Fortalezas

La Granja, Revista de Ciencias de la Vida es la primera revista científica del Ecuador que aborda las temáticas de Ciencias Ambientales, de la Tierra y sus líneas transdisciplinares como Biotecnología, Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural Sostenible, entre otras. Publicada por la Universidad Politécnica Salesiana en doble formato: impreso y on-line con periodicidad semestral, todos sus artículos se presentan en español e inglés. 20 años de edición y 270 artículos científicos publicados; editada por Abya-Yala con más de 47 años de experiencia en Ecuador.

La Granja tiene presencia en 96 bases de datos internacionales, plataformas de evaluación de revistas, directorios selectivos, portales especializados, catálogos hemerográficos, como: SCOPUS, ESCI, Emerging Sources Citation Index ESCI de la Web of Science, MIAR, EBSCO, CIRC, LATINDEX, DOAJ, REDIB, DIALNET, REDALYC, BASE, entre otros.

Trabaja con un riguroso y transparente sistema peer review doble ciego de evaluación de manuscritos, sin costo, realizado por un consejo de revisión con 280 reconocidos investigadores de países de todo el mundo.

La administración de manuscritos se realiza a través del Sistema OJS 3, de la Fundación de Ciencia y Tecnología, con compromisos éticos publicados para la comunidad científica de transparencia y puntualidad; revisión de antiplagio realizada a través de Ithenticat y Similarity Check.

Alto nivel de visibilización con múltiples sistemas de búsqueda, DOI, ORCID, PDF dinámicos, xml jats, epub, con conexión a gestores documentales como Mendeley, RefWorks, EndNote y redes sociales científicas como Academia.edu y ResearchGate. Accesible digitalmente a texto completo, de forma gratuita, para toda la comunidad científica e investigadores de todo el mundo en apoyo a la política de Open Access y Early Access.

Proceso de evaluación por pares

Todos los manuscritos deben ser consignados a través del sistema Open Journal System (OJS 3), que garantiza el registro electrónico y auditable de las interacciones entre la publicación y los autores. Una vez consignados, el Consejo de Editores revisa que los originales cumplan con el objetivo y alcance de la publicación, así como con las normas de autores.

El proceso de revisión íntegro, desde el momento del depósito de los manuscritos a través del OJS 3 hasta la finalización de las revisiones ocupa un tiempo medio de 12-16 semanas, salvo incidencias. Los revisores, a su vez, también deben cumplir unas normativas de revisores y el código ético de revisores.

Antiplagio

Todos los manuscritos sometidos a revisión en La Granja Revista de Ciencias de la Vida, son inspeccionados por una disciplinada política antiplagio que vela por la originalidad de los artículos. Para ello se utilizan distintos servicios especiales como el sistema Ithenticate, que analiza los textos en busca de coincidencias gramaticales y ortotipográficas, lo que garantiza que los trabajos sean inéditos y asegura cumplir con los estándares de calidad editorial que avalen producción científica propia.

Asimismo, La Granja pone a disposición de autores y revisores, así como de la comunidad científica, un conjunto de herramientas específicas en la detección del plagio: Turnitin, Grammarly, Plagium, Copionic, WriteCheck PaperRater, Plagarisma.net, Viper Plagarism Scanner y Similarity (CrossCheck). Se trata de un conjunto de interfaces de libre acceso y de pago, que supervisan la originalidad de cualquier manuscrito y permiten controlar el plagio.

ABYA YALA | UPS

36
Vol. 2

20 LA GRANJA

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

LA GRANJA 36

REVISTA DE CIENCIAS DE LA VIDA Vol. (2)

NÚMERO ESPECIAL
CIENCIAS DE LOS PRODUCTOS NATURALES

20 ANIVERSARIO

ISSN impreso: 1390-3799 / ISSN electrónico: 1390-8596

Caracterización fitoquímica de los extractos etanólicos del Almendro

Películas biodegradables PLA incorporada de aceites esenciales para inhibir adhesión microbiana

Evaluación de la contaminación del aire en el distrito histórico de Quito, Ecuador

Los Objetivos de Desarrollo Sostenible en América: revisión

Aptitud de los cultivos de café y cacao considerando escenarios de Cambio Climático

LA GRANJA REVISTA DE CIENCIAS DE LA VIDA

La Granja Revista de Ciencias de la Vida • Volumen 36 • Número 2 • septiembre 2022 - febrero 2023. Revista semestral de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana del Ecuador. Publicación internacional bilingüe dedicada a estudios relacionados con ciencias ambientales, de la tierra, agropecuarias, biológicas, y sus líneas transversales de conocimiento. Las ideas y opiniones expresadas en las colaboraciones son de exclusiva responsabilidad de los autores y autoras.

EQUIPO EDITORIAL

Consejo Editorial (Editorial Board)

Editores en Jefe (Editors-in-Chief)

Dr. Ignacio de los Ríos, Universidad Politécnica de Madrid, España
MSc. Sheila Serrano Vincenti, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador

Editor Asociado (Associate Editor)

Dr. Sabino Armenise, Universidad Rey Juan Carlos, España
Dr. Tony Viloria, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador
Dr. Ernesto Delgado, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador

Coeditor Internacional en inglés
(International coeditor in English)
Dr. Lorenzo Guerrini, Universita di Firenze, Italia

Coeditor Internacional en portugués
(International Coeditor in Portuguese)
Dra. Rocio Elizabeth Contero Callay, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador

Consejo Científico (Advisory Board)

Dr. Guillermo Marcillo, University of Illinois Urbana Champaign, EEUU
Dr. Alessandro Medici, Universita di Ferrara, Italia
Dr. John Mejía, Universidad de Nevada, Estados Unidos
Dr. Enrica Caporali, Universita di Firenze, Italia
Dr. Ankit Singla, Ministry Office of Agriculture, Co-operation and Farmers Welfare, India Government
Dra. Paola VitaFinzi, Universita di Pavia, Italia
Dr. Geovanni Vidari,Universita di Pavia, Italia
Dr. Flavio Contreras-Torres, Universidad Autónoma de México, México
Dr. Miguel A. Altieri, University of California, EEUU
Dra. Clara Inés Nicholls, University of California, EEUU
Dr. Jaime Vadell Adrover, Universidad de las Islas Baleares, España
Dra. Janeth Patricia Muñoz Eraso, Pontificia Universidad Javeriana, Colombia
Dr. Marcos Villacís, Escuela Politécnica Nacional, Ecuador
Dra. Silvia Perez Damonte, Universidad de Buenos Aires, Argentina
Dr. Fernando Funes Monzote, Universidad de Matanzas, Cuba
Dra. Alessandra Guerrini, Universita di Ferrara, Italia
Dr. Giovanni Bernacchia,Universita di Ferrara, Italia
Proff. León Escobar Moreira, SYNAPTRONIC, EEUU
Dr. Lorenzo Guerrini, Universita di Firenze, Italia
Dr. José Luis Santos. International CLIVAR Project Office, China
Dr. Solveig Tosi,Universita di Pavia, Italia
Dra. Priscila dos Santos Silva, Universidad de Sao Paulo, Brasil
Dra. Connie Gallardo Vela, Universidad de Sao Paulo, Brasil
Dr. Thomas Condom, Institut de Recherche Pour Le Développement, Francia
Dr. Leonardo Basile, Escuela Politécnica Nacional, Ecuador
Dra. Claudinéia Brazil, Faculdade Dom Bosco de Porto Alegre, Brasil
Dr. Alejandro Fontana, Universidad de Piura, Perú
Dra. Adriana Sánchez Urdaneta, Universidad de Zulia, Venezuela
Dr. Emmanuel Donkor, Kwame Nkrumah University of Science and Technology, West Africa
Dr. Jorge Palomeque Santiago, Instituto Mexicano del Petróleo, México
Dr. Carlos Hernandez Medina, Centro Universitario Municipal Camajuaní, Cuba
Dr. Daniel A. Lowy, Northern Virginia Community College, EEUU
Dr. László Palcsu, Institute of Nuclear Research of the Hungarian Academy of Sciences, Hungría
Dr. Marjan Temovski, Institute of Nuclear Research of the Hungarian Academy of Sciences, Hungría
Dr. Elemer Laszlo, Institute of Nuclear Research of the Hungarian Academy of Sciences, Hungría
Dr. Pablo Marini, Universidad Nacional de Rosario, Argentina
Dr. Antonio Panico Università degli Studi Pegaso, Italia
Dr. Fernando Bimbela, Univerdidad Publica de Navarra, España
Dr. Panagiotis Kechagiopoulos, University of Aberdeen, Reino Unido
Dr. Carlo Visconti, Politecnico di Milano, Italia
Dra. Marta Elena Alonso, Universidad de León, España
Dra. Alison Hanlon, University College Dublin, Irlanda
Dr. Mehmood Ali, NED University of Engineering and Technology, Pakistán
Dra. Ana Teodoro, Universidade do Porto, Portugal

Consejo de Publicaciones (Publication Board)

Dr. Juan Cárdenas Tapia PRESIDENTE
Dr. José Juncosa Blasco ABYA-YALA
Dr. Juan Pablo Salgado VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN
Dr. Angel Torres-Toukoumidis EDITOR DE UNIVERSITAS
Dr. Jaime Padilla Verdugo EDITOR DE ALTERIDAD
MSc. Sheila Serrano Vincenti EDITORA DE LA GRANJA
MSc. Jorge Cueva Estrada EDITOR DE RETOS
Dr. John Calle Sigüencia EDITOR DE INGENIUS
Dra. Floralba Aguilar Gordón EDITORA DE SOPHIA
Dra. Betty Rodas Soto EDITORA DE UTOPÍA
Dra. Mónica Ruiz Vásquez EDITORA DEL NOTI-UPS
Dr. Jorge Altamirano Sánchez EDITORA REVISTA CÁTEDRA UNESCO
MSc. David Armendáriz González EDITOR WEB
Dr. Luis Álvarez Rodas EDITOR GENERAL

Consejo Técnico (Technical Board)

Dr. Ángel Torres-Toukoumidis (Técnico OJS)
Lcda. Soledad Aguilar (Técnica Marcalyc)
Lcdo. Christian Arpi (Coordinador Community Managers)
Fís. Luis Gualco (Pasante)
Ing. Jessica Guamán (Pasante)
MSc. Danny Vargas (Editor asistente)

Servicio de Publicaciones (Publications Service)

Hernán Hermosa (Coordinación General)
Marco Gutiérrez (Soporte OJS)

Paulina Torres (Edición)

Raysa Andrade (Maquetación)
Martha Vinueza (Maquetación)

Adriana Curiel (Traductora)

Editorial

Editorial Abya Yala (Quito-Ecuador)
Avenida 12 de octubre N-422 y Wilson
Bloque A, UPS Quito, Ecuador
Casilla 17-12-719
Teléfonos: (593-2) 3962800 ext. 2638
Correo electrónico: editorial@abyayala.org

Fotografía Portada (Cover photo)

"Cerca del cielo"
Tercer Lugar del Concurso de

Fotografía por el 20 Aniversario de La Granja

Autor: Jorge Luis Solorzano Párraga.

Copyright: La Granja: Revista de Ciencias de la Vida, Universidad Politécnica Salesiana. Se permite la reproducción total o parcial de esta revista citando la fuente.

La Granja: Revista de Ciencias de la Vida

Volumen 36, Número 2, septiembre 2022 – febrero 2023

ISSN impreso 1390-3799 • ISSN electrónico 1390-8596

La administración de La Granja se realiza a través de los siguientes parámetros:

• La revista utiliza el sistema antiplagio académico iThenticate Professional Plagiarism Prevention

• Los artículos cuentan con código de identificación (*Digital Object Identifier*)

• El proceso editorial se gestiona a través del *Open Journal System* OJS Open Journal Systems

Es una publicación de acceso abierto (*Open Access*) con licencia *Creative Commons*

CC BY NC SA

Las políticas *copyright* y de uso *postprint*, se encuentran publicadas en el Repositorio de Políticas de Autoarchivo *Sherpa/Romeo*.

Los artículos de la presente edición pueden consultarse en `https://lagranja.ups.edu.ec/`

ABYA YALA | UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

Universidad Politécnica Salesiana del Ecuador

LA GRANJA, está indexada en las siguientes Bases de Datos y sistemas de información científica:

BASES DE DATOS INTERNACIONALES SELECTIVAS

Scopus®

INDEXED IN EMERGING SOURCES CITATION INDEX CLARIVATE ANALYTICS

SciELO

Google scholar

EuroPub Directory of Academic and Scientific Journals

BASE

trueserials.com

Fuente Académica Plus EBSCOhost

SIIA

PLATAFORMAS DE EVALUACIÓN DE REVISTAS

MIAR

CABELLS SCHOLARLY ANALYTICS

DIRECTORIOS SELECTIVOS

latindex

Journal Seeker Research Bible

AcademicKeys UNLOCKING ACADEMIC CAREERS

HEMEROTECAS SELECTIVAS

redalyc.org

refseek*

REDIB Red Iberoamericana de Innovación y Conocimiento Científico

BUSCADORES DE LITERATURA CIENTÍFICA OPEN ACCESS

DOAJ DIRECTORY OF OPEN ACCESS JOURNALS

EXALEAD

WORLDWIDESCIENCE.ORG The Global Science Gateway

Políticas de Copyright de las Editoriales y Autoarchivo

SHERPA/RoMEO

Otras Bases de Datos Bibliográficas

Dialnet

Journal TOCs
The latest Journal Tables of Contents

Catálogo de Bibliotecas Internacionales Universitarias

American University of Sharjah 1997

Universiteit van Pretoria
University of Pretoria
Yunibesithi ya Pretoria

Maastricht University

Erasmus Universiteit Rotterdam

Hanzehogeschool Groningen

University of Skövde

Bishop Grosseteste University

DePaul University College of Law

Bethune-Cookman University 1923 1904 1972 2007

Université Sainte-Anne

Plymouth State University

DePaul University

Franklin College

University of Nebraska Omaha

Southwestern University

Texas A&M University San Antonio

Simpson University

AUT University

Claremont McKenna College

ExLibris Primo

La granjA:
Revista de Ciencias de la Vida

Consejo Internacional de Revisores (International Reviewers Board)

Dr. Guillermo Marcillo, University of Illinois Urbana Champaign, EE.UU.
Dr. Antonio Panico Università degli Studi Pegaso, Italia
Dr. John Mejía, Universidad de Nevada, EE.UU.
Dra. Enrica Caporali, Universita di Firenze, Italia
Dra. Nancy Bonifáz, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador
Dra. Paola VitaFinzi, Universita di Pavia, Italia
Dr. Flavio Contreras-Torres, Universidad Autónoma de México, México
Proff. León Escobar Moreira, SYNAPTRONIC, EE.UU.
Dr.Geovanni Vidari,Universita di Pavia, Italia
Dra. Lorena Meneses, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Ecuador
Dr. Fernando Funes Monzote, Universidad de Matanzas, Cuba
Dr. Nicolás Vásquez, Escuela Politécnica Nacional, Ecuador
Dr. Giovanni Bernacchia,Universita di Ferrara, Italia
Dr. Juan H. Avellaneda Cevallos, Universidad Técnica Estatal de Quevedo Ecuador
Dr. Lorenzo Guerrini, Universita di Firenze, Italia
Dr. José Luis Santos, International CLIVAR Project Office, China
Dr. Solveig Tosi, Universita di Pavia, Italia
Dra. Pamela Jaramillo, Mikuna-Food Science and Technology, Ecuador
Dr. Juan Enrique Tacoronte, Universidad Central del Ecuador, Ecuador
Dra. Mercy Bordor, Escuela Politécnica del Litoral
Dr. Christian Domínguez, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador
MSc. Laura Huachi, Universidad Politécnica Salesiana
Dra. Priscila dos Santos Silva, Universidad de Sao Paulo, Brasil
Dr. Pablo Marini, Universidad Nacional de Rosario, Argentina
Dra. Claudineia Brazil, Universidad de Don Bosco de Puerto Alegre, Brasil
Dra. Adriana Sánchez Urdaneta, Universidad de Zulia, Venezuela
MSc. Bernardo Navarrete, Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias-INIAP, Ecuador
Dr. Jorge Palomeque Santiago, Instituto Mexicano del Petróleo, México
Dr. Antonio Panico Università degli Studi Pegaso, Italia
MSc. Patricio Yánez Moretta, Universidad Internacional del Ecuador, Ecuador
Dr. Emmanuel Donkor, Kwame Nkrumah University of Science and Technology, West Africa
Dr. Carlos Hernandez Medina, Centro Universitario Municipal Camajuaní, Cuba
Dr. Daniel A. Lowy, Northern Virginia Community College, EE.UU.
Dr. Marjan Temovski, Institute of Nuclear Research of the Hungarian Academy of Sciences, Hungría
Dr. Elemer Laszlo, Institute of Nuclear Research of the Hungarian Academy of Sciences,Hungría
Dr. Manuel Maldonado, Escuela Politécnica del Ejército, Ecuador.
Dr. Mehmood Ali, NED University of Engineering and Technology, Pakistán
Dr. Oscar Peña Cáceres, Universidad Nacional de Piura, Perú
Dra. Ana Teodoro, Universidade do Porto, Portugal
Dr. Panagiotis Kechagiopoulos, University of Aberdeen, Reino Unido
Dr. Carlo Visconti, Politecnico di Milano, Italia
Dr. Fernando Bimbela, Universidad Pública de Navarra, España
Dra. Marta Elena Alonso, Universidad de León, España
Dra. Alison Hanlon, University College Dublin, Irlanda
Dr. Sabino Armenise, Universidad Rey Juan Carlos, España
Dr. Jesús Evaristo Tumi Quispe, Universidad Nacional del Altiplano, Perú

Índice

Editorial 6

Artículos Científicos

Número especial: Productos Naturales

Caracterización fitoquímica preliminar de los extractos etanólicos de hoja, fruto verde y maduro de *Terminalia Catappa* L. (Almendro) en Panamá 8
Karol M. Gutiérrez-Pineda y Misay Herrera.

Evaluación de películas biodegradables activas de PLA incorporada de aceites esenciales para inhibir adhesión microbiana 18
Anderson Pazmiño, Ana Campuzano, Karina Marín, Jonathan Coronel y Rómulo Salazar.

Conservación

Preservación modificada y descripción de la fungalisina para *Batrachochytrium Dendrobatidis* 32
Olga Cristina Lozano Camelo, Adriana Carolina Rojas Arias, Kelly Johanna Ávila Méndez y Silvio Alejandro López-Pazos.

Desarrollo Sostenible

Los Objetivos de Desarrollo Sostenible en América: Panorama 45
Miguel García-Parra, Francisco de la Barrera, Nubia Plazas-Leguizamón, Andrés Colmenares-Cruz, Andrés Cancimance y Diana Soler-Fonseca.

Cambio Climático

Aptitud de los cultivos de café (*Coffea arabica* L.) y cacao (*Theobrama cacao* L.) considerando escenarios de cambio climático 60
Ulises Gildardo Quiroz Antunez, Alejandro Ismael Monterroso Rivas, María Fernanda Calderón Vega y Adán Guillermo Ramírez García.

Hidrología

Efecto del coeficiente teórico de descarga de vertederos sobre la medición de caudales en pequeños ríos andinos 75
Mario Guallpa, Rolando Célleri y Patricio Crespo.

Contaminación Ambiental

Efectividad del uso de diatomeas en la filtración de bacterias de transmisión hídrica 88
Cristian Joao Vázquez, Betzy Moreno Salazar y Denisse Cadena Samaniego.

Efectos contrastivos de la evaluación de la contaminación ambiental en dos zonas del Distrito Metropolitano de Quito, Ecuador 98
Daniel Cornejo-Vásconez, Fabián Rodríguez-Espinosa, Alejandra Guasumba y Theofilos Toulkeridis.

Ciencias Veterinarias

Efecto de factores embriotróficos a diferentes tensiones de oxígeno en cultivo *in vitro* sobre el desarrollo embrionario de alpacas hasta la etapa de blastocisto 113
Teodosio Huanca Mamani.

Ciencia de Alimentos

Riesgos de contaminación química en leche y sus derivados 122
Sixto Reyna y José Arteaga.

Normas para autores 135

Editorial

ABYA YALA | UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

Estimadas y estimados lectores:

En este número 36 de La Granja, presentamos con mucho gusto nuestro Número Especial en Productos Naturales. Se entiende como Producto Natural a toda biomolécula que tenga un beneficio para los seres humanos en ámbitos como: el farmacéutico, cosmético, alimenticio-funcional e industrial en general. La abundancia de Productos Naturales está en concordancia con la biodiversidad que pueda tener una región o país, son por ende bienes valiosos para aquellas naciones que cuentan en su territorio con estos recursos.

En este número de la revista La Granja queremos dar relevancia a los trabajos en esta temática. Tenemos en primer lugar a un trabajo proveniente de Panamá, en donde los investigadores Karol Gutiérrez-Pineda y Misay Herrera describen la fitoquímica cualitativa de la especie *Terminalia Catappa* L. (Almendro de Panamá), en varios extractos, dando un primer vistazo a posibles aplicaciones de la planta. Este estudio se lleva a cabo desde la Fundación Pro-Conservación de los Primates Panameños (FCPP), y la Sociedad Mesoamericana para la Biología y la Conservación de la Naturaleza (SMBC).

Desde Ecuador, en un trabajo interuniversitario Anderson Pazmiño y su equipo de la Universidad Técnica de Manabí, la Universidad Agraria del Ecuador y la Escuela Superior Politécnica del Litoral, trabajan con aceites esenciales de canela y orégano, incorporados en películas biodegradables para medir su potencial en la inhibición bacteriana y proponerlos como aditivos de conservación en la industria de los alimentos.

Siguiendo con el formato de miscelánea de nuestros artículos, desde el área de la conservación, investigadores de la Universidad Antonio Nariño y la Fundación Universitaria Agraria de Colombia, liderados por Olga Lozano Camelo, nos presentan estrategias para la preservación modificada y la descripción de la *Fungalisina Batrachochytrium Dendrobatidis*. Desde la temática del desarrollo sostenible, Miguel García-Parra liderando investigadores de prestigiosas universidades: la Universidad del Cauca, la Fundación Universitaria Juan de Castellanos, Universidad Nacional Abierta y a Distancia y la Universidad Nacional de Colombia, juntamente con la Universidad de Concepción de Chile nos presenta una revisión bibliográfica sobre una de las temáticas más actuales: los Objetivos de Desarrollo Sostenible en la región de América.

Siguiendo con las temáticas de actualidad, Adán Ramírez García y su equipo de Universidad Autónoma Chapingo, junto con el Instituto Tecnológico de Sonora de México y la Escuela Superior Politécnica del Litoral del Ecuador, nos presentan las capacidades de adaptación de los cultivos de café y cacao, ante los posibles escenarios de Cambio Climático, una de las principales preocupaciones dentro del ámbito de la soberanía alimentaria. Mientras que, en el área de la Hidrología, Mario Guallpa, Rolando Céleri y Patricio Crespo de la Universidad de Cuenca y ETAPA del Ecuador, nos muestran el efecto del coeficiente teórico de descarga de vertederos sobre la medición de caudales en nuestros ríos andinos.

En el ámbito de la contaminación ambiental, contamos con dos contribuciones, la primera se refiere a la efectividad del uso de diatomeas en la filtración de aguas residuales, un estudio liderado por Cristian Joao Vázquez, desde el Ministerio de Salud Pública en colaboración con la Universidad Nacional del Chimborazo del Ecuador. La segunda nos muestra los efectos contrastivos de la contaminación ambiental en el Distrito Metropolitano del Quito, una investigación liderada por Daniel Cornejo-Vásconez, desde la Universidad de las Fuerzas Armadas y la Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Ambos estudios nos ayudan a dimensionar los ámbitos en los que la contaminación afecta el agua y aire.

La Granja:*Revista de Ciencias de la Vida* 36(2) 2022: 6-7
©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Finalmente, en el área de las ciencias veterinarias, Teodosio Huanca, desde el Instituto Nacional de Innovación Agraria del Perú nos muestra el efecto de factores embriotróficos a diferentes tensiones de oxígeno in vitro sobre el desarrollo embrionario de alpacas en la región andina. Mientras que, desde la Ciencia de Alimentos, Sixto Reyna y José Arteaga de la Universidad Técnica de Manabí, nos presentan un extenso estudio sobre los riesgos de la contaminación de la leche y sus derivados. Sin duda, este material será de utilidad en las investigaciones que se llevan a cabo en la región y en sus comunidades.

Cordialmente,

MsC. Sheila Serrano Vincenti
Universidad Politécnica Salesiana
Editora en jefe

Dr. Ignacio de los Ríos Carmedano
Universidad Politécnica de Madrid
Editor en jefe

Dr. Paco Noriega
Universidad Politécnica Salesiana
Editor Invitado/Adjunto

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

La granja:
Revista de
Ciencias de la Vida

pISSN:1390-3799; eISSN:1390-8596

http://doi.org/10.17163/lgr.n36.2022.01

Edición Especial/ Special Issue

Productos naturales

CC BY NC SA

ABYA YALA | UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

Caracterización fitoquímica preliminar de los extractos etanólicos de hoja, fruto verde y maduro de *Terminalia catappa L.* (Almendro) en Panamá.

Preliminary phytochemical characterization of the ethanolic extracts of leaf, green and ripe fruit of *Terminalia catappa L.* (Almendro) in Panama.

Karol M. Gutiérrez-Pineda*[1,2] y Misay Herrera[1]

[1]*Proyecto de Ecología Química de los Primates de Panamá, Fundación Pro-Conservación de los Primates Panameños (FCPP), 0816- 05855 Panamá, República de Panamá.*
[2]*Grupo de Interés Temático de los Primates Mesoamericanos, Capitulo Panamá, Sociedad Mesoamericana para la Biología y la Conservación de la Naturaleza (SMBC).*

*Autor para correspondencia: madelinekaro@gmail.com

Manuscrito recibido el 7 de noviembre de 2020. Aceptado, tras revisión, el 09 de septiembre de 2021. Publicado el 1 de septiembre de 2022.

Resumen

El almendro (*Terminalia catappa L.*) en Panamá es de uso maderable, nutricional, medicinal, entre otros. Se sabe poco sobre los compuestos secundarios presentes en las diferentes partes de esta especie vegetal. Este trabajo tuvo como objetivo realizar la caracterización fitoquímica de la hoja verde (HN), fruto verde (FV) y maduro (FM) del almendro. El muestreo se llevó a cabo entre los meses de mayo a junio del 2017. Se colocaron las HN, FV y FM del almendro por separado en tratamiento de extracción directa con etanol al 95% durante un día. El extracto etanólico fue obtenido por filtrado de gravedad y concentrado en un rotavapor al vacío (BUCHI Rotavapor^{TM} R-210). Se realizó un tamizaje fitoquímico para determinar los tres principales grupos de compuestos secundarios (compuestos fenólicos, compuestos nitrogenados y terpenos). También se realizó un análisis de Espectroscopía Infrarroja (FTIR) y Espectroscopía Ultravioleta-Visible (UV) para saber cuáles eran los grupos funcionales presentes. Se utilizó Past 4.02 para generar una gráfica de abundancia relativa de los compuestos secundarios presentes, y se aplicó el índice de Whittaker para evaluar el porcentaje de diferencia en la composición fitoquímica de las diferentes partes vegetales. Con estos datos se logró identificar que la caracterización fitoquímica semicuantitativa es variable para cada parte, presentando mayor abundancia de compuestos nitrogenados (alcaloides) y compuestos fenólicos (taninos, flavonoides). No se observó presencia de glicósidos cardiotónicos, ni de gomas y mucilagos. Esta información resalta que *T. catappa L.* es un potencial recurso para la salud, siendo de gran valor etnobotánico, farmacológico y para la industria alimenticia en Panamá.

Palabras clave: Etnobotánica, funciones bioactivas, metabolitos secundarios, planta medicinal, productos naturales,

Terminalia catappa.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Abstract

The almond tree (*Terminalia catappa L.*) in Panama is for timber, nutritional, and medicinal use, among others. Little is known about the secondary compounds present in the different parts of this plant species. This work aimed to carry out the phytochemical characterization of the green leaf (GL), green fruit (GF) and ripe fruit (RF) of the almond tree. The sampling was carried out between May to June 2017. The GL, GF and RF of the almond tree were placed separately, in direct extraction treatment with 95% ethanol for one day. The ethanolic extract was obtained by gravity filtration and concentrated in a vacuum rotary evaporator (BUCHI Rotavapor^{TM} R-210). Phytochemical screening was performed to determine the three main groups of secondary compounds (phenolics, nitrogenous and terpenes). An Infrared Spectroscopy (FTIR) and Ultraviolet-Visible (UV) Spectroscopy analysis were performed to find out which functional groups were present. Past 4.02 program was used to generate a graph of relative abundance of the secondary compounds present, and Whittaker index was applied to evaluate the percentage of difference in the phytochemical composition of the plant's parts. With these data, it was able to identify if the semi-quantitative phytochemical characterization is variable for each part, with nitrogen compounds (alkaloids) and phenolic compounds (tannins, flavonoids) presenting greater abundance. No presence of cardiotonic glycosides was found, or gums and mucilage. This information indicates that *T. catappa L.* is a potential resource for health, being of great ethnobotanical, pharmacological value and for the food industry in Panama.

Keywords: Secondary compounds, ethnobotany, bioactive functions, medicinal plant, natural products, *Terminalia catappa*.

Forma sugerida de citar: Gutiérrez-Pineda, K. y Herrera, M. (2022). Caracterización fitoquímica preliminar de los extractos etanólicos de hoja, fruto verde y maduro de *Terminalia catappa L.* (Almendro) en Panamá.. La Granja: Revista de Ciencias de la Vida. Vol. 36(2):8-17. http://doi.org/10.17163/lgr.n36.2022.01

IDs Orcid:

Karol M. Gutiérrez-Pineda: http://orcid.org/0000-0001-9129-7716
Misay Herrera: http://orcid.org/0000-0002-5043-0522

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

1 Introducción

Panamá es uno de los países con mayor diversidad biológica a nivel mundial (Olmedo y col., 2018; López y Mainieri, 2019), con 8 de las 200 ecoregiones reconocidas alrededor del mundo y con 21 veces más especies de plantas por km^2 que Brasil (ANAM, 2010). Alrededor de 10000 especies de plantas vasculares se han descrito en el país (Correa, Mireya y Stapf, 2004), sin embargo, esta lista ha incrementado en los últimos años con reportes de especies descritas y nuevos rangos de distribución para Panamá (Flores, Ibanez y Correa, 2016; Flores, Black e Ibáñez, 2017; Flores y col., 2018; Ortiz y col., 2019).

La flora panameña presenta reservorios de productos naturales, siendo de gran valor para la bioprospección de nuevos tratamientos terapéuticos con alto potencial económico y medicinal (Gupta, 2004; Gupta, 2008; Leija y col., 2014), lo que reafirma la importancia y necesidad de aumentar nuevos estudios químicos, biológicos y toxicológicos de las plantas del país.

Uno de los primeros trabajos sobre etnobotánica en Panamá fue expuesto por Esposito y col. (1985), incluyendo las primeras caracterizaciones fitoquímicas de hojas y tallo en almendro de río (*Terminalia catappa L.*), encontrando la presencia de taninos. Muhammad y Mudi (2011) y Mena, Poli y Almansa (2015) recalcaron la importancia en usos tradicionales y medicinales (e.g. propiedades tónico-astringentes), para países como Costa Rica, Colombia y otros más. En Panamá, los lugareños de la provincia de Los Santos reportan su uso como planta medicinal (Torres y col., 2017). Esta especie es nativa del sureste de Asia e introducida en Panamá (Correa y col., 2010; Farnum y Murillo, 2015; Farnum y Yángüez, 2015; Jiménez y Espino, 2020).

Se han reportado compuestos secundarios (e.g. ácidos triterpénicos, antinflamatorios) de los extractos etanólicos de la hoja de *T. catappa* (Fan y col., 2004). También se han aislado algunos glucósidos de flavonas [6-C-(2″-O-galloyl)-b-D-glucopyranoside] de los extractos etanólicos de la hoja seca con funciones bioactivas antioxidantes (Lin y col., 2000). Se han reportado funciones afrodisíacas a la semilla, con presencia de alcaloides, aceites, aminoácidos y péptidos (Ratnasooriya y Dharmasiri, 2000). De igual forma, se ha observado que el extracto de la hoja seca inhibe el crecimiento de *Bacillus subtilis*, una bacteria del suelo que puede actuar como biofungicida (Lahlali y col., 2013), y *Staphylococcus aureus*, una bacteria de nuestro cuerpo que podría causar infecciones si no es controlada (Lowy, 1998).

