.2018.1552243

SAFAVI, F.; ROSTAMI, A. **Role of serine proteases in inflammation Bowman-Birk protease inhibitor (BBI) as a potential therapy for autoimmune diseases**. *Exp Mol Pathol.* (2012) 93:428-433. doi: 10.1016/j.yexmp.2012.09.014

SANTOS, M. V.; FARIA, N. T.; FONSECA, C.; FERREIRA, F. C. **Production of mannosylerythritol lipids from lignocellulose hydrolysates: Tolerance thresholds of *Moesziomyces antarcticus* to inhibitors**. *J Chem Technol Biotechnol.* (2019) 94:1064-1107. doi: 10.1002/jctb.5853

SCHOLZ-AHRENS, K. E.; AHRENS, F.; BARTH, C. A. **Nutritional and health attributes of milk and milk imitations**. *Eur J Nutr.* (2020) 59:19-34. doi: 10.1007/s00394-019-01936-3

SCRIMSHAW, N. S.; MURRAY, E. B. **The acceptability of milk and milk products in populations with a high prevalence of lactose intolerance**. *Am J Clin Nutr.* (1988) 48:1142-1159. doi: 10.1093/ajcn/48.4.1142

SHI, L.; ARNTFIELD, S. D.; NICKERSON, M. **Changes in levels of phytic acid, lectins and oxalates during soaking and cooking of Canadian pulses**. *Food Res Int.* (2018) 107:660-668. doi: 10.1016/j.foodres.2018.02.056

SINGHAL, S.; BAKER, R. D.; BAKER, S. S. **A comparison of the nutritional value of cow's milk and nondairy beverages**. *J Pediatr Gastr Nutr.* (2017) 64:799-805. doi: 10.1097/MPG.0000000000001380

SRIKANTH, S.; CHEN, Z. **Plant protease inhibitors in therapeutics-focus on cancer therapy**. *Front Pharmacol.* (2016) 7: article 470, 1-19. doi: 10.3389/fphar.2016.00470

TRANSPARENCY MARKET RESEARCH (2019). Available online at: <https://www.transparencymarketresearch.com/plant-based-milk-market.html> (accessed April 9, 2019).

THE NATIONAL ACADEMIES PRESS. (2019) **Dietary Reference Intakes (DRIs): Elements**. Retrieved from Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies. Available online at: [www.nap.edu](http://www.nap.edu) (accessed April 23, 2019).

VANGA, S. K.; RAGHAVAN, V. **How well do plant based alternatives fare nutritionally compared to cow's milk?** *J Food Sci Technol.* (2018) 55:10-20. doi: 10.1007/s13197-017-2915-y

ZHANG, Y. Y.; PANOZZO, J.; HALL, M. S.; AJLOUNI, S. **Bioaccessibility of some essential minerals in three selected australian pulse varieties using an *in vitro* gastrointestinal digestion model**. *J Food Sci.* (2018) 83:2873-2881. doi: 10.1111/1750-3841.14377

# CAPÍTULO 12

## USO DE ACOLCHADOS PLÁSTICOS PARA REDUCIR EL IMPACTO DEL HUANGLONGBING Y PROMOVER PRECOCIDAD DE LA PRODUCCIÓN EN LIMÓN MEXICANO<sup>1</sup>

Data de submissão: 10/10/2023

Data de aceite: 03/11/2023

### Dr. Mario Orozco Santos

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)  
Campo Experimental Tecomán  
Laboratorio de Fitopatología  
Tecomán, Colima, México  
ORCID: 0000-0002-9451-2626

### Dr. Manuel de Jesús Bermúdez Guzmán

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)  
Campo Experimental Tecomán  
Laboratorio de Biotecnología  
Tecomán, Colima, México  
ORCID: 0000-0003-1949-1922

### M. C. Karina de la Paz García Mariscal

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)  
Campo Experimental Tecomán  
Tecomán, Colima, México  
ORCID: 0000-0001-6149-3505

### M. C. José Concepción García Preciado

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)  
Campo Experimental Tecomán  
Tecomán, Colima, México  
ORCID: 0000-0001-7413-1829

**RESUMEN:** El Huanglongbing (HLB) es transmitido por el psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri*) y afecta severamente las plantaciones comerciales de lima mexicana (*Citrus aurantifolia*) en la región tropical seca de México. El manejo del HLB se basa en el uso intensivo de prácticas agronómicas, como riego, nutrición, poda, control de maleza, plagas y enfermedades. Durante el periodo 2018 a 2022 se evaluó el efecto de acolchados plásticos de color negro, blanco y aluminio, en comparación con una malla de polipropileno blanca (ground cover) y suelo desnudo (sistema tradicional), sobre la población de *D. citri* y la incidencia-severidad (I-S) de HLB, así como el rendimiento de lima mexicana. Los árboles con todos los tipos de acolchado plástico redujeron la I-S durante los primeros 13 meses del estudio (35 a 40% del follaje afectado) en comparación con el suelo desnudo (74% de la afectación de los árboles). Además, las parcelas con los acolchados tuvieron menos adultos del psílido asiático de los cítricos (1 a 16 insectos/trampa/semana) en comparación con el suelo desnudo (11 a 28

<sup>1</sup> Esta información fue generada con recursos fiscales del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) a través del proyecto de investigación: Generación de un paquete tecnológico de limón mexicano variedad lise bajo un escenario de huanglongbing.



adultos). Los tratamientos con acolchado tuvieron un efecto positivo en el rendimiento de fruta. Después de cuatro años, las parcelas con plástico blanco, aluminio, verde y negro produjeron 41.6, 40.1, 39.7 y 34.9 t/ha, respectivamente. El suelo desnudo produjo sólo 26.6 t/ha. El costo de instalar estos acolchados plásticos fue de 526 dólares/ha. Considerando que los plásticos aumentaron los rendimientos en un 50-57% y el precio promedio de la fruta de lima mexicana fue de 600 dólares/t, este sistema de producción es una alternativa viable para los productores para coexistir con el HLB en el trópico seco de México.

**PALABRAS CLAVE:** Acolchados. *Citrus aurantifolia*. Diaforina. Huanglongbing.

## USE OF PLASTIC MULCHES TO REDUCE THE IMPACT OF HUANGLONGBING AND PROMOTE EARLINESS OF PRODUCTION IN MEXICAN LEMON

**ABSTRACT:** Huanglongbing (HLB) vectored by Asian citrus psyllid (*Diaphorina citri*) severely affects commercial plantations of Mexican lime (*Citrus aurantifolia*) in the dry tropic region of Mexico. Management of Huanglongbing is based on intensive use of agronomic practices such as irrigation, nutrition, pruning, and weed, insect pest, and disease control. During 2018 to 2022, the effect of black, white, aluminum, and green plastic mulches, a white polypropylene mesh (ground cover), and bare soil (traditional system), were evaluated on *D. citri* and incidence-severity (I-S) of Huanglongbing, and Mexican lime yields. Trees with all types of plastic mulch had less I-S during the first 13 months of the study (35 to 40% of affected foliage) compared to bare soil (74% of tree affected). Also, plots with plastic mulches had fewer Asian citrus psyllid adults (one to 16 insects/trap/week) as compared with bare soil (11 to 28 adults). Mulched treatments had a positive effect on fruit production. After 4 years, plots with white, aluminum, green, and black plastic yielded 41.6, 40.1, 39.6, and 34.9 t/ha. Bare soil yielded only 26.6 t/ha. The cost to install plastic mulches was \$526/ha. Because of that, the plastics increased yields by 50-56% and the average price of Mexican lime fruit was about \$600 per t. This production system is an economically profitable alternative to the growers to coexist with Huanglongbing in the dry tropics of Mexico.

**KEYWORDS:** Mulches. *Citrus aurantifolia*. Diaphorin. Huanglongbing.

## 1 INTRODUCCIÓN

México es el primer productor de lima mexicana [*Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle] en el mundo. Para el año 2022, se cultivaron 98,924 hectáreas, con una producción de 1,338 millones de toneladas de fruta y un valor de 14,825.3 millones de pesos. En la región tropical seca del Pacífico-Centro (Colima, Michoacán, Guerrero y Oaxaca) se cultiva más del 96% de la superficie nacional (Cuadro 1). En el estado de Colima, el cultivo de limón mexicano representa una de las actividades agrícolas más importantes por su capacidad productiva y producción de fruta de excelente calidad (Figura 1, A). En 2022, se reportó una superficie de 20,866 hectáreas con una producción de 297,117 toneladas y un valor de \$ 3,042.1 millones de pesos (SIAP, 2023).

Cuadro 1. Superficie, rendimiento y valor de la producción de limón mexicano en México en el año 2022<sup>2</sup>

Estado	Superficie (ha)	Producción (t/ha)	Valor de la producción (Millones de \$)
Colima	20,866	297,117	3,042.1
Michoacán	60,867	823,458	10,414.5
Guerrero	6,943	79,480	469.4
Oaxaca	6,772	88,509	621.1
Otros	3,476	49,941	278.2
Total nacional	98,924	1,338,505	14,825.3

<sup>2</sup> Fuente: SIAP-SADER. 2023.

En las últimas décadas, el cultivo del limón mexicano ha venido enfrentando nuevos retos y amenazas de problemas fitosanitarios que han puesto en riesgo su permanencia como actividad agrícola. En abril del año 2010, se detectó por primera vez el huanglongbing (HLB) afectando plantaciones comerciales de limón mexicano en el estado de Colima (Figura 1, B) (SENASICA, 2010). Esta enfermedad es causada por la bacteria *Candidatus Liberibacter asiaticus* y es transmitida por el psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama. En tres años, el HLB se dispersó a todas las áreas productoras de la entidad, hasta alcanzar el 100% de árboles enfermos. Se estima que existen 5 millones de árboles en producción afectados en mayor o menor grado por la enfermedad (Orozco-Santos *et al.*, 2016).

Figura 1. Frutos de *Citrus aurantifolia* y síntomas de HLB. A) Fruta de limón mexicano producida en el estado de Colima, México. B) Síntomas de HLB en lámina foliar de limón mexicano. Se observa el moteado clorótico y su patrón de síntomas asimétrico.



El impacto económico más significativo del HLB ha sido la marcada reducción de los volúmenes de fruta en el estado. En el año 2011, se produjeron 472,875 toneladas de fruta de limón mexicano en el estado de Colima. Para los años 2014 y 2015 (cuatro y cinco años con la enfermedad presente, respectivamente), la producción estatal de fruta fue de 166,805 y 185,285 toneladas, lo cual representa alrededor de 300 mil toneladas menos

(SIAP, 2019). El valor de la producción de fruta se estimó en alrededor de \$ 1,500 millones de pesos y durante 2014 se perdieron casi 1.25 millones de jornales (Orozco-Santos *et al.*, 2016). Actualmente, el HLB también está causando afectaciones en limón mexicano en los estados de Michoacán, Guerrero y Oaxaca.

La presencia del HLB modifica el comportamiento fisiológico, fenológico, el potencial productivo y como consecuencia la vida productiva de los árboles, lo cual hace necesario modificar su manejo agronómico, enfatizando en el uso más eficiente de los insumos y las prácticas de cultivo (Orozco-Santos *et al.*, 2014). El paquete tecnológico recomienda la integración de los diferentes componentes tales como portainjertos, variedades, densidades de plantación, nutrición integral, manejo integrado fitosanitario, poda, cosecha y postcosecha. Así mismo, es necesario el continuar desarrollando nuevas tecnologías de manejo que permitan reducir los impactos de esta enfermedad e incrementar la productividad del cultivo. El presente folleto proporciona información sobre un sistema de producción con el uso de acolchados plásticos para producir limón mexicano bajo un ambiente endémico de HLB, con el objetivo de reducir la incidencia de HLB, promover la precocidad y mejorar su productividad. Este sistema de producción es factible de usar en todos los estados productores de limón mexicano: Colima, Michoacán, Guerrero y Oaxaca.

## 2 USO DE ACOLCHADOS EN CULTIVOS AGRÍCOLAS

El uso de acolchados plásticos es una práctica común en cultivos agrícolas, principalmente en hortalizas y más recientemente en frutales. Los beneficios de esta práctica sobre la conservación de humedad, incremento de la temperatura del suelo, control de maleza, repelencia a insectos, aumento de vigor y rendimiento han sido demostrados en cultivos como melón, sandía (Orozco-Santos *et al.*, 1995a; Orozco-Santos *et al.*, 1995b; Farias-Larios y Orozco-Santos, 1997) y papaya (Sakariya *et al.*, 2018). Así mismo, algunas experiencias sobre el uso de acolchados se han reportado en algunas especies de cítricos. Uno de los primeros ensayos con este sistema fue en el estado de Florida, EUA, en el cultivo de naranja. El empleo de acolchado plástico de color aluminio, redujo las poblaciones del psílido asiático y la incidencia de HLB en comparación con el acolchado color blanco y el suelo desnudo. Además, este sistema de acolchado en combinación con riego por goteo y fertirrigación, incrementó la humedad del suelo, redujo la población de la maleza y aumentó la tasa de crecimiento de los árboles (Croxtton y Stansly, 2014). En experiencias con limón mexicano en el trópico seco, se determinó que el acolchado con plástico de color negro sobre bordos en un suelo arcilloso mejoró el rendimiento de fruta en un 10 a 15% en comparación con el suelo desnudo (Manzanilla-Ramírez *et al.*, 2018). El empleo de acolchados en limón mexicano requiere más investigación para conocer sus

beneficios sobre la conservación de humedad, control de maleza, repelencia a *Diaphorina citri*, reducción de la incidencia de HLB, precocidad y productividad.