De los extractos con cloroformo de las hojas también se han determinado funciones bioactivas hepatoprotectoras contra daños hepáticos agudos inducidos por tetracloruro de carbono (CCl_4) y D-galactosamina, lesión de hepatocitos inducida por (D-GalN). Esta función activa se relaciona con la presencia de triterpenos (Gao y col., 2004). Investigadores han llegado a establecer que el estudio de las diferentes partes de T. catappa L. es de suma importancia para la bioprospección y creación de posibles fármacos contra enfermedades desentendidas (Muhammad y Mudi, 2011; Chanda y col., 2013; Jiménez y Rebolledo, 2015; Calderón, Torres y Pretel, 2013).

Debido a que existen muy pocos estudios realizados en Panamá con *T. catappa L.* y tras analizar el potencial de esta especie para futuros estudios enfocados en la bioprospección de compuestos secundarios bioactivos, el objetivo de esta investigación es realizar la primera caracterización preliminar de los extractos etanólicos de las hojas nuevas, fruto verde y maduro en *T. cattappa L.* de Panamá.

2 Materiales y Métodos

2.1 Área de colecta

Se colectaron las partes vegetales de *T. catappa* en la comunidad de Bella Vista, corregimiento de Limones, Punta Burica, Panamá (8° 2′7.15″N, 82°53′22.38″O) (Figura 1). Este corregimiento separa la costa Pacífica de Panamá con Costa Rica. La población humana que habita en esta área ha fragmentado los bosques para realizar actividades socioeconómicas, como pastizales para ganadería y monocultivo de palma aceitera (Miranda, 2013). El área posee un clima tropical húmedo, con una precipitación anual de 4247,8 mm y una temperatura media anual de 26,4-27°*C*. La vegetación original dominante en la región según Holdridge es el Bosque Húmedo Tropical (Miranda, 2013).

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

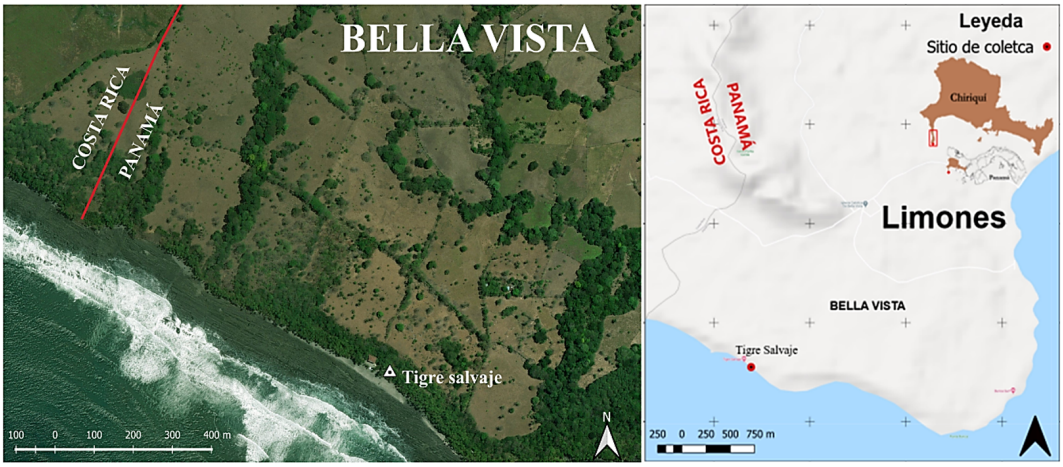

Figura 1. Área de colecta de *T. catappa L.*

2.2 Colecta y Preparación del Material Vegetal

Las muestras fueron recolectadas en época de transición seca a lluviosa (mayo-junio, 2017). Se colectaron hojas nuevas (HN), que estaban más cercana a la base del cogollo y son de color verde, y se diferencian de las secas porque cambian de rojo-naranja a chocolate. También se recolectaron muestras de frutos verdes (FV) y de frutos maduros (FM). El FV es de color verde y el FM es de color amarillo, y se logran diferenciar cualitativamente (Figura 2). Las diferentes partes vegetales fueron debidamente prensadas y llevadas al Herbario de la Universidad de Autónoma de Chiriquí (UNACHI), donde posteriormente fueron identificadas por especialistas botánicos.

Se realizó un tratamiento directo de las HN, FV y FM del almendro, el cual consistió en poner cada una de las partes por separado en etanol al 95% durante un día. El extracto etanólico de estas partes se obtuvo mediante un filtrado por gravedad. Se colocó un papel filtro en un embudo para separar la parte solida de la líquida. Luego este extracto se concentró en un rotavapor al vacío (BUCHI Rotavapor^{TM} R-210) para posteriores análisis (Hostettmann y col., 2008).

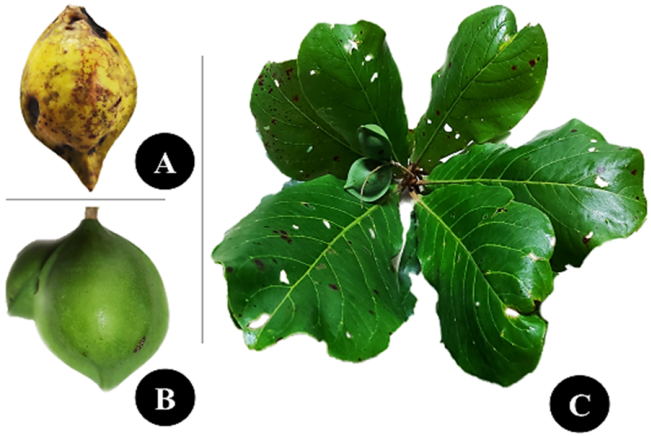

Figura 2. Ilustración fotográfica de las partes vegetales del almendro (*T. catappa L.*) A. Fruto maduro, B. Fruto verde, C. Hoja nueva y fruto verde.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

2.3 Caracterización fitoquímica

Se realizaron diferentes pruebas cualitativas y semicuantitativas para determinar los tres grandes grupos de compuestos secundarios (compuestos fenólicos, compuestos nitrogenados y terpenos). Las señales cualitativas se identificaron por la aparición de precipitados, cambio de color y formación de espuma al momento de agregar el reactivo correspondiente al tipo de metabolito que se buscaba caracterizar. Las semicuantitativas fueron evaluadas de la siguiente manera: ausencia (–), presencia leve (+), presencia media (++), presencia abundante (+++), de acuerdo con la intensidad de las señales cualitativas anteriormente mencionadas. Se realizaron triplicados por cada prueba, con muestras control del reactivo y del extracto, evitando falsos positivos relacionados.

Los compuestos nitrogenados (alcaloides) fueron caracterizados con Draguendorff, Mayer, Wagner y Hager. Cada subgrupo de terpenos fue caracterizado con el reactivo correspondiente, Terpenoides con Rosenthaler, Fitoesteroles con Liebermann-Buchard y Triterpenos con Salkowski. Se utilizó Cloruro Férrico al 5% ($FeCl_3$) en la identificación de taninos; los flavonoides se caracterizaron con H_2SO_4 concentrado y NaOH al 5%. Para la identificación de saponinas, se preparó una solución acuosa de los extractos y se agitaron, y la formación de espuma es indicativo de su presencia. La identificación de los glicósidos cardiotónicos se realizó con la prueba Legal. Para la identificación de gomas y mucílagos se disolvió un par de mL del extracto en 2,5 mL de agua destilada, por último, se le agregó 5 mL de alcohol al 95% con agitación constante (Albuquerque, 2000; Hostettmann y col., 2008).

Se realizó un análisis de Espectroscopía Infrarroja (FTIR) y Espectroscopía Ultravioleta-Visible (UV) al extracto crudo de cada una de las partes para saber cuáles eran los grupos funcionales presentes y se concuerda con las estructuras base de los compuestos detectados por tamizaje (Hostettmann y col., 2008).

2.4 Análisis de datos

Se utilizó el programa Past 4.02 para realizar una gráfica de abundancia relativa de los compuestos secundarios presentes en cada uno de los extractos de las partes vegetales estudiadas. Se aplicó el índice de Whittaker para evaluar el porcentaje de diferencia en la composición fitoquímica en las diferentes partes vegetales. Este análisis se valoró con respecto a la presencia (1) y ausencia (0) de los grupos de compuestos secundarios (Whittaker, 1960).

3 Resultados y Discusión

Este estudio expande la información fitoquímica preliminar de *T. catappa L.* en Panamá, a partir de la caracterización fitoquímica cualitativa de las diferentes partes de *T. catappa L.* Se logró identificar los tres grandes grupos de compuestos secundarios de la planta, presentando similitudes en la composición de compuestos secundarios. La caracterización semicuantitativa o abundancia de estos compuestos es variable para cada parte, sobresaliendo con mayor abundancia los compuestos nitrogenados (alcaloides) y compuestos fenólicos (taninos, flavonoides).

Se detectó la presencia sólo de terpenoides, pero en muy baja abundancia, y ausencia de fitoesteroles. Tampoco hubo presencia de glicósidos cardiotónicos, ni de gomas y mucilagos (Tabla 1, Figura 3). Esta caracterización preliminar coincide con otros reportes. La abundante presencia de compuestos fenólicos o ácidos polifenólicos es una característica particular de las hojas de esta planta (Tanaka, Nonaka y Nishioka, 1986), como por ejemplo el ácido gálico, el cual se considera como uno de los mayoritarios (Marrero y Morales, 2016).

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Tabla 1. Caracterización cualitativa y semicuantitativa de las diferentes partes de *T. catappa L.*

Compuestos secundarios	Hoja nueva	Fruto Maduro	Fruto verde
Alcaloides	+++	+	+
Fitoesteroles	-	-	-
Terpenoides	+	+	-
Taninos	+++	+	++
Flavonoides	+	++	++
Carbohidratos	+	+++	+
Saponinas	+++	+++	-
Gomas y Mucilagos	-	-	-
Glicósidos cardiotónicos	-	-	+

Leyenda: ausencia (–), presencia leve (+), presencia media (++), presencia abundante (+++).

Las señales de FTIR para el extracto del FV de almendro (*T. catappa L.*) fueron de compuestos aromáticos (1770-2010 cm^{-1}), OH de compuestos fenólicos (1066 cm^{-1}) y C=O-C de éteres aromáticos (1229 cm^{-1}), lo que indica una posible presencia de los grupos de ácidos polifenólicos, taninos gálicos, saponinas y flavonoides. En el caso de las HN, estas muestran tensiones de C-H (2946 cm^{-1}) y C=H (1662 cm^{-1}), que podrían ser posibles indicadores de cadenas de terpenoides o fitoesteroles. De igual forma, FM y FV presentan señales armónicas, indicativos de compuestos aromáticos (1770-2010 cm^{-1}) en conjunto con señales de OH, indicativo de posibles compuestos fenólicos.

En la espectroscopia UV de los extractos de las HN y FV del almendro (*T. catappa L.*) se obtuvieron picos de 255nm, 294nm, 377nm, los cuales son representativos de compuestos aromáticos, nitrogenados, en este caso podrían ser taninos, alcaloides y flavonoides; a longitudes de onda a 666 y 662 nm, se encuentran las saponinas por sus complejas estructuras esqueléticas.

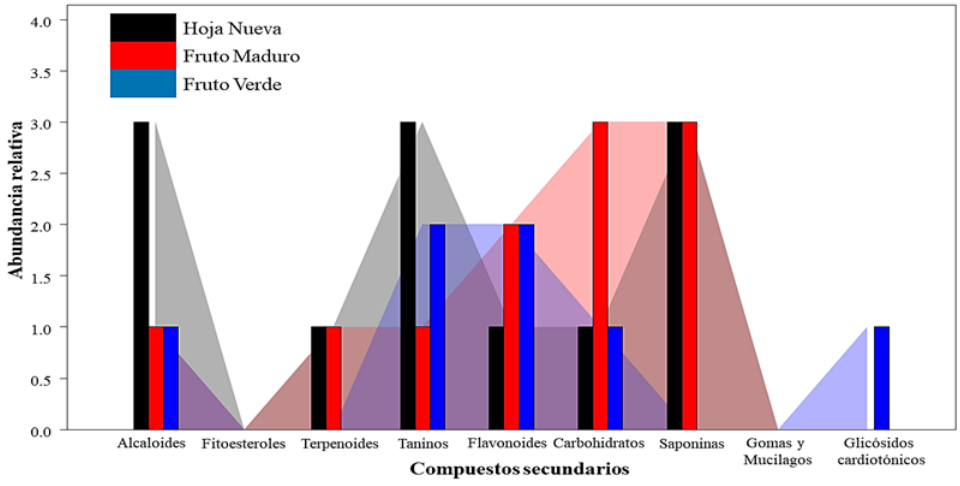

Figura 3. Abundancia relativa con respecto a la caracterización semicuantitativa de los compuestos secundarios.

Las investigaciones confirman que la abundancia de compuestos polifenólicos está relacionada con funciones bioactivas, como por ejemplo antioxidantes de gran interés a nivel farmacognóstico (Tanaka, Nonaka y Nishioka, 1986; Masuda y col., 1999; Lin y col., 2001; Marques y col., 2012). Uno de los estudios que prueba la posible efectividad de los compuestos fenólicos (Punicalagina) como anti-

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

oxidantes es el presentado por Chen y col. (2000), donde la Punicalagina suprime la generación de radicales libres intracelulares inducidos por bleomicina, identificados como superóxidos y peróxidos de hidrógeno, evitando la genotoxicidad. También se ha reportado que punicalagina y punicalina tienen actividad antihepatotóxica sobre la toxicidad inducida por el acetaminofén (Paracetamol) en hígado de ratas (Lin y col., 2001).

El índice de Whittaker mostró sólo un 23,53 % de diferencia entre las partes de las plantas. La HN con el FM presentó los mismos grupos de compuestos secundarios. El FV con respecto a la HN y el FM presentó 27,27 % de diferencia en la composición fitoquímica. El fruto verde presentó cinco grupos de compuestos secundarios, abarcando compuestos nitrogenados (alcaloides) y compuestos fenólicos (taninos y flavonoides). No se obtuvo presencia de terpenoides. En FM se logró la identificación de seis grupos pertenecientes a los tres grandes grupos principales. El FV presentó glicósidos cardiotónicos con mayor abundancia de taninos; sin embargo, el fruto maduro presentó terpenoides, con alta abundancia de carbohidratos y baja de taninos.

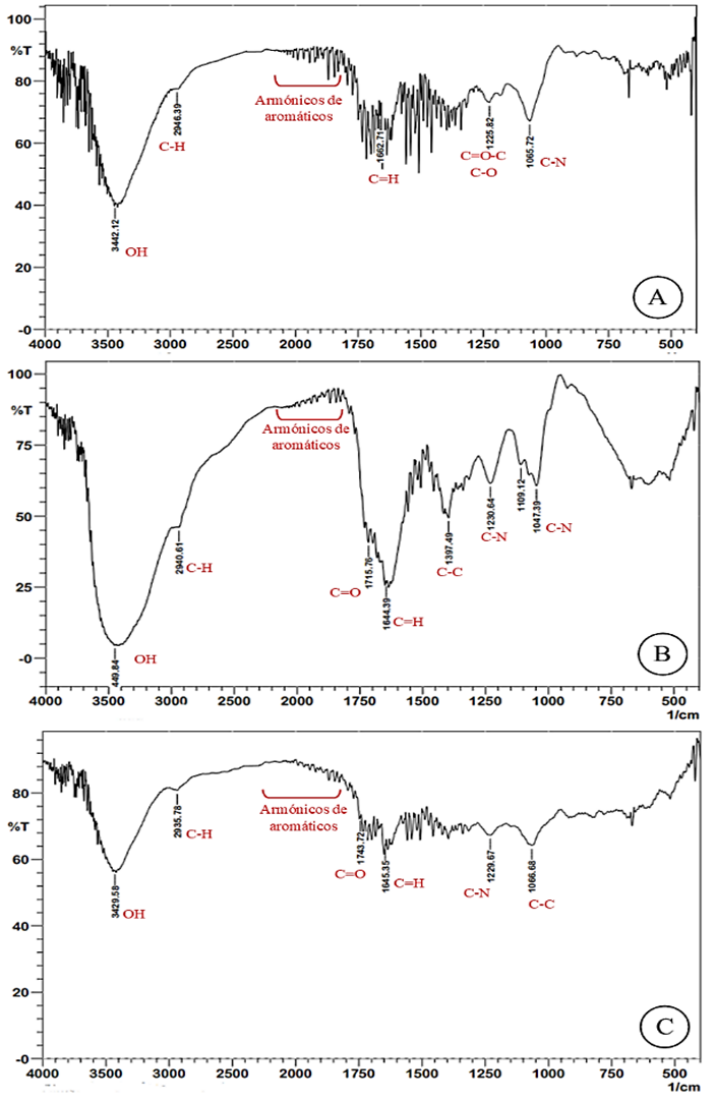

Figura 4. FTIR de las diferentes partes vegetales de *T. catappa L.* A. Hoja nueva; B. Fruto maduro; C. Fruto verde.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Las variaciones en el fruto son comunes en los procesos de maduración, donde se produce mayor contenido de carbohidratos o azucares; también ocurre el aumento en la producción de compuestos volátiles o aromáticos (terpenoides) y la disminución de otros, en este caso taninos (Arrieta, Baquero y Barrera, 2006). La presencia de flavonoides también es importante pues son los que dan el color a las partes vegetales y son un indicativo de maduración. En el caso del fruto del almendro, este disminuye el color verde (clorofila) y aumenta el color amarillo, asociado a un tipo de flavonoide (antocianina) (Ronald, 2011).

Estas variaciones coinciden con lo reportado anteriormente, donde se observa un aumento considerable de carbohidratos en el estado maduro, siendo uno de los compuestos predominantes, seguido de terpenoides y compuestos fenólicos (Ratnasooriya y Dharmasiri, 2000; Santos, Lorenzo y Lannes, 2016). Estos valores de carbohidratos han demostrado que la fruta del almendro tiene un alto valor energético; de igual forma, se ha reportado que suministran sustancias básicas para el crecimiento y mantenimiento de las funciones corporales (Lima, 2012). En el presente está asociado a la presencia de saponinas. Por eso han sido utilizados en diversos productos como materia prima en el enriquecimiento de formulaciones existentes en la industria alimentaria (Nagappa y col., 2003; Lima, 2012; Chanda y col., 2013).

4 Conclusiones

En este estudió se logró la primera base sobre la composición fitoquímica de los extractos etanólicos de las hojas verdes, frutos verdes y maduros de *T. catappa L.* en Panamá. La caracterización semicuantitativa o abundancia de los compuestos fitoquímicos es variable para cada parte, y se observó con mayor abundancia los compuestos nitrogenados (alcaloides) y compuestos fenólicos (taninos, flavonoides). Se detectó baja abundancia de terpenoides y ausencia de fitoesteroles, glicósidos cardiotónicos, gomas y mucilagos.

Tomando en consideración la composición fitoquímica de *T. catappa L.* reportada en otros estudios y su similitud con lo encontrado en este trabajo, se puede considerar como un potencial recurso para la salud, siendo de gran valor etnobotánico, farmacológico y para la industria alimenticia en Panamá.

Agradecimientos

A la escuela de Química y Centro de Investigación de Productos Naturales y Biotecnología (CIPNABIOT) de la Universidad Autónoma de Chiriquí (UNACHI) por facilitarnos las instalaciones, el equipo y reactivos de los laboratorios para realizar los análisis fitoquímicos. A los docentes e investigadores de la Escuela de Química-UNACHI por las enseñanzas, entrenamiento y apoyo brindado en la adquisición de conocimientos para realizar estos trabajos de investigación. A Milagros Centeno-Beitia y Karoline Montezuma por la recolección de las muestras. A Ph.D. Pedro Méndez Carvajal por las recomendaciones en el manuscrito.

Referencias

ANAM (2010). *Cuarto Informe Nacional De Panamá Ante El Convenio Sobre La Diversidad Biológica*. Inf. téc. Autoridad Nacional del Ambiente. Online:https://bit.ly/3rc4Ixe.

Albuquerque, E. Rocha de (2000). «Fundamentos de Tecnologéa de Productos Fitoterapéuticos». En: ed. por R. Pinzón. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Cap. Tamizaje farmacológico y tamizaje fitoquímico, págs. 195-204.

Arrieta, A., U. Baquero y J. Barrera (2006). «Caracterización fisicoquímica del proceso de maduración del plátano 'Papocho'(*Musa ABB Simmonds*)». En: *Agronomía Colombiana* 24.1, 48-53. Online:https://bit.ly/3Gf4QCs.

Calderón, A., P. Torres y O. Pretel (2013). «Efecto del extracto hidroalcohólico de *Terminalia catappa L.* (Combretaceae) sobre radicales libres inducidos en cerebro de rata». En: *The Biologist (Lima)* 11.2, 267-2750. Online:https://n9.cl/x7l6h.

Chanda, S. y col. (2013). «Antimicrobial, antioxidant, and synergistic properties of two nutraceutical plants: *Terminalia catappa L.* and *Colocasia esculenta L.*» En: *Turkish Journal of Biology* 37.1, 81-91. Online:https://bit.ly/3330j7F.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Chen, P. y col. (2000). «Folk medicine *Terminalia catappa* and its major tannin component, punicalagin, are effective against bleomycin-induced genotoxicity in Chinese hamster ovary cells». En: *Cancer letters* 152.2, 115-122. Online:https://n9.cl/cwqsp.

Correa, A., D. Mireya y M. y Sánchez de Stapf (2004). *Catálogo de las plantas vasculares de Panamá*. Quebecor World.

Correa, M. y col. (2010). *Árboles y arbustos del Parque Natural Metropolitano, Panamá*. Instituto Nacional de Biodiversidad.

Esposito, M. y col. (1985). «Pharmacological screening of Panamanian medicinal plants. Part 1». En: *International Journal of Crude Drug Research* 23.1, 17-25. Online:https://bit.ly/3f4yUEK.

Fan, Y. y col. (2004). «Phytochemical and antiinflammatory studies on *Terminalia catappa*». En: *Fitoterapia* 75.3-4, 253-260. Online:https://bit.ly/3HLbPDy.

Farnum, F. y V. Murillo (2015). *Guía ilustrada para 80 árboles y arbustos comunes*. Universidad de Panamá.

Farnum, F. y K. Yángüez (2015). «Estudio Etnobotánico y usos sostenibles de los recursos de la flora en la Comunidad de Narganá, Guna Yala.» En: 3.2, 43-56. Online:https://bit.ly/3HLdHMA.

Flores, R., C. Black y A. Ibáñez (2017). «A new species of Heliconia (*Heliconiaceae*) with pendent inflorescence, from Chucantí Private Nature Reserve, eastern Panama». En: *PhytoKeys* 77, 21-32. Online:https://bit.ly/3n9NVty.

Flores, R., A. Ibanez y M. Correa (2016). «Eugenia veraguensis (*Myrtaceae*), a new species from Golfo de Chiriqui in Veraguas Province, Panama, with notes on Eugenia rhombea». En: *Phytotaxa* 270.3, 217-222. Online:https://bit.ly/33kqHKh.

Flores, R. y col. (2018). «A new epiphytic species of Notopleura (*Rubiaceae*) from Chucantí Nature Reserve, eastern Panama». En: *Webbia* 73.2, 195-201. Online:https://bit.ly/3HPAqqG.

Gao, J. y col. (2004). «Hepatoprotective activity of *Terminalia Catappa L.* leaves and its two triterpenoids». En: *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 56.11, 1449-1455. Online:https://bit.ly/3q7d89V.

Gupta, M. (2004). *Investigaciones farmacognósticas sobre la flora paname´ na*. Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia.

— (2008). *Plantas Medicinales iberoamericanas*. Programa Iberoamericana de Ciencia y Tecnología, Convenio Andrés Bello.

Hostettmann, K. y col. (2008). *Manual de estrategias para el aislamiento de productos naturales bioactivos*. Inf. téc. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología, Convenio Andrés Bello.

Jiménez, J. y K. Espino (2020). *Guía de árboles y plantas arborescentes de la Universidad Tecnológica de Panamá, Extensión Tocumen*. Inf. téc. Universidad Tecnológica de Panamá.

Jiménez, M. y G. Rebolledo (2015). «Efecto hepatoprotector de plantas medicinales y compuestos naturales contra el daño provocados por fármacos antituberculosos». En: *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 46.3, 6-15. Online:https://bit.ly/3Fh4nyw.

Lahlali, R. y col. (2013). «Evidence that the biofungicide Serenade (*Bacillus subtilis*) suppresses clubroot on canola via antibiosis and induced host resistance». En: *Phytopathology* 103.3, 245-254. Online:https://bit.ly/3tbVbJd.

Leija, L. y col. (2014). «Cribado de la actividad antimicrobiana de plantas panameñas de la familia *Fabaceae*». En: *Revista Médica de la Universidad de Costa Rica* 8.2, 11-23. Online:https://bit.ly/33gw11h.

Lima, R. (2012). «Fruto da Castanhola (*Terminalia catappa Linn*): compostos bioativos, atividade antioxidante e aplicação tecnológica». Tesis de mtría. Universidade Federal do Piauí, Teresina.

Lin, C.C. y col. (2001). «Antioxidant and hepatoprotective effects of punicalagin and punicalin on acetaminophen-induced liver damage in rats». En: *Phytother Res.* 15.3, 206-12. Online: https://bit.ly/3IXKrCP.

Lin, Y. y col. (2000). «Flavonoid glycosides from *Terminalia catappa L.*» En: *Journal of the Chinese Chemical society* 47.1, 253-256. Online:https://bit.ly/3q904Rh.

López, O. y M. Mainieri (2019). *Importancia Medica de la Flora y la Fauna Panameña*. Secretaria Nacional de Ciencia y Tecnología.

Lowy, F. (1998). «*Staphylococcus aureus* infections». En: *New England journal of medicine* 339.8, 520-532. Online:https://bit.ly/3G6FMNU.

Marques, M. y col. (2012). «An in vitro analysis of the total phenolic content, antioxidant power, physical, physicochemical, and chemical composition of *Terminalia Catappa Linn* fruits». En:

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Food Science and Technology 32, 209-213. Online:https://bit.ly/3GaqHL7.

Marrero, D. y C. Morales (2016). «Identificación de ácidos polifenólicos en el extracto metanólico de las hojas de *Terminalia catappa Linn*». En: *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 21.2, 223-233. Online:https://n9.cl/hfwsh.

Masuda, T. y col. (1999). «Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: activity of the leaf extracts from seashore plants». En: *Journal of Agricultural and Food chemistry* 47.4, 1749-1754. Online:https://bit.ly/3JXVCN2.

Mena, R., T. Poli y J. Almansa (2015). «Sistemas de transmisión del conocimiento etnobotánico de plantas silvestres comestibles en Turbo, Antioquia, Colombia». En: *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* 6.1, 133-1143. Online:https://bit.ly/3Faghda.

Miranda, E. (2013). «Lluvia de semillas en un paisaje tropical fragmentado: Implicaciones para la regeneración natural de los bosques en Chiriquí, Panamá». Tesis de mtría. Universidade Federal do Piauí, Teresina.

Muhammad, A. e Y. Mudi (2011). «Phytochemical screening and antimicrobial activities of *Terminalia catappa*, leaf extracts». En: *Biokemistri* 23. Online:https://bit.ly/3f8h4Ri.1.

Nagappa, A. y col. (2003). «Antidiabetic activity of *Terminalia catappa Linn* fruits». En: *Journal of ethnopharmacology* 88.1, 45-50. Online:https://n9.cl/hrzbz.

Olmedo, D. y col. (2018). «Descubrimiento de compuestos bioactivos a través de bioprospección en Panamá». En: *Saberes APUDEP* 1.2, 1-20. Online:https://bit.ly/3r4RFxs.

Ortiz, O. y col. (2019). «Additions to the Flora of Panama, with comments on plant collections and information gaps». En: *Check List* 15, 601. Online:https://bit.ly/3JXcpjg.

Ratnasooriya, W. y M. Dharmasiri (2000). «Effects of *Terminalia catappa* seeds on sexual behaviour and fertility of male rats». En: *Asian Journal of Andrology* 2.3, 213-220. Online:https://bit.ly/3q7ztEj.

Ronald, A. (2011). *Las frutas: el oro de mil colores Frutoterapia*. Ecoe Ediciones.

Santos, O., N. Lorenzo y S. Lannes (2016). «Chemical, morphological, and thermogravimetric of *Terminalia catappa Linn*». En: *Food Science and Technology* 36, 151-158 Online:https://bit.ly/3t7QUGN.

Tanaka, T., G. Nonaka e I. Nishioka (1986). «Tannins and Related Compounds. XLII.: Isolation and Characterization of Four New Hydrolyzable Tannins, Terflavins A and B, Tergallagin and Tercatain from the Leaves of *Terminalia catappa L.*» En: *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 34.3, 1039-1049. Online:https://bit.ly/3qavvL4.

Torres, N. y col. (2017). «Plantas medicinales de Panamá 2: Etnobotánica de la Reserva forestal la Tronosa, Provincia de los Santos». En: *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 16.4, 361-384. Online:https://bit.ly/3JV7eAI.

Whittaker, R. (1960). «Vegetation of the Siskiyou mountains, Oregon and California». En: *Ecological monographs* 30.3, 279-338. Online:https://bit.ly/3GbphQR.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

La Granja:
Revista de
Ciencias de la Vida

pISSN:1390-3799; eISSN:1390-8596

http://doi.org/10.17163/lgr.n36.2022.02

Edición Especial/ Special Issue

Productos Naturales

CC BY NC SA

Evaluación de películas biodegradables activas de PLA incorporada de aceites esenciales para inhibir adhesión microbiana

Evaluation of PLA active biodegradable films incorporated of essential oils to inhibit microbial adhesion

Anderson Pazmiño*[1], Ana Campuzano[2], Karina Marín[3], Jonathan Coronel[3], y Rómulo Salazar[3]

[1]*Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Técnica de Manabí. Código Postal 130105, Portoviejo, Ecuador.*
[2]*Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Agraria del Ecuador, Código Postal 090104, Guayaquil, Ecuador.*
[3]*Escuela Superior Politécnica del Litoral, ESPOL, Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción, Campus Gustavo Galindo, Km 30.5 Vía Perimetral, P.O. Box 09-01-5863, Guayaquil, Ecuador.*

*Autor para correspondencia: anderson.pazmino@utm.edu.ec

Manuscrito recibido el 30 de octubre de 2020. Aceptado, tras revisión, el 21 de enero de 2022. Publicado el 1 de septiembre de 2022.

Resumen

La evaluación de películas biodegradables activas de ácido poliláctico (PLA) incorporado de aceites esenciales para inhibir la adhesión microbiana se realizó mediante un diseño exploratorio fraccionario 2_V^{5-1}, combinando los factores, cantidad de plastificante PEG 400 (10 y 20%), cantidad de aceite esencial de canela (0,5 y 1%), cantidad de aceite esencial de orégano (0,5 y 1%), concentración en unidades formadoras de colonias (UFC) de *Salmonella* spp. (10^3 y 10^4 UFC mL^{-1}) y concentración de *Staphylococcus aureus* (10^3 y 10^4 UFC mL^{-1}). Los resultados del ensayo de inhibición a la adhesión microbiana mostraron que el porcentaje máximo de inhibición alcanzó el $73,82 \pm 0,35\%$, correspondiente al experimento 7 (bce), el cual contiene 10% PEG 400, 1% aceite esencial de canela, 1% aceite esencial de orégano, 10^3 UFC mL^{-1} de concentración de *Salmonella* spp. y 10^4 UFC mL^{-1} de concentración de *Staphylococcus aureus*. El análisis estadístico determinó que existe evidencia significativa (valor $p = 0,0283$) que indica que la concentración de *Staphylococcus aureus* influye en el porcentaje de inhibición a la adhesión microbiana; así como también, que la interacción del aceite esencial de canela-*Salmonella* spp. tiene poca evidencia significativa (valor $p = 0,0711$) que influye en el porcentaje de inhibición. Los resultados de inhibición están en función del tipo de bacteria, siendo mayor para las Gram positivas. Los resultados de inhibición superiores al 60% tienen como factor común la concentración más alta de *Staphylococcus aureus*. Por lo tanto, las películas biodegradables activas de PLA con mayor porcentaje de inhibición pueden usarse potencialmente en la industria alimentaria como mecanismo de barrera para evitar contaminación bacteriana.

Palabras clave: Biopolímero, alimento, barrera, patógenos.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Abstract

An evaluation of incorporated polylactic acid (PLA) active biodegradable films of essential oils to inhibit microbial adhesion was performed using a 2_V^{5-1} fractional exploratory design, combining the factors, amount of PEG 400 plasticizer (10 and 20%), amount of cinnamon essential oil (0.5% and 1%), amount of oregano essential oil (0.5% and 1%), *Salmonella* spp. concentration (10^3 CFU mL^{-1} and 10^4 CFU mL^{-1}) and *Staphylococcus aureus* concentration (10^3 CFU mL^{-1} and 10^4 CFU mL^{-1}). The results of microbial adhesion inhibition test showed that the maximum inhibition percentage reached 73.82 ± 0.35% corresponding to experiment 7 (bce), which contains 10% of PEG 400, 1% of cinnamon essential oil, 1% of oregano essential oil, 10^3 CFU mL^{-1} of *Salmonella* spp. concentration, 10^4 CFU mL^{-1} of *Staphylococcus aureus* concentration. Statistical analysis determined that there is strong significant evidence ($p - value = 0.0283$) that *Staphylococcus aureus* concentration influences the inhibition percentage to microbial adhesion; as well as that the cinnamon essential oil- *Salmonella* spp. interaction has little significant evidence ($p - value = 0.0711$) that influences the inhibition percentage. Inhibition results greater than 60% have the highest concentration of *Staphylococcus aureus* as a common factor. PLA active biodegradable films with a higher inhibition percentage can potentially be used in the food industry as a barrier mechanism to avoid bacterial contamination.

Keywords: Biopolymer, food, barrier, infectious agent.

Forma sugerida de citar: Pazmiño, A., Campuzano, A., Marín, K., Coronel, J. y Salazar, R. (2022). Evaluación de películas biodegradables activas de PLA incorporada de aceites esenciales para inhibir adhesión microbiana. La Granja: Revista de Ciencias de la Vida. Vol. 36(2):18-31. http://doi.org/10.17163/lgr.n36.2022.02

IDs Orcid:

Anderson Pazmiño: http://orcid.org/0000-0001-5333-3819
Ana Campuzano: http://orcid.org/0000-0003-0010-4267
Karina Marín: http://orcid.org/0000-0002-0706-7692
Jonathan Coronel: http://orcid.org/0000-0001-6535-0261
Rómulo Salazar: http://orcid.org/0000-0002-0172-839X

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

1 Introducción

La extensión en el uso de envases biodegradables para reemplazar las poliolefinas de baja tasa de degradabilidad es uno de los desafíos centrales de la industria de alimentos, al igual que los esfuerzos orientados a reducir el número de personas afectadas por enfermedades transmitidas por alimentos, mediante el incentivo en la aplicación de biocontroles y demás mecanismos de barrera que garanticen seguridad alimentaria a los consumidores (Tauxe y col., 2010; Jahid y Ha, 2012), en especial en alimentos mínimamente procesados o frescos, tomando en cuenta que, por ejemplo, en los últimos años los brotes de enfermedades producidas por *Salmonella* spp. han sido vinculados a la contaminación de pepinos, papaya frescas, melón y piña cortados, pollo, huevos, atún crudo, carne de res molida, carne de pavo molida, y muchos otros alimentos (Centers for Disease Control and Prevention, 2020).

La Organización Mundial de la Salud (OMS), estima que las enfermedades de transmisión alimentaria afectan a una de cada diez personas a nivel mundial, y ocasionan 420 000 muertes al año, siendo los principales agentes etiológicos, Norovirus, *E. coli*, *Campylobacter* spp., y *Salmonella* no tifoidea (WHO, 2016). Los Centros de Control y Prevención de Enfermedades estiman que cada año, solamente en Estados Unidos, 48 millones de personas son afectadas por enfermedades transmitidas por alimentos, de las cuales 128.000 son hospitalizadas y 3.000 mueren (Centers for Disease Control and Prevention, 2019). Del total de afectados, 9,4 millones personas (20 %) se enferman a causa de 31 patógenos conocidos transmitidos por los alimentos, y 38,4 millones (80 %) son afectados por agentes no especificados que están en los alimentos y cuya sintomatología comienza con gastroenteritis aguda. Las cifras estimadas indican que las enfermedades transmitidas por alimentos son causadas por virus (59 %), bacterias (39 %) y parásitos (2 %). Los patógenos que causan la mayoría de las enfermedades son el Norovirus (58 %), *Salmonella* spp. (11 %), *Clostridium perfringens* (10 %), *Campylobacter* spp. (9 %), y *Staphylococcus aureus* (3 %). Del total de hospitalizaciones estimadas, el 64 % son causadas por bacterias, siendo el 35 % debido a *Salmonella* spp. y 15 % a *Campylobacter* spp. Del total de muertes estimada, el 64 % es causado por bacterias, de las cuales el 28 % corresponde a *Salmonella* spp., 19 % *Listeria monocytogenes*, y 6 % *Campylobacter* spp. (Scallan y col., 2011).

El uso de aceites esenciales es una opción para mejorar las propiedades de las películas o envases biodegradables, otorgando propiedades antibacterianas contra patógenos que producen enfermedades alimentarias (Calo y col., 2015). Entre estos aceites esenciales están el aceite de orégano (*Origanum vulgare*) y el aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), ambos categorizados GRAS (Generalmente reconocido como seguro) por la Agencia de Drogas y Alimentos (FDA) (FDA, 2020)

El aceite esencial de canela es considerado útil para la preservación de los alimentos por sus propiedades antioxidantes, antifúngicas y antibacterianas. Estas propiedades son consecuencia de su contenido de Cinamaldehído (94,65 % - 65 %), D-Limoneno (3,55 %) y Eugenol (1,8 %) (Burt, 2004; Cardoso-Ugarte, López-Malo y Sosa-Morales, 2016; Echegoyen y Nerín, 2015). Estudios sobre el mecanismo de acción y concentraciones mínimas inhibitorias contra *Yersinia enterolítica* (0,075 mg mL^{-1}), *Listeria monocytogenes* (2,5 mg mL^{-1}), *Bacillus cereus* (2,5 mg mL^{-1}), *Escherichia coli* (5 mg mL^{-1}), *Salmonella enterica serovar Typhimurium* (5 mg mL^{-1}) y *Staphylococcus aureus* (5 mg mL^{-1}), han determinado que la liberación de iones de potasio intracelular, la reducción de la actividad metabólica y de replicación fueron secuelas de la acción del aceite esencial (Duan y Zhao, 2009; Silveira y col., 2012).

El aceite esencial de orégano posee un alto poder antioxidante y antimicrobiano que favorece la preservación de la calidad química, sensorial, nutricional y microbiológica de los alimentos, debido al efecto de sus principales componentes, Carvacrol (0.5-88,7 %), Timol (3,1-82 %), 1,8-Cineol (0,1-14 %), p-Cimeno (2,7-28,0 %) (Franz y Novak, 2009; Ventura y col., 2011; Teixeira y col., 2013; Rostro-Alanis y col., 2019). Las bacterias Gram-negativas, *E. coli, Pseudomonas aeruginosa, Vibrio cholerae Salmonella enterica serovar Typhimurium, Salmonella choleraesuis*, y las bacterias Gram-positivas, *S. aureus*, *Listeria monocytogenes* y *B. cereus*, han sido utilizadas para evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano y sus principios activos, y de ellas sólo Pseudomonas aeruginosa ha mostrado una alta resistencia (Albado Plaus, Saez Flores y Grabiel Ataucusi, 2001; Oussalah y col., 2007; Emiroğlu y col.,

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

2010; Sung y col., 2013; Calo y col., 2015). Este accionar bactericida se debe a sus principios activos que aumentan la permeabilidad de la membrana citoplasmática de los microorganismos, causando la muerte celular (Lambert y col., 2001; Rhayour y col., 2003; Sung y col., 2013; Calo y col., 2015).

Ye y col. (2013) demostrado un buen efecto antibacteriano sinérgico de Cinamaldehído y Carvacrol, especialmente contra *E. coli* y *S. aureus*; de esta manera, el uso de aceites esenciales que contengan estos compuestos puede originar el desarrollo de biopolímeros de gran actividad bactericida para la preservación de alimentos.

El cuanto al desarrollo de películas biodegradables, el biopolímero semicristalino ácido poliláctico (PLA), por sus características de transparencia, inocuidad, biodegradabilidad y facilidad de procesado se presenta como un polímero idóneo para el envasado alimentario (Jamshidian y col., 2010; Lalanne y col., 2011; Burgos, Martino y Jiménez, 2013; Blanot, 2017; Salazar, Domenek y Ducruet, 2014; Ruellan y col., 2015).

Biopelículas de PLA con aceites esenciales (bergamota, limoncillo, romero, clavo, mirto, tomillo, canela, ajo, y orégano) han sido elaboradas con resultados positivos tanto en el aspecto reológico, térmico, antioxidante y antibacterial (Ahmed, Hiremath y Jacob, 2016; Qin y col., 2017; Yahyaoui y col., 2016; Anuar y col., 2017; Scaffaro y col., 2018; Zeid y col., 2019), logrando biopelículas con adecuada transparencia, menos rígidas y flexibles, menos permeables al vapor de agua y oxígeno, sin afectar significativamente el perfil de degradación térmica del PLA, y con actividad antimicrobiana contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas.

Sin embargo, la evaluación de la incorporación de estos aceites esenciales ha sido en forma independiente, por lo que es necesario establecer posibles combinaciones de aceites esenciales en biopolímeros para obtener mejores efectos de barrera y de control contra microorganismos patógenos que desarrollan biopelículas sobre diferentes superficies y que provocan enfermedades alimentarias, considerando posibles efectos positivos en la sinergia de los aceites esenciales empleados y las interacciones entre éstos y los demás componentes del polímero (Calo y col., 2015).

Ante la necesidad mundial de producir envases biodegradables y debido a que los microorganismos patógenos usan a los alimentos y empaques como transporte para afectar a la salud de los consumidores, este estudio tiene como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana de películas biodegradables activas de PLA incorporadas con aceites esenciales de orégano y canela.

2 Materiales y Métodos

El ácido poliláctico (PLA-Ingeo^{TM} Biopolymer 2003D) fue adquirido en Nature Works®Co. LLC (Estados Unidos). El plastificante polietilenglicol (PEG 400) y el solvente cloroformo fueron adquiridos en Loba Chemie Pvt. Ltd (India). El etanol absoluto fue obtenido en Sigma-Aldrich (Estados Unidos).

Los aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) y canela (*Cinnamomum zeylanicum*) fueron adquiridos en Nowfoods (Bloomingdale, IL, Estados Unidos), fueron 100% puros, y se obtuvieron por el método de destilación por vapor. De acuerdo a las especificaciones técnicas, el aceite esencial de orégano (gravedad específica: 0,937-0,955 g mL^{-1} a 20°C; índice de refracción: 1,498-1,521 nD; 75% Carvacrol) fue extraído de hierba de flores secas, y el aceite esencial de canela (gravedad específica: 1,010-1,030 g mL^{-1} a 20°C; índice de refracción: 1,573-1,591 nD; 60% Cinamaldehído) fue extraído de la corteza interior seca de la planta.

Lo medios de cultivos y reactivos para las pruebas microbiológicas fueron adquiridos en Difco (Estados Unidos). Las bacterias patógenas utilizadas en esta investigación, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Samonella* spp. (ATCC 14028) fueron obtenidas del banco de cepas del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE, Ecuador).

2.1 Determinación de solubilidad de los componentes con PLA

La solubilidad del PLA con el cloroformo, PEG 400, Carvacrol (componente principal del aceite esencial de orégano) y Cinamaldehído (componente principal del aceite esencial de canela) fue determinada de acuerdo a lo descrito por Ruellan y col. (2015). La Ecuación 1 y Ecuación 2 son usadas para determi-

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

nar la distancia $\Delta\delta$ del compuesto con PLA y el diferencial de energía relativa (RED), respectivamente. Los parámetros de solubilidad de Hansen necesarios para aplicar las ecuaciones fueron consultados en el manual de usuario descrito por Hansen (2007). Donde, δ_d, δ_p y δ_h son los componentes de los parámetros de solubilidad.

$$\text{Distancia}(\Delta\delta) = ((\delta_{\text{d comp}} - \delta_{\text{d PLA}})^2 + (\delta_{\text{dp comp}} - \delta_{\text{p PLA}})^2 + (\delta_{\text{h comp}} - \delta_{\text{h PLA}})^2)^{0,5} \quad (1)$$

$$RED = \frac{Distancia}{Radio} \quad (2)$$

2.2 Concentración mínima inhibitoria de los aceites esenciales

La concentración mínima inhibitoria (CMI) de cada aceite esencial fue determinada por la metodología descrita por Pazmiño, Campuzano y Marín (2020), en donde se determinó la CMI mediante ensayo de microdilución en caldo nutritivo y suplementado con agar nutritivo de concentración 0,15% (p/v); la cantidad de 50 de este caldo fue distribuida desde el segundo al doceavo pocillo en cada fila de una placa de microtitulación de polipropileno de 96 pocillos (HDM Cia. Ltda, Ecuador).

Se preparó una dilución al 4% de cada aceite esencial con agar bacteriológico y caldo nutritivo. En forma independiente, de cada dilución preparada se vertieron 100 al primer pocillo de cada fila de la placa de microtitulación; y luego se transfirieron 50 en dilución escalar desde el segundo al onceavo pocillo, obteniendo así una cantidad de aceite esencial entre 2% (v/v) y 0,0019% (v/v) desde el primer pocillo hasta el onceavo pocillo. Al doceavo pocillo no se le agregó el aceite esencial y se consideró como control de crecimiento. Luego, se adicionados 50 de suspensión de *Salmonella* spp. de concentración 10^6- 10^7 unidades formadoras de colonias (UFC mL^{-1}) en cada pocillo, excepto al onceavo pocillo, que fue considerado como blanco. El ensayo se hizo por triplicado, y el mismo procedimiento fue realizado con *S. aureus* (10^6- 10^7 UFC mL^{-1}). La placa se incubó a 37°C durante 18 h.

2.3 Diseño del experimento

Para evaluar la inhibición a la adhesión microbiana en la película plástica fueron considerados los factores: cantidad de PEG 400 (A), cantidad de aceite esencial de canela (B), cantidad de aceite esencial de orégano (C), concentración de *Salmonella* spp. (D) y concentración de *S. aureus* (E), y cada factor se evaluó en dos niveles (Tabla 1). Para el efecto, un diseño exploratorio fraccionario 2_v^{5-1} con una relación generadora E = ABCD y en dos bloques (AB=CDE) (Tabla 2) fue programado y analizado en RStudio Versión 0.99.486. Dieciséis experimentos fueron realizados, cada uno con su réplica.

Tabla 1. Niveles de cada factor a evaluar en el diseño experimental.

Factor	Nivel bajo (-1)	Nivel alto (1)
Cantidad de PEG 400 (%)	10	20
Cantidad de aceite esencial de canela (%)	0,5	1
Cantidad de aceite esencial de orégano (%)	0,5	1
Concentración de *Salmonella* spp. (UFC mL^{-1})	10^3	10^4
Concentración de *Staphylococcus aureus* (UFC mL^{-1})	10^3	10^4

2.4 Elaboración de películas biodegradables activas a base de PLA y aceites esenciales

Los pellets de PLA se secaron a 40°C por 48 horas, de tal forma que la humedad antes del procesamiento fue de 0,29% medido en una termobalanza (KERN, Alemania, Mod MLB50-3). El método de vaciado en placa fue ejecutado con la metodología descrita por Pazmiño, Campuzano y Marín (2020). La cantidad de 0,45 g de PLA y PEG 400 (10 o 20% con respecto al PLA) se disolvieron en 10 mL de cloroformo. Después de disolver a temperatura ambiente la resina en la solución, se añadieron los aceites esenciales en la cantidad correspondiente (0,5% o 1% con respecto al PLA) agitando por

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

pocos minutos hasta disolverlos. A continuación, la solución se vertió en cajas Petri, agregando $5 \pm 0,5$ g de solución en cada una de ella, y finalmente se dejó por 24 h a temperatura ambiente dentro de la cámara de extracción para que el solvente se evapore. También se elaboraron películas sin adición de aceites esenciales (películas control). Las películas obtenidas tuvieron espesor entre 27 a 30 μm, medido por un micrómetro (Qualitest, Estados Unidos, Mod MRG-25).

2.5 Porcentaje de inhibición a la adhesión de microorganismos en las películas biodegradables activas

El porcentaje de inhibición a la adhesión microbiana fue realizado modificando el método aplicado por Coronel-León y col. (2016). Conforme al diseño experimental, 1 mL de cada concentración de microorganismo (10^3 o 10^4 UFC mL^{-1}) fue inoculado en la película plástica, con una incubación a $37°C$ por 24 horas. Culminado el período de incubación, cada película fue lavada con 1 mL de agua destilada dos veces para eliminar los residuos. Se añadió 1 mL de etanol absoluto, colocando las placas en la cámara de extracción por 24 horas para evaporar el alcohol. La película se cortó en un rectángulo (8,75 cm^2), para colocarlo en un portaobjeto en donde se agregó el reactivo cristal violeta (500) dejándolo por un minuto. Luego, se enjuagó con agua destilada para eliminar el exceso del reactivo. Una vez secado con papel toalla, se cortó en 8 pedazos para introducirlos en un tubo de ensayo, añadiéndole 2 mL de etanol absoluto. Posteriormente, se depositaron 200 de cada solución en los pocillos del microplato de 96 pocillos para medir la concentración del reactivo por el espectro de absorción UV-Vis en el equipo Synergy^{TM} HTX Multi-Mode Microplate Reader (BioTek Instruments, Winooski, Estados Unidos) con una absorbancia de 595 nm a $24,8°C$.

El porcentaje de inhibición a la adhesión microbiana (%) se calculó con la Ecuación 3. Donde, A_c representa la absorbancia de la solución en el pocillo correspondiente a la película plástica conforme al diseño experimental, y A_0 representa la absorbancia de la solución de la película control (ausencia de aceite esencial). El experimento se realizó por triplicado, y los resultados se presentan como un promedio.

$$\% = [1 - (A_c/A_0)] \times 100 \quad (3)$$

Tabla 2. Diseño exploratorio fraccionario 2_v^{5-1} con una relación generadora $E = ABCD$ en dos bloques $(AB = CDE)$.

Experimento	Factores					AB	Totales	Bloques
	A	B	C	D	E			
1	-1	-1	-1	-1	1	1	e	1
2	1	-1	-1	-1	-1	-1	a	2
3	-1	1	-1	-1	-1	-1	b	2
4	1	1	-1	-1	1	1	abe	1
5	-1	-1	1	-1	-1	1	c	1
6	1	-1	1	-1	1	-1	ace	2
7	-1	1	1	-1	1	-1	bce	2
8	1	1	1	-1	-1	1	abc	1
9	-1	-1	-1	1	-1	1	d	1
10	1	-1	-1	1	1	-1	ade	2
11	-1	1	-1	1	1	-1	bde	2
12	1	1	-1	1	-1	1	abd	1
13	-1	-1	1	1	1	1	cde	1
14	1	-1	1	1	-1	-1	acd	2
15	-1	1	1	1	-1	-1	bcd	2
16	1	1	1	1	1	1	abcde	1

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

3 Resultados y Discusión

3.1 Solubilidad de los componentes con el PLA

Los valores obtenidos con las ecuaciones 1 y 2 se encuentran en la Tabla 3. Bajo el criterio que distancias menores a 5 $(J\ cm^{-3})^{0,5}$ indican una mejor solubilidad del compuesto con el polímero, se puede establecer que los compuestos tienen una buena solubilidad con el PLA, especialmente el Cinamaldehído del aceite esencial de canela. El valor RED cercano a cero indica una mejor compatibilidad de los compuestos con el polímero, y un valor mayor a 1 indica una no miscibilidad del compuesto con el polímero; de acuerdo a los resultados, todos los compuestos son completamente miscibles.

Tabla 3. Resultados de distancia y valor RED del Carvacrol, Cinamaldehído, PEG 400 y cloroformo, con relación al PLA.

Compuesto	Parámetros de solubilidad de Hansen $(J\ cm^{-3})^{0,5}$			Distancia	RED*
	δd	Δp	Δh	$\Delta\delta$	
PLA[a]	18,60	9,90	6,00	—	—
PEG400[a]	17,90	4,20	14,20	10,01	0,94
Carvacrol[b]	19,00	4,50	10,80	7,24	0,68
Cloroformo[b]	17,80	3,10	5,70	6,85	0,64
Cinamaldehído[b]	19,40	12,40	6,20	2,63	0,25

*Radio de $PLA = 10,7$ (Ruellan y col., 2015).
a: (Ruellan y col., 2015); b: (Hansen, 2007), valores del carvacrol como isómero del timol.

3.2 Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial

Los resultados muestran que ambos aceites esenciales inhiben a las bacterias Gram positiva *S. aureus* y Gram negativa *Salmonella* spp. (Tabla 4). La CMI 0,016% (v/v) del aceite esencial de orégano para *Salmonella* spp. es más baja que la CMI del aceite esencial de canela para esta misma bacteria; mientras que la CMI de ambos aceites esenciales contra *S. aureus* es igual, siendo ésta 0,031% (v/v).

La CMI de aceite esencial de orégano para *Salmonella* spp. es más baja en comparación con los resultados de Oussalah y col. (2007), donde la CMI para *Salmonella enterica serovar Typhimurium* fue de 0,05% (v/v) , y también comparada con los resultados de Pesavento y col. (2015), donde las CMI encontradas para *Salmonella enteritidis* y *S. enterica serovar Typhimurium* fue de 0,125%(v/v). Los resultados de la CMI de aceite esencial de orégano para *S. aureus* se encuentran dentro del rango de valores reportados por Nostro (2007), donde la CMI del aceite esencial de orégano sobre varias cepas de este microorganismo estuvieron entre 0,015-0,062% (v/v) y en ciertas cepas hasta 0,125% (v/v).

La CMI de aceite esencial de canela para *Salmonella* spp. y *S. aureus* es más alta a la encontrada por Sheng y Zhu (2014), donde la CMI del aceite esencial de canela extraído de la variedad *Cinnamomum cassia* fue 0,025% (v/v) tanto para *S. enterica serovar Typhimurium* como *S. aureus*. Los resultado de CMI del aceite esencial de orégano y del aceite esencial de canela, expresados en mg mL^{-1} en la Tabla 4 y que fueron obtenidos en este trabajo de investigación son más elevados en comparación con los resultados encontrados en otras investigaciones, en donde la CMI del aceite esencial de orégano oscilan entre 0,16-0,2 mg mL^{-1} para *Salmonella* spp. y 0,4-0,9 mg mL^{-1} para *S. aureus*, y la CMI del aceite esencial de canela oscila entre 0,2-0,5 mg mL^{-1} tanto para *Salmonella* spp. como para *S. aureus* (Chang, Chen y Chang, 2001; Becerril, Nerín y Gómez-Lus, 2012; Boskovic y col., 2015; Martucci y col., 2015; Cui y col., 2019).

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Tabla 4. Concentración mínima inhibitoria (CMI) de los aceites esenciales de canela y orégano para *Salmonella* spp. y *Staphylococcus aureus*.

Aceite esencial	**Principio activo**	**CMI *Salmonella* spp.**		**CMI *Staphylococcus aureus***	
		(%) ((v/v)	**mg mL^{-1}**	**(%) (v/v)**	**mg mL^{-1}**
Canela	Cinamaldehído	63	64,26	31	31,62
Orégano	Carvacrol	16	15,14	31	29,33

Los datos descritos anteriormente demuestran la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de orégano y canela. El Carvacrol del aceite esencial de orégano daña la pared y membrana celular, y aumenta la permeabilidad, provocando la lisis celular (Lambert y col., 2001; Rhayour y col., 2003; Lv y col., 2011; Cui y col., 2019). El Cinamaldehído del aceite esencial de canela presenta diferentes mecanismos de acción por sí solo o en sinergia con el Carvacrol, con la capacidad de colapsar la estructura de la envoltura bacteriana, así como interrumpir procesos metabólicos como la generación de la energía celular, formación material citoplasmático y división celular (Kwon, Yu y Park, 2003; Burt, 2004; Becerril y col., 2007; Bouhdid y col., 2009; Ye y col., 2013; Calo y col., 2015).

3.3 Porcentaje de inhibición a la adhesión de microorganismos en las películas biodegradables activas

Los resultados de los porcentajes de inhibición a la adhesión microbiana en las películas biodegradables activas se detallan en la Tabla 5. Los resultados obtenidos mostraron que el porcentaje máximo de inhibición alcanzó el $73,82 \pm 0,35\,\%$ correspondiente al experimento 7 (bce) del diseño experimental, y existe una diferencia significativa con los demás resultados, excepto con 13 (cde). El experimento 7(bce) comprendió 10% de cantidad de PEG 400, 1% de aceite esencial de canela, 1% de aceite esencial de orégano, 10^3 UFC mL^{-1} de concentración de *Salmonella* spp., 10^4 UFC mL^{-1} de concentración de *S. aureus*. Este porcentaje de inhibición a la adhesión es superior al reportado en estudios realizados con Lichenysin (4000 mL^{-1}) en *S. aureus* (68,73%) (Coronel-León y col., 2016), y con Rhamnolípidos (1%) en *S. aureus* (67,7%), y no fue significativa en *Salmonella enteritidis* (Do Valle Gomes y Nitschke, 2012).

El porcentaje de inhibición logrado en el experimento 7 (ecb), revela la gran afinidad entre los radicales de los principios activos de los aceites esenciales, especialmente del aceite esencial de orégano, y las membranas celulares de bacterias Gram-positivas, provocando alteraciones estructurales y pérdida de viabilidad celular (Bouhdid y col., 2009; Lv y col., 2011). De esta forma, cuanto mayor sea la concentración de este tipo de microorganismos en una superficie, mayor será el porcentaje de inhibición.

Estudios de evaluaciones *in vitro* o sobre matrices alimentarias (especialmente productos cárnicos) de PLA y otros biopolímeros (alginato, proteína de soya) con aceite esencial de orégano y aceite esencial de canela, ambos empleados al 1% en forma independiente, demostraron buenos resultados en el control microbiológico de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (Oussalah y col., 2006; Emiroğlu y col., 2010; Anuar y col., 2017); sin embargo, en estos estudios no se especifica el porcentaje de inhibición para establecer comparaciones más precisas, porque en ellos se empleó medidas de halos de inhibición.

Los resultados también señalan que los experimentos 4 (abe), 10 (ade), 12 (abd), y 13 (cde), muestran inhibiciones a la adhesión microbiana de $60,73 \pm 0,39\,\%$, $66,11 \pm 1,55\,\%$, $66,34 \pm 0,53\,\%$, y $67,73 \pm 0,66\,\%$, respectivamente; mostrando además que el factor común entre ellos y el experimento 7(bce) es la concentración de *S. aureus* (10^4 UFC mL^{-1}), excepto en el experimento 12 (abd). Entre 7 (bce) y 13 (cde) no hay diferencias significativas, y entre los componentes difieren en la cantidad de aceite esencial de canela y la concentración de *Salmonella* spp., teniendo 13 (cde) la cantidad de aceite esencial de canela más baja y la concentración de *Salmonella* spp. más alta que en 7(bce). Sin embargo, como se expone más adelante, cuando la cantidad de aceite esencial de canela es baja y la concentración de *Salmonella* spp. es más alta, los resultados del porcentaje de inhibición a la adhesión micro-

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

biana son tan elevados como cuando se usa aceite esencial de canela al 1%. Esta situación contribuye a que no haya diferencia significativa entre 7(bce) y 13 (cde).

Tabla 5. Porcentajes de inhibición a la adhesión microbiana de las películas biodegradables activas.

Experimento	PEG 400 (%)	Aceite esencial de canela (%)	Aceite esencial de orégano (%)	*Salmonella* spp. (UFC mL^{-1})	Staphylococcus aureus (UFC mL^{-1})	Inhibición a la adhesión microbiana(%)
1 (e)	10	0,5	0.5	10^3	10^4	$55,04 \pm 1,52^{c,d}$
2 (a)	20	0,5	0.5	10^3	10^3	$31,46 \pm 2,96^{e}$
3 (b)	10	1	0.5	10^3	10^3	$54,71 \pm 0,55^{c,d}$
4 (abe)	20	1	0.5	10^3	10^4	$60,73 \pm 0,39^{b,c}$
5 (c)	10	0,5	1	10^3	10^3	$43,49 \pm 0,83^{d}$
6 (ace)	20	0,5	1	10^3	10^4	$48,04 \pm 1,96^{d}$
7 (bce)	10	1	1	10^3	10^4	$73,82 \pm 0,35^{a}$
8 (abc)	20	1	1	10^3	10^3	$47,24 \pm 2,40^{d}$
9 (d)	10	0,5	0.5	10^4	10^3	$58,21 \pm 1,34^{c}$
10 (ade)	20	0,5	0.5	10^4	10^4	$66,11 \pm 1,55^{b}$
11 (bde)	10	1	0.5	10^4	10^4	$59,83 \pm 1,56^{b,c}$
12 (abd)	20	1	0.5	10^4	10^3	$66,34 \pm 0,53^{b}$
13 (cde)	10	0,5	1	10^4	10^4	$67,73 \pm 0,66^{a,b}$
14 (acd)	20	0,5	1	10^4	10^3	$42,93 \pm 0,49^{d}$
15 (bcd)	10	1	1	10^4	10^3	$51,46 \pm 1,95^{c,d}$
16 (abcde)	20	1	1	10^4	10^4	$49,60 \pm 2,07^{d}$

Los valores de porcentaje de inhibición de la adhesión microbiana son medias $\pm$ DE.
Los valores seguidos de letras diferentes son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

Con los datos del experimento correspondiente al diseño 2_v^{5-1}, con dos bloques de ocho observaciones, y de acuerdo a lo especificado por la resolución V, se realizó un modelo que incluía los efectos principales y las interacciones de dos vías, excepto la interacción PEG 400 -aceite esencial de canela (AB), por estar confundida con los bloques. De acuerdo con los resultados obtenidos de este modelo inicial, se eliminó la interacción PEG 400 -*S. aureus* (valor $p > 0,1$). De esta misma manera se procedió con los modelos siguientes, en donde paulatinamente fueron eliminándose las interacciones PEG 400 -aceite esencial de orégano, PEG 400 -*Salmonella* spp., aceite esencial de canela-aceite esencial de orégano, aceite esencial de canela -*S. aureus*, *Salmonella* spp. -*S. aureus*, aceite esencial de orégano -*S. aureus*, y aceite esencial de orégano -*Salmonella* spp., porque estas interacciones tampoco fueron estadísticamente significativas. Después de la supresión de las interacciones antes mencionadas, los resultados del modelo aplicado se muestran en la Tabla 6.

Existe evidencia significativa (valor $p = 0,0283$) de que el factor de concentración de *S. aureus* influye en el porcentaje de inhibición a la adhesión microbiana (Figura 1) con un valor de efecto de $10,63\,\%$ entre la media del porcentaje de inhibición, cuando la concentración de *S. aureus* es baja (49,48%), y la media del porcentaje de inhibición cuando la concentración de *S. aureus* es alta (60,11%). De allí que los porcentajes de inhibición a la adhesión microbiana mayores al 60% tienen como factor común la mayor concentración de *S. aureus*.

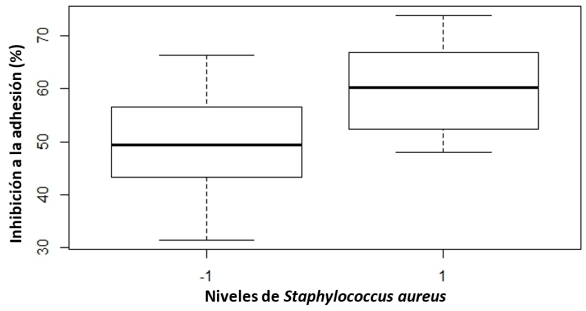

Figura 1. Porcentaje de inhibición a la adhesión a diferentes concentraciones de *Staphylococcus aureus*.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

La interacción de aceite esencial de canela - *Salmonella* spp. tiene poca evidencia significativa (valor $p = 0,0711$) que influye en el porcentaje de inhibición. En los otros factores e interacciones no hay evidencia estadística significativa de su influencia en los resultados de inhibición.