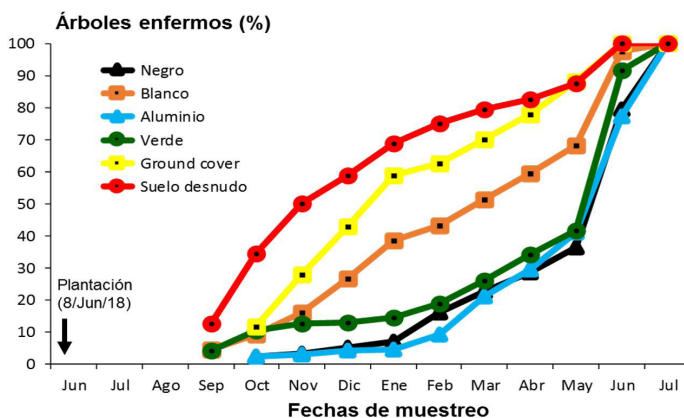
### 3 FECTO DE ACOLCHADOS EN LIMÓN MEXICANO

En un experimento realizado en limón mexicano sin espinas variedad 'Lise' en los terrenos del Campo Experimental Tecomán localizado en el municipio de Tecomán, Col., se evaluaron los siguientes tratamientos de acolchado: 1) negro/negro (color superior/color inferior), 2) blanco/negro, 3) aluminio/negro, 4) verde/verde, 5) ground cover (malla tejida de polipropileno de color blanco) 6) suelo desnudo como testigo convencional. Se determinó su efecto sobre incidencia y severidad de HLB, población de *D. citri*, temperatura, crecimiento y desarrollo de los árboles, así como su precocidad en producción y rendimiento durante los primeros 16 meses de establecimiento.

#### 3.1 INCIDENCIA Y SEVERIDAD DE HLB

Los árboles con acolchado tuvieron un menor porcentaje de afectación por HLB a través del tiempo (Figura 2). Los primeros síntomas de HLB se observaron a los tres meses después de la plantación, en las plantas sobre suelo desnudo (12.5% de plantas enfermas). Los plásticos de color aluminio, negro y verde tuvieron menor incidencia de la enfermedad al compararse con el acolchado blanco, ground cover y suelo desnudo.

Figura 2. Incidencia de HLB en diferentes tipos de acolchados y suelo desnudo en limón mexicano variedad 'Lise'.

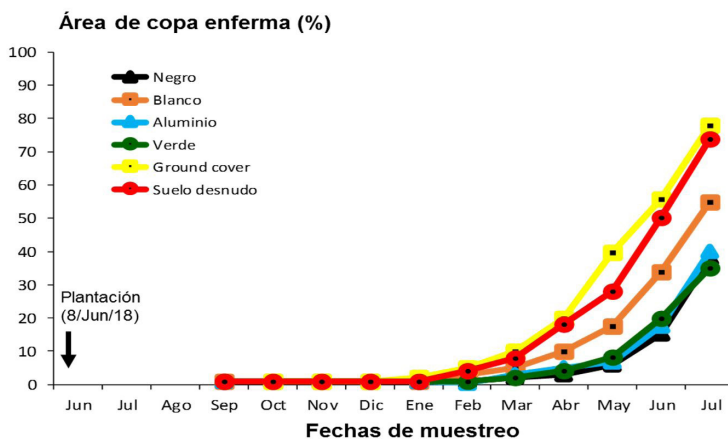


A los seis meses de la plantación, los acolchados de color aluminio, negro y verde registraron un 4, 5 y 13% de árboles enfermos, respectivamente; seguido por el tratamiento blanco y ground cover con 26 y 43% de incidencia. El suelo desnudo presentó la mayor infestación con un 59% de árboles afectados. A los 11 meses, se registró la misma tendencia con los acolchados aluminio, negro y verde con una incidencia alrededor

del 40%, mientras que el color blanco tuvo un 68% y finalmente el ground cover y el suelo desnudo con 88%. A los 12 meses, las parcelas con acolchado aluminio y negro registraron un 77 y 79% de árboles enfermos, seguido por el acolchado verde con 92% y el blanco con 98%. El tratamiento con ground cover y el suelo desnudo tuvieron un 100% de incidencia. Finalmente, a los 13 meses, el total de los árboles de los tratamientos de acolchado aluminio, negro, verde y blanco fueron afectados por HLB.

En la Figura 3 se presenta información del efecto de los tratamientos sobre la severidad del HLB, expresada en porcentaje de copa afectada por la enfermedad. A los 13 meses de la plantación, la parcela con el suelo desnudo y ground cover registraron un 74 y 78% de follaje enfermo, respectivamente. Los árboles desarrollados en acolchado de color blanco tuvieron un 55% de follaje con HLB. Los tratamientos que mostraron menor infestación de la enfermedad fueron aquellos establecidos sobre los acolchados verde, negro y aluminio, los cuales presentaron una severidad promedio entre 35 a 40% de área foliar afectada.

Figura 3. Área de copa enferma por HLB en árboles desarrollados en diferentes tipos de acolchados y suelo desnudo en limón mexicano variedad 'Lise'.



### 3.2 FLUCTUACIÓN POBLACIONAL DEL PSÍLIDO ASIÁTICO

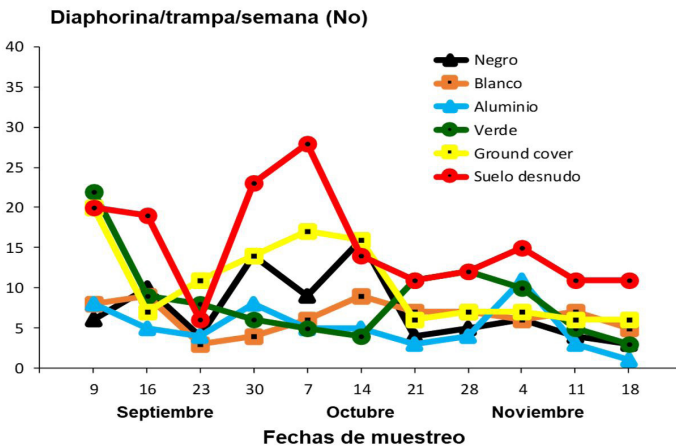
Durante los meses de septiembre a noviembre del 2018 se colocaron trampas de plástico de color amarillo tipo Moericke (Moericke, 1951) con la finalidad de determinar la fluctuación poblacional del psílido asiático (vector del HLB) en cada tratamiento de acolchado y suelo desnudo (Figura 4). Las parcelas con acolchado plástico de color verde, blanco, aluminio y negro tuvieron la tendencia a capturar la menor cantidad de adultos de *D. citri* (de 1 a 15 insectos/trampa/semana) en comparación a las parcelas con ground cover y suelo desnudo (Figura 5).

Figura 4. Trampa de plástico de color amarillo tipo Moericke para la captura de insectos en los tratamientos de acolchados y suelo desnudo en limón mexicano variedad 'Lise'.



En general, durante todo el período evaluado, en la parcela de suelo desnudo se capturó la mayor cantidad de especímenes del psílido asiático de los cítricos (hasta 28 adultos/trampa/semana). La menor incidencia y severidad de HLB en las parcelas establecidas con tratamientos de acolchado, se puede atribuir al efecto repelente que poseen los plásticos hacia el vector *D. citri*, por su capacidad reflejante que afecta su arribo a los árboles de limón mexicano tal y como se corroboró en las trampas amarillas. Resultados de repelencia del plástico de color aluminio han sido evidenciados en el cultivo de naranja por Croxton y Stansly (2014).

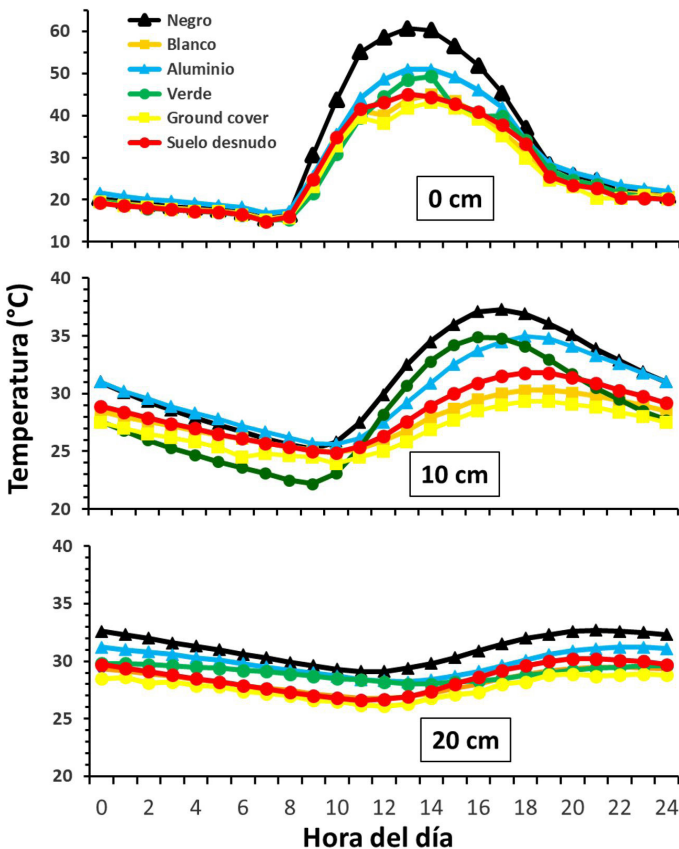
Figura 5. Fluctuación poblacional de insectos en diferentes tipos de acolchado y suelo desnudo en limón mexicano 'Lise'.



### 3.3 EFECTO DE ACOLCHADOS SOBRE LA TEMPERATURA DEL SUELO

Existe un marcado efecto del tipo de acolchado sobre la temperatura del suelo en diferentes profundidades (Figura 6). El mayor incremento térmico sobre la superficie del suelo (0 cm) se registró entre las 11:00 y 16:00 horas, siendo el plástico color negro el que tuvo los mayores valores (51.9 a 60.7 °C), con una diferencia de hasta 15 °C con relación al suelo desnudo. El plástico color aluminio también incrementó la temperatura del suelo (44.1 a 50.9 °C), seguido por el acolchado verde (39.5 a 49.3 °C). Los tratamientos de plástico blanco, ground cover y suelo desnudo tuvieron un comportamiento similar, registrando 40.1 a 45.0 °C, 39.5 a 49.3 y 41.6 a 45.1 °C, respectivamente. De las 14:00 a 20:00 horas, a los 10 cm de profundidad, el acolchado negro continuó registrando la mayor temperatura con valores de 34.5 a 37.3 °C, mientras que en el suelo desnudo fue de 28.9 a 31.8 °C, siendo una diferencia promedio de 5.5. °C.

Figura 6. Comportamiento de la temperatura del suelo en tres profundidades (0, 10 y 20 cm) en acolchados y suelo desnudo. Temperaturas promedio del mes de enero del 2019.



Los plásticos color aluminio y verde tuvieron incrementos de 2 a 4 °C con relación al suelo desnudo, mientras que el acolchado blanco y el ground cover resultaron inferiores en 1 a 2 °C. A 20 cm de profundidad, las diferencias en temperatura entre acolchados y suelo desnudo fueron menos notables. Los valores promedio del acolchado negro fue de 31.1 °C, seguido por el aluminio (29.9 °C), verde (29.0 °C), desnudo (28.5 °C), blanco (28.3 °C) y ground cover con 27.9 °C.

### 3.4 EFECTO DE ACOLCHADOS SOBRE EL DESARROLLO DE ÁRBOLES

Existe una marcada influencia del tipo de acolchado sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas de limón mexicano. El diámetro del tronco es un parámetro que refleja la vigorosidad de los árboles. A mayor diámetro es mayor el volumen de copa (Cuadro 2). A los 12 meses de la plantación, el mayor crecimiento del tronco se registró en los plásticos de color aluminio, seguido por el acolchado verde, negro, blanco y ground cover (valores de 4.3 a 5.1 cm de diámetro). En suelo desnudo, el crecimiento del tronco fue menor (3.7 cm), que representa un 27% menos que el acolchado de color aluminio. El mayor volumen de copa se tuvo en los árboles sobre acolchado verde con 2.80 m<sup>3</sup>, seguido por el acolchado aluminio con 2.44 m<sup>3</sup>.

Cuadro 2. Volumen de copa de árboles de limón mexicano variedad 'Lise' con diferentes tratamientos de acolchado a los doce meses de su plantación<sup>2</sup>.

Tratamientos de acolchado	Diámetro de tronco (cm)	Volumen de copa	
		(m <sup>3</sup> /árbol)	(m <sup>3</sup> /ha)
Negro	4.5 a	2.30 ab	957 ab
Blanco	4.3 ab	2.13 ab	885 ab
Aluminio	5.1 a	2.44 ab	1,015 ab
Verde	4.7 a	2.80 a	1,164 a
Ground cover	4.3 ab	2.02 b	842 b
Suelo desnudo	3.7 b	1.33 c	554 c

<sup>2</sup>Separación de medias según la prueba de Tukey al 95% de probabilidad. El diámetro de tronco se midió a 10 cm de altura de la unión patrón-injerto.

Los árboles sobre acolchado negro, blanco y ground cover registraron 2.30, 2.13 y 2.02 m<sup>3</sup>, respectivamente. El suelo desnudo tuvo únicamente 1.33 m<sup>3</sup>, que equivale a menos de la mitad de la copa que se registró en acolchado verde. Al convertir el volumen de copa por unidad de superficie y considerando la densidad de plantación (416 árboles/ha), los tratamientos de acolchado verde y aluminio tuvieron 1,164 y 1,015 m<sup>3</sup>, respectivamente. El suelo desnudo registró un volumen de copa de 554 m<sup>3</sup>/ha, lo cual representa un 52% menos que el acolchado verde.