Tabla 6. Efectos principales e interacciones de dos vías con su correspondiente valor de efecto y valor p.

Factor o interacción	Efecto	Valor p
PEG 400	-6,48	0,1422
Aceite esencial de canela	6,34	0,1498
Aceite esencial de orégano	-3,51	0,4029
Salmonella spp.	5,96	0,1727
Staphylococcus aureus	10,63	0,0283
Aceite esencial de canela-*Salmonella* spp.	-8,28	0,0711

En el gráfico de interacción del aceite esencial de canela -*Salmonella* spp. (Figura 2), cuando la cantidad de aceite esencial de canela es menor y la concentración de *Salmonella* spp. es menor, la media del porcentaje de inhibición a la adhesión es 44,51 %; y cuando la cantidad del aceite esencial de canela es mayor y la concentración de *Salmonella* spp. sigue siendo menor, la media del porcentaje de inhibición es 59,12 %; cuando la cantidad de aceite esencial de canela es la más baja y la concentración de *Salmonella* spp. es la más alta, la media del porcentaje de inhibición a la adhesión es de 58,74 %; y cuando la cantidad del aceite esencial de canela es la mayor y la concentración de *Salmonella* spp. sigue siendo alta, la media del porcentaje de inhibición es de 56,81 %.

De esta forma, el mayor efecto se observa en la cantidad de aceite esencial de canela de 0,5 % con un aumento del porcentaje de inhibición de 14,24 %, cuando la concentración de *Salmonella* spp. pasa de nivel bajo (10^3 UFC mL^{-1}) a nivel alto (10^4 UFC mL^{-1}); mientras que existe una reducción del porcentaje de inhibición 2,32 % en la concentración de aceite de canela de 1 % y cuando cambia la concentración de *Salmonella* spp. Cuando la concentración de aceite esencial de canela pasa de 0,5 % a 1 %, siendo la concentración de *Salmonella* spp. baja, el porcentaje de inhibición aumenta en 14,62 %, mientras que con una concentración de *Salmonella* spp. alta, el porcentaje de inhibición se reduce en 1,94 %, lo que podría manifestar una tendencia a la disminución en el porcentaje de inhibición a concentraciones mayores de *Salmonella* spp.

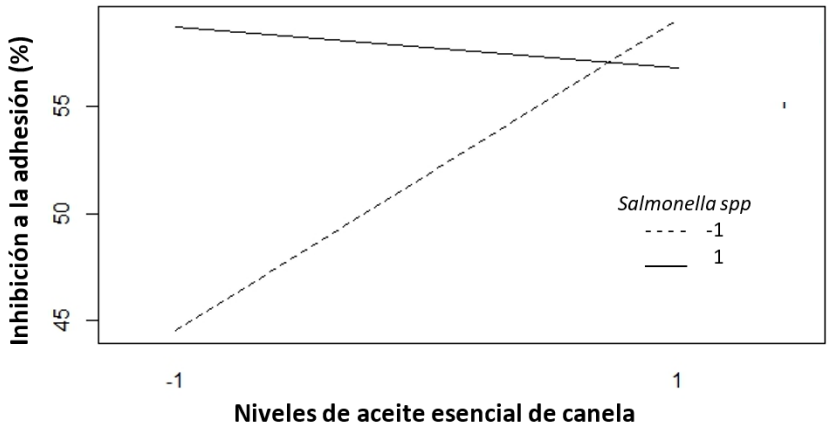

Figura 2. Interacción aceite esencial de canela -*Salmonella* spp.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

También se puede evidenciar que el mayor porcentaje de inhibición a la adhesión microbiana 59,12% se produce cuando el aceite esencial de canela está al 1% y la concentración de *Salmonella* es 10^3 UFC mL^{-1}; y el menor porcentaje de inhibición 44,51% ocurre cuando el aceite esencial de canela está al 0,5% a la misma concentración de *Salmonella* spp. Entonces, la Figura 2 indica que el aceite esencial de canela al 1% tiene mayor efectividad en la inhibición para las distintas concentraciones de *Salmonella* spp., tipo de microorganismo que en este estudio representa a las bacteria Gram-negativas.

Los resultados de la interacción aceite esencial de canela -*Salmonella* spp. demuestran que el aceite esencial de orégano es menos efectivo contra bacterias Gram-negativas porque tiene una menor afinidad con la membrana celular de una fina capa de peptidoglicano, abriendo la acción del aceite esencial de canela y su principio activo sobre este tipo de bacterias (Becerril y col., 2007), los mismos que metabólicamente son más difíciles de combatir por la envoltura externa que desarrollan como mecanismo de protección (Cabrera, Gómez y Zúñiga, 2007).

4 Conclusiones

Se obtuvieron películas activas biodegrables de PLA con incorporación de aceites esenciales de orégano y canela, y se pudo verificar una buena solubilidad entre los componentes. El porcentaje de inhibición a la adhesión microbiana sobre las películas biodegradables activas está en función del modelo representativo de bacteria Gram-positiva para este trabajo de investigación. El análisis estadístico determinó que existe evidencia significativa que indica que la concentración de *S. aureus* influye en el porcentaje de inhibición a la adhesión microbiana. De esta forma, las inhibiciones superiores al 60% tienen como factor común la mayor concentración de *S. aureus*.

Además, la cantidad de aceite esencial de canela al 1% tiene mayor efectividad en la inhibición para las distintas concentraciones de *Salmonella* spp., a pesar de registrar una leve disminución en la inhibición al pasar de la menor a la mayor concentración de *Salmonella* spp.

Las películas biodegradables activas de PLA con mayor porcentaje de inhibición a la adhesión microbiana potencialmente pueden ser utilizadas en la industria de alimentos, como una alternativa ecológica para aumentar mecanismos de barrera adicionales para evitar la contaminación con *Salmonella* spp. y *S. aureus*, y reducir el número de personas infectadas por estos microorganismos.

Referencias

Ahmed, J., N. Hiremath y H. Jacob (2016). «Antimicrobial, rheological, and thermal properties of plasticized polylactide films incorporated with essential oils to inhibit Staphylococcus aureus and Campylobacter jejuni». En: *Journal of Food Science* 81.2, E419-E429. Online:https://bit.ly/3jpA4wS.

Albado Plaus, E., G. Saez Flores y S. Grabiel Ataucusi (2001). «Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del Origanum vulgare (orégano)». En: *Revista Medica Herediana* 12.1, 16-19. Online:https://n9.cl/tawci.

Anuar, H. y col. (2017). «Impregnation of cinnamon essential oil into plasticised polylactic acid biocomposite film for active food packaging». En: *Journal of Packaging Technology and Research* 1.3, 149-156. Online:https://bit.ly/3737hff.

Becerril, R., C. Nerín y R. Gómez-Lus (2012). «Evaluation of bacterial resistance to essential oils and antibiotics after exposure to oregano and cinnamon essential oils». En: *Foodborne pathogens and disease* 9.8, 699-705. Online:https://bit.ly/3urAxF7.

Becerril, R. y col. (2007). «Combination of analytical and microbiological techniques to study the antimicrobial activity of a new active food packaging containing cinnamon or oregano against E. coli and S. aureus». En: *Analytical and bioanalytical chemistry* 388.5, 1003-1011. Online:https://bit.ly/37bjkHh.

Blanot, V. (2017). «Desarrollo de formulaciones envase poli (ácido láctico)(pla) con actividad antimicrobiana para el uso en envasado activo con aplicaciones alimentarias». Tesis de mtría. Universitat Politècnica de València.

Boskovic, M. y col. (2015). «Antimicrobial activity of thyme (Tymus vulgaris) and oregano (Origanum vulgare) essential oils against some foodborne microorganisms». En: *Procedia Food Science* 5, 18-21. Online:https://n9.cl/s9w2m.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Bouhdid, S. y col. (2009). «Investigation of functional and morphological changes in Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus cells induced by Origanum compactum essential oil». En: *Journal of applied microbiology* 106.5, 1558–1568. Online:https://bit.ly/3yL2mLe.

Burgos, N., V. Martino y A. Jiménez (2013). «Characterization and ageing study of poly (lactic acid) films plasticized with oligomeric lactic acid». En: *Polymer degradation and stability* 98.2, 651-658. Online:https://bit.ly/3uuoqY0.

Burt, S. (2004). «Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods–a review». En: *International journal of food microbiology* 94.3, 223–253. Online:https://bit.ly/3ySx4C7.

Cabrera, C., R. Gómez y A. Zúñiga (2007). «La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación». En: *Colombia médica* 38.2, 149-158. Online:https://bit.ly/3LRBvAm.

Calo, J. y col. (2015). «Essential oils as antimicrobials in food systems-A review». En: *Food control* 54, 111-19. Online:https://bit.ly/3xDrGlA.

Cardoso-Ugarte, G., A. López-Malo y M. Sosa-Morales (2016). «Essential oils in food preservation, flavor and safety». En: Academic Press. Cap. Cinnamon (Cinnamomum zeylanicum) essential oils, págs. 339-347.

Centers for Disease Control and Prevention (2019). *Burden of Foodborne Illness: Findings - Estimates of Foodborne Illness*.

— (2020). *Outbreaks Involving Salmonella*.

Chang, S., P. Chen y S. Chang (2001). «Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from Cinnamomum osmophloeum». En: *Journal of ethnopharmacology* 77.1, 123-127. Online:https://bit.ly/3rAG1vs.

Coronel-León, J. y col. (2016). «Optimizing the production of the biosurfactant lichenysin and its application in biofilm control». En: *Journal of applied microbiology* 120.1, 99-111. Online:https://bit.ly/3MbHZub.

Cui, H. y col. (2019). «Antibacterial mechanism of oregano essential oil». En: *Industrial Crops and Products* 139, 111498. Online:https://bit.ly/37moznK.

Do Valle Gomes, M.Z. y M. Nitschke (2012). «Evaluation of rhamnolipid and surfactin to reduce the adhesion and remove biofilms of individual and mixed cultures of food pathogenic bacteria». En: *Food control* 25.2, 441-447. Online:https://bit.ly/3vz8fI6.

Duan, J. e Y. Zhao (2009). «Antimicrobial efficiency of essential oil and freeze–thaw treatments against Escherichia coli O157: H7 and Salmonella enterica Ser. Enteritidis in strawberry juice». En: *Journal of food science* 74.3, M131-M137. Online:https://bit.ly/3K1oJ16.

Echegoyen, Y. y C. Nerín (2015). «Performance of an active paper based on cinnamon essential oil in mushrooms quality». En: *Food Chemistry* 170, 30-36. Online:https://bit.ly/3uT552V.

Emiroğlu, Z. y col. (2010). «Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties». En: *Meat science* 86.2, 283-288. Online:https://bit.ly/3vrSUJx.

FDA (2020). *Code of Federal Regulations*.

Franz, C. y J. Novak (2009). «Handbook of Essential Oils: Science». En: Technology, y Applications. Cap. Sources of essential oils, 217–220.

Hansen, C. (2007). *Hansen Solubility Parameters*. CRC Press.

Jahid, I. y S. Ha (2012). «A review of microbial biofilms of produce: Future challenge to food safety». En: *Food Science and Biotechnology* 21.2, 299-316. Online:https://bit.ly/38OosRZ.

Jamshidian, M. y col. (2010). «Poly-Lactic Acid: production, applications, nanocomposites, and release studies». En: *Comprehensive reviews in food science and food safety* 9.5, 552-571. Online:https://bit.ly/3JS8KC7.

Kwon, J., C. Yu y H. Park (2003). «Bacteriocidal effects and inhibition of cell separation of cinnamic aldehyde on Bacillus cereus». En: *Letters in applied microbiology* 37.1, 61-65. Online:https://bit.ly/3xAn2oF.

Lalanne, A. y col. (2011). «Identification of potential migrants in Poly (lactic acid) packagings». En: *Italian Journal of Food Science* 23, 63-67. Online:https://bit.ly/36tGQyN.

Lambert, R. y col. (2001). «A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol». En: *Journal of applied microbiology* 91.3, 453-462. Online:https://bit.ly/3Orrw6T.

Lv, F. y col. (2011). «In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms». En: *Food Research Internatio-*

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

nal 44.9, 3057-3064. Online:https : / / bit . ly / 36uDsDN.

Martucci, J. y col. (2015). «Oregano and lavender essential oils as antioxidant and antimicrobial additives of biogenic gelatin films». En: *Industrial Crops and Products* 71, 205-213. Online:https: / / bit.ly/3L3gT8h.

Nostro, A. (2007). «Effects of oregano, carvacrol and thymol on Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis biofilms». En: *Journal of Medical Microbiology* 56.4, 519-23. Online:https: / / bit.ly/3xEXW84.

Oussalah, M. y col. (2006). «Antimicrobial effects of alginate-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle». En: *Journal of Food Protection* 69.10, 2364-2369. Online:https: / /bit.ly/3jYzCWA.

Oussalah, M. y col. (2007). «Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli O157: H7, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes». En: *Food control* 18.5, 414-420. Online:https: / /bit.ly/3jUcVmH.

Pazmiño, A., A. Campuzano y K. Marín (2020). «Efecto de inhibición del aceite esencial de orégano en una película biodegradable activa de ácido poliláctico». En: *Revista Bases de la Ciencia. e-ISSN 2588-0764* 5.1, 41-50. Online:https: / /bit. ly/3JXWOyL.

Pesavento, G. y col. (2015). «Antibacterial activity of Oregano, Rosmarinus and Thymus essential oils against Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes in beef meatballs». En: *Food Control* 54, 188-199. Online:https: / /bit.ly/3jTAn3i.

Qin, Y. y col. (2017). «Development of active packaging film made from poly (lactic acid) incorporated essential oil». En: *Progress in Organic Coatings* 103, 76-82. Online:https: / /bit.ly/3EL62xH.

Rhayour, K. y col. (2003). «The mechanism of bactericidal action of oregano and clove essential oils and of their phenolic major components on Escherichia coli and Bacillus subtilis». En: *Journal of essential oil research* 15.5, 356-362. Online:https: / /bit.ly/3xH8O5e.

Rostro-Alanis, Ma. y col. (2019). «Chemical composition and biological activities of oregano essential oil and its fractions obtained by vacuum distillation». En: *Molecules* 24.10, 1904. Online:https: / /bit.ly/3Onc63D.

Ruellan, A. y col. (2015). «Solubility factors as screening tools of biodegradable toughening agents of polylactide». En: *Journal of Applied Polymer Science* 132.48, 42476. Online:https : / / bit . ly / 3rEatVF.

Salazar, R., S. Domenek y V. Ducruet (2014). «Interactions of flavoured oil in-water emulsions with polylactide». En: *Food chemistry* 148, 138-146. Online:https: / /bit.ly/3EzzZkc.

Scaffaro, R. y col. (2018). «Antimicrobial additives for poly (lactic acid) materials and their applications: Current state and perspectives». En: *Applied microbiology and biotechnology* 102.18, 7739-7756. Online:https: / /bit.ly/3rIj9Kv.

Scallan, E. y col. (2011). «Foodborne illness acquired in the United States–major pathogens». En: *Emerging infectious diseases* 17.1, 7–15. Online:https: / /bit.ly/3t9QnU3.

Sheng, L. y M. Zhu (2014). «Inhibitory effect of Cinnamomum cassia oil on non-O157 Shiga toxin-producing Escherichia coli». En: *Food Control* 46, 374-381. Online:https: / /bit.ly/3vQgUX1.

Silveira, S. y col. (2012). «Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from selected herbs cultivated in the South of Brazil against food spoilage and foodborne pathogens». En: *Ciência Rural* 42.7, 1300-1306. Online:https: / /bit.ly/3Etqgf7.

Sung, S. y col. (2013). «Antimicrobial agents for food packaging applications». En: *Trends in Food Science y Technology* 33.2, 110-123. Online:https : / /bit.ly/3rEbvRu.

Tauxe, R. y col. (2010). «Evolving public health approaches to the global challenge of foodborne infections». En: *International journal of food microbiology* 139, S16-S28. Online:https : / / bit . ly / 3vx377p.

Teixeira, B. y col. (2013). «Chemical composition and bioactivity of different oregano (Origanum vulgare) extracts and essential oil». En: *Journal of the Science of Food and Agriculture* 93.11, 2707-2714. Online:https: / /bit.ly/3JZ33m7.

Ventura, M. y col. (2011). «Evaluación del rendimiento y la acción conservante en carne de cerdo del aceite esencial de orégano (Origanum vulgare L.) cultivado en seis zonas altoandinas de Amazonas». En: *Aporte Santiaguino* 4.2, 185-194. Online:https: / /bit.ly/3uXfD0Y.

WHO (2016). *Datos y cifras sobre las enfermedades de transmisión alimentaria*.

Yahyaoui, M. y col. (2016). «Development of novel antimicrobial films based on poly (lactic acid) and essential oils». En: *Reactive and Functional*

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Polymers 109, 1-8. Online:https : / / bit . ly / 3JYoZxO.

Ye, H. y col. (2013). «Synergistic interactions of cinnamaldehyde in combination with carvacrol against food-borne bacteria». En: *Food Control* 34.2, 619-623. Online:https://bit.ly/3vx9kAb.

Zeid, A. y col. (2019). «Preparation and evaluation of antioxidant packaging films made of polylactic acid containing thyme, rosemary, and oregano essential oils». En: *Journal of Food Processing and Preservation* 43.10, e14102. Online:https://bit.ly/3rFiolw.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

La granja:
Revista de
Ciencias de la Vida

pISSN:1390-3799; eISSN:1390-8596

http://doi.org/10.17163/lgr.n36.2022.03

Artículo científico / Scientific paper

Conservación

Preservación modificada y descripción de la fungalisina para *Batrachochytrium dendrobatidis*

Modified preservation and fungalysin description for *Batrachochytrium dendrobatidis*

Olga Cristina Lozano Camelo[1], Adriana Carolina Rojas Arias[2], Kelly Johanna Ávila Méndez[1] y Silvio Alejandro López-Pazos*[1]

[1]*Facultad de Ciencias, Universidad Antonio Nariño, Carrera 3 Este 47A-15, Bogotá D.C., Colombia.*
[2]*Fundación Universitaria Agraria de Colombia, Calle 170 No. 54a-10, Bogotá D.C., Colombia.*

*Autor para correspondencia: alejandrolopezpazos@uan.edu.co

Manuscrito recibido el 10 de marzo de 2021. Aceptado, tras revisión, el 12 de noviembre de 2021. Publicado el 1 de septiembre de 2022.

Resumen

Batrachochytrium dendrobatidis es un hongo patógeno que causa quitridiomicosis, una afección cutánea que resulta en la reducción de las poblaciones de anuros en todo el mundo, debido a las fungalisinas, su factor de virulencia más importante. Los mapas de *B. dendrobatidis* (http://www.bd-maps.net/) contienen la información sobre los aislamientos relacionados con *B. dendrobatidis*. Una alternativa disponible para la reconstitución de cepas de *B. dendrobatidis* es a partir de células criopreservadas, los métodos para esto se basan en el protocolo de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). Recientemente, gran parte del interés en la investigación de *B. dendrobatidis* se ha centrado en la secuenciación de su ADN, se encuentran disponibles los genomas de *B. dendrobatidis* JAM81 y *B. dendrobatidis* JEL423. OBJETIVO. Evaluar una forma modificada del protocolo de la OIE para la criopreservación de cepas de *B. dendrobatidis* y el análisis *in silico* de su fungalisina. Se modificó el protocolo de la OIE utilizando la cepa de *B. dendrobatidis* EV001, enfocado en los ítems de concentraciones de criopreservantes, antibióticos y recuperación, desde −80°C, y evaluación de viabilidad microscópica en agar hidrolizado con triptona y gelatina. Además se utilizó Bioinformática para la determinación de características bioquímicas de la fungalisina de la cepa de *B. dendrobatidis* JAM81. El protocolo modificado de la OIE resultó útil para la recuperación de la viabilidad de la cepa *B. dendrobatidis* EV001. La caracterización de la fungalisina de *B. dendrobatidis* JAM81 mostró un peso molecular de 85 kDa, punto isoeléctrico de 8,33 y estructura terciaria característica que indicó que la proteína es una metaloproteinasa, tiene un dominio PepSY para la inhibición de proteasas, y un dominio catalítico asociado a destrucción de barreras proteicas.

Palabras clave: *Batrachochytrium dendrobatidis*, anura, patógeno, zoospora, criopreservación, fungalisina.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Abstract

Batrachochytrium dendrobatidis is a pathogenic fungus causing chytridiomycosis, a cutaneous affection resulting in reduction on Anura populations around the world, because of fungalysins, the most important virulence factor. The *B. dendrobatidis* maps (http://www.bd-maps.net/) is the dataset of information about the *B. dendrobatidis* -related isolates. An alternative available for reconstitution of *B. dendrobatidis* strains from cryopreserved cells include methods relying on the World Organization for Animal Health (OIE) protocol. Most recently, much of the interest in the *B. dendrobatidis* research has focused on its DNA sequencing, especially *B. dendrobatidis* JAM81 and *B. dendrobatidis* JEL423 genomes. OBJECTIVE. To evaluate a modified form from OIE protocol for *B. dendrobatidis* strain criopreservation, and *in silico* analysis of *B. dendrobatidis* fungalysin. OIE protocol was modified using *B. dendrobatidis* EV001, focused on cryopreservant concentrations, antibiotics and recovering to −80°C, and microscopic viability evaluation on Tryptone Gelatin hydrolyzed agar. Besides, Bioinformatics was used for the determination of biochemical characteristics from a *B. dendrobatidis* JAM81 fungalysin. Modified OIE protocol was useful by viability, recovering *B. dendrobatidis* EV001 strain. The characterization of *B. dendrobatidis* JAM81 fungalysin showed a molecular weight of 85 kDa, isoelectric point of 8.33, and tertiary structure among others. This indicated that the protein is a metalloproteinase, it has a PepSY domain for protease inhibition, and a catalytic domain that destroy protein barriers.

Keywords: *Batrachochytrium dendrobatidis*, anura, pathogen, zoospore, cryopreservation, fungalysin.

Forma sugerida de citar: Lozano Camelo, O., Rojas Arias, A., Ávila Méndez, K. y López-Pazos, S. (2022). Preservación modificada y descripción de la fungalisina para *Batrachochytrium dendrobatidis*. La Granja: Revista de Ciencias de la Vida. Vol. 36(2):32-44. http://doi.org/10.17163/lgr.n36.2022.03

IDs Orcid:

Olga Cristina Lozano Camelo: https://orcid.org/0000-0001-6563-2365
Adriana Carolina Rojas Arias: https://orcid.org/0000-0001-5428-7754
Kelly Johanna Ávila Méndez: https://orcid.org/0000-0002-7155-2924
Silvio Alejandro López-Pazos: https://orcid.org/0000-0002-3682-4162

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

1 Introducción

Existen varias causas de reducción de la población de anfibios, entre ellas el consumo comercial; las especies introducidas, el uso de la tierra, los contaminantes, el cambio climático, y los patógenos. Hay más de 4.000 especies relacionadas con los anuranos; adicionalmente, las áreas tropicales de América tienen una alta diversidad de anuranos (32% están en Sudamérica). Por ejemplo, la región de Cali (Colombia) tiene un alto índice de diversidad anurana (35 especies), el área de Pichincha (Ecuador) tiene una alta riqueza de especies anuranas (20 especies), y la región de Bolívar (Venezuela) reportó 26 especies (Duellman, 1988). Colombia tiene una riqueza de especies anuranas (Flechas y col., 2017; Lynch, Ruiz-Carranza y Ardila-Robayo, 1997), pero hay más de 50 especies amenazadas (Fisher y Garner, 2020; Sluijs y col., 2017; Rueda-Almonacid, Lynch y Amézquita, 2004). Las enfermedades infecciosas son uno de los factores que afectan el estado de los anuranos, y entre ellas se encuentra la quitridiomicosis, una enfermedad causada por el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis*, que tiene efectos dañinos en ranas y sapos en todo el país. *B. dendrobatidis* tiene afinidad con la dermis queratinizada (Lindauer y col., 2019; Green, Gray y Miller, 2010; Vredenburg y col., 2010; Berger y col., 1998) y parece afectar a los anuranos de acuerdo con las especies, la síntesis de alcaloides, o la relación entre la piel y la temperatura ambiental. *B. dendrobatidis* aumenta durante el período de lluvia, pues los ecosistemas de agua estimulan la presencia de patógenos en el hospedador (Richmond y col., 2009); por ejemplo, se ha reportado la enfermedad en un total de seis áreas en Colombia: Amazonas, Boyacá, Cauca, Cundinamarca, Nariño y Valle del Cauca, que tienen un clima tropical con poca variación de temperatura y alta humedad (Flechas y col., 2017; Vásquez-Ochoa y col., 2012; Velásquez y col., 2008).

B. dendrobatidis consta de dos etapas: una etapa de zoospora que es móvil y flagelada, y que inicia la colonización en la piel de la rana. Una vez dentro de un huésped, la zoospora puede desarrollar un tejido que se convierte en un zoosporangio (o esporangio), que contiene la siguiente generación de esporas, renovando el ciclo. El zoosporangio prematuro está presente en las células viables que causan hiperqueratosis y alteración del equilibrio hídrico-electrolito, y el zoosporangio maduro predomina en los estratos queratinizados exteriores. Los tubos de descarga se encuentran en la superficie de la piel de la rana, liberando zoosporas en el medio ambiente (Rosenblum y col., 2010). El genoma de *B. dendrobatidis* tiene una alta tasa de cambio en los linajes, promoviendo una evolución patógena: la NPH (la nueva hipótesis del patógeno) que se basa en un modelo de propagación invasor en nuevos ecosistemas o huéspedes, y LA EPH (la hipótesis del patógeno endémico), que se centra en la enfermedad causada por *B. dendrobatidis* como consecuencia de una alteración entre patógeno-anura-ambiente (Scheele y col., 2019; Rosenblum y col., 2009).

La Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) (OIE-World Organization for Animal Health, 2012) describió el método de crioconservación de *B. dendrobatidis*, que se basa exclusivamente en el cultivo de microorganismos para aumentar la concentración de zoosporas y zoosporangio; este consiste en el uso de 10% de dimetilsulfóxido (DMSO) y 10% de suero fetal bovino (FBS) a -80 °C. Durante la descongelación, los cultivos deben someterse a 43 °C, lactosa y antibióticos.

La evidencia sugiere que la actividad enzimática de *B. dendrobatidis* influye directamente en su grado de patogenicidad. La penetración de *B. dendrobatidis* en las células epidérmicas de la rana probablemente requiere enzimas digestivas. Una cepa de referencia de *B. dendrobatidis* se cultiva y se utiliza para producir proteasas, que degradan la caseína y la gelatina. La información sobre las bases genéticas e interacciones a nivel molecular conducen a la expresión génica de proteasas de serina y metalopeptidasa de fundalisina, dos genes relacionados con la patogénesis y que han sido identificados en otros hongos (Rosenblum y col., 2010). *B. dendrobatidis* sintetiza las fungalisina-metalopeptidasas, una clase de proteínas que son esenciales para los microorganimos como *Trichophyton sp.* y *Microsporum sp.* un gen de fungalisina-metalopeptidasas de *B. dendrobatidis*, que tiene altos niveles de expresión en zoosporangios (McDonald y col., 2020; Rosenblum y col., 2009). Este trabajo evalúa los cambios en el protocolo de la OIE para la criopreservación de *B. dendrobatidis* y la posterior recuperación de este microorganismo, junto con la descripción *in silico* de su fungalisina.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

2 Materiales y Métodos

2.1 Cepa

Se utilizó la cepa *B. dendrobatidis* EV001, donada la por Universidad de los Andes (Bogotá-Colombia). *B. dendrobatidis* EV001 representa la primera cepa aislada en Colombia (de Ubaqué, Cundinamarca), que fue recuperada de *Rheobates palmatus* (Flechas y col., 2013). El medio de cultivo utilizado de *B. dendrobatidis* corresponde a una mezcla de triptona y gelatina hidrolizada (TGH) (triptona al 1 %, gelatina hidrolizada al 0,4 %, agar al 1 %). Se utilizó caldo de triptona al 1 % para la producción de zoosporas, y se examinaron las células de *B. dendrobatidis* EV001 bajo un microscopio, usando tinción azul de lactofenol y rojo Congo.

2.2 Criopreservación de *Batrachochytrium dendrobatidis*

Se aplicó un método modificado de conservación de la OIE a *B. dendrobatidis* EV001. Se diluyó una porción de 2,0 ml de medio de triptona de 1 semana de inoculado con *B. dendrobatidis* EV001, y 13 ml de medio de triptona fresco en un matraz de cultivo celular de 25 cm^2, y se incubó a temperatura ambiente durante 4 días con agitación suave. Se hizo un raspado de las paredes del matraz, luego se centrifugó el producto a 1700 g durante 10 min. Se eliminó el sobrenadante, y se suspendió el pellet en 0,6 ml de caldo de triptona que contenía DMSO al 10 % y se congeló a -80 °C. Un mes después, el pellet congelado se colocó en baño de agua a 43 °C durante 30 s y se transfirió al medio TGh sin lactosa ni antibióticos. Se utilizó un diseño aleatorio con tres repeticiones.

2.3 Fungalisina para *Batrachochytrium dendrobatidis*

Se realizó un análisis bioinformático del factor de virulencia similar a la fungalisina utilizando la secuencia de aminoácidos correspondiente del genoma de *B. dendrobatidis* JAM81 depositado en el Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) (ID NCBI: XP 006675712.1). Se realizó una comparación entre la fungalisina para *B. dendrobatidis* JAM81 y la fungalisina para *Aspergillus* (Protein Data Bank ID: 4k90) con Clustal Omega (http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/). Se utilizó la herramienta ProtParam de ExPASy (http://www.expasy.org/) para la descripción teórica de la fungalisina para *B. dendrobatidis* (punto isoeléctrico, peso molecular, hidropaticidad, residuos positivos e índice alifático). Los dominios funcionales se determinaron utilizando la base de datos de dominio conservado (CDD) de NCBI. Se calculó un modelo tridimensional (3D) de la fungalisina para *B. dendrobatidis* JAM81 mediante el modelado homológico, utilizando el modelo suizo (Swiss-model) (https://swissmodel.expasy.org/), el cual fue sometido a su perfeccionamiento usando 3Drefine (http://sysbio.rnet.missouri.edu/3Drefine/index.html) y validado aplicando QMEAN (https://swissmodel.expasy.org/qmean/). La figura se visualizó utilizando Jmol (https://www.bioinformatics.org/firstglance/fgij/).

3 Resultados

3.1 Morfología del B. dendrobatidis EV001

Se observó la viabilidad de *B. dendrobatidis* EV001 mediante el crecimiento en el medio TGH y sus estructuras morfológicas. *B. dendrobatidis* EV001 muestra colonias granulares y cremosas (Figura 1A). De igual forma, se observa una morfología parecida a una cacerola al usar tinción azul de lactofenol bajo el microscopio, lo cual es una característica de la quitridiomicosis (Figura 1B).

Se cultivó el *B. dendrobatidis* EV001 en un medio de TGH con el fin de determinar la morfología de las zoosporas, zoosporangios, tubo de descarga y rizoides (Figuras 2 y 3) para establecer los estadios de desarrollo de *B. dendrobatidis* (Figura 4).

3.2 Método de crioconservación de *B. dendrobatidis*

El método de crioconservación de *B. dendrobatidis* basado en el protocolo de la OIE (OIE-World Organization for Animal Health, 2012) fue modificado como se muestra en la Tabla 1. Se confirmó la viabilidad de *B. dendrobatidis* EV001 en el medio TGh (Figura 5).