El efecto del acolchado plástico sobre el incremento de la temperatura del suelo en cultivos agrícolas ha sido documentado en diversos estudios (Orozco-Santos *et al.*, 1995a; Farías-Larios y Orozco-Santos, 1997; Yang *et al.*, 2018). Este efecto térmico, provoca un incremento en el crecimiento de las raíces de los cultivos y de exudados de estas, la acumulación de carbono orgánico en el suelo (Liu *et al.*, 2014), la mineralización de la materia orgánica (Ma *et al.*, 2018) y aumento de la biomasa microbiana, lo cual repercute directamente en la fertilidad de suelo (Yongxin *et al.*, 2019). El incremento de la temperatura del suelo se ha relacionado con el crecimiento de los árboles en naranja (Croxtton y Stansly, 2014), mejora en el rendimiento de limón mexicano (Manzanilla-Ramírez *et al.*, 2018), así como los beneficios evidenciados en el presente trabajo como incremento del volumen de copa de los árboles y producción. En la Figura 7 se observa el vigor de los árboles de limón mexicano variedad 'Lise' desarrollados sobre acolchado color aluminio en comparación con los establecidos en el suelo desnudo a los 12 meses de edad. Los árboles desarrollados sobre acolchado presentan mayor vigor ( $2.44 \text{ m}^3/\text{árbol}$ ) que en suelo desnudo ( $1.33 \text{ m}^3/\text{árbol}$ ).

Figura 7. Desarrollo de árboles de limón mexicano 'Lise' en acolchado color aluminio (A) y suelo desnudo (B) a los 12 meses de edad.



### 3.5 EFECTO DE ACOLCHADOS SOBRE LA INFESTACIÓN DE MALEZA

Otro de los beneficios del uso de acolchados en los cultivos agrícolas es evitar el desarrollo de la maleza al no dejar pasar la luz fotosintética para que se desarrollen favorablemente. Esto permite una reducción significativa de la aplicación de herbicidas. En el caso de limón mexicano, las hileras de los árboles establecidos sobre acolchado se desarrollan sin el crecimiento de maleza, por lo que no existe competencia por espacio, nutrientes, luz y agua como sucede en el suelo desnudo. En el sistema de producción tradicional, se realizan hasta seis aplicaciones de herbicidas por año, mientras que, en el acolchado, solo se requiere eliminar la maleza que crece en la parte del suelo junto

a los bordos laterales del plástico (hasta 30 cm), ya que esta área no es accesible a los implementos agrícolas (desvaradora o rastra). Se recomienda controlar la maleza entre las calles con el empleo de una desvaradora impulsada por un tractor agrícola (Figura 8). Este método además de ser rápido y eficiente no destruye las raíces superficiales de los árboles, se reduce la erosión al no haber movimiento de suelo y siempre existe cobertura vegetal donde se albergan algunas especies de insectos benéficos.

Figura 8. Control de maleza con desvaradora en el sistema de producción de limón mexicano con acolchados en bordos.



### 3.6 EFECTO DE ACOLCHADOS SOBRE EL RENDIMIENTO DE FRUTA

El uso de acolchados plásticos y ground cover aumentaron el rendimiento de lima mexicana. Durante el segundo año, produjeron de 2.6 a 4.3 t/ha, en cambio el suelo desnudo rindió 1.3 t. Los rendimientos de los acolchados durante el tercero y cuarto año fueron de 15.7-19.1 y de 16.6 a 18.9 t/ha. El sistema tradicional produjo 8.9 y 15.7 t. Al cuarto año, la producción acumulada fue superior en las parcelas con plástico color blanco, aluminio, ground cover, y verde, registrando 41.6, 40.1, 39.9, y 39.7 t/ha. El acolchado negro produjo 34.9 t. Los árboles desarrollados en suelo desnudo produjeron únicamente 26.5 t (Cuadro 3).

Cuadro 3. Rendimiento anual y total acumulado de fruta de árboles de lima mexicana variedad 'lise' desarrollados en diferentes tipos de acolchado plástico y suelo desnudo de los 2 a 4 años de edad.

Tratamientos	Rendimiento (t/ha)			
	Segundo año	Tercer año	Cuarto año	Acumulado <sup>a</sup>
Negro	2.6	15.7	16.6	34.9 b
Blanco	3.6	19.1	18.9	41.6 a
Aluminio	4.3	17.7	18.1	40.1 a

Verde	2.8	18.8	18.0	39.6 a
Ground cover	2.4	17.6	19.8	39.8 a
Suelo desnudo	1.3	9.6	15.7	26.6 c

## 4 ESTABLECIMIENTO DE LIMÓN MEXICANO SOBRE ACOLCHADO

### 4.1 PREPARACIÓN DEL TERRENO

En muchos casos, los terrenos elegidos para establecer una plantación de limón mexicano están ocupados con otro cultivo o con árboles decadentes de esta especie cítrica. Por lo tanto, la preparación del terreno incluye el derribo de árboles a reemplazar, seguido de su eliminación (quema) o sacarlos del terreno. Estos suelos generalmente están compactados y dar uno o dos pasos de arado y rastra para que el terreno quede bien mullido.

### 4.2 DISTANCIA DE PLANTACIÓN

Las plantaciones en altas densidades generan mayores rendimientos de fruta desde los primeros años de cosecha, por lo que se logra recuperar la inversión inicial en un menor tiempo. Los sistemas de producción con altas densidades de plantación es una alternativa para compensar las pérdidas de producción ocasionadas por el HLB, con lo cual se recupera la productividad de los huertos.

Se recomienda usar distancias de plantación de 8x4 m (312 árboles/ha), 7x5 m (285 árboles/ha), 7x4 m (357 árboles/ha), y 6x4 (416 árboles/ha). Independientemente de la distancia que se elija, las hileras de los árboles deben orientarse de norte a sur con la finalidad de aprovechar mejor la luz del sol. Para un mejor aprovechamiento del suelo en tiempo y espacio, en este sistema de producción de limón mexicano con acolchado se recomienda emplear la distancia de 6x4 m.

### 4.3 LEVANTAMIENTO DE “CAMAS”

Se requiere levantar bordos con una “bordeadora” para formar las camas (Figura 9). La separación entre discos debe ser mínimo de 1.60 m y procurar que la cama tenga una altura mínima de 30 cm, lo cual se logrará si el terreno tuvo una buena preparación.

Figura 9. Formación de las camas con una bordeadora de discos.



#### 4.4 COLOCACIÓN DE MANGUERAS Y PLÁSTICO

Una vez formadas las camas, es necesario colocar las mangueras sobre las mismas (Figura 10, A). Se recomienda usar mangueras “ciegas” de un diámetro de  $\frac{1}{2}$  o  $\frac{3}{4}$  de pulgada. Posteriormente, se procede a la instalación del plástico usando una “acolchadora” y procurando que queden camas no menores a un metro de ancho (Figura 10, B).

Figura 10. Colocación de mangueras (A) y acolchado (B) sobre camas.



#### 4.5 PLANTACIÓN

La plantación se puede realizar en cualquier época del año. Con una “poceadora” se hacen cepas de 30 cm de diámetro y 50 cm de profundidad. Al momento de la plantación, el fondo del pozo se rellena con parte de la tierra removida, de modo que, al depositar el árbol dentro de la cepa, el cuello (unión de la raíz y tallo) quede al nivel

del suelo, para evitar problemas de enfermedades. Una vez que se planten los arbolitos, se instala un gotero por planta, procurando que quede a 10-15 cm de distancia del tallo (Figura 11).

Figura 11. Colocación de goteros en el sistema de producción de limón mexicano con acolchado.



En el mercado, existe una gran variedad de goteros con diferentes gastos de volumen de agua. Algunos son regulables (0 a 70 litros/hora) u otros de gasto fijo. Se debe seleccionar de acuerdo con el tipo de suelo y equipo de riego. De preferencia utilizar goteros regulables. En la Figura 12 se observa una plantación comercial de limón mexicano con acolchado blanco en altas densidades de plantación en el Valle de Apatzingán en el estado de Michoacán. Esta plantación fue establecida en agosto del 2018 en un sistema de altas densidades con 416 árboles/ha (6 x 4 m).

Figura 12. Plantación comercial de limón mexicano sobre acolchado blanco en el Valle de Apatzingán (Foto cortesía de Jaime Bravo).



## 4.6 VARIEDADES Y PORTAINJERTOS

En este sistema de producción se puede emplear cualquiera de las dos variedades de limón mexicano.

### 4.6.1 Colimex

Produce árboles vigorosos con desarrollo arbustivo, porte alto y follaje denso. Los brotes y ramillas presentan espinas. Las hojas son pequeñas, lanceoladas de color verde pálido. Florece todo el año, aunque presenta de tres a cinco flujos masivos de floración según la región y manejo agronómico. La fruta es pequeña, de forma elíptica a semiesférica, de cáscara delgada, coriácea, verde claro al tiempo de corte, rica en aceite esencial de alta calidad. Pulpa de color verde claro, jugosa y muy ácida con 3 a 5 semillas. Cuando los frutos se maduran en el árbol se tornan de color amarillo o amarillo-verdoso. Con un sistema de producción bajo acolchado y una densidad de 416 árboles/ha se pueden alcanzar rendimientos de 35 a 40 toneladas a partir del tercer año bajo un ambiente endémico de HLB. Posee un 50% de fruta empacable.

### 4.6.2 Lise

Esta variedad se caracteriza porque sus brotes y ramillas carecen de espinas. El árbol es vigoroso con desarrollo arbustivo, porte alto y follaje denso. Sus ramas son de crecimiento erecto y marcada dominancia apical, siendo más alargadas que la variedad Colimex. Las hojas son pequeñas, lanceoladas con punta roma de color verde. Florece todo el año, con tres a cinco flujos masivos de floración según la región y el manejo agronómico. Bajo acolchado y un escenario con HLB, tiene rendimientos potenciales de 35-40 toneladas a partir del tercer año con una densidad de 416 árboles/ha y un manejo de poda diferenciado. Por su calidad de fruta, produce rinde hasta un 70% de producto empacable y presenta un buen comportamiento en postcosecha.

La selección del portainjerto o patrón es fundamental, ya que formará el sistema radicular del árbol que realizará las funciones de anclaje, absorción de agua y nutrientes. Además, es el responsable de la adaptación a condiciones adversas del suelo. Los portainjertos recomendados son Macrofila y Volkameriana.

### 4.6.3 Portainjerto Macrofila (*Citrus macrophylla* Wester)

Este patrón se adapta bien a diferentes tipos de suelo y es tolerante a concentraciones de sales relativamente altas. Le proporciona a los árboles de limón mexicano un porte vigoroso, precocidad y alta productividad (Figura 13). Es tolerante a la

enfermedad conocida como gomosis; sin embargo, es altamente susceptible al Virus de la Tristeza de los Cítricos (VTC). Este portainjerto presenta un sistema radical profundo que le permite tolerar intervalos de riego amplios.

Figura 13. Árbol de limón mexicano variedad 'Lise' de un año sobre portainjerto Macrofila mostrando un excelente vigor y precocidad en producción en un sistema con acolchado.



#### 4.6.4 Portainjerto Volkameriana (*Citrus volkameriana* Pasq.)

Este portainjerto posee una buena compatibilidad con el limón mexicano. Forma árboles con buen desarrollo de tronco y copa, los cuales entran precozmente en producción. Presenta tolerancia a la gomosis y al VTC. Se adapta bien en suelos calcáreos, aunque en condiciones de saturación de humedad puede presentar clorosis en el follaje.

## 5 BENEFICIOS DEL ACOLCHADO EN LIMÓN MEXICANO

### 5.1 VIGOR

Las plantas desarrolladas sobre acolchados presentan un mayor desarrollo que las establecidas en suelo desnudo, lo que se traduce en un incremento de hasta un 83% en el volumen de copa productiva por árbol y por unidad de superficie con el plástico color aluminio.

### 5.2 HLB

El uso de acolchados en limón mexicano reduce la incidencia y severidad del HLB, lo cual se atribuye al efecto repelente de los plásticos de color aluminio, verde, negro y

blanco sobre el insecto vector *D. citri*. A los 12 meses de la plantación, los tratamientos con acolchado aluminio, verde y negro registraron alrededor de un 40% de árboles enfermos, en cambio el suelo desnudo presentó un 100% de incidencia.

### 5.3 MALEZA

Los acolchados (negro, aluminio, verde y blanco) reducen la infestación de malas hierbas en comparación al suelo desnudo. En este último tratamiento se realizaron seis aplicaciones de herbicida a lo largo de la hilera de árboles. El tratamiento de ground cover no resultó eficiente para el control de maleza.

### 5.4 TEMPERATURA

Los tratamientos de acolchado negro, aluminio y verde incrementan la temperatura del suelo (0 a 20 cm de profundidad) comparado con el suelo desnudo.

### 5.5 PRECOCIDAD

Los árboles sobre acolchados inician a “ensayar” a partir del onceavo mes de edad, logrando producir en el plástico aluminio más de una tonelada en los primeros 15 meses de la plantación.

### 5.6 RENDIMIENTO

Los tratamientos de acolchado tienen un efecto positivo en el incremento en rendimiento de fruta. Del mes 11 al 16, se cosecharon 1,334, 905, 836 y 610 kg/ha en las parcelas con plástico de color aluminio, verde, negro y blanco, respectivamente. El suelo desnudo rindió 54 kg/ha. Después de cuatro años, las parcelas con plástico blanco, aluminio, verde y negro produjeron 41.6, 40.1, 39.7 y 34.9 t/ha, respectivamente.

El mayor desarrollo y crecimiento de los árboles, su precocidad y productividad en las parcelas establecidas sobre los acolchados de color aluminio, verde y negro se atribuye a diferentes factores. Uno de ellos, es el incremento de la temperatura del suelo en estos tratamientos con los beneficios señalados en fertilidad y desarrollo de raíces. Así mismo, la conservación de la humedad, menor competencia con la maleza y la menor severidad de HLB influyeron en los beneficios de los acolchados.

## 6 CARACTERÍSTICAS DE LOS ACOLCHADOS PARA LIMÓN MEXICANO

Los plásticos para usarse en limón mexicano deben de fabricarse con aditivos, resinas, pigmentos y estabilizadores de calidad para soportar la radiación solar y los



rayos UV con la finalidad de que el acolchado dure al menos los dos primeros años de la plantación. Su calibre debe ser no menor a las 150 micras de espesor.

Los acolchados plásticos recomendados para limón mexicano deben ser aquellos de tonalidad oscura, principalmente los de color aluminio, negro y verde. El ancho de los plásticos debe de ser de no menos de 1.80 metros.

## 7 COSTOS DE PRODUCCIÓN

El costo de producción de una plantación nueva de limón mexicano bajo el sistema convencional de suelo desnudo durante el primer año es de \$ 58,300/ha, que incluye preparación y limpieza del terreno, plantas certificadas (416 plantas/ha), establecimiento, riegos, nutrición, poda, control de plagas, enfermedades y maleza. Durante los primeros 16 meses, la producción de fruta es prácticamente nula (54 kg/ha). En el sistema de producción con acolchado plástico, el costo del primer año se incrementa a \$ 67,608/ha por el valor del plástico, bordeado y su colocación (\$ 9,308/ha). Sin embargo, por la precocidad e incremento en la producción de fruta de los árboles desarrollados en acolchado aluminio, negro y verde, se cosechan de 836 a 1,334 kg/ha, con lo cual se obtiene un ingreso neto de \$ 9,698 a \$ 15,474 (28 a 44 cajas a un precio promedio 7 a 14 \$/kg y menos el costo de corte por caja), quedando una utilidad neta de \$ 8, 578 a \$ 13,714/ha. Con esta utilidad, a los 16 meses de edad de la plantación, se recupera la inversión del costo del plástico y su establecimiento. En los dos o tres años posteriores, se continuarán conservando los beneficios del sistema de acolchado: mayor volumen de copa productiva y rendimiento de fruta, menor uso de agua de riego y reducción de costos por aplicación de herbicidas. Después de cuatro o cinco años, el plástico debe removerse para evitar que se contamine el suelo.

## 8 CONCLUSIONES

El uso de acolchados plásticos en lima mexicana demostró excelentes beneficios en comparación al sistema tradicional de suelo desnudo. Los más importantes fueron: reducción de la población de *D. citri*, así como de la incidencia y severidad de Huanglongbing, y un incremento significativo en el rendimiento de fruta. La adopción de esa tecnología representa una mayor rentabilidad para los productores de lima mexicana. Los costos del uso de acolchado plástico son de 526 dólares/ha (costo del plástico, formación de bordos, e instalación). Al segundo año, el acolchado aluminio y blanco produjeron 4.3 y 3.6 t/ha y el suelo desnudo únicamente 1.3 t. El valor promedio de la fruta fue de \$600 dólares/t, lográndose una rápida recuperación de la inversión

del costo del acolchado con este sistema de producción. Al cuarto año, se incrementó en 50-56% el rendimiento en los colores aluminio y blanco. Este sistema de producción representa una alternativa viable para convivir con el HLB bajo condiciones endémicas de la enfermedad en la región del trópico seco de México.

## LITERATURA CONSULTADA

Croxtton, S.D. and Stansly, P.A. 2014. Metalized polyethylene mulch to repel Asian citrus psyllid, slow spread of huanglongbing and improve growth of new citrus plantings. *Pest Management Science* 70(2):318-23.

Fariás-Larios, J., and Orozco-Santos, M. 1997. Effect of polyethylene mulch colour and aphid populations, soil temperature, and yield of watermelon under tropical conditions. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 25:369-374.

Liu, J., Bu, L., and Zhu, L. 2014. Optimizing plant density and plastic film mulch to increase maize productivity and water - Use efficiency in semiarid areas. *Agronomy Journal* 106(4):1138-1146.

Ma, D., Chen, L., Qu, H., Wang, Y., Misselbrook, T., Jiang, R. 2018. Impacts of plastic film mulching on crop yields, soil water, nitrate, and organic carbon in Northwestern China: A meta-analysis. *Agricultural Water Management*. Vol. 202. p. 166-173.

Manzanilla-Ramírez, M.A., Velázquez-Monreal, J.J., Bermúdez-Guzmán, M.J., García-Mariscal, K.P., Orozco-Santos, M. y Robles-González, M.M. 2018. Manejo integral del cultivo de limón mexicano en un escenario de alta incidencia de HLB. Folleto para productores No. 20. SAGARPA, INIFAP, CIRPAC, Campo Experimental Tecomán. Tecomán, Colima, México. 26 p.

Moericke, V. 1951. Eine Farballe zur Kontrolle des Fluges von Blattläusen insbesondere der pfirsichblattlaus, *Myzodes persicae* (Sulz). *Nachrichtenbl Deutsch Pflanzenschutz* 3:23-24.

Orozco-Santos, M., Perez-Zamora, O, and Lopez-Arriaga, O. 1995a. Effect of transparent mulch on insect populations, virus diseases, soil temperature, and yield of cantaloup in a tropical region. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 23: 199-204.

Orozco-Santos, M., Pérez-Zamora, O. and López-Arriaga, O. 1995b. Floating row cover and transparent mulch to reduce insect populations, virus diseases and increase yield in cantaloup. *Florida Entomologist* 78(3):493-501.

Orozco-Santos, M., Robles-González, M.M., Velázquez-Monreal, J.J., Manzanilla-Ramírez, M.A., Bermúdez-Guzmán, M.J., Carrillo-Medrano, S.H., Medina-Urrutia, V.M., Hernández-Fuentes, L.M., Gómez-Jaimes, R., Manzo-Sánchez, G., Fariás-Larios, J., Nieto-Ángel, D., Mijangos-Hernández, E., Sánchez-de la Torre, J.A. y Varela-Fuentes, S. 2014. El limón mexicano (*Citrus aurantifolia*). Libro Técnico Núm. 1. SAGARPA, INIFAP, CIRPAC, Campo Experimental Tecomán. Tecomán, Colima, México. 449 p.

Orozco-Santos, M., Robles-González, M.M., Velázquez-Monreal, J.J., Manzanilla-Ramírez, M.A., Carrillo-Medrano, S.H., Bermúdez-Guzmán, M.J., García-mariscal, K.P. y García-Preciado, J.C. 2016. Situación actual y perspectivas de la investigación en limón mexicano. Memoria Técnica-Científica del XII Simposio Internacional Citricola 2016. CONASIPROLIM. INIFAP. Tecomán, Colima, México. p. 111-124.

Sakariya, K.K., Satasiya, R.M., Satasiya, V.D. and Sapariya, P.S. 2018. Performance of Plastic Mulch on Papaya Crop. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 7(3):3243-3251.

SENASICA 2010. Oficio B00.01,01,01.03.-02788. Circular No. 056. 16 de abril de 2010. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Dirección General de Sanidad Vegetal.

SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera) 2023. Consultado: 28 de septiembre de 2023. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx>

Yang, J., Mao, X., Wang, K., and Yang W. 2018. The coupled impact of plastic film mulching and deficit irrigation on soil water/heat transfer and water use efficiency of spring wheat in Northwest China. Agricultural Water Management. Vol. 201. p. 232-245.

Yongxin, L., Ye, G., Kuzyakov, Y., Liu, D., Fan, J., and Ding, W. 2019. Long-term manure application increases soil organic matter and aggregation, and alters microbial community structure and keystone taxa. Soil Biology and Biochemistry. Vol. 134. p.187-196.

# CAPÍTULO 13

## MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF MIXED PIGS FOR SUSTAINABILITY IN THE LEGAL AMAZON, BRAZIL

Data de submissão: 29/09/2023

Data de aceite: 23/10/2023

### Leandro Macedo Miranda

State University of Maranhão  
Postgraduate in Animal Science  
(PPGCA/UEMA)  
São Luís, Brazil

<https://orcid.org/0000-0002-9979-7288>

### Thiago Machado da Silva Acioly

State University of Maranhão  
Postgraduate in Animal Science  
(PPGCA/UEMA)  
São Luís, Brazil

<https://orcid.org/0000-0003-2849-5554>

### Diego Carvalho Viana

State University of the Tocantina  
Region of Maranhão (UEMASUL)  
Imperatriz, Maranhão  
Postgraduate Program in  
Animal Science at the  
State University of Maranhão  
(PPGCA/UEMA)  
São Luís, Brazil

<http://orcid.org/0000-0002-3302-9892>

### Valene da Silva Amarante

State University of Maranhão  
São Luís, Brazil

genetic improvement of breeds to meet the demand for pork. The morphological characterization of crossbred swine breeds is of great importance within programs for the conservation of animal genetic resources, as it makes it possible to differentiate genetic groups within species, based on quantitative and qualitative variables. Given the above, the objective of the study was to evaluate the morphological characterization and zoometric indices of crossbred pigs from the municipality of São Luís, Maranhão, Brazil. The information collected related to the biometric variables, the zoometric indices, and the characteristics of the exterior, through the application of the form and measurement of measurements with the aid of a hip. The crossbred swine population studied is well adapted, about the presence of bristles, these were present in 100% of the animals. The animals presented well-developed and uniform nipples. The ultraconcauillin profile was not observed in the animals. São Luís crossbred pigs showed adequate morphometric and zootechnical characteristics for production.

**KEYWORDS:** Animal production. Morphometry. Adaptability. Animal protein.

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA  
DO SUÍNO MESTICO PARA A  
SUSTENTABILIDADE NA AMAZÔNIA  
LEGAL, BRASIL

**ABSTRACT:** The world scenario presents a constant and growing concern with the

**RESUMO:** O cenário mundial apresenta uma preocupação constante e crescente

com o melhoramento genético de raças para satisfazer a demanda por carne suína e proteína animal. A caracterização morfológica de raças cruzadas de suínos é de grande importância dentro dos programas de conservação dos recursos genéticos animais, pois permite a diferenciação de grupos genéticos dentro das espécies, com base em variáveis quantitativas e qualitativas. O objetivo deste estudo foi avaliar a caracterização morfológica e os índices zoométricos de suínos mestiços do município de São Luís, Maranhão, Brasil. As informações coletadas foram relacionadas a variáveis biométricas, índices zoométricos e características exteriores, através da aplicação da forma e aferição de medidas com auxílio de um quadril. A população suína mista estudada está bem adaptada em relação à presença de porcas, que estiveram presentes em 100% dos animais. Os animais apresentavam mamilos bem desenvolvidos e uniformes. A característica do perfil ultraconcavilíneo não foi observada nos animais. Os suínos mestiços de São Luís apresentaram características morfométricas e zootécnicas adequadas para produção.

**PALAVRAS-CHAVE:** Produção animal. Morfometria. Adaptabilidade. Proteína animal.

## 1 INTRODUCTION

The world scenario of pork has a constant and growing concern with the genetic improvement of breeds to meet the demand from the consumer market, where Brazil presents itself as the fourth largest producer and aims to conquer new markets through technological advances <sup>(1)</sup>. However, the Brazilian pig breeds that stood out the most are formed from animals descended from wild boars that were introduced in Brazil during the colonial period. These animals in turn have characteristics such as rusticity, adaptability to poor conditions of administration and feeding, in addition to great resistance to diseases <sup>(2)</sup>.

Currently, Brazilian pig farming is practiced mainly by small family farmers in the Northeast region, where there are still basic obstacles to the production chain, such as the low level of education of workers and the discredit of new forms of production <sup>[18]</sup>. Considering this context, morphological characterization has great importance within genetic resource conservation programs, based on quantitative and qualitative variables. Which it is necessary to analyze the morphological, productive, functional, reproductive, and behavioral aspects, in addition to the genetic aspects to obtain a complete racial characterization <sup>(3, 4)</sup>.

The similarities and differences between commercial and native breeds are important to identify and evaluate their origins and possible sources of genes for the genetic improvement of herds. The size of the animal is also needed to determine diet and housing requirements <sup>(5)</sup>. The knowledge of the genetic, morphological, and productive characteristics of the breed, as well as its products, is essential for the constitution of a rational production system <sup>(6)</sup>.

Few studies have yet been carried out on the diversity of naturalized pig breeds in South American countries. The lack of information makes in-depth analysis more difficult, especially due to the high expressiveness of Brazilian industrial production covering the importance of subsistence pig farming. Increasing the diversity of production on small farms through the introduction of other agricultural and livestock species can improve the small production of food and nutrition through subsistence. It is well known that small producers families generally consume a considerable part of what they produce at home, and this increases agrobiodiversity, according to research carried out in Ethiopia, on average, subsistence production is responsible for 58% of the calorie consumption of rural area families <sup>(7)</sup>. Given the above, the objective of this study was to evaluate the morphological characterization and zoometric indices of crossbred pigs in the municipality of São Luís, Maranhão, as a way to standardize the biometry of the animals studied.

## 2 MATERIALS AND METHODS

### 2.1 STUDY REGION

This work was carried out in the municipality of São Luís, capital of the state of Maranhão, Brazil. The municipality has 1,014,837 inhabitants spread over an area of 835 km<sup>2</sup>. It is 2° 31' 47" latitude, 44° 18' 10" longitude, and at an altitude of 24,391 m. It is limited to the Atlantic Ocean, to the North; with the Estreito dos Mosquitos, to the South; with São Marcos Bay, to the West <sup>(8)</sup>. The climate is hot and humid (tropical), with two seasons: the rainy (January to June), with an average rainfall of 1,954mm, and the drought (July to December). The temperature varies between 28°C and 30°C <sup>(9)</sup>.

To standardize data in the Northeast region and for possible comparison with existing data. This work was based on the methodology applied by Silva Filha <sup>(10)</sup>. The study was developed through visits to breeders, information related to biometric variables was collected, zoometric indices and outdoor features, through the application of the form and measuring the measurements with the help of a hip in which the information found was used for the racial evaluation of the pigs. 55 animals from a total of 5 crossbreed breeders were evaluated.

The selection of animals to be measured in this study was defined based on criteria such as age (preferably over six months); individuals being of different mothers; coat pattern with predominance in the municipality. To obtain the biometric variables (Table 1), the zoometric indices, the racial and functional evaluation of the animals studied, as well as for the characterization of the animals' exterior <sup>(10,11)</sup>.

Table 1. Measurements made to animals in studies and their correspondence in letters.