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

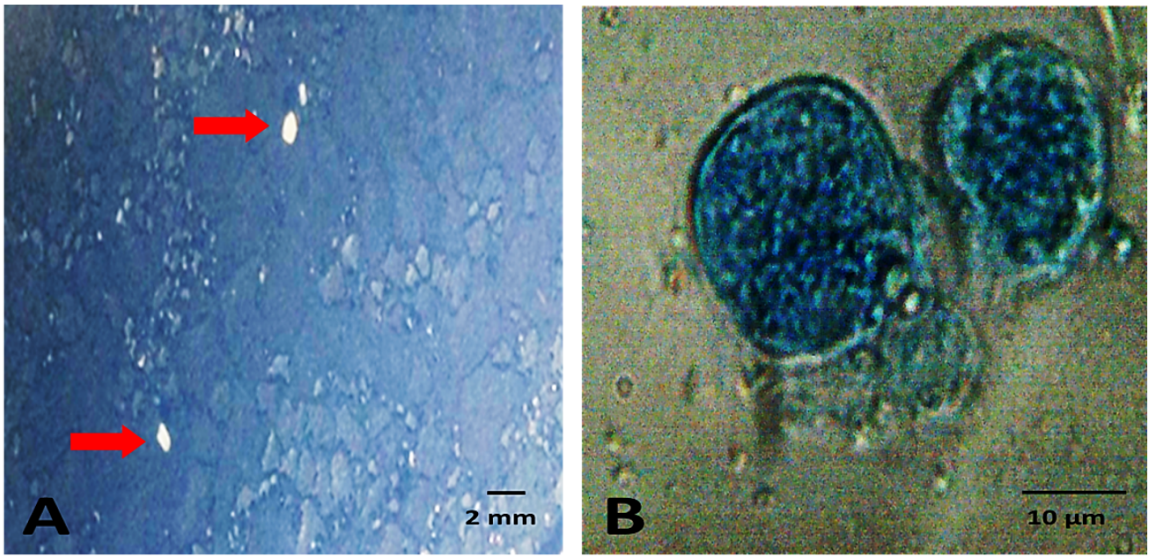

Figura 1. Morfología macroscópica y microscópica de *B. dendrobatidis*. (A) Colonias granulares de *B. dendrobatidis* EV001 en medio TGH (flechas). (B) morfología tipo cacerola de *B. dendrobatidis* EV001 (microscopía óptica en una lente 40×), normalmente tienen 10−40 μm de diámetro (Berger y col., 2005).

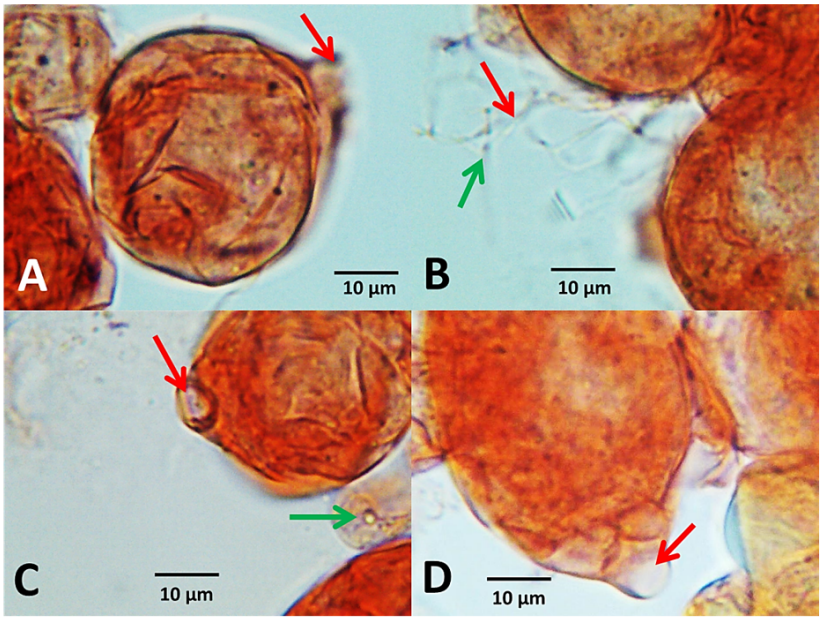

Figura 2. Morfología de *B. dendrobatidis* EV001 en la TGH utilizando la tinción rojo congo. (A). Zoosporangio y tubo abierto de descarga de *B. dendrobatidis* EV001 (flecha roja). (B). Zoosporangio de *B. dendrobatidis* EV001 con tejido (flecha roja) y rizoides (flecha verde). (C) Zoosporangio de *B. dendrobatidis* EV001 con tubo de descarga abierto (flecha roja), que contiene celulosa y quitina, y un zoosporo (flecha verde). (D) Zoosporangio inoperculado de *B. dendrobatidis* EV001 (flecha roja). Microscopía óptica en una lente 100×. El zoosporangio normalmente tiene 10−40 μm de diámetro (Berger y col., 2005).

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

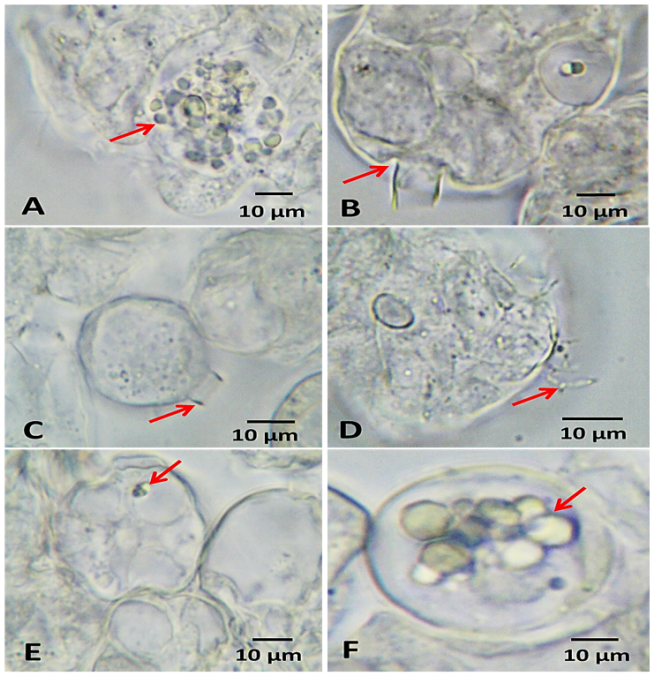

Figura 3. Examen microscópico de montaje húmedo de *B. dendrobatidis* EV001. (A) Zoosporangio y zoosporas internas de *B. dendrobatidis* EV001 (flecha roja). B) Zoosporangio con dictiosomas de *B. dendrobatidis* EV001 (flecha roja). (C) Zoosporangio y tubo de descarga de *B. dendrobatidis* EV001 (flecha roja). (D) Rizoide de *B. dendrobatidis* EV001 (flecha roja) (E) Zoosporangio de *B. dendrobatidis* EV001 (flecha roja) (F) Plasmalema y sáculos interiores de *B. dendrobatidis* EV001 (flecha roja). Microscopía óptica en una lente 40×. Las zoosporas suelen tener de 0,7 a 6,0 µm de diámetro (Berger y col., 2005).

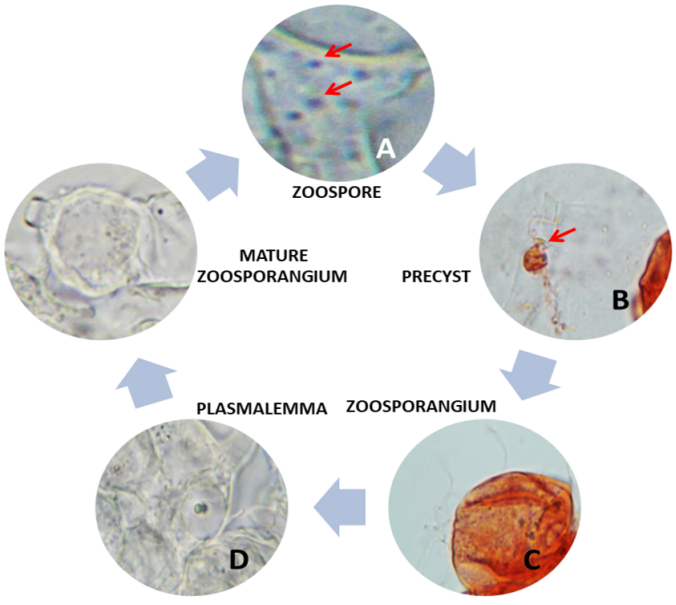

Figura 4. Ciclo de vida de *B. dendrobatidis* EV001. (A) Zoosporas de *B. dendrobatidis* EV001 (flechas rojas). B) Zoosporas de *B. dendrobatidis* EV001 que forman tejido (pre-quiste) (flecha roja). C) Zoosporangio de *B. dendrobatidis* EV001 con tejido y rizoides. D) Plasmalema, sáculos y zoosporas de *B. dendrobatidis* EV001. (E) Zoosporangio de *B. dendrobatidis* EV001 antes de la liberación de zoosporas. Microscopía óptica en lentes 100× (A, B, C) y 40× (D, E).

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Tabla 1. Propuesta de modificación del método de la OIE (OIE-World Organization for Animal Health, 2012) dedicado a la crioconservación de *B. dendrobatidis* utilizando *B. dendrobatidis* EV001.

CRIOPRESERVACIÓN	
Protocolo OIE	**Cambios**
Tomar 2 ml de caldo de cultivo con crecimiento activo (una semana). Añadir 13 ml de caldo nuevo en un matraz de cultivo celular de 25 cm^2 ml. Incubar 3-4 días. Los cultivos deben tener una gran cantidad de zoosporas activas y zoosporangio en el caldo. Raspar las paredes del matraz de cultivo celular y centrifugar a 1700 g cada 10 min	Ninguno
Vierta el sobrenadante	El sobrenadante se inactivó con hipoclorito al 2,5 % (el sobrenadante contiene zoosporas activas)
Suspenda el sedimento en 1 ml 10 % DMSO y 10 % FBS en caldo y congele.	Se utilizaron 0,6 ml de DMSO al 5 % y al 10 %, y no se utilizó FBS. El proceso de congelación se aplicó a −80 °C durante un mes
DESCONGELAMIENTO	
Coloque los viales directamente del nitrógeno líquido al agua (43 °C). Agite durante 30 segundos.	Ninguno
Verter el contenido en el agar TGhL complementado con lactosa (TGhL) y antibióticos.	El contenido del vial se vierte directamente en el medio TGH. No se utilizaron antibióticos ni lactosa.
Pipetee el crioprotector líquido sobre la muestra (en la placa de Petri).	No se ha aplicado en este trabajo.
Ponga 1 ml de solución salina débil (0,001 M KH_2PO_4; 0,0001 M $MgCl_2$; 0,00002 M $CaCl_2$) en la muestra transferida e incube. Examine los cultivos durante 7-10 días para ver si hay movimiento de zoosporas.	Todo el proceso está diseñado para ser lo más cuidadoso posible y evitar riesgos de contaminación y reducir la cantidad de manipulación necesaria hasta observar el crecimiento colonial.

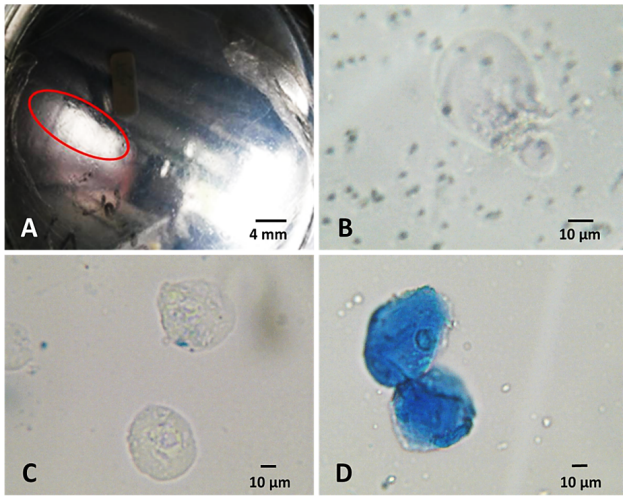

Figura 5. *B. dendrobatidis* EV001 después de la criopreservación. A. Se observa el medio TGh con colonias translúcidas de *B. dendrobatidis* EV001 20 días después de la descongelación (círculo rojo). B. Zoosporangio y zoosporas de *B. dendrobatidis* EV001. C. Esporangio de *B. dendrobatidis* EV001 con tubo de descarga. D. Azul de lactofenol, zoosporangio de *B. dendrobatidis* EV001 (flecha roja), zoosporas (tinción de azul de lactofenol). Microscopía óptica en un lente 40×

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

3.3 Análisis bioinformático de la fungalisina

Según el análisis bioinformático, las predicciones muestran que la fungalisina de *B. dendrobatidis* JAM81 tiene una vida media superior a 20 horas, un peso molecular de 85 kDa, un punto isoeléctrico de 8,33, un índice alifático de 59,68 (tiene una alta tolerancia a la temperatura, similar a otras proteínas), y una hidropaticidad de −0.625 (proteína hidrófila). La fungalisina de *B. dendrobatidis* se modeló utilizando una fungalisina estándar de *Aspergillus* como plantilla (PDB: 4k90) (Figura 6) (identidad: 40,75%, cobertura de consulta: 45%, valor E: 1E-82). El modelo teórico 3D corresponde a 368 residuos (46,8%) de F237 a G604 (Figura 7). Los alfa-hélices en el modelo están formados por 126 residuos (34,23%), 46 residuos con una conformación beta-lámina (12,5%) y 196 residuos que forman bucles (53,26%). La señal de EXXXD se encuentra entre los residuos 407 y 411, y la señal EXXXD se encuentra entre los residuos 437 y 441. Sobre la base de los resultados de la CDD, la fungalisina de *B. dendrobatidis* JAM81 tiene un dominio de PepSY (propéptido peptidasa) que va de I164 a V230, y la región catalítica está entre los residuos Y239 y A590 (Fernández y col., 2013).

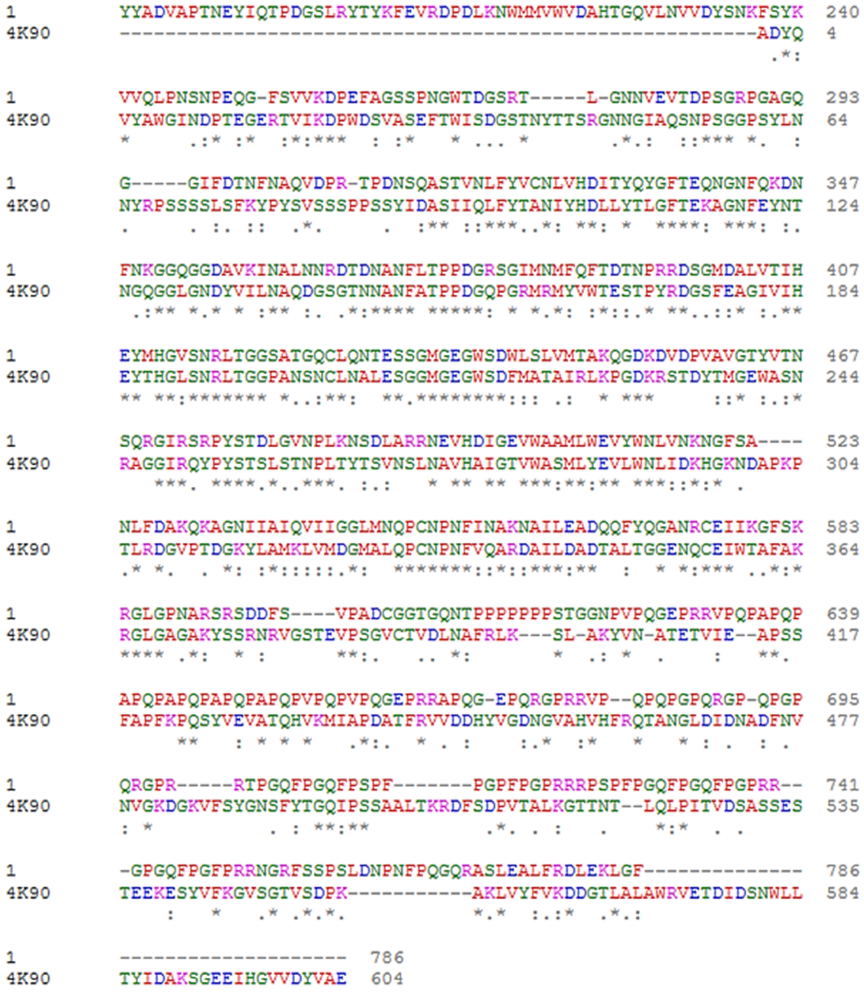

Figura 6. Alineación de secuencia de fungalisina de *B. dendrobatidis* JAM81 y fungalisina de A. fumigatus. El número 1 representa la fungalisina de *B. dendrobatidis* JAM81 y 4k90 corresponde a la secuencia de fungalisina de *A. fumigatus*. Los asteriscos indican identidad, los dos puntos representan sustituciones conservadas y el punto indica una sustitución semiconservada. Los colores representan las características de aminoácidos según la Omega Clustal (http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/).

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

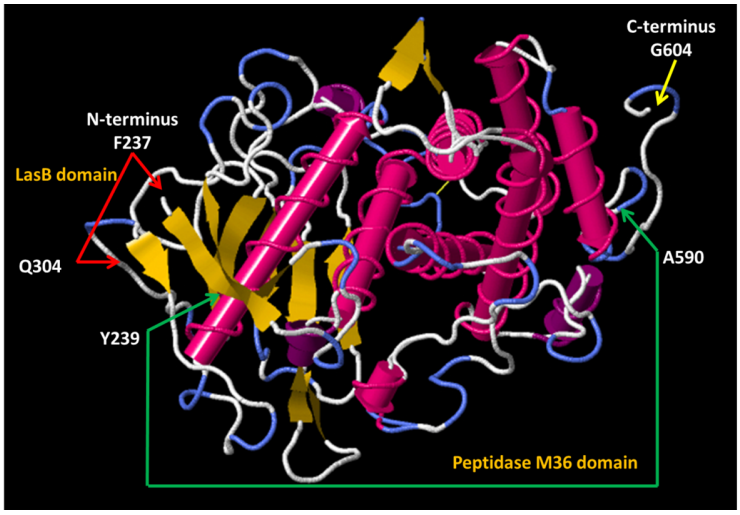

Figura 7. Modelo 3D de fungalisina de *B. dendrobatidis* JAM81. Se indican los extremos N-terminal (F237) y el residuo C-terminal G604 (flecha amarilla). Las flechas amarillas son hojas beta y los tubos rosas son hélices. Se determinan dos dominios, el dominio LasB (F237-Q304, flechas rojas) está relacionado con las metaloproteasas dependientes del zinc, y el dominio peptidasa M36 (Y239-A590, flechas verdes) es típico de las fungalisinas.

4 Discusión

4.1 Morfología de *B. dendrobatidis* EV001

La *B. dendrobatidis* tiene una primera etapa que consiste en una zoospora flagelada que coloniza la piel de la anura. Posteriormente, las zoosporas de *B. dendrobatidis* se convierten en talos esféricos que producen nuevas zoosporas reproducidas asexualmente dentro de las células epidérmicas de la piel de la rana, y luego se liberan zoosporas infecciosas en la superficie de la piel (Greenberg, Palen y Mooers, 2017; Kilpatrick, Briggs y Daszak, 2010). Es importante analizar este microorganismo en la medida en que sea relevante para comprender los patógenos emergentes que se diseminan rápidamente (cosmopolitas), además de su naturaleza agresiva hacia los anuranos (Rosenblum y col., 2009). Las interacciones entre anuras y *B. dendrobatidis* no se comprenden completamente (De León y col., 2019).

Cabe señalar que el zoosporangio de *B. dendrobatidis* tiene una estructura refractiva y una abundante presencia de zoosporas en análisis de montaje húmedo (Robinson y col., 2020; Berger y col., 1998). Los portaobjetos con azul de lactofenol eran similares a los portaobjetos húmedos. El azul de lactofenol es un agente de tinción a base de azul metílico y lactofenol, el primer componente sirve como colorante de quitina micótica y el lactofenol (fenol, ácido láctico, glicerol, agua) es un medio de montaje (Leck, 1999). El rojo congo ha demostrado ser una excelente herramienta para la identificación de *B. dendrobatidis*, que actúa de manera similar al azul de lactofenol al teñir la quitina fúngica (Slifkin y Cumbie, 1988). Las características de *B. dendrobatidis* EV001 corresponden a las observaciones hechas por expertos: presencia de zoosporas, zoosporangio refractivo o tubo de descarga, entre otros (Briggs y Burgin, 2004; Berger y col., 1998).

4.2 Método de crioconservación de *B. dendrobatidis*

Al mismo tiempo, se aplicaron análisis para la crioconservación tales como pruebas de prácticas asépticas mediante técnicas como el almacenamiento a temperatura criogénica con DMSO al 5%. Un mes después se llevó a cabo el procedimiento de descongelación utilizando el medio TGh. Se determinó que el agitado con el contenedor hacia abajo (tapa abajo) fue positivo para el crecimiento de *B. dendrobatidis* EV001, junto con los matraces de sellado de cultivo y su mantenimiento en condiciones asépticas de laboratorio. Se evaluaron otros crioprotectores: 10% de leche de la piel, 10% de DMSO con caldo TGhL y 10% de DMSO con caldo TGhL y 10% de FBS. Estos ensayos se realizaron utilizando un congelador a −80 °C y nitrógeno líquido. La evaluación destacó

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

una mejor recuperación con DMSO y FBS a los 4-5 días usando congelación a −80 °C, resultado que fue similar para el nitrógeno líquido a los 7-14 días (Boyle y col., 2003).

Cabe destacar que no se emplearon antibióticos para evitar la contaminación microbiana, lo que reduce la selección artificial (Brem, Parris y Padgett-Flohr, 2013). Estos resultados a menudo se pueden lograr con el uso estricto de condiciones asépticas que implican un conjunto de seguridad biológica y la esterilización de material, entre otros procedimientos. El medio de crecimiento también puede contaminarse debido a la triptona, que es la mayor fuente nutricional de los microorganismos. Por lo tanto, se observó contaminación de *Penicillium sp.* y *Bacillus sp.* en nuestro trabajo. Otros autores han descrito que la manipulación de *B. dendrobatidis* requiere un examen periódico de matraces y viales para minimizar el impacto de las variables de contaminación, y que es necesario desarrollar un conjunto apropiado de pasos (al menos cada 14-21 días en agar, al menos cada 4-5 meses en caldo, y almacenamiento a 4-6 °C) (Boyle y col., 2003). Se sugiere el uso de lactosa (Flechas y col., 2012), sin embargo, no fue necesario en nuestro estudio. El medio TGH es ideal porque la *B. dendrobatidis* crece mejor en la triptona o en la leche peptonizada, y no requiere azúcares adicionales, pues la *B. dendrobatidis* sintetiza las proteasas que pueden degradar la caseína y la gelatina (Piotrowski, Annis y Longcore, 2004).

Por otra parte, la solución salina débil sustituye al agua de los estanques como medio natural de *B. dendrobatidis* (Boyle y col., 2003). En este trabajo, se omitió una solución salina débil sin efectos sobre la recuperación de *B. dendrobatidis*. Por lo tanto, se dice que cuando se modifican las condiciones ambientales y fisicoquímicas para este microorganismo, como se ha visto en los medios de cultivo, se pueden producir cambios en el tamaño del zoosporangio (Garcés y col., 2003). En cuanto a las observaciones de los estadios del ciclo de *B. dendrobatidis*, se observó una formación de zoosporangio joven (proceso de germinación), que se puede determinar en el tubo de descarga en caldo de triptona al 1% relacionado con la humedad para la liberación de zoosporas; los tubos más largos se pueden observar en medios líquidos, sin embargo, la liberación de zoosporas debe ocurrir en medios sólidos. Los requisitos de zoosporangio en la piel de la rana pueden ser variables e impredecibles en la ocurrencia, sin embargo, *B. dendrobatidis* puede ser viable usando caldo de triptona al 1%, y se pueden observar sus rizoides con rojo congo (Berger y col., 2005). Este enfoque puede ser particularmente eficaz para laboratorios más pequeños, especialmente aquellos con recursos limitados, y puede ser muy útil en el estudio de *B. dendrobatidis* si se aplican buenas prácticas de microbiología.

4.3 El análisis bioinformático de la fungalisina

Los genes relacionados de la fungalisina de *B. dendrobatidis* (aproximadamente 25) se expresan principalmente en el zoosporangio (76%) y sólo un pequeño porcentaje se expresa en la zoospora (Rosenblum y col., 2008). Se ha descrito la estructura experimental 3D de una fungalisina de *A. fumigatus* (AfuMep) y se han encontrado parámetros relevantes para estos factores de virulencia, tales como presencia de propéptidos que eliminan las proteasas huéspedes (residuos 19-245), y el dominio catalítico C-terminal (residuos 245-634) que degradan las proteínas de la matriz extracelular (elastina y colágeno). Se encontró que la fungalisina pertenece a las metaloproteasas de zinc M36. En este artículo se describe la fungalisina como una proteína no glicosilada de 68 kDa que contiene una señal catalítica HEXXH para el reconocimiento de átomos de zinc, que implica 12 alfa-hélices (35%) y 22 hojas beta (12%).

La fungalisina de *B. dendrobatidis* JAM81 cumple con los requisitos de la familia M36 relativos al peso molecular (85 kDa), la eliminación de hélices y láminas, la señal metaloproteasa HEXXH, y un residuo de R470, considerado como el elemento importante en el plegado, y la actividad catalítica de esta enzima, porque las elastasas y las termolisinas tienen un ion de calcio cerca del ion de zinc (16 Å) del sitio catalítico y tienen la capacidad de proteger la enzima de la autolisis. La AfuMep y la fungalisina de *B. dendrobatidis* JAM81 tienen una R470 que protege estos factores de virulencia (Fernández y col., 2013).

Los mecanismos que subyacen al proceso de la quitridiomicosis no están completamente claros, sin embargo, se han presentado varias hipótesis (Berger y col., 2005). La susceptibilidad de la rana a *B.*

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

dendrobatidis está relacionada con la forma en que los anfibios toman su agua directamente a través de la piel, preservando la homeostasis animal, y reflejando el hecho de que la *B. dendrobatidis* inhibe los canales de sodio que están relacionados con la quitridiomicosis. Se determinó que la rana transporta sodio al plasma, por lo que los canales epiteliales de sodio y su influencia en los riñones de anfibios son importantes en este proceso, y existe un deterioro de la función cardíaca antes de la muerte (Campbell y col., 2012). El *B. dendrobatidis* es un patógeno no específico, y no afecta a todas las especies de anfibios por igual (Strauss y Smith, 2013) posiblemente debido a la microbiota cutánea o péptidos antimicrobianos, y podría desempeñar un papel importante en la defensa contra los hongos (Flechas y col., 2013; Berger, Speare y Hyatt, 1999). El *B. dendrobatidis* tiene hospederos y reservorios alternativos como nematodos y cangrejos de río, pero las infecciones en otros vertebrados no son letales (Rosenblum y col., 2010; Strauss y Smith, 2013).

5 Conclusión

Este trabajo muestra una descripción de *B. dendrobatidis* EV001 como introducción a un método de criopreservación modificado, que sería una contribución significativa para los laboratorios centrados en esta área; de igual forma, se añade un modelo teórico de fungalisina como contribución para comprender los factores de virulencia de este patógeno de anura.

Agradecimientos

Los autores agradecen a S. Flechas y a la Universidad de Los Andes (Bogotá-Colombia) pro brindar las cepas de *B. dendrobatidis* EV001. Este proyecto no ha recibido financiación de alguna institución, o el sector privado.

Referencias

Berger, L., R. Speare y A. Hyatt (1999). «Declines and disappearances of Australian frogs». En: Environment Australia. Cap. Chytrid fungi and amphibian declines: overview, implications and future directions, págs. 23-33.

Berger, L. y col. (1998). «Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America». En: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 95.15, 9031-9036. Online:https://bit.ly/3wrwXea.

Berger, L. y col. (2005). «Life cycle stages of the amphibian chytrid Batrachochytrium dendrobatidis». En: *Diseases of aquatic organisms* 68.1, 51-63. Online:https://bit.ly/3kX4oQp.

Boyle, D. y col. (2003). «Cryo-archiving of Batrachochytrium dendrobatidis and other chytridiomycetes». En: *Diseases of aquatic organisms* 56.1, 59-64. Online:https://bit.ly/3NbJU2p.

Brem, F., M. Parris y G. Padgett-Flohr (2013). «Reisolating Batrachochytrium dendrobatidis from an amphibian host increases pathogenicity in a subsequent exposure». En: *PLoS One* 8.5, e61260. Online:https://bit.ly/3w3BioN.

Briggs, C. y S. Burgin (2004). «Congo Red, an effective stain for revealing the chytrid fungus, Batrachochytrium dendrobatidis, in epidermal skin scrapings from frogs». En: *Mycologist* 18.3, 98-103. Online:https://bit.ly/3L16jhf.

Campbell, C. y col. (2012). «Frog skin epithelium: electrolyte transport and chytridiomycosis». En: *The international journal of biochemistry & cell biology* 44.3, 431-434. Online:https://bit.ly/3P9bcZ7.

De León, M. y col. (2019). «Batrachochytrium dendrobatidis infection in amphibians predates first known epizootic in Costa Rica». En: *PLoS One* 14.12, e0208969. Online:https://bit.ly/3FFjRhA.

Duellman, W. (1988). «Patterns of species diversity in anuran amphibians in the American tropics». En: *Annals of the Missouri Botanical Garden* 14.2, 79-104. Online:https://bit.ly/3Fz8AiC.

Fernández, D. y col. (2013). «A functional and structural study of the major metalloprotease secreted by the pathogenic fungus Aspergillus fumigatus». En: *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography* 69.10, 1946-1957. Online:https://bit.ly/38f3lso.

Fisher, M. y T. Garner (2020). «Chytrid fungi and global amphibian declines». En: *Nature Reviews Microbiology* 18.6, 332-343. Online:https://go.nature.com/3svcXpL.

Flechas, S. y col. (2012). «Surviving chytridiomycosis: differential anti-Batrachochytrium dendrobatidis activity in bacterial isolates from three

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

lowland species of Atelopus». En: *PloS one* 7.9, e44832. Online:https://bit.ly/3yvN4d3.

Flechas, S. y col. (2013). «Characterization of the first Batrachochytrium dendrobatidis isolate from the Colombian Andes, an amphibian biodiversity hotspot». En: *EcoHealth* 10.1, 72-76. Online:https://bit.ly/3w5GrfO.

Flechas, S. y col. (2017). «Current and predicted distribution of the pathogenic fungus Batrachochytrium dendrobatidis in Colombia, a hotspot of amphibian biodiversity». En: *Biotropica* 49.5, 685-694. Online:https://bit.ly/3yvFDmn.

Garcés, E. y col. (2003). *Morfología y clasificación de los hongos*. Unibiblos.

Green, D., M. Gray y D. Miller (2010). «Amphibian Ecology and Conservation: A handbook of techniques». En: Oxford, University Press. Cap. Disease monitoring and biosecurity, págs. 481-501.

Greenberg, D., W. Palen y A. Mooers (2017). «Amphibian species traits, evolutionary history and environment predict Batrachochytrium dendrobatidis infection patterns, but not extinction risk». En: *Evolutionary applications* 10.10, 1130-1145. Online:https://bit.ly/3N8RBXa.

Kilpatrick, A., C. Briggs y Pe. Daszak (2010). «The ecology and impact of chytridiomycosis: an emerging disease of amphibians». En: *Trends in ecology & evolution* 25.2, 109-118. Online:https://bit.ly/37DRhk2.

Leck, A. (1999). «Preparation of lactophenol cotton blue slide mounts». En: *Community Eye Health* 12.30, 24. Online:https://bit.ly/3sse8pT.

Lindauer, A. y col. (2019). «Quantifying Batrachochytrium dendrobatidis and Batrachochytrium salamandrivorans viability». En: *EcoHealth* 16.2, 346-350. Online:https://bit.ly/3ssGwrI.

Lynch, J., P. Ruiz-Carranza y M. Ardila-Robayo (1997). «Biogeographic patterns of Colombian frogs and toads (Patrones biogeográficos de las ranas y los sapos de Colombia)». En: *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 21.N80, págs. 237-248.

McDonald, C. y col. (2020). «Gene expression varies within and between enzootic and epizootic lineages of Batrachochytrium dendrobatidis (Bd) in the Americas». En: *Fungal Biology* 124.1, 34-43. Online:https://bit.ly/3MiCXME.