Biometric variable	Measurement zone	Measuring instrument
Height to Withers HW	Distance measured from the ground to the highest point of the withers	Hypometer
Height to dorsum HD	Distance measured from the ground to the highest point on the dorsum	Hypometer
Height to rump HR	Vertical distance from the ground to the point where the lumbar region joins the rump	Hypometer
Height to tail insertion HTI	Vertical distance between the ground and the base of the tail implant	Hypometer
Hight to Leg HL	Vertical distance between the ground and the end of the rump	Hypometer
Head length HL	Distance from the base of the occipital to the coccygeal vertebrae	Measuring tape
Body length BL	Distance measured from the outer occipital protuberance to the tip of the snout	Measuring tape
Snout lenght SL	Distance measured from the fronto-nasal suture to the tip of the snout	Hypometer
Rump lenght RL	Distance measured from the external iliac tuberosity (hip tip) to the buttock tip	Hypometer
Ear lenght EL	Distance measured between the central point of the ear base and the ear apex	Measuring tape
Leg lenght LL	Distance measured from the termination of the buttock region to the tip of conversion	Measuring tape
Neck length NL	Distance measured from the end of the ear base to the beginning of the palette	Measuring tape
Inter-orbital distance ID	Measured distance between both frontal apophyses	Hypometer
Head width HW	Distance measured between both temporal apophyses	Hypometer
Snout width SW	Distance measured between the base of both canines	Hypometer
Rump width RW	Measured distance between both external iliac tuberosity	Hypometer
Ear width EW	Distance measured between both edges of the ear	Measuring tape
Abdominal Perimeter AP	Surrounding the body in the lumbar region	Measuring tape
Cannon Perimeter CP	Surrounding the middle third of the metacarpal	Measuring tape
Thoracic perimeter TP	Surrounding the body in the thoracic region	Measuring tape

For the calculation of the zoometric indices, where three indices (cephalic, facial, and pelvic) were used, based on biometric measurements. Such calculations are often used as indicators of racial diagnosis <sup>(10, 11)</sup>, using the following formulas:

- 1) Cephalic Index (CI): (Head Width) / (Head Length) x 100
- 2) Pelvic Index (PI): (Rump width) / (Rump Length) x 100
- 3) Cannon Load Index (CLI): (Cannon Perimeter) / (Estimated weight)

Weight was estimated using biometric measurements (transformed into meters) PT e CC <sup>(12)</sup>, using the equation:

$$\text{Weight} = [(PT \times PT) \times CC] \times 69,3$$

For the exterior characterization, eight variables were used, these being: ear type; cephalic profile; fur; mucous; legs; foot; number of teats, and gender. The statistical design was descriptive using the means obtained between the variables.

### 3 RESULTS

We obtained the descriptive statistics through the biometrics performed (Table 2). Based on the biometric measurements obtained, we calculated (in %) the main zoometric indices to classify the study population (Table 3).

Table 2. Averages of the biometric measurements of the pigs analyzed in the city of São Luís- MA.

Biometric variable	Averages
HW	67,57
HD	71,80
HR	73,54
HTI	63,00
HL	123,54
HL	28,89
BL	15,32
SL	23,18
RL	19,21
EL	26,16
LL	16,55
NL	11,3
ID	12,91
HW	9,21
SW	24,00
RW	15,29
EW	118,62
AP	18,23
CP	115,11



Table 3. Main zoometric indexes (em %).

WEIGHT	CI	PI	CLI
112,72	44,68	103,53	16,17

The animal's general and qualitative data, the crossbreed swine population studied is well adapted, and the fur color was white (61.53%) for the majority of the pigs observed, which demonstrates the strong influence of the Landrace and Large White breeds in the racial composition of swine from São Luís - MA. Regarding the presence of bristles, they were present in 100% of the animals.

The type of Asian ear was predominant with 55%, followed by the Iberian type with 27% and the Celtic type with 18%. It was also observed superiority to the animals that have the ear with a rectilinear cephalic profile (50%), Superiority was also observed, followed by animals with a concavilinous cephalic profile (42%), and subconcaviline (8%). For the ultraconcavillin characteristic, no animals with this profile were found. The animals presented well-developed and uniform nipples, where most had 14 teats (Table 4).

Table 4. Number of teats per animal and percentage found.

Number of teats per animal	Percentage (%)
10	5,45
11	1,81
12	25,45
13	9,09
14	52,72
16	5,45

#### 4 DISCUSSION

Native pigs are a valuable genetic reserve that can be used to recover the organoleptic properties of pork meat <sup>(13)</sup>. However, studies have shown that the Mexican Pelon Pig is evolving from traditional breeding systems to other (intensive and extensive) business systems where rusticity and adaptability are used, leaving behind the concept of animal genetic resources at risk and ensuring their presence in the immediate future <sup>(14)</sup>.

The averages obtained in the present study were higher than the municipalities of Curimataú Paraibano, with the exception only of body length (BL) which demonstrated inferiority for the municipalities of Tacima (28,92), Cuité (29,16), Santa Rosa (29,77) and Remígio (32,06) <sup>(10)</sup>, showing superiority on the part of São Luís-Ma crossbred pigs.

Regarding the Alcobaça spotted pigs crossbred pigs showed inferiority in all studied variables <sup>(11)</sup>. However, São Luís cross-bred pigs showed superiority over New Guinea Creole pigs <sup>(15)</sup>.

Attention should be given to the cephalic index (CI) as the best indicator of the expression of racial diagnosis <sup>(10, 11)</sup>. Considering the CI of the pigs measured in São Luís, they presented a higher value (44,68%) to the native pigs of Curimataú Paraibano (37,38%), to New Guinea (42,51%), and a lower value than Alcobaça spotted (59,61%). The animals from São Luís presented CI close to the animals from New Guinea, both being classified together as dolichocephalics, that is, with an enlarged skull <sup>(15)</sup>. Skull-related characteristics are strongly influenced by race and gender, however, the environment infers low performance on these attributes.

The PI was lower than that of the pigs from Curimataú Paraibano (127,79%), superior to Alcobaça spotted (101,91%) and New Guinea (86,87%). The ICC of crossbred pigs in São Luís was higher than that of native pigs measured <sup>(10, 11, 15)</sup>, demonstrating that the animals of São Luís have a greater aptitude for meat production. The weight was lower for crossbred pigs from São Luís, only, compared to Alcobaça spotted with an average of 112,72kg and 230,06kg respectively <sup>(11)</sup>.

Therefore, for the external characterization, a superiority was observed in the animals that have the ear with a rectilinear cephalic profile (50%), followed by animals with a concavilinous cephalic profile (42%), and subconcaviline (8%). For the ultraconcavillin characteristic, no animals with this profile were found. The type of Asian ear was predominant with 55%, followed by the Iberian type with 27% and the Celtic type with 18%. Regarding the presence of bristles, they were present in 100% of the animals, and the fur color was white (61,53%) for most of the pigs observed, which demonstrates the strong influence of the Landrace and Large White breeds on the racial composition of the pigs of São Luís-MA <sup>(10, 11, 15)</sup>.

For the variable, several teats pairs, authors <sup>(10)</sup> found in their study with native pigs that 5%, 33%, 50%, and 11.5% of the animals studied had 4, 5, 6, and 7 pairs of teats, respectively, that is, only 11.5% of the animals, animals had 14 teats. None of the animals had a number less than 12 <sup>(11)</sup>. In this study, most of them had 14 teats (52.72%), which shows that crossbred pigs have a better maternal ability compared to native breeds (Landrace e Large White). Was observed that the morphometric variability detected in pigs in Mexico's rural areas can be attributed to the differences in the management and environment systems in which they developed to the genetic diversity existing between them <sup>(16)</sup>. Swine external morphometry studies may contribute to the advancement of advanced medical research details <sup>(17)</sup>.

Although studies of genetic variability such as pedigree analysis or genetic markers have not been carried out in this study, the results presented are supported. However, when investigating hairless pigs raised in Mexico, used genetic resources and observed that the morphological variables present phenotypic variation, their relations, and dimensions constitute the racial pattern and that these criteria can be considered as selection objectives <sup>(18)</sup>. The importance of technical training and support for small-scale pig producers, especially in sensitive regions like the Tocantina Region of Maranhão <sup>(19)</sup>, particularly through technical visits, property assessments, and discussions, illustrates how education and extension services can contribute to enhancing animal welfare, production efficiency, and sustainability in the pig production chain <sup>(20)</sup>.

## 5 CONCLUSION

The pigs studied in São Luís showed morphological and external characteristics with a slight similarity to foreign breeds (Landrace e Large White). It is believed that due to the genetic influence of the strains created in the intensive pig production systems and the demand of the consumer market on the São Luís - MA Island. The zoometric indices of the animals studied were similar to other studied breeds. Being able to characterize them as a productive and technically economical group.

## 6 INTEREST CONFLICT

The authors declare that there is no interest conflict.

## 7 ETHICS COMMITTEE

The research did not use animals, and it is not necessary to issue a favorable opinion by the Ethics Committee on the Use of Animals. All interviewed breeders signed the Free and Informed Consent Form –TCLE.

## 8 ACKNOWLEDGMENT

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and the Fundação Maranhão de Apoio à Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FAPEMA).

## REFERENCES

1. ABPA, Associação Brasileira de Proteína Animal. Relatório anual. <http://abpa-br.com.br/storage/files/relatorio-anual-2018.pdf>. Accessed 21 feb 2023.

2. Anjos CM, Gois FD, Pereira, CMC. Desmistificando a carne suína. *Pubvet* 2018; 12(136): 1-10.
3. Cesconeto RJ. Genética de paisagem de suínos no Brasil: identificação de assinaturas de seleção para estudos de conservação e caracterização de rebanhos [Tese]. Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2016.
4. Parés-Casanova PM. Introductory chapter-morphometric studies: beyond pure anatomical form analysis. *New Insights into Morphometry Studies* 2017; 1-3.
5. Leonard SM, Xin H, Ramirez BC, Stinn JP, Dutta S, Liu K, Brown-Brandl TM. Static and Dynamic Space Usage of Late-Gestation Sows. *Transactions of the ASABE* 2021; 64(1):151-159.
6. Bozzi R, Skrlep M, Lenoir H, Lebret B, Garcia Gasco JM, Petig M, Charneca R, Paixim H, Karolyi D, Radović Ć, Gallo M, Geraci C, Usai G, Quintanilla R, Araujo JP, Razmaite V, Gvozdanović K. Survey of demographic and phenotypic data of local pig breeds of TREASURE Project. *Archivos de Zootecnia* 2018; 1- 4.
7. Sibhatu KT, Qaim M. Rural food security, subsistence agriculture, and seasonality. *PloS one*, 2017; 12(10): e0186406.
8. IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICAS. Censo Demográfico 2010. Estado do Maranhão, 2018. <http://www.ibge.gov.br>. Accessed 25 feb 2023.
9. Souza EB, Carmo AMC, Moraes BC, Nacif A, Ferreira DBS, Rocha EJP, Souza PJOP. Sazonalidade da precipitação sobre a Amazônia Legal Brasileira: clima atual e projeções futuras usando o modelo regcm4 (Seasonal Precipitation Over the Brazilian Legal Amazon: Climate Current and Future Projections Using REGCM4 Model). *Revista Brasileira de Climatologia* 2016; 18:293-306.
10. Silva Filha OL, Filho EP, Silva LPG, Pereira WE, Oliveira RJF, Delgado JV, Sereno JRB. Body Morphometry of Local Pigs of Curimataú Paraibano. Characterization of Factors. *Revista Computadorizada de Producción Porcina Volumen* 2010; 17(3):203-207.
11. Vicente A, Pereira L, Carolino N, Carolino MI, Gama LT. Caracterização morfológica do porco” Malhado de Alcobaça”. *Revista Suinicultura* 2006; 1(47-56).
12. Velázquez GM, Ponce SIV, Izquierdo AV, Torres EC, Covarrubias AC, Colín DC, Aguilar MD, Jaquez JAM, Silva FEM, Utrera AR, Murillo VEV, López FJR. Morfometría del cerdo de traspatio en áreas rurales de México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 2016; 7(4):431-440.
13. Pugliese C, Sirtori F. Quality of meat and meat products produced from southern European pig breeds. *Meat Science* 2012; 90(3):511-518.
14. Hernández AÁ, García Munguía CA, García Munguía AM, Ortiz Ortiz JR, Sierra Vásquez AC, Morales Flores S. Sistema de producción del Cerdo Pelón Mexicano en la Península de Yucatán. *Nova scientia* 2020; 12(24):1-22.
15. Rivas GL, Ramón A, Ortega Z, Lenin Y. Caracterización morfológica del cerdo criollo (*Sus scrofa domesticus*) en el municipio de Nueva Guinea, RAACS [tese]. Universidad Nacional Agraria; 2017.
16. Martínez Velázquez G, Román Ponce SI, Vélez Izquierdo A, Cabrera Torres E, Cantú Covarrubias A, Cruz Colín LDL, Ruiz López FDJ. Morfometría del cerdo de traspatio en áreas rurales de México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 2016; 7(4):431-440.
17. Miranpuri GS, Schomberg DT, Stan P, Chopra A, Buttar S, Wood A, Radzin A, Meudt JJ, Resnick DK, Shanmuganayagam D. Comparative Morphometry of the Wisconsin Miniature Swine<sup>TM</sup>/

sup> Thoracic Spine for Modeling Human Spine in Translational Spinal Cord Injury Research. *Annals of Neurosciences* 2018; 25:210-218.

18. Ramírez-Reyes JM, García-Robles E, Medellín-Cazares A, Osorto-Hernández W, Domínguez-Viveros J. Caracterización genética y fenotípica de una población de cerdo pelón mexicano. *Archivos de zootecnia* 2020; 69(268):398-404.

19. Acioly T, Dias IN, Santos DA, Maciel MS, Viana DC. Caracterização e observações sobre a suinocultura familiar e seu papel no contexto rural da região tocantina do Maranhão. *Revista Ensaios Pioneiros*, 2023;7(1):104-115.

20. Viana DC, Anunciacao ARA, Santos AC, Rui LA, Prado AAF. Incidência de cisticercose suína através da inspeção de animais abatidos no abatedouro municipal de Imperatriz entre 2000 a 2010, Maranhão, Brasil. *Enciclopédia Biosfera*, 2012; 8(15):1-9.

# CAPÍTULO 14

## MICROORGANISMOS E RESÍDUO AGROINDUSTRIAL VISANDO INCREMENTOS NA FERTILIDADE DE UM SOLO DEGRADADO

Data de aceite: 24/11/2023

**Jéssica Alves de Oliveira**

<http://lattes.cnpq.br/4808825201215174>

**Diego Gonçalves Feitosa**

<http://lattes.cnpq.br/1493473189192331>

**Flávia Mendes dos Santos Lourenço**

<http://lattes.cnpq.br/6790700300461348>

**Katia Luciene Maltoni**

<http://lattes.cnpq.br/5916044335231101>

**Ana Maria Rodrigues Cassiolato**

<http://lattes.cnpq.br/7348513258586777>

**RESUMO:** A inoculação de microrganismos pode gerar benefícios, visto que são responsáveis por vários processos como solubilização do fosfato (P) e mineralização da matéria orgânica do solo. Resíduos agroindustriais possuem nutrientes em sua composição, podendo garantir incrementos na fertilidade a baixo custo. O objetivo do estudo foi a aplicação de resíduo agroindustrial e a inoculação de microrganismos visando incrementar a fertilidade de um solo degradado, cultivado com bananeira (*Musa*

sp. cv. Mysore). O delineamento foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 2 x 2 x 3, com 4 repetições, cada uma com 4 covas com uma planta. Os fatores foram com e sem inoculação do fungo micorrízico arbuscular; com e sem adição de cinza da biomassa de cana-de-açúcar; e com (um bacteriano e uma mistura de três isolados fúngicos) e sem inoculação de solubilizadores de P. Aos 67 e 274 dias do plantio foram avaliados atributos químicos do solo; altura e diâmetro do pseudocaule, P-foliar total e índice relativo de clorofila. A cinza melhorou a fertilidade do solo, por elevar pH, P, Ca, K, Mg e V%, e reduzir Al. Houve aumento da altura e diâmetro do pseudocaule e as inoculações elevaram P absorvido nas plantas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cinza de biomassa de cana-de-açúcar. Micorriza arbuscular. *Glomus clarum*. Solubilização de fosfato.

### MICROORGANISMS AND AGROINDUSTRIAL RESIDUE IN THE RECOVERY OF FERTILITY OF A DEGRADED SOIL

**ABSTRACT:** The inoculation of microorganisms can generate benefits, since they are responsible for various processes, such as phosphate (P) solubilization and mineralization of soil organic matter. Agroindustrial residues have nutrients in their composition that may guarantee increases in soil fertility, at low cost. The aim of this study was the application of agroindustrial residue

and inoculation of microorganisms, to increase soil fertility in degraded areas, cultivated with banana trees (*Musa* sp. cv. Mysore). The experiment was conducted in randomized blocks, in a 2 x 2 x 3 factorial scheme, with 4 replications, with 4 pits and one plant in each. Factors were with and without inoculation of the arbuscular mycorrhizal fungus; with and without the addition of sugarcane biomass ash; and with (one bacterial and the mixture of three fungal isolates) and without inoculation of P solubilizers. At 67 and 274 days after planting, soil chemical attributes, total P-leaves; plant height and pseudostem diameter, and relative chlorophyll index were evaluated. Sugarcane ash improved soil fertility by increasing pH, P, Ca, K, Mg, and V%, and reducing Al. There was an increase in plant height and pseudostem diameter. Inoculation of microorganisms raised plants' P-absorption.

**KEYWORDS:** Sugarcane biomass ash. Arbuscular mycorrhizal. *Glomus clarum*. P-solubilization.

## 1 INTRODUÇÃO

As áreas degradadas ocupam um quarto da área terrestre global, enquanto no Brasil milhões de hectares apresentam algum tipo de degradação. Para recuperação de uma área degradada deve-se, antes, buscar o equilíbrio do solo em questão, com o fornecimento de nutrientes, microrganismos e matéria orgânica (MO). A cinza do bagaço da cana-de-açúcar é um resíduo agroindustrial que contém níveis elevados de nutrientes e a capacidade de reter água (Ferreira et al., 2012), melhorando as propriedades físico-químicas do solo e a produtividade (Seleiman & Kheir, 2018).

Dentre os microrganismos do solo, os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são simbioses que beneficiam a nutrição das plantas por meio da absorção de água e nutrientes, especialmente o fósforo (P) (Velázquez et al., 2017). Outros atuam na mobilização do P, como os solubilizadores de fosfatos inorgânicos, ou na mineralização de fosfatos orgânicos, elevando a fertilidade do solo. A inoculação conjunta de FMA e solubilizadores de fosfato pode ser ecologicamente importante, pois os FMA podem absorver o P disponibilizado pela atividade dos solubilizadores (Taktek et al., 2015).

A escolha de uma espécie frutífera, como a bananeira (*Musa* sp.), para recuperação de áreas degradadas, deve-se à sua capacidade de produzir frutos, ser fonte expressiva de material orgânico e de exsudados radiculares ao solo, estimulando a microbiota deste. A água acumulada no rizoma e pseudocaule da bananeira pode contribuir para que os microrganismos resistam a períodos de estresse hídrico (Donato et al., 2012), característicos da região ou oriundos da degradação da área. Assim, o objetivo do trabalho foi a inoculação de microrganismos (fungo micorrízico arbuscular *Glomus clarum* e de solubilizadores de fosfato) e a aplicação de resíduo agroindustrial (cinza de biomassa de cana-de-açúcar), visando incrementos na fertilidade de um solo degradado.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido de 03 a 12/2017, em área pertencente à UNESP-Faculdade de Engenharia, Campus de Ilha Solteira-SP, localizada em Selvíria-MS, na margem direita do Rio Paraná (20° 22' 49" S; 51° 24' 23" W), à jusante da Usina Hidrelétrica de Ilha Solteira-UHE. O local foi degradado durante a construção da UHE, na década de 60, quando a área foi desmatada e camadas de solo de até 12 m de espessura foram removidas, expondo o subsolo, que permanece sem cobertura vegetal.

O clima na região é do tipo Aw, tropical úmido com estação chuvosa no verão e seca no inverno, de acordo com o sistema internacional de Köppen (Alvares et al., 2013), com precipitação e temperaturas médias anuais da ordem de 1370 mm e 23 °C, respectivamente, e altitude média de 335 m. Os solos de ocorrência comum no entorno são Latossolos e Argissolos Vermelhos (Demattê, 1980; Embrapa, 2017) e a granulometria no local é franco argilo arenosa (302, 172 e 526 g kg<sup>-1</sup> de argila, silte e areia, respectivamente). Na área experimental foi realizado, em 10/2010, um plantio de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.), visando a revegetação da área. Este foi conduzido em blocos de 960 m<sup>2</sup> (30 x 32 m) e os tratamentos preparados em covas, onde foram adicionados cinza da biomassa da cana-de-açúcar (cinza) e solo-inóculo, oriundo de cerrado conservado (Cerrado), como fonte de microrganismos. Antes do preparo das covas a área foi subsolada a 0,40 m de profundidade e gradeada. As covas foram então abertas (0,30 m de diâmetro e 0,90 m de profundidade) com broca hidráulica, em espaçamento 3 x 2 m.

O material extraído de cada cova foi dividido em duas porções, metade prontamente devolvida à cova e, a outra metade, foram misturados os tratamentos, neste caso a cinza (30 t ha<sup>-1</sup> ou 980 g cova<sup>-1</sup>) e uma quantidade mínima de adubos químicos e corretivos para não interferir na inoculação. Todos os tratamentos receberam sulfato de amônio (2,7 t ha<sup>-1</sup>; 24 g cova<sup>-1</sup>), superfosfato simples (1,6 t ha<sup>-1</sup>; 14 g cova<sup>-1</sup>), cloreto de potássio (155 kg ha<sup>-1</sup>; 1,4 g cova<sup>-1</sup>) e calcário dolomítico (4 t ha<sup>-1</sup>; 36 g cova<sup>-1</sup>). Esta mistura foi devolvida às covas para o plantio do pinhão-manso. No momento do plantio (12/2010), foram adicionados 200 g de solo-inóculo por cova, contendo 600 esporos da FMA.

Dezoito meses após o plantio foi conduzida uma poda, recomendada para a cultura, porém as plantas não resistiram e a área permaneceu sem regeneração natural até a instalação do presente experimento (03/2017), o qual segue o delineamento experimental em blocos casualizados, em esquema fatorial 2 x 2 x 3, com 4 repetições, cada uma constituída de 4 covas com uma planta. Os fatores testados foram com e sem inoculação do FMA *G. clarum*, com e sem adição de cinza, e com e sem inoculação de fungos e bactérias solubilizadoras, mais o controle não inoculado.



A caracterização inicial dos atributos químicos do solo seguiu metodologia de Raij et al. (2001): pH = 4,4; P mg dm<sup>-3</sup> = 2,8; Al mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> = 5,5; MO g dm<sup>-3</sup> = 10,4; SB mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> = 8,1; V% = 26,2. Na instalação do experimento, as covas foram reabertas a 0,45 m de profundidade e ao solo foi adicionado calcário e fertilizantes nas quantidades empregadas anteriormente, assim como a cinza. Este material foi misturado e devolvido às covas. A caracterização química da cinza seguiu metodologia de Raij et al. (2001): pH = 4,8; P mg dm<sup>-3</sup> = 54; Al mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> = 2; MO g dm<sup>-3</sup> = 15; SB mmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> = 19,6.

O solo-inóculo contendo *G. clarum* foi adicionado às covas no momento do plantio. A multiplicação ocorreu em mistura de solo degradado e areia esterilizada (1:2 -v/v), sob cultivo protegido, por 75 dias, tendo *Urochloa decumbens* como planta hospedeira. A esporulação foi quantificada (x100 g de solo) por uma associação dos métodos de decantação e peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson, 1963) e com centrifugação e flutuação com solução de sacarose 60% (Jenkins, 1964). Foram adicionadas às covas 5 g do solo-inóculo, equivalente a 60 esporos.

Os rizomas da bananeira cv. Mysore foram doados pela fazenda da UNESP, Campus de Ilha Solteira. Após serem retirados do solo com ajuda de uma retroescavadeira, as raízes e partes necrosadas foram removidas manualmente e os rizomas lavados com jato de água para remoção das impurezas.

Os microrganismos solubilizadores de fosfato (um isolado bacteriano e 3 fúngicos) pertencentes à coleção do Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde (GO), foram inoculados ao redor dos rizomas, no solo, em um pequeno orifício feito com uma estaca de madeira. A bactéria foi multiplicada em meio de cultura GL e adicionada na quantidade equivalente a 3,5 x 10<sup>9</sup> UFC cova<sup>-1</sup>. Os fungos foram multiplicados separadamente, em arroz integral parboilizado esterilizado, e 10 grãos de arroz-inóculo, por isolado, foi adicionado por cova.

A área foi irrigada com caminhão-pipa logo após o plantio e mais uma ou duas vezes por semana, de acordo com a incidência de chuva, até a primeira avaliação, a qual ocorreu aos 67 dias, e uma segunda avaliação foi realizada aos 274 dias após o plantio.

O solo foi amostrado nas covas, próximo às plantas, na profundidade de 0,0 a 0,10 m, sendo cada amostra composta formada a partir de 4 amostras simples por tratamento, por bloco. Os atributos químicos do solo foram analisados como anteriormente descrito.

Para determinação do teor de P total foliar (Malavolta et al.,1997) foi coletada cerca de 15 cm da parte central da última folha completamente aberta, por planta, totalizando 4 plantas por tratamento, por repetição. As plantas foram avaliadas para altura (da base até a inserção da primeira folha), diâmetro do pseudocaule (medido

na base) e o índice relativo de clorofila (IRC). Na determinação do IRC foi utilizado o aparelho portátil ClorofiLOG1030®, com leituras realizadas no período da manhã, nas duas últimas folhas completamente abertas, e em dois pontos por folha, e por planta.

Os dados foram submetidos a análise de variância e os tratamentos foram comparados entre si pelo teste de Tukey com 5% de probabilidade.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Transcorridos 67 dias da instalação do experimento, a aplicação de cinza de cana-de-açúcar elevou o pH e propiciou aumentos nos teores de MO, Ca, K, Mg e valores de V%, com redução do Al do solo (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios para pH, fósforo (P), matéria orgânica (MO), alumínio (Al), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), e saturação por bases (V%) do solo, e fósforo total foliar (P-foliar), para os tratamentos inoculação de *Glomus clarum* (GC) e microrganismos solubilizadores de fosfato (SOP) e adição de cinza (CZ) de biomassa de cana-de-açúcar, aos 67 dias do plantio da *Musa* sp. cv. Mysore.