OIE-World Organization for Animal Health (2012). «Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals». En: World Organization for Animal Health. Cap. Infection with Batrachochytrium dendrobatidis. Págs. 1-18.

Piotrowski, J., S. Annis y J. Longcore (2004). «Physiology of Batrachochytrium dendrobatidis, a chytrid pathogen of amphibians». En: *Mycologia* 96.1, 9-15. Online:https://bit.ly/3ssugYC.

Richmond, J. y col. (2009). «Toward immunogenetic studies of amphibian chytridiomycosis: linking innate and acquired immunity». En: *Bioscience* 59.4, 311-320. Online:https://bit.ly/37DWCb4.

Robinson, K. y col. (2020). «Isolation and maintenance of Batrachochytrium salamandrivorans cultures». En: *Diseases of aquatic organisms* 140, 1-11. Online:https://bit.ly/3kYRy3Y.

Rosenblum, E. y col. (2008). «Global gene expression profiles for life stages of the deadly amphibian pathogen Batrachochytrium dendrobatidis». En: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105.44, 17034-17039. Online:https://bit.ly/39V13yY.

Rosenblum, E. y col. (2009). «Genome-wide transcriptional response of Silurana (Xenopus) tropicalis to infection with the deadly chytrid fungus». En: *PloS one* 4.8, e6494. Online:https://bit.ly/3ssXneg.

Rosenblum, E. y col. (2010). «A molecular perspective: biology of the emerging pathogen Batrachochytrium dendrobatidis». En: *Diseases of aquatic organisms* 92.2-3, 131-147. Online:https://bit.ly/3w46Jzj.

Rueda-Almonacid, J., J. Lynch y A. Amézquita (2004). *Libro Rojo de los Anfibios de Colombia*. Conservación Internacional Colombiana.

Scheele, B.C. y col. (2019). «Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity». En: *Science* 6434.363, 1459-1463. Online:https://doi.org/10.1126/science.aav0379.

Slifkin, M. y R. Cumbie (1988). «Congo red as a fluorochrome for the rapid detection of fungi». En: *Journal of Clinical Microbiology* 26.5, 827-830. Online:https://bit.ly/3L3Poe8.

Sluijs, A. Spitzen-van der y col. (2017). «Fragile coexistence of a global chytrid pathogen with amphibian populations is mediated by environment and demography». En: *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 284.1864, 20171444. Online:https://bit.ly/3sufIHQ.

Strauss, A. y K. Smith (2013). «Why does amphibian chytrid (Batrachochytrium dendrobatidis) not occur everywhere? An exploratory study in

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Missouri ponds». En: *PloS one* 8.9, e76035. Online:https://bit.ly/3Pcpc45.

Vásquez-Ochoa, A. y col. (2012). «Detección y cuantificación de Batrachochytrium dendrobatidis en anfibios de las regiones andina central, oriental, Orinoquia y Amazonia de Colombia». En: *Herpetotropicos* 8.1-2, 13-21. Online:https://n9.cl/qd3q4.

Velásquez, E. y col. (2008). «Infección por el hongo quitrido Batrachochytrium dendrobatidis en anuros de la cordillera occidental de Colombia». En: *Herpetotropicos* 4.2, 65-70. Online:https://n9.cl/wrh4y.

Vredenburg, V. y col. (2010). «Dynamics of an emerging disease drive large-scale amphibian population extinctions». En: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107.21, 9689-9694. Online:https://bit.ly/3Nd79Jv.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

La Granja:
Revista de
Ciencias de la Vida

pISSN:1390-3799; eISSN:1390-8596

http://doi.org/10.17163/lgr.n36.2022.04

Artículo científico / Scientific paper

Desarrollo Sostenible

CC BY NC SA

Los Objetivos de Desarrollo Sostenible en América: Panorama

The Sustainable Development Goals in America: Overview

Miguel García-Parra[1]*, Francisco de la Barrera[2], Nubia Plazas-Leguizamón[3], Andrés Colmenares-Cruz[4], Andrés Cancimance[5] y Diana Soler-Fonseca[6]

[1]*Departamento de Ciencias Agrícolas y del Medio Ambiente, Universidad Francisco de Paula Santander seccional Ocaña, código postal 546552, Ocaña, Colombia.*
[2]*Departamento de Arquitectura, Urbanismo y Geografía, Universidad de Concepción, código postal 4070386, Concepción, Chile.*
[3]*Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales, Fundación Universitaria Juan de Castellanos, Código postal 150001, Tunja, Colombia.*
[4]*Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente, Universidad Nacional Abierta y a Distancia-UNAD, Código Postal 150001, Tunja, Colombia.*
[5]*Departamento de Antropología, Universidad Nacional de Colombia, Código postal 111321, Bogotá, Colombia.*
[6]*Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente, Universidad Nacional Abierta y a Distancia-UNAD, Código Postal 150001, Tunja, Colombia.*

*Autor para correspondencia: miguelgarciap@unicauca.edu.co

Manuscrito recibido el 12 de febrero de 2021. Aceptado, tras revisión, el 29 de octubre de 2021. Publicado el 1 de septiembre de 2022.

Resumen

Los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) comprometen a 193 países en el mejoramiento de indicadores ambientales, sociales y económicas a través de su desempeño en 169 metas para el 2030, con el fin de lograr el cumplimiento del acuerdo de Paris. Sin embargo, las dinámicas de desarrollo en relación con los ODS cambian a través del tiempo y con ello, los países no identifican las fortalezas y debilidades en las que se visibiliza la realidad de su territorio. Además, los indicadores se han abordado de manera individual debido a que su multidimensionalidad generan resultados divergentes. En este sentido, el objetivo de esta revisión es analizar el estado de evolución de los ODS en América y particularmente en Colombia. Para analizar la dinámica de los ODS en 32 países de América sistematizamos los datos de los indicadores oficiales de 2010 a 2019 y los indicadores de la División de Estadística de las Naciones Unidas (DENU), teniendo en cuenta variables como el Producto Interno Bruto PIB per cápita, las emisiones de gases de efecto invernadero y las energías renovables. Como se esperaba, los países presentaron diferentes fortalezas en el desarrollo de los indicadores relacionados con sinergias y antagonismos de los ODS. En este sentido, hubo una amplia distribución en el avance de los ODS, encontrando a nueve países que lograron cumplir por lo menos en un objetivo la totalidad de las metas, lo que permite visibilizar que cada una de las naciones ha tomado iniciativas gubernamentales para lograr el desarrollo y la calidad de vida de sus pobladores.

Palabras clave: Calidad de vida, Desarrollo sustentable, Indicadores Ambientales.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Abstract

The Sustainable Development Goals (SDG), commit 193 countries to improving environmental, social and economic indicators through their performance on 169 targets by 2030 in order to achieve compliance with the Paris Agreement. However, development dynamics in relation to the SDGs change over time and with this, countries do not identify the strengths and weaknesses in which the reality of their territory is visible, in addition to the indicators they have been addressed individually because its multidimensionality generates divergent results. In this sense, the objective of this review is to analyze the state of evolution of the SDGs in America and particularly in Colombia. To analyze the SDG dynamics in 32 countries of America, we systematize the official indicator data from 2010 to 2019 and United Nations Statistics Division (UNSD) indicators, taking into account variables such as per capita gross domestic product, greenhouse gas emissions and renewable energies. As expected, the countries presented different strength in the development of the indicators related to synergies and antagonisms of the SDGs. Also, it was possible to find a wide distribution in the advancement of SDGs, finding nine countries that managed to meet at least one of the goals, which allows make visible that each of the nations has taken government initiatives to achieve development and quality of life its inhabitants.

Keywords: Quality of life, Sustainable development, Environmental Indicators.

Forma sugerida de citar: García-Parra, M., De la Barrera, F., Plazas-Leguizamón, N., Colmenares-Cruz, A., Cancimance, A. y Soler-Fonseca, D. (2022). Los Objetivos de Desarrollo Sostenible en América: Panorama. La Granja: Revista de Ciencias de la Vida. Vol. 36(2):45-59. http://doi.org/10.17163/lgr.n36.2022.04

IDs Orcid:

Miguel García-Parra: http://orcid.org/0000-0001-8541-5181
Francisco de la Barrera: http://orcid.org/0000-0002-6854-3197
Nubia Plazas-Leguizamón: http://orcid.org/0000-0003-3730-5863
Andrés Colmenares-Cruz: http://orcid.org/0000-0002-0392-7333
Andrés Cancimance: http://orcid.org/0000-0001-7071-0508
Diana Soler-Fonseca: http://orcid.org/0000-0003-1438-5995

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

1 Introducción

El desarrollo sostenible como concepto deriva de la economía como disciplina. En este sentido, a principios del siglo 19 el debate principal fue si la capacidad limitada de los recursos naturales de la tierra podría apoyar el crecimiento acelerado de la población de la humanidad, mientras que las estadísticas predijeron que la población humana a nivel mundial continuaría aumentando exponencialmente y, por lo tanto, los recursos naturales no podrían satisfacer las necesidades de la población (Mensah, 2019). Sin embargo, durante años se abandonó esta idea pensando que la tecnología solventaría esta situación. Por esta razón, en 1972 se desarrolló por primera vez un concepto de desarrollo sostenible en la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente, celebrada en Estocolmo (Seyfang, 2003). Posteriormente, en 1987 en la Comisión Mundial sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo de Noruega se consolidó un concepto más claro del desarrollo sostenible durante la construcción del informe de la comisión Brundtland que dio lugar a la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo (CNUMAD), conocida como la Cumbre de la Tierra de Río, en 1992. En la Cumbre Mundial sobre el Desarrollo Sostenible (CMDS), conocida como Río + 10, que se celebró en Johannesburgo, las naciones se comprometieron a fortalecer el avance de los Objetivos del Milenio y finalmente en 2012 se celebró la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo Sostenible (CNUDS) o Río + 20, que se basó en el fortalecimiento de la economía sostenible y el marco institucional de los nuevos ODS (Allen, Metternicht y Wiedmann, 2019).

El enfoque del desarrollo sostenible se fortalece y se pone en funcionamiento a nivel mundial con los Objetivos de Desarrollo del Milenio (ODM), creciendo sobre bases teóricas y experiencias locales, y llegando a ser guía fundamental para el cambio mundial (Grigss y col., 2013; Kumar, Kumar y Vivekadhish, 2016). En este sentido, la agenda de 2030, que incorpora un nuevo conjunto de objetivos globales conocidos como los 17 Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), incluye indicadores económicos, sociales, políticos y ambientales para los gobiernos locales y regionales de los 193 países de las Naciones Unidas (Kaltenborn, Krajewski y Kuhn, 2019); a diferencia de las agendas anteriores de desarrollo, basadas en el crecimiento económico (Kroll, Warchold y Pradhan, 2019).

La aplicación y evaluación de los 169 objetivos enmarcados en los 17 Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) ha servido para determinar su eficacia a nivel mundial (Pradhan y col., 2017), a través de la base de datos abierta de la División de Estadística de las Naciones Unidas, donde se establecieron los indicadores de los ODS desde 2010 para todos los países. Por esta razón, existen investigaciones al respecto en relación a la agricultura (Nasr-Allah y col., 2020), industria (Sangwan y Bhatia, 2020), educación (Cebrián, Junyent y Mula, 2020), salud (Bennett y col., 2020), mercado (Waal y Thijssens, 2020), diseño (Horne y col., 2020) y tecnología (Vinuesa y col., 2020). Además, según Fuso Nerini y col. (2018) y Nilsson y col. (2018) el cambio climático se relacionó de manera transversal Kaltenborn, Krajewski y Kuhn (2019) para llevar a cabo un análisis exhaustivo de la cuantificación y la interacción sinérgica dentro y entre los ODS.

En este sentido, Nilsson, Griggs y Visbeck (2016) presentó una de las primeras metodologías cuantitativas de los ODS, teniendo en cuenta que la valoración es específica para cada nación y sus contextos; por lo tanto, no puede generalizarse. De la misma manera, Moyer y Bohl (2019), destacan la importancia de fijar metas para alcanzar los objetivos en pro de las nuevas generaciones, para lo cual proponen tres vías políticas que permitan la aplicación de los ODS: tecnología, cambio de estilo de vida y gobernanza descentralizada. Así, cada país debe seguir una ruta para generar sinergias dentro y entre las metas, o compensar una meta por otra, según lo estudiado para los países que conforman el G20 y la OCDE, a través de relaciones cercanas y antagonismos (Schmidt-Traub y col., 2017).

En la mayoría de las naciones, el tema de la erradicación de la pobreza se tomó como una de las principales tareas de los ODM, y sigue siendo uno de los principales desafíos a los que se enfrenta la humanidad (ODS 1), debido a su alta relación con otros. Asimismo, en lo que respecta al consumo y la producción responsables (ODS 12), estos se han relacionado con el crecimiento económico (Lusseau y Mancini, 2019). La diversidad latinoamericana también se expresa en Colombia, donde existen diferentes niveles de desarrollo en todos los aspectos,

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

debido a la influencia de las principales ciudades, la fuerte influencia agrícola regional o la existencia de vastas reservas naturales, según informa la CEPAL (2017), al evaluar las provincias a través de la competitividad regional, según la fuerza económica, la infraestructura y la logística, el bienestar social y el capital humano, la ciencia, la tecnología y la innovación, así como las instituciones y la gestión pública.

Estos estudios han creado un extenso análisis sobre las interacciones y desafíos que la humanidad debe enfrentar, lo que requiere la máxima capacidad para analizar, hacer cumplir y proporcionar retroalimentación a través del tiempo, lo que permite proyectar las contribuciones para el programa de 2030. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación es analizar la etapa de desarrollo de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) en 32 países de América, y más específicamente en Colombia, a través de una sistemática de información bibliométrica, teniendo en cuenta el pasado cercano para evaluar su cumplimiento y avances.

2 Materiales y Métodos

La investigación es de tipo descriptiva, utilizando el método de investigación sistemática que, según Aguilera (2014), utiliza recursos electrónicos como bases de datos, permitiendo una visión más crítica. Se utilizó la base de datos de índices y cuadros del ODS de 32 países de América (www.sdgindex.org), que proporciona información a nivel mundial sobre los objetivos de desarrollo sostenible (ODS) desde 2010 a 2019 y los datos disponibles de la División de Estadística de las Naciones Unidas (UNSD; www.unstats.un.org) donde se abordan los indicadores de género, población urbana, rural y grupos. Además, se realizó un análisis exploratorio de variables como el producto interno bruto per cápita (datos www.worldbank.org), las emisiones de gases de efecto invernadero y las energías renovables (datos www.iea.org), siguiendo la metodología propuesta por Schmidt-Traub y col. (2017).

Los datos de la agenda 2030 de los ODS para Colombia (www.ods.gov.co) fueron analizados en términos prospectivos y actuales, haciendo correlaciones (Pearson) para definir las similitudes y diferencias entre un par de metas, entendidas como similitud cuando el resultado es positivo y diferencia cuando es negativo. Sin embargo, se tuvo en cuenta la similitud cuando fue mayor de 0,5 y la diferencia cuando fue menor de $-0{,}5$, siguiendo la metodología propuesta por Pradhan y col. (2017). Finalmente, se realizó un análisis de los centros nacionales de investigación y académicos que han hecho las mayores contribuciones académico-científicas a los ODS en Colombia.

Además, se realizó un análisis de investigadores y grupos de investigación en Colombia, para demostrar los procesos donde las instituciones de educación superior y centros de investigación llevan a cabo la implementación y formulación de ODS en las áreas académicas y productivas, utilizando la plataforma https://sba.minciencias.gov.co/Buscador_HojasDeVida/ del Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación de Colombia (Minciencias). Se utilizó el programa estadístico Rstudio versión 4.0.0. para realizar el análisis, usando los paquetes ggplot2, corrplot y agricolae.

3 Resultados y Discusión

3.1 Visión general de los ODS en Estados Unidos

Estados Unidos ha presentado diferentes niveles de progreso en cuanto a los Objetivos de Desarrollo Sostenible, que se pueden observar en la Figura 1, y algunos países establecen una mejor perspectiva en el cumplimiento de los objetivos. Así, los objetivos que se han logrado en el menor tiempo en algunos países son la energía asequible y limpia, seguida de la ausencia de pobreza, la educación de calidad, el trabajo decente y el crecimiento económico. Por lo tanto, es posible observar un avance diferenciador en las alianzas para los objetivos y un avance irreflexivo en la paz, la justicia y las instituciones.

Aunque países como Ecuador, Estados Unidos y Perú no presentaron datos sobre el progreso de los objetivos para los ODS de 2019, cabe señalar que Canadá y Costa Rica son los únicos países de América que han alcanzado el mayor número de objetivos; $4-7$ y $1-7$, respectivamente. Canadá, uno de los miembros de la Organización de Cooperación y Desarrollo Económicos de la OCDE, es el país con el mejor índice de desarrollo humano (Schmidt-Traub y col., 2017), y se puede observar en la calidad de la

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

educación de sus habitantes. De igual forma, Costa Rica ha realizado grandes esfuerzos para reducir la pobreza, como lo han destacado el PNUD y el Banco Centroamericano de Integración Económica BCIE (CABEI, 2017; Ortiz-Juérez, 2017).

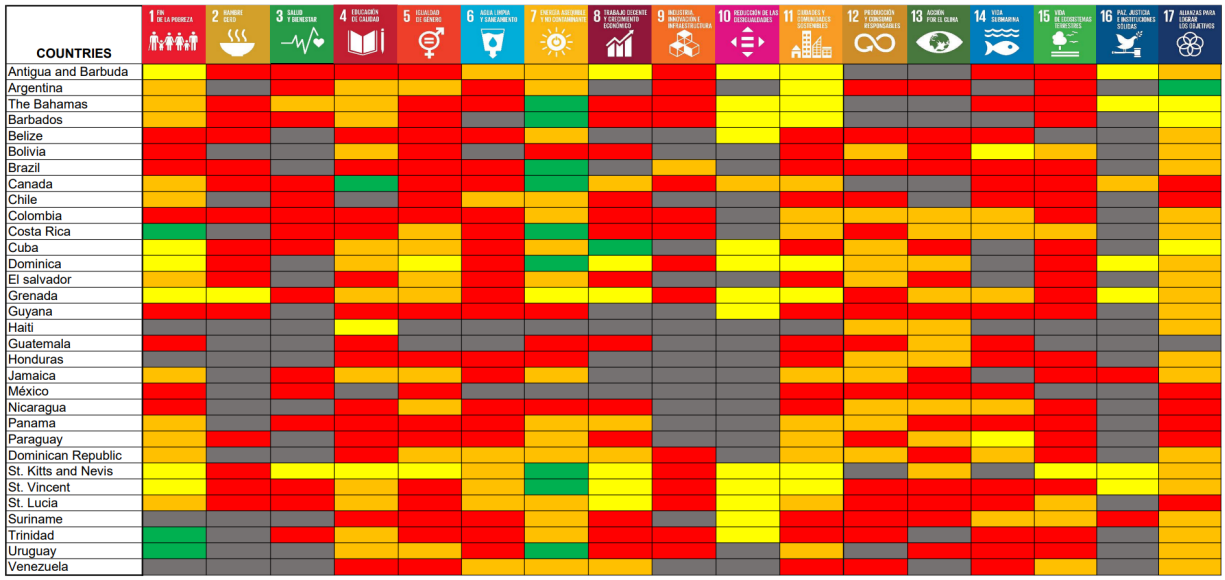

Figura 1. Visión general del análisis de los Objetivos de Desarrollo Sostenible en América para 2019. Verde: Metas alcanzadas; Amarillo: Quedan algunos desafíos: Naranja: Permanencia significativa de los desafíos: Rojo: El progreso ha sido mínimo. Gris: No hay datos existentes.

El panorama de Colombia es alentador en relación a los objetivos 7, 11, 12, 13, 14 y 17 mediante la implementación de energías limpias, con incentivos fiscales para quienes invierten en su investigación y uso, aspecto que afecta positivamente a las comunidades que carecen de infraestructura y un acceso limitado de energía (Villada, López y Muñoz, 2017). En el mismo sentido, la producción manufacturera y agrícola se ha centrado en un menor uso de fuentes externas de energía y capacidad de resistencia (Plazas-Leguizamón y Jurado-Álvarez, 2018). En cuanto al objetivo 13 relacionado a la política nacional de cambio climático para el sector rural y urbano, se busca mitigar los flujos de energía de los diferentes sectores productivos que dan lugar a la contaminación ambiental (Minambiente, 2016).

Por el contrario, hay un retraso en los objetivos de reducción de la desigualdad y la paz, justicia e instituciones. Estos aspectos han sido relevantes en Colombia en relación con el conflicto armado desatado por grupos subversivos durante más de 5 décadas (Rettberg, 2020), lo que ha llevado a asesinatos, desplazamientos forzados, secuestros, extorsión, daños morales e incluso aumentos considerables en el cultivo ilícito para la obtención de estupefacientes (Rochlin, 2020).

Con respecto a América Latina, Haití es el país con menos avances en el cumplimiento de los ODS. Sin embargo, este país muestra mejoras en la educación y la acción climática, así como en la producción y el consumo sostenible debido a las capacidades que los haitianos han adquirido después de la crisis política y socioeconómica, lo que les ha permitido buscar nuevas fuentes de energía y reducir el impacto de los combustibles fósiles en el cambio climático (Perry, 2020).

El bienestar de la población es uno de los indicadores más representativos del desarrollo sostenible y ha sido una variable útil en el sector rural para evaluar la vida humana y los medios de vida sostenibles (Rasul, 2016). Este aspecto se destaca en el objetivo del trabajo decente y el crecimiento económico, que, en el caso de América, los países presen-

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

tan un nivel de desarrollo correspondiente al 3,1% (Figura 2A), 18,7 (Figura 2B), 12,5 (Figura 2C) y el más alto con el 37,5% (Figura 2D). Este resultado se debe al hecho de que los desempleados superaron los 192 millones de personas en 2017, mientras que en el 2019 fue de 35 millones (Organización Internacional de Trabajo, 2018).

La evaluación del desarrollo económico, el cambio climático y la búsqueda de estrategias energéticas se han convertido en aspectos determinantes del crecimiento de las regiones, principalmente en el sector rural. En este sentido, la Figura 3 muestra el comportamiento que los países han tenido durante 2019 en relación con el PIB per cápita, la emisión de gases de efecto invernadero y el uso de energías renovables, haciendo hincapié en los dos primeros, en la aglomeración en gran parte de los países del continente americano y en una ligera dispersión del resto.

El PIB per cápita es un indicador relacionado con la calidad de vida de los ciudadanos. En el caso de Venezuela, la crisis económica, social, política e incluso ambiental ha provocado grandes efectos en este factor, arrojando resultados negativos en cifras (Figura 2A). Esto se refleja en los bajos salarios, el aumento de la inflación, los altos precios de los productos básicos y una drástica reducción del poder adquisitivo, lo que deja como resultado que el 87% de los venezolanos vivan en la pobreza absoluta (Caraballo-Arias, Madrid y Barrios, 2018).

Para Colombia, el PIB per cápita está por encima de países como Canadá, Brasil, Argentina y México, pero muy por debajo de Antigua y Barbuda, así como de República Dominicana. En general, los países del continente americano se caracterizan por presentar una agrupación en esta variable, con un desempeño lineal, muy similar a la paridad del poder adquisitivo (PPP) en los países que conforman la OCDE (Schmidt-Traub y col., 2017).

En el caso de las emisiones de gases de efecto invernadero en relación con el apoyo a la investigación y desarrollo de energía limpia y renovable, se destaca el trabajo realizado en El Salvador, Honduras y Costa Rica, pues el apoyo económico es mayor que la emisión de CO_2, mientras que en Colombia la inversión ha sido menor. La inversión de US$ 1036,8 por Kt de CO_2 liberados al medio ambiente es mucho menor en Perú (US$ 7.160,2 / Kt CO_2) y Chile (US$ 1692,8 / Kt CO_2). Sin embargo, según la emisión per cápita de CO_2, es mayor en los países de América del Norte como los Estados Unidos (16,24 toneladas per cápita) y Canadá (15,64 toneladas per cápita), mientras que en América del Sur; Venezuela (4,99 toneladas per cápita), Chile (4,69 toneladas per cápita) y Argentina (4,62 toneladas per cápita), siendo estos los mayores contribuyentes (Ritchie y Roser, 2020).

Entre los sectores con mayores niveles de contaminación se encuentra la generación de energía y calor, cuya emisión en CO_2 es del 42%, utilizada en la actividad industrial (17%), residencial (11%), servicios (8%) y otros (4%) (Hannan y col., 2019). Estos aspectos son relevantes cuando se trata de consolidar nuevas estrategias energéticas, con menos impacto ambiental y beneficios para los más desfavorecidos de las zonas rurales. Este índice de referencia según el ODS 7 contempla una perspectiva favorable para las Bahamas, Barbados, Brasil, Canadá, Costa Rica, Dominica, Saint Kitts, San Vicente y Uruguay, que son países que ya han alcanzado los objetivos (Sachs y col., 2019), como se puede observar en la Figura 2C.

En Colombia, el acceso a la energía sigue siendo limitado y, por lo tanto, la calidad de vida de los habitantes se ve afectada por el uso de combustibles contaminantes de mayor impacto como gasolina, petróleo, diésel de petróleo, etanol, carbón mineral, madera, estiércol, polietileno y poliestireno (Franco, Dyner y Hoyos, 2008; Herran y Nakata, 2012).

3.2 Visión general de los objetivos de desarrollo sostenible en Colombia

El cambio global en la economía y el medio ambiente tiene un impacto en la vida de los habitantes y en su dinámica productiva, social y humana; aspectos importantes en el desarrollo sostenible de las regiones. En Colombia, los problemas sociales, políticos y ecológicos han marcado el ritmo del desarrollo, con fallas en algunas áreas más que en otras, reflejados en la pobreza, el hambre, el bajo acceso a la salud, la educación y los servicios básicos (Nhamo y Mjimba, 2020).

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

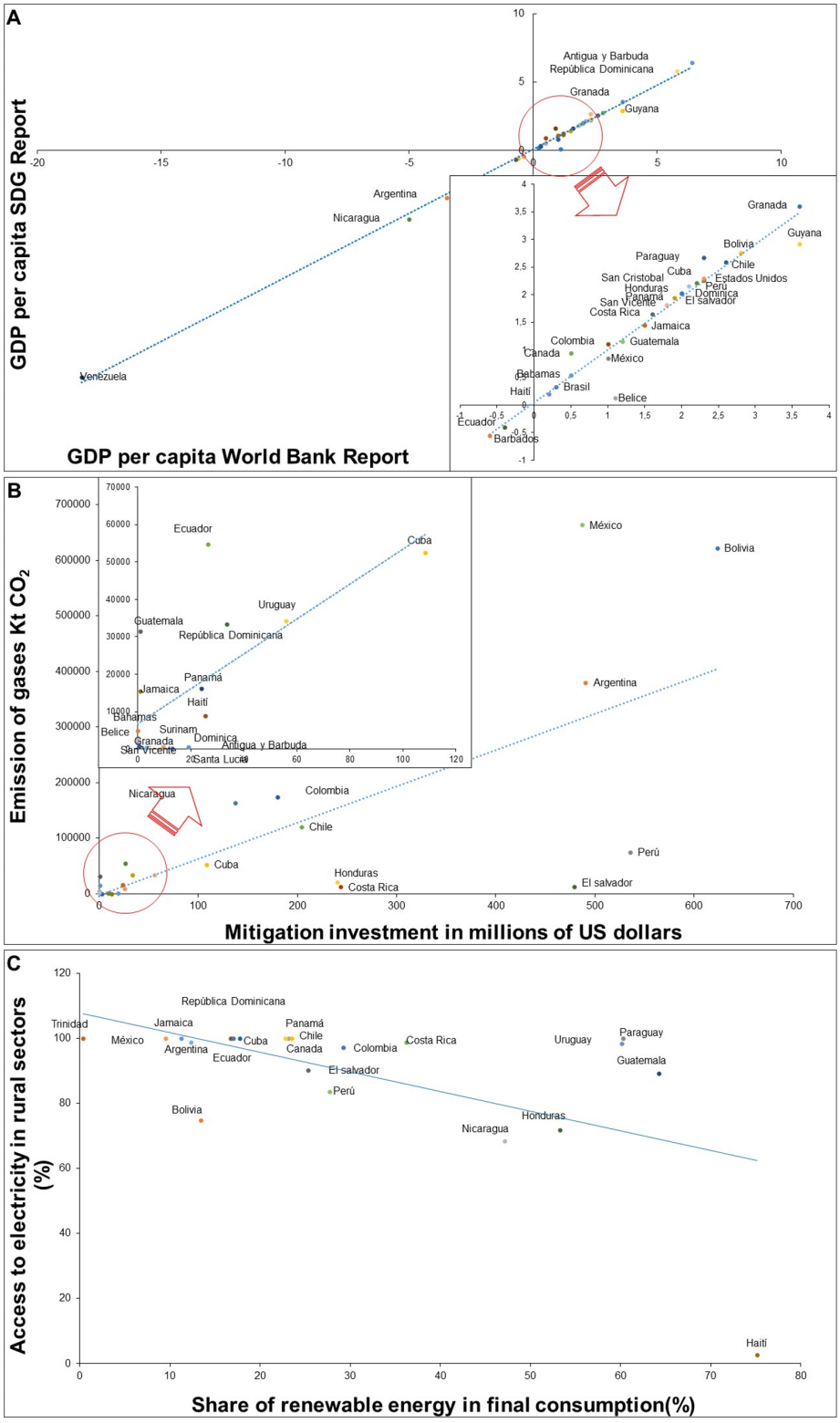

Figura 2. Relación de los indicadores de ODS con otros índices. A: Análisis per cápita de los países del continente americano. B: Análisis de las emisiones de gases de efecto invernadero frente a la inversión para la mitigación por parte de los países. C: Análisis de la disponibilidad de energía y la implementación de nuevas fuentes.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Sin embargo, el gobierno nacional a lo largo de la historia ha consolidado diferentes estrategias para la implementación de los Planes de Desarrollo Territorial (PDT) e incluso a través del Consejo Nacional de Política Económica y Social (CONPES), aspectos que han sido contemplados en el Decreto 280 de 2015 y en la Ley 1955 de 2019. Por otra parte, organizaciones internacionales como las Naciones Unidas (ONU), la Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL), y la Corporación Alemana para la Cooperación Internacional (Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit GIZ) han llevado a cabo foros, reuniones, sesiones, talleres y cumbres, en los que se pretende apoyar a las naciones a través de los ODS en Colombia con diferentes matices de desarrollo, desde la implementación hasta el avance actual (Figura 3).

Figura 3. Cronología, progreso nacional e internacional en relación con los ODS en Colombia. Adaptado de DPN. HLPF: Foro Político de Alto Nivel. DNP: Plan Nacional de Desarrollo. TDP: Plan de Desarrollo Territorial. CONPES.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

En este sentido, Colombia ha logrado autonomía en la búsqueda de estrategias para el cumplimiento de los ODS en 2030. Sin embargo, el progreso en la consolidación de los indicadores de metas todavía presenta grandes brechas, y genera incertidumbre para lograr los ODS en los territorios. Así es como el Departamento Nacional de Planificación, DPN, reúne todos los indicadores de metas para los ODS en Colombia. Los datos son en su mayoría de 2016 y 2018, y según el Ministerio de Relaciones Exteriores colombiano, esto se debe a que el paradigma del desarrollo sostenible no se ha logrado, pues la economía y la sociedad operan en una visión vertical excesiva y poco equilibrada, dificultando los vínculos entre los temas (Cancillería, 2012).

Por lo tanto, la condición unitaria y descentralizada de Colombia asegura que los gobiernos subnacionales hayan priorizado los ODS en instrumentos de planificación regional y local, comprometiendo los recursos e implementando acciones concretas (Aldeanueva y Cervantes, 2019).

Según los datos presentados en los informes sobre el desarrollo sostenible para los años 2017, 2018 y 2019, Colombia se sitúa entre el puesto 67 y 88 en el avance de los ODS en los últimos años, mientras que en el último informe se indica que Colombia ha alcanzado el 69,6% de las metas. En este sentido, la implementación de los ODS trae similitudes y diferencias, como indica Fuso Nerini y col. (2018). En la Figura 4 se describe el grado de relación entre los ODS en Colombia, y se observa un porcentaje más alto en la similitud (26,7% mayor que 0,9) de las SAO que en las diferencias (10,4% menos que 0,9) según el coeficiente de correlación de Pearson, lo que indica una favorabilidad en su implementación, de lo contrario se correría el riesgo de generar resultados negativos, donde el desarrollo vertical es más importante que el holístico e interdisciplinario (Nilsson, Griggs y Visbeck, 2016).