Fonte de Variação	pH (CaCl <sub>2</sub> )	P (resina) (mg dm <sup>-3</sup> )	MO (g dm <sup>-3</sup> )	Al -----	Ca (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )	K -----	Mg -----	V (%)	P-foliar (g kg <sup>-1</sup> )
<b>GC</b>									
Sem GC	4.8	15.2	10.8	1.8	11.7	1.7	6.5	42.4	1.9
Com GC	4.8	9.8	11.1	2.0	10.4	1.7	6.5	41.6	2.1
<b>CZ</b>									
Sem	4.6b	4.0	10.5b	2.8a	6.5b	1.6b	5.3b	33.6b	1.8
Com	5.1a	21.0	11.5a	1.0b	15.5a	1.9a	7.7a	50.4a	2.2
<b>SOP</b>									
Sem SOP	4.8b	13.2	11.4	1.9	11.3ab	1.8a	6.9	42.6ab	1.8
Fungos	4.6b	9.2	10.6	2.4	8.1b	1.4b	5.3	35.6b	2.1
Bactéria	5.0a	15.0	10.9	1.3	13.7a	1.8a	7.4	47.8a	2.1
<b>Valores de F</b>									
GC	0.66 <sup>ns</sup>	5.31 <sup>*</sup>	1.19 <sup>ns</sup>	0.42 <sup>ns</sup>	0.74 <sup>ns</sup>	0.20 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	0.08 <sup>ns</sup>	6.38 <sup>*</sup>
CZ	63.36 <sup>**</sup>	52.30 <sup>**</sup>	10.68 <sup>**</sup>	22.59 <sup>**</sup>	38.34 <sup>**</sup>	4.45 <sup>*</sup>	9.11 <sup>**</sup>	30.42 <sup>**</sup>	45.99 <sup>**</sup>
SOP	9.97 <sup>**</sup>	2.13 <sup>ns</sup>	2.08 <sup>ns</sup>	3.19 <sup>ns</sup>	4.92 <sup>*</sup>	6.20 <sup>**</sup>	2.57 <sup>ns</sup>	5.41 <sup>*</sup>	8.09 <sup>**</sup>
GC x CZ	1.14 <sup>ns</sup>	4.83 <sup>*</sup>	0.07 <sup>ns</sup>	0.75 <sup>ns</sup>	2.58 <sup>ns</sup>	0.47 <sup>ns</sup>	0.39 <sup>ns</sup>	0.67 <sup>ns</sup>	10.52 <sup>**</sup>
GC x SOP	0.01 <sup>ns</sup>	1.02 <sup>ns</sup>	1.41 <sup>ns</sup>	0.04 <sup>ns</sup>	0.34 <sup>ns</sup>	2.32 <sup>ns</sup>	0.69 <sup>ns</sup>	0.13 <sup>ns</sup>	0.37 <sup>ns</sup>
CZ x SOP	0.43 <sup>ns</sup>	1.51 <sup>ns</sup>	0.22 <sup>ns</sup>	0.15 <sup>ns</sup>	2.50 <sup>ns</sup>	3.08 <sup>ns</sup>	0.86 <sup>ns</sup>	0.38 <sup>ns</sup>	4.48 <sup>*</sup>
Média Geral	4.8	12.5	11.0	1.9	11.0	1.7	6.5	42.0	2.0
CV (%)	2.2	27.6	4.6	28.6	21.3	10.8	19.5	13.2	4.4

Valores seguidos pela mesma letra na coluna, por fonte de variação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. \* e \*\*=significativos a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F. ns=não significativo.

Com resultados parecidos os do presente trabalho, Maeda et al. (2008) e Seleiman & Kheir (2018) justificaram seus baseado na composição da cinza, com predominância de K, Ca e Mg. Ao estudarem doses de cinza de biomassa vegetal florestal e cana-de-açúcar, respectivamente, em diferentes solos, os autores relataram redução da acidez, do Al e aumento nos teores de P, K, Ca e Mg.

A inoculação da bactéria solubilizadora de fosfato elevou o pH do solo, mas os teores de Ca e K e os valores de V% não diferiram entre os tratamentos de inoculação, porém reduziu com a inoculação com os fungos solubilizadores (Tabela 1). Avaliando a tolerância de comunidades fúngicas ao estresse térmico, Ferreira et al. (2018) constataram que comunidades não adaptadas, sob altas temperaturas, mostram baixa tolerância. O relato desses autores condizem com o presente trabalho, pois trata-se de uma área degradada, com subsolo exposto recebendo incidência direta de radiação solar, elevando a temperatura. Pelo fato desta avaliação ter ocorrido aos 67 dias do plantio, os fungos poderiam ainda estar se adaptando às condições da área.

Os teores de P do solo, mostram a ocorrência de interações significativas entre os tratamentos adição de cinza e inoculação de FMA (Tabela 2) e os teores mais elevados de P resultam da adição de cinza, no tratamento sem FMA, seguido do tratamento com FMA, evidenciando melhora na fertilidade do solo em decorrência da aplicação de cinza.

Tabela 2. Desdobramento das interações significativas entre adição de cinza (CZ) e inoculação de *Glomus clarum* (GC) para fósforo do solo (P) e fósforo total foliar (P-foliar) e entre adição de CZ e inoculação de microrganismos solubilizadores de fosfato (SOP) para fósforo total foliar (P foliar), aos 67 dias do plantio da *Musa* sp. cv. Mysore.

Fonte de Variação	--- P <sub>(resina)</sub> (mg dm <sup>-3</sup> ) ---		--- P foliar (g kg <sup>-1</sup> ) ---		Fonte de Variação	----- P foliar (g kg <sup>-1</sup> ) -----		
	Sem CZ	Com CZ	Sem CZ	Com CZ		Sem SOP	Fungos	Bactéria
Sem GC	4.1aB	26.3aA	1.8aB	2.1bA	Sem CZ	1.7bA	1.8bA	1.9bA
Com GC	3.8aB	15.7bA	1.8aB	2.4aA	Com CZ	2.0aB	2.5aA	2.3aA
DMS	6.76		0.18		DMS	0.23		

Valores seguidos de mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si, por fonte de variação, pelo teste de Tukey a 5%. DMS=diferença mínima significativa.

Em uma área com grau de degradação semelhante, Santos et al. (2016) relataram que os teores de P do solo foram mais elevados na presença de cinza, e sem inoculação de FMA. Os autores sugerem que a baixa disponibilidade de P está diretamente relacionada a atividade desse simbiote, que absorve P do solo e o transfere ao hospedeiro. Esta hipótese foi confirmada, como no presente trabalho, pelos maiores teores de P-foliar encontrado nos tratamentos com adição de CZ e FMA, mesmo no solo degradado.

Teores de P-foliar mais elevados foram, também, detectados na interação adição de cinza e microrganismos solubilizadores (Tabela 2). Resultado semelhante foi relatado

por Zheng et al. (2019) com maiores teores de P, tanto no solo quanto no tecido de plantas de colza, em solo que recebeu cinzas de biomassa vegetal e bactérias solubilizadoras de P, evidenciando a capacidade destes solubilizarem o P presente na cinza adicionada ao solo.

A adição da cinza ao solo proporcionou incrementos no teor de Ca e redução no teor de Al (Tabela 2), aos 67 dias do plantio. Segundo Ferreira et al. (2012), a adição de cinza reduziu a acidez potencial (H+Al) em Latossolo, em decorrência da elevação do pH, corroborando as observações feitas neste trabalho quanto a elevação do pH e das bases mediante a adição de cinza. A redução observada para os teores de K do solo, devido a inoculação de FMA, decorre da habilidade dos simbiossitos absorver nutrientes e disponibilizá-los aos hospedeiros e, assim, reduzindo o K disponível no solo.

Os teores de P-foliar, aos 67 dias do plantio, variaram de 1,8 a 2,5 g kg<sup>-1</sup> com aplicação de cinza, inoculação com FMA ou com solubilizadores de P (Tabela 2), permitindo afirmar que, mesmo com o grau de degradação da área, nesta fase do crescimento das plantas, os teores de P foram condizentes com o indicado para a cultura, ou seja, entre 1,8 - 2,7 g kg<sup>-1</sup> de P-foliar (Raj et al., 1997).

Decorridos 274 dias do plantio, os maiores teores de P-foliar foram encontrados nos tratamentos com inoculação de FMA, com adição de cinza e nos inoculados com microrganismos solubilizadores de P, porém as interações não foram significativas (Tabela 3), e os teores são menores (entre 1,1 - 1,3 g kg<sup>-1</sup>) do que aos 67 dias e coincide com a redução da fertilidade.

Tabela 3. Valores médios para pH, fósforo (P), matéria orgânica (MO), alumínio (Al), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), saturação por bases (V%) e fósforo total foliar (P-foliar), para os tratamentos inoculação de *Glomus clarum* (GC) e microrganismos solubilizadores de fosfato (SOP) e adição de cinza (CZ), aos 274 dias do plantio de *Musa* sp. cv. Mysore.

Fonte de Variação	pH (CaCl <sub>2</sub> )	P (resina) (mg dm <sup>-3</sup> )	MO (g dm <sup>-3</sup> )	Al ----- (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ) -----	K ----- (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ) -----	Ca ----- (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ) -----	Mg ----- (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> ) -----	V (%)	P-foliar (g kg <sup>-1</sup> )
<b>GC</b>									
Sem	4.7	4.9	10.3	3.1	2.2a	8.8	6.9	38.3	1.0b
Com	4.4	3.8	10.2	3.8	1.4b	7.4	5.5	34.3	1.3a
<b>CZ</b>									
Sem	4.4	2.3	10.2	4.4a	1.8	6.5	5.3	32.7	1.0b
Com	4.7	6.4	10.3	2.6b	1.8	9.8	7.1	39.9	1.3a
<b>SOP</b>									
Sem SOP	4.6	4.2	10.4	3.8	1.7	8.5	5.8	36.4	1.0b
Fungos	4.6	4.4	10.2	3.4	1.8	7.0	6.1	34.3	1.2a
Bactéria	4.5	4.4	10.2	3.2	1.9	9.1	6.8	38.2	1.2a
Valores de F									

GC	6.36 <sup>*</sup>	3.29 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	1.43 <sup>ns</sup>	10.60 <sup>**</sup>	1.31 <sup>ns</sup>	1.50 <sup>ns</sup>	1.56 <sup>ns</sup>	21.21 <sup>**</sup>
CZ	9.21 <sup>**</sup>	40.35 <sup>**</sup>	0.09 <sup>ns</sup>	9.16 <sup>**</sup>	0.12 <sup>ns</sup>	7.53 <sup>**</sup>	2.52 <sup>ns</sup>	4.90 <sup>*</sup>	7.29 <sup>**</sup>
SOP	0.15 <sup>ns</sup>	0.06 <sup>ns</sup>	0.16 <sup>ns</sup>	0.38 <sup>ns</sup>	0.16 <sup>ns</sup>	1.00 <sup>ns</sup>	0.24 <sup>ns</sup>	0.47 <sup>ns</sup>	4.63 <sup>*</sup>
GC x CZ	5.94 <sup>*</sup>	10.50 <sup>**</sup>	0.25 <sup>ns</sup>	2.62 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	6.78 <sup>*</sup>	4.08 <sup>*</sup>	5.60 <sup>*</sup>	0.40 <sup>ns</sup>
GC x SOP	0.17 <sup>ns</sup>	0.03 <sup>ns</sup>	1.39 <sup>ns</sup>	0.97 <sup>ns</sup>	0.79 <sup>ns</sup>	1.85 <sup>ns</sup>	0.37 <sup>ns</sup>	0.43 <sup>ns</sup>	0.48 <sup>ns</sup>
CZ x SOP	1.10 <sup>ns</sup>	0.28 <sup>ns</sup>	1.94 <sup>ns</sup>	0.50 <sup>ns</sup>	2.55 <sup>ns</sup>	3.40 <sup>ns</sup>	1.98 <sup>ns</sup>	2.32 <sup>ns</sup>	1.84 <sup>ns</sup>
Média Geral	4.5	4.3	10.3	3.5	1.8	8.1	6.2	36.3	1.2
CV (%)	3.2	21.2	6.4	28.9	17.4	21.7	24.8	15.3	5.3

Valores seguidos pela mesma letra na coluna, por fonte de variação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. \* e \*\* = significativos a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F. ns = não significativo.

Borges et al. (2006) reportaram teores diferentes de nutrientes em plantas adultas de 24 genótipos de bananeira, em dois ciclos, com valores de P-foliar entre 1,2 e 1,8 g kg<sup>-1</sup>. No presente trabalho o P-foliar variou entre 1,1 e 1,3 g kg<sup>-1</sup>, valores considerados baixos para a cultura, mas são explicados pela intensa degradação ocorrida no solo. Os baixos teores do nutriente, no entanto, podem ser decorrentes da sua distribuição pela planta, efeito diluição, e relacionado à carência de P no solo. Este efeito diluição foi, também, citado por Maia (2012) para justificar a redução de P-foliar em mudas a partir de 6 meses, com conseqüente limitação no crescimento e na produção de massa fresca.

Interações entre adição de cinza e inoculação de FMA foram detectadas para pH, P, Ca, Mg e V(%), com os valores mais altos na presença de cinza e sem FMA (Tabela 4).

Tabela 4. Desdobramento das Interações significativas entre inoculação de *Glomus clarum* (GC) e adição de cinza (CZ) para pH, fósforo (P), cálcio (Ca), magnésio (Mg) e saturação por bases (V%), 274 dias após o plantio de *Musa* sp. cv. Mysore.

Fonte variação	----- pH ----- (CaCl <sub>2</sub> )		--- P (resina) --- (mg dm <sup>-3</sup> )		----- Ca ----- (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )		----- Mg ----- (mmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> )		----- V ----- (%)	
	Sem CZ	Com CZ	Sem CZ	Com CZ	Sem CZ	Com CZ	Sem CZ	Com CZ	Sem CZ	Com CZ
	Sem GC	4.4aB	4.9aA	1.8aB	8.0aA	5.6aB	12.0aA	4.83aB	9.0aA	30.8aB
Com GC	4.4aA	4.4bA	2.7aB	4.7bA	7.3aA	7.50bA	5.75aA	5.2bA	34.5aA	34.0bA
DMS	0.28		1.85		3.45		3.32		9.40	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúsculas na linha, por fonte de variação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. DMS= diferença mínima significativa.

Estes resultados, porém, não significam que a inoculação de FMA tenha sido desvantajosa, mas que estes atuaram na absorção de diversos nutrientes do solo, translocando-os para as plantas, incluindo K, e como conseqüência ocorreu uma redução na concentração destes no solo. A inoculação com FMA e níveis adequados

de P proporcionaram melhor crescimento de quatro variedades de mudas de bananeiras (Ratke et al., 2011). Lins et al. (2003) e Trindade et al. (2003), ao compararem os teores de P, K, Cu e Zn da parte aérea de mudas de bananeira inoculadas e não inoculadas com FMA, verificaram que, os teores mais elevados ocorreram nas plantas submetidas a inoculação. No presente trabalho, os teores de P-foliar também foram mais elevados na presença de inoculação de FMA, mas reduziram aos 274 dias do plantio.

Altura e diâmetro do pseudocaule, aos 274 dias do plantio, responderam à adição de cinza (Tabela 5).