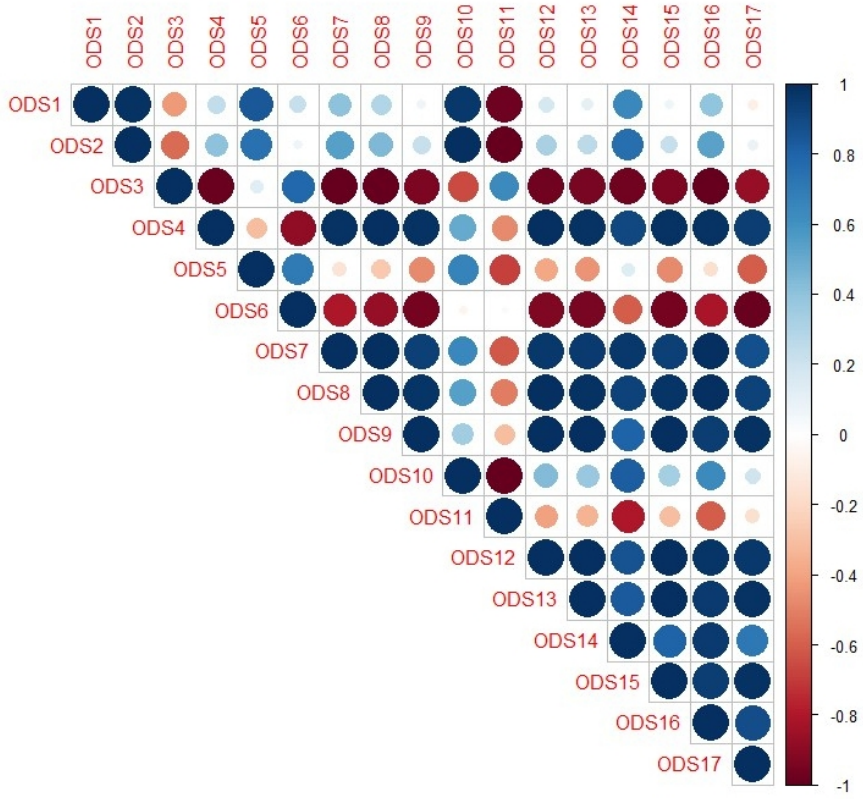

Figura 4. Correlación de los ODS para Colombia en los períodos de 2017, 2018 y 2019.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

En este contexto, los objetivos más dinámicos de la similitud son: a) la educación de calidad, cuya importancia radica en el reconocimiento del conocimiento, la aplicación e incluso la innovación en las líneas de mayor dinamismo social (Cebrián, Junyent y Mula, 2020); b) la energía asequible y no contaminante, con miras a nuevos modelos que generen menos impacto y favorezcan el desarrollo del medio ambiente (Hannan y col., 2019); c) el trabajo decente y el crecimiento económico, que trae como resultado el bienestar social de los individuos y la fuerza de las naciones, convirtiéndolo en uno de los pilares que requiere la mayor demanda estratégica (Rai, Brown y Ruwanpura, 2019) y finalmente d) industria, innovación e infraestructura, basados en la consolidación de una infraestructura resistente que permita una industrialización sostenible a través de la innovación de productos y procesos (Perea-Hinestroza, 2016).

Además, la Figura 5 muestra un panorama actualizado (2017, 2018 y 2019) de los ODS en Colombia, reconociendo su dinámica a lo largo del tiempo. Sin embargo, el progreso de los objetivos varía a lo largo de los años y, en muchos casos, hay un retroceso en su cumplimiento, como se observa en el informe final para los objetivos 1, 2, 5, 6 y 10. Este aspecto refleja limitaciones y brechas relacionadas a la falta de logística, inversión, apoyo e incluso a la dinámica externa (Waal y Thijssens, 2020).

De igual forma, hay un retraso en los objetivos de industria, innovación e infraestructura, así como en la reducción de la desigualdad, lo cual es preocupante ya que no superan los objetivos en un 31,8 % y un 21,7 %, respectivamente, y que en el 2020 se vieron gravemente afectados por el Covid-19, lo que desencadenó el aumento del desempleo, el cambio en la economía, la crisis de los sistemas de salud y la falta de alimentos (Miller y col., 2020; Spinelli y Pellino, 2020), que, junto con el aumento de los índices del cambio climático, entre los que se encuentra la imprevisibilidad de las estaciones secas y lluviosas en las zonas tropicales y subtropicales, favorecerán el aumento de los índices de crisis mundiales (Marengo y col., 2014).

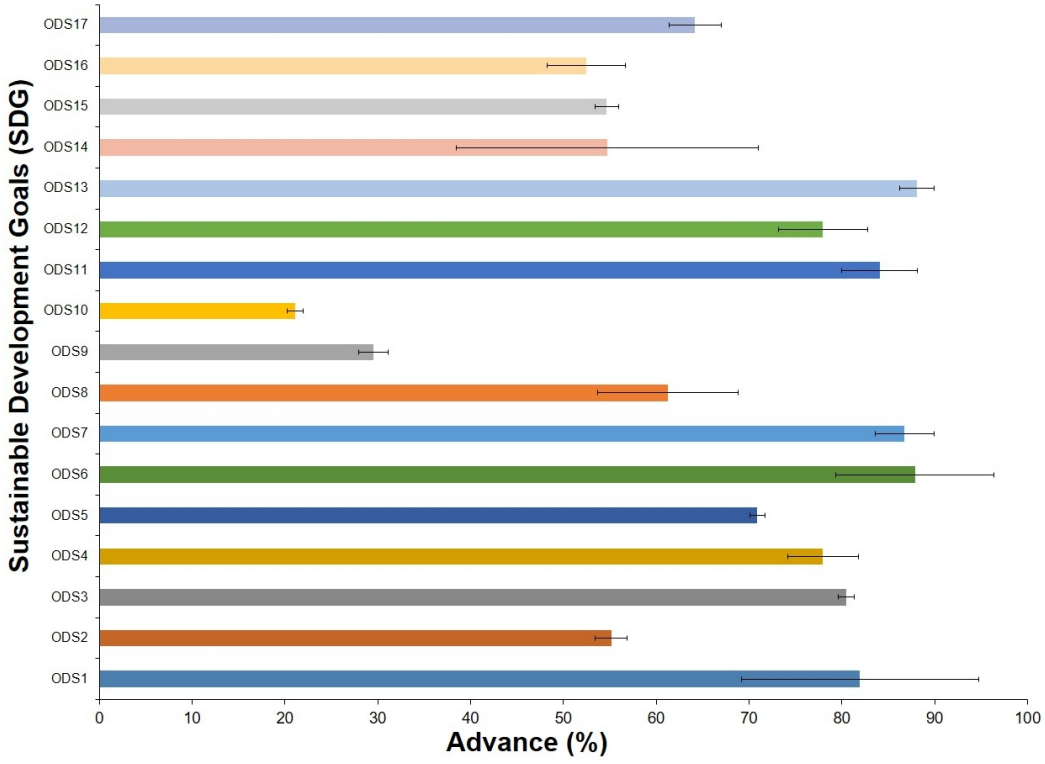

Figura 5. Avances de los ODS en Colombia durante los últimos 3 años. Las barras indican la desviación estándar.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

3.3 Contexto científico académico

El panorama de los objetivos de desarrollo sostenible en Colombia se ha fortalecido por medio de entidades gubernamentales, encabezadas por la Presidencia de la república, que en el 2018 hizo oficial a través del Consejo Nacional de Política Económica y Social CONPES - 3918, la estrategia de implementación de los ODS en todo el territorio nacional, cuya primera tarea fue su incorporación a los Planes de Desarrollo Territorial - TDP. Esta iniciativa tuvo una alta acogida en el 24% de las Provincias Colombianas, entre las cuales se encuentran: Cesar, Córdoba, Santander, Boyacá, Cundinamarca, Quindío, Nariño y Caquetá, mientras que hubo una incorporación general y muy general de 38% y 38%, respectivamente (DPN, 2018). En este sentido, la articulación en los programas de trabajo desarrollados desde el cumplimiento de los Objetivos de Desarrollo del Milenio (ODM) favoreció el trabajo continuo de los ODS entre los ministerios, organismos y la sociedad civil, a pesar de que no se lograron todos los objetivos de los ODM para el 2015, lo que trajo consigo un mayor compromiso de lograrlo en el 2030.

Así, el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación consolidó en el 2017 el primer avance en la relación entre el conocimiento y los ODS (Chavarro y col., 2017), donde se analizaron los objetivos que se cumplieron y que aún quedan por alcanzar en los ODM, las estrategias a implementar para los ODS, así como el panorama actual y la relación entre los objetivos.

En el 2018 se consolidó la Política Nacional de Ciencia e Innovación para el Desarrollo Sostenible (Resolución 0614 de 2018) titulada "Libro sostenible 2030", donde se consolidaron las voces de los ciudadanos, los empresarios, y académicos nacionales e internacionales, cuyo tema se centra en la aplicación holística de la ciencia como herramienta para el conocimiento y la tecnología como estrategia de apoyo, tomando a la sociedad como los principales actores, y la política como aspecto interdisciplinario para lograr un desarrollo sostenible con el medio ambiente (COLCIENCIAS, 2018).

Ante esta situación, se han reunido diferentes centros de investigación e instituciones de educación superior para llevar a cabo proyectos que buscan involucrar a los ODS en el sector productivo, apoyados por la interdisciplinariedad de la ciencia con actores académicos y científicos que conducen el conocimiento para ser aplicado en diferentes campos, con el fin de contribuir al cumplimiento de las metas (Perea-Hinestroza, 2016).

En este sentido, los centros de investigación y las instituciones de educación superior han avanzado en estudios que contribuyen a los indicadores del ODS, aspecto que puede observarse en el Gruplac y el Cvlas de investigadores colombianos (Figura 6).

Tabla 1. Grupos de investigación que llevan a cabo investigaciones sobre los ODS.

Grupo de Investigación	Área de investigación
Estudios sobre sostenibilidad urbana y empresarial –SuyE	Sostenibilidad urbana-regional
	Desarrollo sostenible regional
	Sostenibilidad de las organizaciones
Desarrollo Regional Sostenible	Gestión territorial
	Capital social
Grupo de Investigación de la Escuela Latino Americana de Cooperación y Desarrollo GIELACID	Cooperación nacional y financiación para el desarrollo
	Sectores de la sociedad y desarrollo estratégico
Grupo de Investigación Jurídica Universidad de Medellín	Derecho y sociedad
Unidad de Control Fitosanitario y Biológico	Sustancias bioactivas para la agricultura
	Bioprospección y ecología microbiana
Grupo de Investigación de Gestión Ambiental y Modelado (GAIA)	Modelado de sistemas ambientales
	Tratamiento biológico de residuos y aguas residuales
	Microbiología ambiental aplicada
	Ecología de sistemas acuáticos costeros
Grupo de Investigación de Enfermedades Infecciosas -GINEI	Epidemiología de las enfermedades infecciosas
Geoinformática Aplicada	Geoinformática y cambio climático
Raimundo De Peñafort	Sostenibilidad fiscal
	Sostenibilidad democrática

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

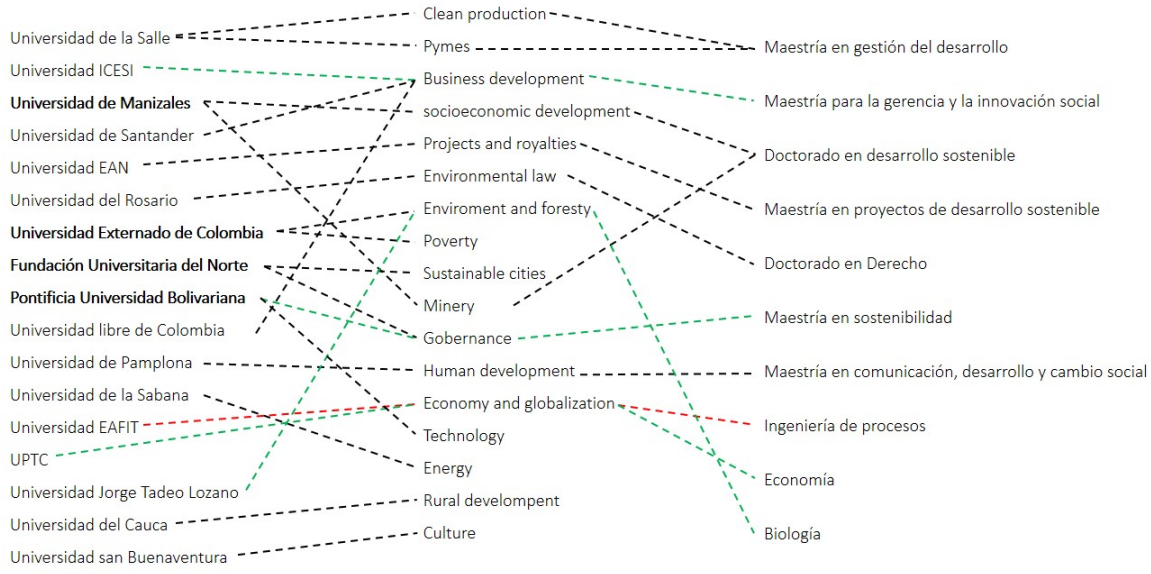

Figura 6. Análisis del trabajo de investigación desarrollado por universidades nacionales, áreas estratégicas y programas académicos.

La Universidad de Manizales, la Universidad Externado de Colombia, la Fundación Universitaria del Norte y la Pontificia Universidad Bolivariana llevan a cabo más de un proceso que implica la implementación de ODS en proyectos que vinculan los programas académicos, y cuyo propósito se ha destacado por investigadores expertos en el tema, y por grupos de investigación que ofrecen apoyo en el trabajo científico-académico. Sin embargo, existen grupos de investigación (Tabla 1), que, a través de sus líneas de investigación, dirigen proyectos de desarrollo sostenible, apoyados por estudiantes, académicos y científicos, y que brindan conocimiento y asesoría al sector productivo y a la sociedad civil (Rodríguez-Rojas, Luque Clavijo y Castro Rojas, 2019).

4 Conclusiones

Al analizar la evolución de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), se destacan las contribuciones de las alianzas sobre aspectos económicos, sociales, políticos y ambientales a nivel local, para lo cual es necesario fortalecer las estrategias interdisciplinarias a fin de obtener contribuciones transdisciplinarias en beneficio de las comunidades locales, las nuevas generaciones y los territorios, mediante la integración de temas sobre energía asequible y limpia, pobreza, educación de calidad, trabajo decente y crecimiento económico.

Entre los actores que participan en los equipos de trabajo se requiere el liderazgo de los procesos académicos y de investigación, centrados en la aplicación holística de la ciencia como herramienta de conocimiento y tecnología. Además, como táctica de apoyo, resulta esencial la participación activa de las comunidades locales para su contextualización, con el fin de contribuir a los procesos de resiliencia, evidenciados por los componentes de subsistencia y bienestar de las personas, como indicadores del desarrollo sostenible. Por lo tanto, se destaca la importancia de la interacción intergeneracional como estrategia para la evolución de la renovación generacional a nivel académico, de investigación y de la comunidad rural; por lo que resulta necesario abordar el progreso económico haciendo énfasis en la relación entre cambio climático, tecnología, estilo de vida, gobernanza descentralizada, pobreza-desigualdad y producción responsable, según la vocación agrícola regional y sus reservas naturales, con el fin de contrarrestar los problemas en los

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

flujos energéticos de los sectores productivos, y las causas de contaminación ambiental a través del uso de energías limpias.

De esta manera, es posible demostrar la necesidad de abordar el desarrollo económico, el cambio climático y la búsqueda de estrategias energéticas para el sector rural mediante la consolidación de equipos de diferentes áreas de conocimiento como apoyo a la investigación sobre problemas sociales, técnicos, políticos y ambientales, como son las causas del atraso de las localidades, observados en los niveles de pobreza, pérdida de seguridad y soberanía alimentaria, inequidad para el acceso de calidad a derechos como la salud, la educación y los servicios básicos.

El desarrollo sostenible es el agregado contextualizado de indicadores sociales, ambientales, culturales y económicos, que de manera sistémica se han hecho visibles a través de experiencias locales significativas, donde la resiliencia de los recursos naturales es relevante para el beneficio de la comunidad.

Referencias

Aguilera, R. (2014). «¿Revisión sistemática, revisión narrativa o metaanálisis?» En: *Revista de la Sociedad Española del Dolor* 21.6, 359-360. Online:https://n9.cl/8mxf5.

Aldeanueva, I. y M. Cervantes (2019). «El desarrollo sostenible como imperativo estratégico: el contexto de la pequeña y mediana empresa latinoamericana». En: *Revista Lasallista de Investigación* 16.2, 28-43. Online:https://n9.cl/vfgiu.

Allen, C., G. Metternicht y T. Wiedmann (2019). «Prioritising SDG targets: Assessing baselines, gaps and interlinkages». En: *Sustainability Science* 14.2, 421-438. Online:https://bit.ly/3FjG4Bj.

Bennett, S. y col. (2020). «Understanding the implications of the Sustainable Development Goals for health policy and systems research: results of a research priority setting exercise». En: *Globalization and Health* 16.1, 1-13. Online:https://bit.ly/3w4TKMD.

CABEI (2017). *Costa Rica country strategy 2015-2019*. Integration Center American Bank for Economic.

CEPAL (2017). *Escalafón de la competitividad de los departamentos de Colombia 2017*.

COLCIENCIAS (2018). *Libro verde 2030. Política Nacional de Ciencia e Innovación para el Desarrollo Sostenible*. COLCIENCIAS.

Cancillería (2012). *RÍO+20 Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS)*.

Caraballo-Arias, Y., J. Madrid y M. Barrios (2018). «Working in Venezuela: how the crisis has affected the labor conditions». En: *Annals of global health* 84.3, 512-522. Online:https://bit.ly/3yfHwUa.

Cebrián, G., M. Junyent e I. Mula (2020). «Competencies in Education for Sustainable Development: Emerging Teaching and Research Developments». En: *Sustainability* 15.579, 1-9. Online:https://bit.ly/3scHOaa.

Chavarro, D. y col. (2017). *Los Objetivos de Desarrollo Sostenible en Colombia y el aporte de la ciencia, la tecnología y la innovación*.

DPN (2018). *CONPES 3918. Estrategia para la implementación de los objetivos de desarrollo sostenible (ODS) en Colombia*. DPN.

Franco, C., I. Dyner y S. Hoyos (2008). «Contribución de la energía al desarrollo de comunidades aisladas no interconectadas: un caso de aplicación de la dinámica de sistemas y los medios de vida sostenibles en el suroccidente colombiano». En: *Dyna* 75.154, 199-214. Online:https://n9.cl/vkhml.

Fuso Nerini, F. y col. (2018). «Mapping synergies and trade-offs between energy and the Sustainable Development Goals». En: *Nature Energy* 3.1, 10-15. Online:https://go.nature.com/3KP5GHz.

Grigss, D. y col. (2013). «Sustainable development goals for people and planet». En: *Nature* 495.7441, 305-307. Online:https://doi.org/10.1038/495305a.

Hannan, M. y col. (2019). «Power electronics contribution to renewable energy conversion addressing emission reduction: Applications, issues, and recommendations». En: *Applied energy* 251, 113404. Online:https://bit.ly/3LNnCUr.

Herran, D. y T. Nakata (2012). «Design of decentralized energy systems for rural electrification in developing countries considering regional disparity». En: *Applied Energy* 91.1, 130-145. Online:https://bit.ly/380YriA.

Horne, R. y col. (2020). «From Ballarat to Bangkok: how can cross-sectoral partnerships around the

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Sustainable Development Goals accelerate urban liveability?» En: *Cities & Health* 4.2, 199-205. Online:https://bit.ly/3L19vK1.

Kaltenborn, M., M. Krajewski y H. Kuhn (2019). *Sustainable development goals and human rights*.

Kroll, C., A. Warchold y P. Pradhan (2019). «Sustainable Development Goals (SDGs): Are we successful in turning trade-offs into synergies?» En: *Palgrave Communications* 5.1, 1-11. Online:https://go.nature.com/3MWEYym.

Kumar, S., N. Kumar y S. Vivekadhish (2016). «Millennium development goals (MDGS) to sustainable development goals (SDGS): Addressing unfinished agenda and strengthening sustainable development and partnership». En: *Indian journal of community medicine: official publication of Indian Association of Preventive & Social Medicine* 41.1, 1-14. Online:https://bit.ly/3KSPAMV.

Lusseau, D. y F. Mancini (2019). «Income-based variation in Sustainable Development Goal interaction networks». En: *Nature Sustainability* 2.3, 242-247. Online:https://go.nature.com/3MV2FXy.

Marengo, J. y col. (2014). «Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability». En: Cambridge University Press. Cap. Central and South America, 1499–1566.

Mensah, J. (2019). «Sustainable development: Meaning, history, principles, pillars, and implications for human action: Literature review». En: *Cogent Social Science* 5.1, 1-21. Online:https://bit.ly/3sE078B.

Miller, M. y col. (2020). «COVID-19 in Latin America: Novel transmission dynamics for a global pandemic?» En: *PLoS neglected tropical diseases* 14.5, e0008265. Online:https://bit.ly/3M0YHMU.

Minambiente (2016). *Política nacional de cambio climático (I)*.

Moyer, J. y D. Bohl (2019). «Alternative pathways to human development: Assessing trade-offs and synergies in achieving the Sustainable Development Goals». En: *Futures* 105, 199-210. Online:https://bit.ly/3MNOFyO.

Nasr-Allah, A. y col. (2020). «Employment generation in the Egyptian aquaculture value chain: implications for meeting the Sustainable Development Goals (SDGs)». En: *Aquaculture* 520, 734940. Online:https://bit.ly/3MNOMKK.

Nhamo, G. y V. Mjimba (2020). *Sustainable development goals and institutions of higher education*. Springer.

Nilsson, M., D. Griggs y M. Visbeck (2016). «Policy: map the interactions between Sustainable Development Goals». En: *Nature* 534.7607, 320-322. Online:https://go.nature.com/3P0Owdb.

Nilsson, M. y col. (2018). «Mapping interactions between the sustainable development goals: lessons learned and ways forward». En: *Sustainability science* 13.6, 1489-1503. Online:https://bit.ly/3w6gBr4.

Organización Internacional de Trabajo (2018). *Perspectivas sociales y del empleo en el mundo*.

Ortiz-Juérez, E. (2017). *Applying PovRisk tool to 15 countries in Latin America*.

Perea-Hinestroza, L. (2016). «Los objetivos de desarrollo sostenible y su inclusión en Colombia». En: *Revista Producción + Limpia* 14.1, 122–127. Online:https://bit.ly/3LSAIQi.

Perry, K. (2020). «For politics, people, or the planet? The political economy of fossil fuel reform, energy dependence and climate policy in Haiti». En: *Energy Research & Social Science* 63, 101397. Online:https://bit.ly/3KNbUHY.

Plazas-Leguizamón, N. y C. Jurado-Álvarez (2018). «Texto y contexto en el desarrollo sostenible». En: Wydawnictw. Cap. Eficiencia energética con los ciclos naturales, págs. 77-89.

Pradhan, P. y col. (2017). «A systematic study of sustainable development goal (SDG) interactions». En: *Earth's Future* 5.11, 1169-1179. Online:https://bit.ly/3vOAggm.

Rai, S., B. Brown y K. Ruwanpura (2019). «SDG 8: Decent work and economic growth–A gendered analysis». En: *World Development* 113, 368-380. Online:https://bit.ly/3MRf7ro.

Rasul, G. (2016). «Managing the food, water, and energy nexus for achieving the Sustainable Development Goals in South Asia». En: *Environmental Development* 18, 14-25. Online:https://bit.ly/3FyTTfH.

Rettberg, A. (2020). «Peace-making amidst an unfinished social contract: the case of Colombia». En: *Journal of Intervention and Statebuilding* 14.1, 84-100. Online:https://bit.ly/3vOlXYQ.

Ritchie, H. y M. Roser (2020). *CO2 and Greenhouse Gas Emissions*.

Rochlin, J. (2020). «Colombia and the transformation of warfare: the end of ideology?» En: *Glo-*

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

bal Change, Peace y Security 32.1, 79-101. Online:https://bit.ly/3FhKsB2.

Rodríguez-Rojas, Y., A. Luque Clavijo y M. Castro Rojas (2019). «Metodologías para el fortalecimiento de líneas en grupos de investigación académicos o empresariales». En: *Revista Lasallista de Investigación* 16.2, 142-159. Online:https://n9.cl/xjspj.

Sachs, J. y col. (2019). *Sustainable Development Report 2019*.

Sangwan, S. y M. Bhatia (2020). «A Roadmap to Industry 4.0: Smart Production, Sharp Business and Sustainable Development». En: Springer. Cap. Sustainable Development in Industry 4.0. 39–56.

Schmidt-Traub, G. y col. (2017). «National baselines for the Sustainable Development Goals assessed in the SDG Index and Dashboards». En: *Nature geoscience* 10.8, 547-555. Online:https://go.nature.com/3FjKok8.

Seyfang, G. (2003). «Environmental mega-conferences—from Stockholm to Johannesburg and beyond». En: *Global Environmental Change* 13.3, 223-228. Online:https://bit.ly/382xXNF.

Spinelli, A. y G. Pellino (2020). «COVID-19 pandemic: perspectives on an unfolding crisis». En: *Journal of British Surgery* 107.7, 785-787. Online:https://bit.ly/3OX8aH8.

Villada, F., J. López y N. Muñoz (2017). «Effects of incentives for renewable energy in Colombia». En: *Ingeniería y Universidad* 21.2, 257-272. Online:https://n9.cl/klw7t.

Vinuesa, R. y col. (2020). «COVID-19 pandemic: perspectives on an unfolding crisis». En: *Nature Communications* 11.233, 1-10. Online:https://go.nature.com/3vP4U9n.

Waal, J. van der y T. Thijssens (2020). «Corporate involvement in Sustainable Development Goals: Exploring the territory». En: *Journal of Cleaner Production* 252.119625, 1–11. Online:https://bit.ly/3MKGbIS.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

La granja:
Revista de
Ciencias de la Vida

pISSN:1390-3799; eISSN:1390-8596

http://doi.org/10.17163/lgr.n36.2022.05

Artículo científico / Scientific paper

Cambio Climático

CC BY NC SA

Aptitud de los cultivos de café (*COFFEA ARABICA L.*) y cacao (*THEOBROMA CACAO L.*) considerando escenarios de cambio climático

Aptitude of Coffee (*COFFEA ARABICA L.*) and Cacao (*THEOBROMA CACAO L.*) crops considering climate change

Ulises Gildardo Quiroz Antunez[1], Alejandro Ismael Monterroso Rivas[2], María Fernanda Calderón Vega[3] y Adán Guillermo Ramírez García*[4]

[1]*Departamento de Ciencias del Agua y Medio Ambiente, Instituto Tecnológico de Sonora. Código Postal 85000, Ciudad Obregón, México.*
[2]*Departamento de Suelos. Universidad Autónoma Chapingo, Código Postal 56230, Chapingo, México.*
[3]*Facultad de Ingeniería en Ciencias de la Vida. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Código Postal EC090112, Guayaquil, Ecuador.*
[4]*Centro Regional Universitario del Noroeste. Universidad Autónoma Chapingo. Código Postal 8500, Ciudad Obregón, México.*

*Autor para correspondencia: gramirezg@taurus.chapingo.mx

Manuscrito recibido el 27 de julio de 2020. Aceptado, tras revisión, el 01 de junio de 2021. Publicado el 1 de septiembre de 2022.

Resumen

Se evaluaron las zonas de aptitud actual y futura para los cultivos de cacao (*Theobroma cacao L.*) y café (*Coffea arabica L.*), en escenarios de cambio climático en la región del Soconusco, Chiapas, México y se definieron las áreas donde aumentó o disminuyó la aptitud de la tierra. Lo anterior permite tener información para recomendar su manejo y conservación. Se emplearon dos metodologías: ponderación de factores y factores limitantes; ambas con base en los valores óptimos y extremos de tolerancia de cada cultivo para cada requerimiento edafoclimático. Con la primera, se determinaron las áreas potenciales para el establecimiento de los cultivos; con la segunda, se diferenciaron las combinaciones de las variables ambientales que tuvieron lugar dentro del área de estudio. Se evaluaron escenarios de cambio climático y se determinó la distribución y superficies de aptitud. Además, se realizó una comparación entre aptitud actual y futura de ambos cultivos para cuantificar el impacto del cambio climático. Los resultados indican que la aptitud futura de la tierra tendrá una disminución de las áreas potenciales para el establecimiento de ambos cultivos de entre 4,5 y 4,8 % para café y de 7,2 a 9,3 % para cacao.

Palabras clave: Biodiversidad, Chiapas, Socunusco, sistemas agroforestales, sustentabilidad.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Abstract

The areas of current and future aptitude for cocoa (*Theobroma cacao L.*) and coffee (*Coffea arabica L.*) crops were evaluated, in climate change scenarios in the Soconusco region, Chiapas, Mexico and the areas where the aptitude of the land increased or decreased were defined. The above provides information to recommend its management and conservation. Two methodologies were used: weighting of factors and limiting factors; both based on the optimal and extreme tolerance values of each crop for each edaphoclimatic requirement. First one, for the determination of potential areas for the establishment of crops; the second one, for differentiation of the combinations of environmental variables that took place within the study area. Climate change scenarios were evaluated and the distribution and aptitude areas were determined. Also, a comparison was made between current and future suitability for both crops to quantify the impact of climate change. The results indicate that the future aptitude of the land will have a decrease in the potential areas for the establishment of both crops that range between 4.5 and 4.8 % for coffee and from 7.2 to 9.3 % for cocoa.

Keywords: Biodiversity, Chiapas, Socunusco, Agroforestry systems, Sustainability.

Forma sugerida de citar: Quiroz Antunez, U., Monterroso Rivas, A., Calderón Vega, M., y Ramírez García, A. (2022). Aptitud de los cultivos de café (*Coffea arabica L.*) y cacao (*Theobroma cacao L.*) considerando escenarios de cambio climático. La Granja: Revista de Ciencias de la Vida. Vol. 36(2):60-74. http://doi.org/10.17163/lgr.n36.2022.05

IDs Orcid:

Ulises Gildardo Quiroz Antunez: http://orcid.org/0000-0001-9187-8473
Alejandro Ismael Monterroso Rivas: http://orcid.org/0000-0003-4348-8918
María Fernanda Calderón Vega: http://orcid.org/0000-0002-5191-7527
Adán Guillermo Ramírez García: http://orcid.org/0000-0002-1711-5942

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

1 Introducción

El trópico mexicano presenta condiciones agroecológicas apropiadas para el desarrollo de cultivos perennes, como el cacao (*Theobroma cacao L.*) y el café (*Coffea arabica L.*), especies que se distribuyen en forma natural en los estratos medios de las selvas cálidas húmedas; sin embargo, la situación por la que atraviesan los bosques y selvas del mundo es preocupante y difícil, debido a múltiples factores como la tala no controlada, el aumento de la frontera agrícola, la ganadería extensiva, los cambios climáticos que repercuten en el aumento del número de incendios forestales, aumento en la incidencia de plagas y enfermedades, inundaciones y el crecimiento de la población, entre otras (Roa-Romero, Salgado-Mora y Álvarez-Herrera, 2009).

El cambio climático se compone de una serie de eventos meteorológicos que tienen influencia en el funcionamiento de los sistemas naturales; se manifiesta en alteraciones en la biodiversidad de los ecosistemas, en la productividad y fuentes de alimentos y, por consiguiente, en la cotidianidad humana. Existe un creciente interés por entender los procesos que componen el cambio climático y su influencia en la dinámica del ciclo de carbono en los ecosistemas naturales, ya que las plantas son fundamentales en el balance global de este gas, por su capacidad de absorber CO_2 mediante la fotosíntesis, secuestrarlo en forma de celulosa o transformarlo en otro tipo de compuesto orgánico (Yepes y Buckeridge, 2011; Fatichi y col., 2016; Baumgartner, Esperón-Rodríguez y Beaumont, 2018; Beaumont y col., 2019; Guisan y col., 2014).