Tabela 5. Valores médios para altura, diâmetro do pseudocaule e índice relativo de clorofila (IRC) das plantas, para os tratamentos inoculação de *Glomus clarum* (GC) e de microrganismos solubilizadores de fosfato (SOP) e adição de cinza (CZ) aos 67 e 274 dias do plantio da *Musa sp. cv. Mysore*.

Fonte de Variação	----- 67 dias -----			----- 274 dias -----		
	Altura (cm)	Diâmetro (cm)	IRC (SPAD)	Altura (cm)	Diâmetro (cm)	IRC (SPAD)
<b>GC</b>						
Sem	34.7	4.9	49.5	43.3	5.0	41.2
Com	32.6	4.6	51.5	44.6	4.8	42.3
<b>CZ</b>						
Sem	33.2	4.7	51.2	39.9b	4.6b	42.2
Com	34.0	4.8	49.8	48.0a	5.3a	41.2
<b>SOP</b>						
Sem SOP	34.1	4.8	52.0	44.3	4.93	41.5
Fungos	31.3	4.5	48.7	42.6	4.87	41.2
Bactéria	35.6	4.9	50.8	44.8	4.93	42.5
<b>Valores de F</b>						
GC	0.88 <sup>ns</sup>	1.96 <sup>ns</sup>	1.35 <sup>ns</sup>	0.25 <sup>ns</sup>	1.00 <sup>ns</sup>	1.12 <sup>ns</sup>
CZ	0.13 <sup>ns</sup>	0.05 <sup>ns</sup>	0.74 <sup>ns</sup>	9.97 <sup>**</sup>	11.05 <sup>**</sup>	0.86 <sup>ns</sup>
SOP	1.22 <sup>ns</sup>	0.89 <sup>ns</sup>	1.35 <sup>ns</sup>	0.26 <sup>ns</sup>	0.04 <sup>ns</sup>	0.56 <sup>ns</sup>
GC x CZ	0.01 <sup>ns</sup>	0.14 <sup>ns</sup>	0.06 <sup>ns</sup>	0.28 <sup>ns</sup>	0.05 <sup>ns</sup>	1.37 <sup>ns</sup>
GC x SOP	0.30 <sup>ns</sup>	0.58 <sup>ns</sup>	0.58 <sup>ns</sup>	0.22 <sup>ns</sup>	0.38 <sup>ns</sup>	2.08 <sup>ns</sup>
CZ x SOP	0.92 <sup>ns</sup>	0.94 <sup>ns</sup>	1.70 <sup>ns</sup>	0.37 <sup>ns</sup>	0.12 <sup>ns</sup>	0.65 <sup>ns</sup>
Média Geral	33.7	4.7	50.5	43.9	4.9	41.7
CV (%)	11.8	8.0	5.7	10.3	6.8	4.4

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, por fonte de variação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. \*\* = significativo a 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F. <sup>ns</sup> = não significativo.

IRC não diferiu entre tratamentos nas duas épocas avaliadas, no entanto, plantas de trigo responderam a aplicação de 10 t ha<sup>-1</sup> de cinza de bagaço da cana de açúcar com crescimento e incrementos na produção de matéria seca (Seleiman & Kheir, 2018).

Gonzaga et al. (2018) observaram aumento médio de 16% na biomassa vegetal das plantas de milho com adição de 20 t ha<sup>-1</sup> de cinza de bagaço de laranja e atribuíram os ganhos em crescimento das plantas à cinza aplicada, pois fornece nutrientes e atua como corretivo do solo, substituindo a calagem, o que também foi observado neste trabalho, e explica os ganhos em altura e diâmetro das bananeiras.

## 4 CONCLUSÕES

1. A cinza de biomassa de cana-de-açúcar melhora a fertilidade do solo, com elevação pH, P, Ca, K, Mg e V%, com redução do Al.
2. O crescimento das plantas de bananeira foi maior com adição de cinza ao solo.
3. A inoculação de fungos micorrízicos arbuscular e de fungos e bactérias solubilizadores de fosfato em solo degradado aumenta a absorção de P-foliar.

## 5 AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão de bolsa.

## LITERATURA CITADA

Alvares, C. A.; Stape, J. L.; Sentelhas, P. C.; Gonçalves, J. L. M.; Sparovek, G. Koppen`s climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, v.22, p.711-728, 2013.

Borges, A. L.; Silva, S. O.; Caldas, R. C.; Ledo, C. A. S. Teores foliares de nutrientes em genótipos de bananeira. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.28, p.314-318, 2006.

Demattê, J. L. I. Levantamento detalhado dos solos do campus experimental de Ilha Solteira. Piracicaba: ESALQ/USP, 1980. p.131.

Donato S. L. R.; Coelho, E. F.; Arantes, A. M.; Cotrim, C. E.; Marques, P. R. R. Relações hídricas I: considerações fisiológicas e ecológicas. In: COELHO E. F. Irrigação da bananeira. Brasília: Embrapa, 2012. Cap.1, p.13-83.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 3. ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2017. 353 p.

Ferreira, E. P. B.; Fageria, N. K.; Didonet, A. D. Chemical properties of an oxisol under organic management as influenced by application of sugarcane bagasse ash. *Revista Ciência Agronômica*, v.43, p.228-236, 2012.

Ferreira, P. C.; Pupin, B.; Rangel, D. E. N. Stress tolerance of soil fungal communities from native Atlantic forests, reforestations, and a sand mining degraded area. *Fungal Biology*, v.133, p.400-409, 2018.

Gerdemann, J. W.; Nicolson, T. H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transaction of British Mycological Society*, v.46, p.234-244, 1963.

Gonzaga, M. I. S.; Mackowiak, C.; Almeida, A. Q.; Carvalho Júnior, J. I. T.; Andrade, K. R. Positive and negative effects of biochar from coconut husks, orange bagasse and pine wood chips on maize (*Zea mays* L.) growth and nutrition. *Catena*, v.162, p.414-420, 2018.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Indicadores de desenvolvimento sustentável. 9. ed. Rio de Janeiro: IBGE, 2012. 350p.

Jenkins, W. R. A rapid centrifugal- flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*, v.48, p.692, 1964.

Lins, G. M. L.; Trindade, A. V.; Rocha, H. S. Utilização de *Gigaspora margarita* em plantas micropropagadas de bananeira em diferentes estádios de enraizamento. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.25, p.143-147, 2003.

Maeda, S.; Silva, H. D.; Cardoso, C. Resposta de *Pinus taeda* à aplicação de cinza de biomassa vegetal em Cambissolo Húmico, em vaso. *Pesquisa Florestal Brasileira*, v.1, p.43-52, 2008.

Maia, C. E. Época de amostragem foliar para diagnóstico nutricional em bananeira. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.36, p.859-864, 2012.

Malavolta, E.; Vitti, G. C.; Oliveira, S. A. Avaliação do estado nutricional de plantas: princípios e aplicações. Piracicaba: Potafos, 1997. 308p.

Raij, B. van. Fertilidade do solo e manejo de nutrientes. Piracicaba: IPNI, 2011. 420p.

Raij, B. van; Cantarella, H.; Quaggio, J. A.; Furlani, A.M.C. (Ed.). Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. 2.ed. Campinas: IAC, 1997. 285p.

Raij B. van; Andrade, J. C.; Cantarella, H.; Quaggio, J. A. Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais. Campinas: IAC, 2001. 285 p.

Ratke, R. F.; Carbone-Carneiro, M. A.; Souza, R. D. de; Santos, S. C.; Saggin Júnior, O. J. Desenvolvimento inicial de mudas de cultivares de banana tipo Chifre, inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares. *Global Science & Technology*, v.66-74, 2011.

Santos, A. A.; Agustini, J. A.; Maltoni, K. L.; Cassiolato, A. M. R. Addition of residues and reintroduction of microorganisms in *Jatropha curcas* cultivated in degraded soil. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v.20, p.372-377, 2016.

Seleiman, M. F.; Kheir, A. M. S. Saline soil properties, quality and productivity of wheat grown with bagasse ash and thiourea in different climatic zones. *Chemosphere*, v.193, p.538-546, 2018.

Taktek, S.; Trépanier, M.; Servin, P. M.; St-Arnaud, M.; Piché, Y.; Fortin, J.; Antoun, H. Trapping of phosphate solubilizing bacteria on hyphae of the arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis* DAOM 197198. *Soil Biology & Biochemistry*, v.90, p.1-9, 2015.

Trindade, A. V.; Lins, G. M. L.; Maia, I. C. S. Substratos e fungo micorrízico arbuscular em mudas micropropagadas de bananeira na fase de aclimação. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.25, p.137-142, 2003.

Velázquez, M. S.; Cabello, M. N.; Elíades, L. A.; Russo, M. L.; Allegrucci, N.; Schalamuk, S. Combination of phosphorus solubilizing and mobilizing fungi with phosphate rocks and volcanic materials to promote plant growth of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Revista Argentina de Microbiología*, v.49, p.347-355, 2017.

Zheng, B.; Ding, K.; Yang, X.; Wadaan, M. A. M.; Hozzein, W. N.; Peñuelas, J.; Zhu, Y. Straw biochar increases the abundance of inorganic phosphate solubilizing bacterial community for better rape (*Brassica napus*) growth and phosphate uptake. *Science of the Total Environment*, v.647, p.1113-1120, 2019.



## SOBRE O ORGANIZADOR

**EDUARDO EUGENIO SPERS** realizou pós-doutorado na Wageningen University (WUR), Holanda, e especialização no IGIA, França. Possui doutorado em Administração pela Universidade de São Paulo (USP). Foi Professor do Programa de Mestrado e Doutorado em Administração e do Mestrado Profissional em Comportamento do Consumidor da ESPM. Líder do tema Teoria, Epistemologia e Métodos de Pesquisa em Marketing na Associação Nacional de Pós-Graduação e Pesquisa em Administração (ANPAD). Participou de diversos projetos de consultoria e pesquisa coordenados pelo PENZA e Markestrat. É Professor Titular no Departamento de Economia, Administração e Sociologia, docente do Mestrado em Administração e Coordenador do Grupo de Extensão MarkEsalq no campus da USP/Esalq. Proferiu palestras em diversos eventos acadêmicos e profissionais, com diversos artigos publicados em periódicos nacionais e internacionais, livros e capítulos de livros sobre agronegócios, com foco no marketing e no comportamento do produtor rural e do consumidor de alimentos.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Acolchados 142, 143, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 157, 158, 159

Adaptability 162, 163, 167

Ajedrez 88

América 8, 27, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 39, 65, 68, 69

Animal production 162

Animal protein 162

Antocianinas 38, 39, 40, 43

Aprehender 88, 89

Aprovechamiento 2, 26, 27, 33, 34, 92, 102, 153

### B

Bacterias 7, 53, 54, 55, 59, 63, 66, 73, 79, 81, 83, 102, 174, 178, 181

Bebidas não lácteas 116

Bioaccessibilidade 116, 119, 120, 125, 127, 128, 129, 133, 134

Bioactividade 116, 124, 132

### C

Calibre 11, 14, 159

Caña de azúcar 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 61, 62, 64, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87

CIELab system 17, 18, 19, 20, 24

Cinza de biomassa de cana-de-açúcar 172, 173, 181

Citrus aurantifolia 11, 16, 142, 143, 144, 160

Colour 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 160

Compost 93, 94, 96, 98, 99, 106, 111, 113

Conservación del suelo 2

### D

Diaforina 143

Digestibilidade 114, 115, 116, 117, 119, 127, 129, 130, 135, 136

Digestión anaeróbica 100, 101, 103, 112

## E

Energía 28, 100, 101, 126

Enfermedades 12, 13, 15, 33, 35, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 81, 82, 83, 84, 85, 100, 101, 142, 155, 159

Excretas de perro 101

Exportación 3, 26, 27, 30, 31, 32, 34, 35, 36, 37

## F

Frutos 10, 11, 13, 14, 15, 29, 31, 32, 144, 156, 173

## G

Glifosato oxidoreductasa 45

Glomus clarum 172, 173, 176, 177, 178, 179, 180

Guanábana 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 36, 37

## H

Heartwood 17, 18, 20, 22, 24

Herbicida 44, 45, 158

Hongos 3, 7, 53, 54, 55, 58, 62, 65, 69, 78, 79, 83

Huanglongbing 10, 11, 16, 142, 143, 144, 159, 160

## I

Integrar 88, 89, 90

## L

Leguminosas 2, 3, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 122, 125, 126, 127, 128, 129, 131, 132, 133, 134, 135, 136

## M

Maíz azul 38, 39, 40, 42

Mecanismo de resistencia 44, 45

Micorriza arbuscular 172

Morphometry 162, 168, 170

## P

Plantas 3, 4, 7, 8, 11, 14, 35, 44, 45, 55, 58, 59, 60, 61, 62, 71, 72, 73, 76, 79, 81, 82, 83, 95,

115, 133, 146, 150, 157, 159, 172, 173, 174, 175, 178, 179, 180, 181, 182

Polímero natural 2

Polímero sintético 2

Problemas 3, 7, 10, 44, 78, 88, 89, 95, 100, 101, 110, 111, 113, 117, 144, 155

Producción 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 36, 37, 39, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 89, 91, 92, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 107, 108, 110, 111, 112, 113, 142, 143, 144, 145, 146, 151, 152, 153, 155, 156, 157, 159, 160, 170

## Q

Quitina 2, 3, 8

## R

Raspajo 93, 94, 95, 96, 98

Resíduos 93, 94, 95, 98, 99, 100, 101, 102, 113, 116, 134, 172

## S

Sapwood 17, 19, 20, 22, 23, 24

Solubilização de fosfato 172

Soluciones 88, 101

Subproductos agroindustriales 93

## T

Tamaño de semilla 39

## V

Valor comercial 11, 14, 30

Vermicompost 93, 94, 96, 99

Virus 53, 54, 55, 61, 62, 64, 65, 68, 69, 76, 77, 78, 79, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 157, 160

## Z

Zea mays 39, 43, 182