En el caso de Chiapas, el área cultivada de cacao es de 18426 ha, con una producción de 9869 T con rendimiento promedio de 535,6 $kg \cdot ha^{-1}$ (SIAP, 2018). De acuerdo con Avendaño y col. (2011) representa una fuente importante de ingresos con el 33,0% de la producción nacional de tal forma que 11069 productores dependen económicamente de este cultivo en Chiapas. En la mayoría de los casos, los cacaoteros cultivan el cacao con experiencia y conocimiento de agricultura tradicional y lo hacen con un enfoque de economía campesina (Nájera, 2012), aun cuando Avendaño y col. (2013) indican que las plantaciones de cacao presentan valor económico, social, cultural y ambiental. Estas apreciaciones son corroboradas con los resultados obtenidos por Hernández y col. (2015) quienes señalan que en Chiapas la producción de cacao es manejada por pequeños productores, con parcelas menores a 2 ha (58,7%) y 41,3% con parcelas de mayor tamaño. La mayoría de los productores corresponden al sexo masculino (80,7%) y 19,3% al sexo femenino, quienes además de productoras son amas de casa y se dedican al cuidado de sus hijos, con lo cual triplican sus jornadas de trabajo.

El cultivo de cacao enfrenta una crisis debido a factores ambientales, tecnológicos, económicos, sociales y fitosanitarios (Díaz y col., 2013; Hernández y col., 2015; Suárez-Venero y col., 2019); no obstante, presenta perspectivas alentadoras, dado que existe un mercado potencial nacional e internacional que reporta un crecimiento de la demanda de 2,5% anual, propiciado por que el consumo del cacao que está relacionado con la demanda industrial para fabricar principalmente chocolates (ICI, 2013). En Chiapas existen condiciones agroclimáticas para incrementar la producción. Lo anterior implica aumentar el área cultivada, por ello se requiere identificar áreas con alto potencial productivo y económico, generando información que se convierta en un elemento necesario para la toma de decisiones (Espinosa-García y col., 2015).

El cultivo del café se introdujo en México en el año de 1796, y se consolidó como un cultivo importante en el contexto económico, ambiental y social que forma parte de la cultura agroproductiva de las regiones subtropicales y tropicales. Chiapas, por su parte, es el principal productor de café (var. robusta y arábiga), con una superficie sembrada equivalente a 252743,77 ha, con aproximadamente 180856 productores cafetaleros y 367874,15 T de producción en el ciclo 2019 (SIAP, 2018). Las zonas cafetaleras del estado de Chiapas se caracterizan por sus contrastes ambientales, técnicos, económicos y socioculturales, que influyen en la producción del grano (Medina-Meléndez y col., 2016). Actualmente, el café se produce en 11 estados de la República. Chiapas, Veracruz, Puebla y Oaxaca concentran el 89,7% de la producción nacional total en el 85% del área total sembrada, concentrando el 83% de los productores nacionales, (SIAP, 2018). A nivel internacional, México es el octavo productor mundial de café (Organización Internacional del Café, 2018).

De allí la importancia de generar escenarios de

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

cambio climático que representen la variación térmica en la región de estudio. La vulnerabilidad regional revela los efectos diferenciales del clima sobre la sociedad y sus actividades productivas, por ello es imperativo el estudio de las causas y la distribución de los impactos del cambio climático en los sistemas agroproductivos a partir de considerar la compleja interacción de los factores ambientales, sociales, económicos y políticos involucrados en cada región o área geográfica (Torres, Cruz y Barradas, 2011).

Estudios realizados sobre el incremento de la temperatura por efecto del cambio climático muestran que el cultivo del café sufrirá una importante redistribución geográfica en México y en otros países productores (Paes, 2010; Haggar y Schepp, 2012; Ovalle-Rivera y col., 2015); en este sentido, son pocos los estudios sobre el cacaotal; sin embargo, el panorama no es distinto. Sobre la ponderación de factores y factores limitantes para la producción agrícola, la zonificación agroecológica es una herramienta práctica que define zonas a través de la combinación de características similares de clima, suelo y potencial biofísico para la producción agrícola. Esta combinación se traduce en zonas con limitaciones y potencialidades, lo que permite ser una referencia para recomendaciones que permitan mejorar la situación existente, incrementando la producción o la superficie del cultivo, o limitar la degradación de los recursos naturales (Suárez-Venero y col., 2019).

La variabilidad del clima es el principal factor responsable de las oscilaciones anuales de la producción de algunos cultivos (Comisión Económica para América Latina y el Caribe, 2010); por ello, el propósito de esta investigación es evaluar las zonas de aptitud actual y futura (2018-2040) para los cultivos de cacao (*Theobroma cacao L.*) y café (*Coffea arabica L.*), en escenarios de cambio climático en la región del Soconusco, Chiapas, México y definir las regiones donde aumenta o disminuye la aptitud para contar con información que permita recomendar su manejo y conservación.

2 Materiales y Métodos

2.1 Zona de estudio

La región socioeconómica de Soconusco tiene una superficie de 4605,4 km^2 aproximadamente, equivalente al 6,28 % del territorio estatal y se integra por 16 municipios: Acacoyagua, Acapetahua, Cacahoatán, Escuintla, Frontera Hidalgo, Huehuetán, Huixtla, Mapastepec, Mazatán, Metapa, Suchiate, Tapachula, Tuxtla Chico, Tuzantán, Unión Juárez y Villa Comaltitlán. Según el Censo de población y vivienda (INEGI, 2010), esta región tenía una población de 664437 habitantes, que representó el 16,9 % del total estatal.

2.2 Requerimientos de los cultivos

Se definieron los requerimientos edafoclimáticos que intervienen en el desarrollo y productividad de cada uno de los cultivos con la finalidad de asignar niveles de importancia a cada una de las variables a considerar. Se creó una tabla para cada cultivo con sus respectivos requerimientos y se clasificaron en diferentes niveles de aptitud: muy apto, marginalmente apto y no apto, utilizando como referencia los rangos inferiores y superiores de cada uno de los requerimientos que toleró cada cultivo (Tabla 1 y 2).

La cartografía fue manejada y generada empleando el software ArcGIS 9.3. Las capas utilizadas para la clasificación en niveles de aptitud según las tablas 1 y 2 fue obtenida de las siguientes fuentes. 1) Los mapas de precipitación y temperatura fueron obtenidos del Centro de Ciencias de la Atmósfera de la UNAM (Gómez y col., 2008). 2) Los mapas de altura y pendiente del terreno fueron generados mediante las herramientas 3D Analysis y Spatial Analyts de ArcGIS, a partir de los modelos de elevación digital de INEGI (1994) escala 1:50.000, disponibles en línea en el sitio web oficial. 3) El mapa de suelos fue clasificado a partir del mapa de suelos dominantes de escala 1:1.000.000.

2.3 Zonificación por ponderación

A partir de las matrices de requerimientos anteriores se generaron mapas de aptitud actual por requerimiento para ambos cultivos, asignando a cada una de las variables la ponderación siguiente: precipitación= 0,4, temperatura= 0,2, altura= 0,2, pendiente= 0,1 y suelos= 0,1. Después, se asignaron nuevos valores ponderados a cada nivel aptitud por cada variable o mapa: 4, 2 y 0 para muy apto, marginalmente apto y no apto, respectivamente. Finalmente

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Tabla 1. Requerimientos ambientales para *Coffea arabica L.* y niveles de aptitud con respecto de variables ambientales.

	Nivel de aptitud				
Requerimiento (variable)	No apto	Marginalmente apto	Muy apto	Marginalmente apto	No apto
Precipitación media anual (mm)	<750	750-1400	1400-2200	2200-4200	>4200
Temperatura media anual ($^{\circ}C$)	<10	10-14	14-28	28-34	>34
Altura (msnm)	<1000	1000-1200	1200-1700	1700-2800	>2800
Pendiente del terreno (%)			<30	30-40	>40
Suelos(textura)	Ligeros (arenosos)		Francos (medios)		Pesados (arcillosos)

Fuente: Adaptado de INIFAP (2018) y Pérez-Portilla y Geissert-Kientz (2006).

Tabla 2. Requerimientos ambientales para *Theobroma cacao L.* y niveles de aptitud con respecto de variables ambientales.

	Nivel de aptitud				
Requerimiento (variable)	No apto	Marginalmente apto	Muy apto	Marginalmente apto	No apto
Precipitación media anual (mm)	<1000	1000-1500	1500-2500	2500-3000	>3000
Temperatura media anual ($^{\circ}C$)	<18	18-22	22-28	28-32	>32
Altura (msnm)	<5		5-400	401-601	>601
Pendiente del terreno (%)			0-15	15-30	>30
Suelos(textura)	arenosos		aluviales		arcillosos, gravosos

Fuente: Adaptado de INIFAP (2018) y SIAP-SAGARPA (2019).

empleando la herramienta Spatial Analyst se realizó una sobreposición y algebra de mapas para obtener los rangos de potencialidad actual. Los mapas se clasificaron en tres intervalos iguales y se les asignó nuevamente la nomenclatura clave muy apto, marginalmente apto y no apto (Figura 1).

2.3.1 Zonificación de cultivos por factores limitantes

La zonificación por factores limitantes se realizó utilizando una sobreposición de capas con la herramienta Geoprocessing. Los mapas se reclasificaron de acuerdo a las tablas de requerimientos de los cultivos en sus diferentes niveles de aptitud. Para ello fue necesario asignarle claves a cada nivel de aptitud y generar una nomenclatura que permitió conocer con exactitud la incidencia de cada factor al sobreponer los mapas (Tabla 3).

Con las claves asignadas, se procedió a realizar la sobreposición de capas con la finalidad de obtener un solo mapa que mostró todas las posibles combinaciones (celdas agroecológicas) entre niveles de aptitud de cada uno de los indicadores estudiados como se muestra en la Figura 2.

2.3.2 Escenarios de cambio climático

La temperatura y la precipitación, y en general, el ciclo del agua fueron las variables a través de las cuales se hizo evidente el cambio climático; por lo que, para la elaboración de un escenario futuro de aptitud para los cultivos, considerando dicho cambio, fueron necesarios los datos de salida de modelos de circulación general atmosféricos-oceánicos (MCGAO) de estos dos parámetros. Para la realización de los mapas de cambio climático se emplearon los datos de salida de dos MCGAO: HadleyCM3 y GFDLR30. Los modelos de cambio climático fueron obtenidos del Centro de Ciencias de la Atmósfera de la UNAM para el escenario A2 y B2 al horizonte de tiempo del año 2030 (Gómez y col., 2008). Para la elaboración de los mapas de aptitud futura con cambio climático se utilizaron los mismos pasos, nomenclatura y criterios empleados en la determinación de la aptitud actual (escenario ba-

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

se) por ponderación y limitantes. Toda vez que se modificaron las variables temperatura y precipitación, fueron aplicadas nuevamente las tablas de requerimientos climáticos para obtener los posibles escenarios futuros. La Figura 3 describe el proceso general del presente estudio.

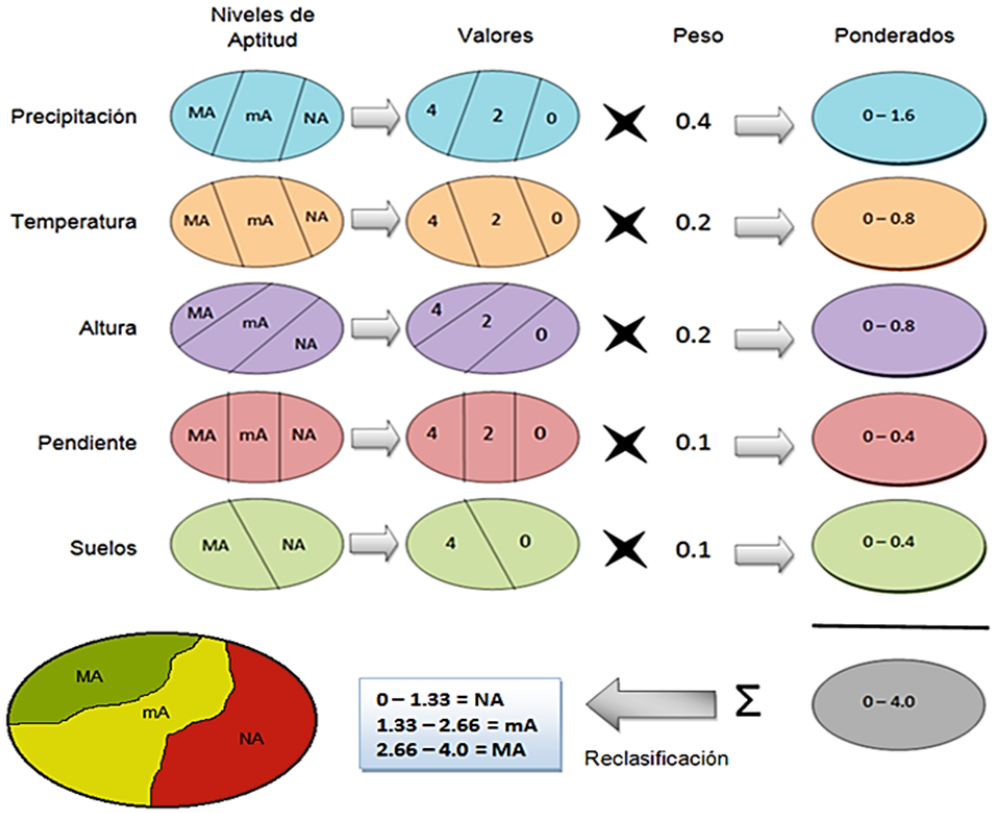

Figura 1. Método de ponderación de factores con nomenclatura y valores asignados.

Tabla 3. Nomenclatura empleada para la determinación de fórmulas.

Variable	Muy Apto	Marginalmente Apto	No Apto
Precipitación	P_{MA}	P_{mA}	P_{NA}
Temperatura	T_{MA}	T_{mA}	T_{NA}
Altura	A_{MA}	A_{mA}	A_{NA}
Pendiente	Pe_{MA}	Pe_{mA}	Pe_{NA}
Suelos	S_{MA}	S_{mA}	S_{NA}

3 Resultados y discusión

3.1 Aptitud actual por ponderación para los dos cultivos

Una vez realizado el álgebra de mapas, las superficies de tierra de los diferentes niveles de aptitud para el caso del café fueron: 37,8% para muy apto; 61,0% para marginalmente apto y 1,1% para no apto. Por su parte, los distintos niveles de aptitud para cacao fueron: 59,2; 24,3 y 16,5% muy apto, marginalmente apto y no apto; respectivamente, Figura 4.

La Figura 4 se interpreta como una distribución

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

de áreas: (1) donde es recomendable establecer los cultivos (Muy apto); (2) donde se pueden establecer, pero requieren de mayor manejo para su desarrollo (marginalmente apto); y finalmente, (3) donde no se recomienda establecer los cultivos porque la tierra no tiene el potencial necesario para su producción.

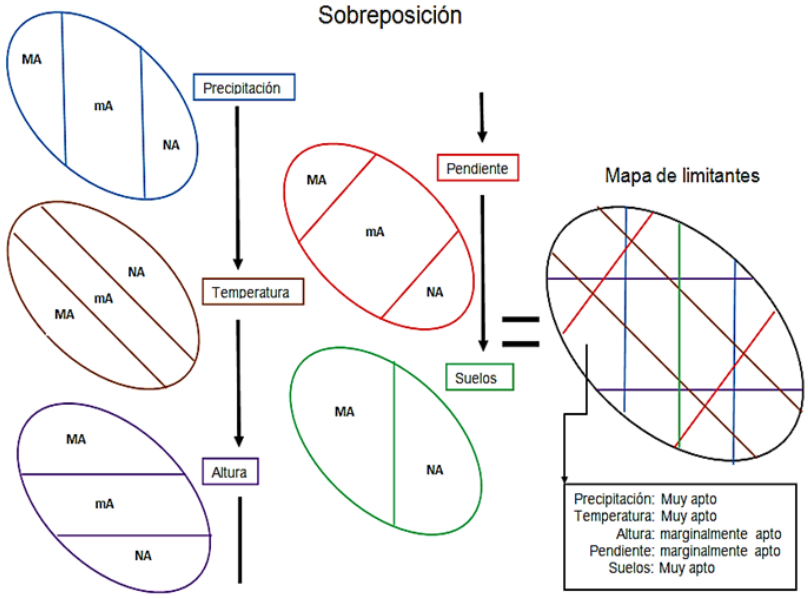

Figura 2. Método de limitantes con nomenclatura y descripción de las celdas agroecológicas.

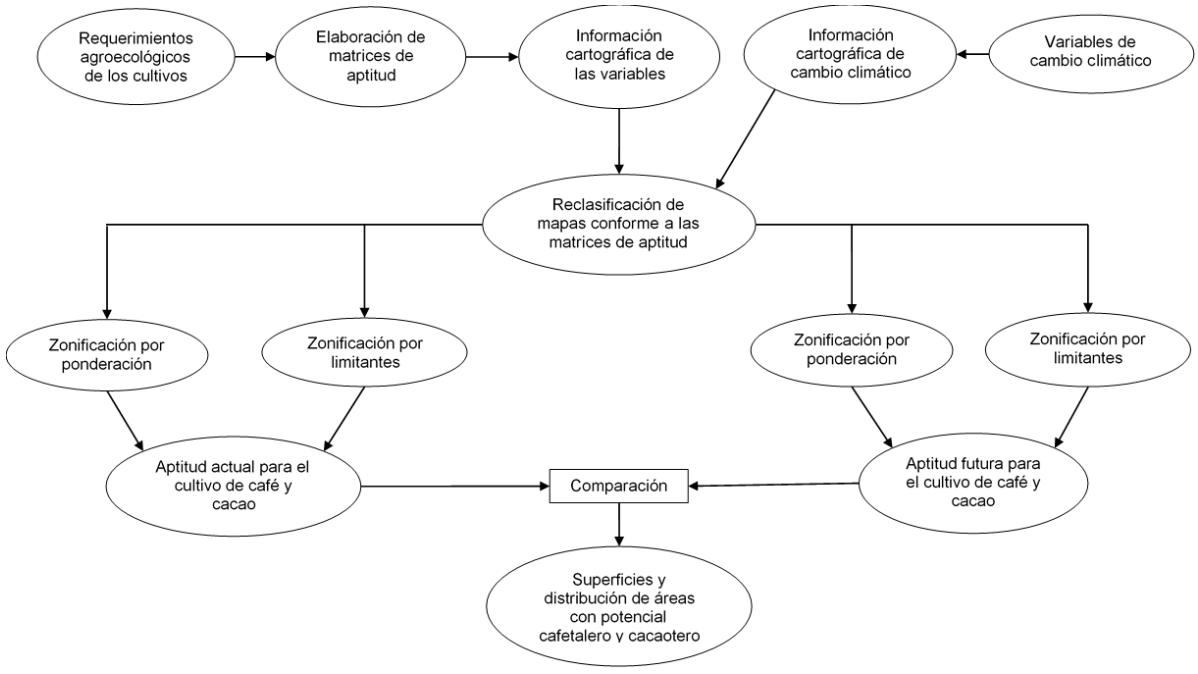

Figura 3. Diagrama general del método empleado.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

3.2 Aptitud actual por limitantes para el cultivo de café y cacao

Los mapas de limitantes para ambos cultivos mostraron la variabilidad de unidades distintas, perfectamente identificables por las condiciones ambientales que tuvieron lugar en cada una de ellas, por lo que las combinaciones de colores empleadas no fueron jerárquicas ni exclusivas. Así mismo, cada una de las unidades fue descrita por una fórmula única. En el caso de la aptitud actual para el cultivo del café se presentaron 24 unidades diferentes, aunque las primeras siete abarcaron más del 75% de la superficie de la región. Por otro lado, la aptitud actual para el cacao presentó 36 clases distintas, de las cuales las primeras seis cubrieron más del 50% de la superficie total, Figura 5.

La aptitud por limitantes es totalmente cualitativa y representa un complemento de lo obtenido en la ponderación, porque permite identificar la incidencia de cada una de las variables consideradas en la zonificación agroecológica. En la Figura 5a) y 5b) se puede apreciar que las áreas coloreadas en rojo están limitadas por un mayor número de variables y es posible identificarlas utilizando la nomenclatura descrita en la Tabla 3.

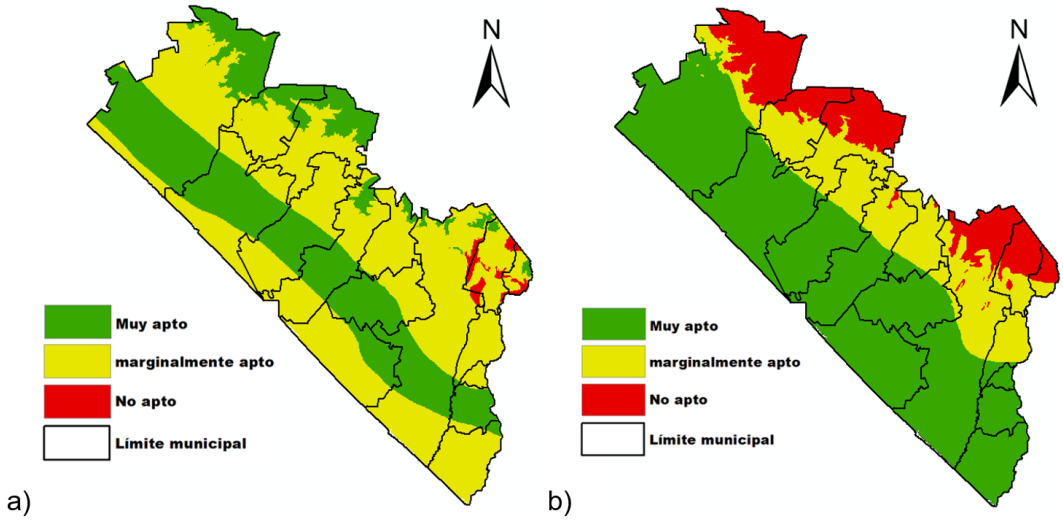

Figura 4. Aptitud actual de la tierra con el método de ponderación para café (a) y cacao (b) en la región del Soconusco, Chiapas, México.

3.3 Escenarios de cambio climático por ponderación

Los cambios en las superficies con potencial cafetalero y cacaotero son presentados en el Tabla 4, considerando que la superficie total de la región de estudio fue de 590 mil ha aproximadamente. Como se muestra en la Tabla 4, no hubo cambios porcentuales entre escenarios (A2 y B2) para ninguno de los dos modelos aun cuando se observó una diferencia en los valores de salida de precipitación y temperatura de cada modelo; lo anterior se debió a que durante la reclasificación de los mapas se les asignó el mismo nivel de aptitud porque la diferencia que había entre los valores no fue suficiente para clasificarlos en rangos de aptitudes distintos de acuerdo a las Tablas 1 y 2. Se observó también un cambio mínimo entre ambos modelos debido a la diferencia en el procesamiento de los datos de cada modelo.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

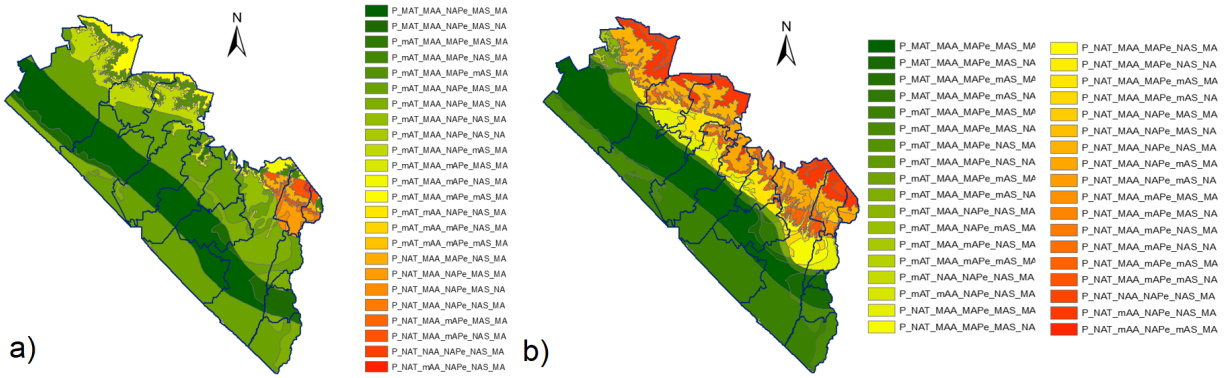

Figura 5. Aptitud actual de la tierra con el método de limitantes para café (a) y para cacao (b) en la región del Soconusco, Chiapas, México.

Tabla 4. Superficie (%) por rango de aptitud para los cultivos de café y cacao con escenarios de cambio climático en la región del Soconusco, Chiapas, México.

	Café			Cacao		
Escenarios	Muy apto	Marginalmente apto	No apto	Muy apto	Marginalmente apto	No apto
Base	37,8	61,0	1,1	59,2	24,3	16,5
GFDL A2	33,3	66,3	0,4	52,0	31,7	16,3
GFDL B2	33,3	66,3	0,4	52,0	31,7	16,3
Hadley A2	33,0	64,9	2,1	49,9	33,5	16,6
Hadley B2	33,0	64,9	2,1	49,9	33,5	16,6

En el caso del café, el modelo GFDL mostró que la zona más afectada de la región de estudio fue la sureste en los municipios Frontera Hidalgo, Suchiate, Tapachula, Huehuetán; también en el noroeste de la región, los municipios Mapastepec y Acapetahua perdieron potencial en las áreas cercanas a la costa. Las zonas sin potencial también se vieron reducidas en Cacahoatán y el norte de Tapachula; la disminución en las zonas sin potencial se debió principalmente al aumento de temperatura a mayor altura, lo que permitió que el cultivo se desarrollara de mejor manera, de 450 a 550 msnm. El modelo Hadley por su parte indicó una reducción de aptitud en los mismos municipios que el anterior, aunque también marcó un ensanchamiento de las zonas sin potencial en el norte del municipio de Tapachula y Tuxtla Chico y el este de Cacahoatán, debido a un mínimo incremento en la precipitación a menor altura en esas áreas. El modelo Hadley mostró un panorama menos alentador, Figura 6.

A nivel municipal, los cambios más importantes se presentaron en Acapetahua, Huehuetán, Mapastepec, Metapa, Suchiate, Tapachula y Frontera Hidalgo, este último con una reducción de aptitud de hasta 82,5% de su superficie. Sin embargo, el modelo GFDL proyectó pequeños cambios positivos como el incremento de aptitud de hasta un 4% en el municipio de Cacahoatán, Tabla 5.

Para el caso del cacao, el modelo GFDL indicó que el potencial de cacao se vio mayormente disminuido en la zona sureste en los municipios de Suchiate, Frontera Hidalgo, Metapa, Tuxtla Chico, Tapachula y Huehuetán; así como también la línea costera de Mapastepec, Acapetahua y en menor proporción Villa Comaltitlán. Por otra parte, las áreas sin potencial se redujeron en el norte de los municipios Huixtla y Tuzantán, debido también al aumento de la temperatura en las zonas altas, de 1250 a 1500 msnm. El modelo Hadley indicó la misma tendencia que el anterior, reduciéndose las zonas con potencial en los mismos municipios, aunque con mayor proporción (2,1%) y reduciéndose las zonas sin potencial en los municipios de Huixtla y Tuzantán; además de un incremento de éstas últimas en el norte del municipio de Mapastepec, debido también al incremento de la temperatura, pero en este caso en zonas bajas, Figura 7. Nuevamente el modelo Hadley fue menos favorable en su predicción.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

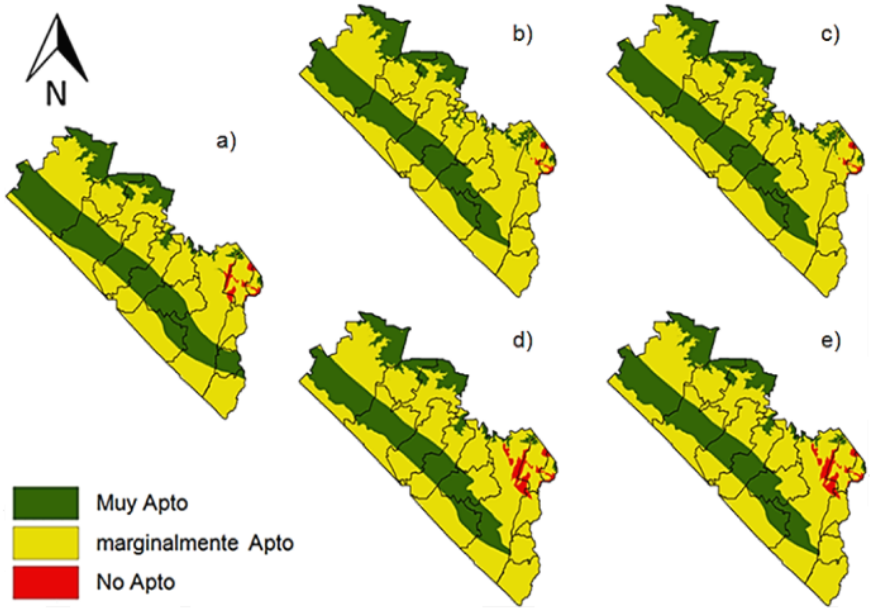

Figura 6. Zonificación para el cultivo de café: a) Aptitud actual y; Aptitud con escenarios de cambio climático para el año 2030: b) GFDL A2, c) GFDL B2, d) Hadley A2 y e) Hadley B2.

Tabla 5. Comparación de superficies (%) a nivel municipal del escenario base con escenarios de cambio climático para el cultivo de café en la región del Soconusco, Chiapas, México.

		Escenario base			Modelo GFDL A2 y B2			Modelo Hadley A2 y B2		
Municipio	Área total (ha)	Muy apto	Marginal apto	No apto	Muy apto	Marginal apto	No apto	Muy apto	Marginal apto	No apto
Acacoyagua	26.160,90	30,3	69,7	-	30,3	69,7	-	30,3	69,7	-
Acapetahua	55.293,90	53,7	46,3	-	47,3	52,7	-	47,3	52,7	-
Cacahoatán	17.996,90	3,8	76,6	19,6	7,8	85,2	7,0	3,2	76,5	20,3
Escuintla	39.464,80	38,6	61,4	-	38,6	61,4	-	38,6	61,4	-
Frontera Hidalgo	11.493,40	84,3	15,7	-	1,8	98,2	-	1,8	98,2	-
Huehuetán	30.644,40	62,3	37,7	-	50,0	50,0	-	49,0	51,0	-
Huixtla	43.295,10	40,4	59,6	-	40,4	59,6	-	40,4	59,6	-
Mapastepec	120.802,30	57,4	42,6	-	52,3	47,7	-	52,3	47,7	-
Mazatán	37.277,50	28,0	72,0	-	28,0	72,0	-	28,1	71,9	-
Metapa	3.054,30	1,8	98,2	-	-	100,0	-	-	100,0	-
Suchiate	22.997,90	4,8	95,2	-	0,2	99,8	-	0,2	99,8	-
Tapachula	95.371,20	26,0	72,1	1,9	23,7	76,3	-	20,9	72,0	7,1
Tuxtla Chico	13.073,20	2,2	97,5	0,3	-	100,0	-	-	95,4	4,6
Tuzantán	20.435,30	8,7	91,3	-	8,7	91,3	-	8,7	91,3	-
Unión Juárez	5.716,00	12,1	64,1	23,8	14,5	62,4	23,1	9,4	66,7	23,9
Villa Comaltitlán	45.800,30	33,8	66,2	-	33,8	66,2	-	33,8	66,2	-

De igual forma, los cambios más significativos en escala municipal se encontraron reflejados en Acapetahua, Huehuetán, Mapastepec, Metapa, Tapachula, Tuxtla Chico, Tuzantán, Villa Comaltitlán, Frontera Hidalgo y Suchiate, estos dos últimos con una reducción de aptitud de hasta 38% de su superficie. En este caso, no se apreciaron cambios positivos en la aptitud para ninguno de los dos modelos, Tabla 6.

En concordancia con lo anterior, todos los expe-

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

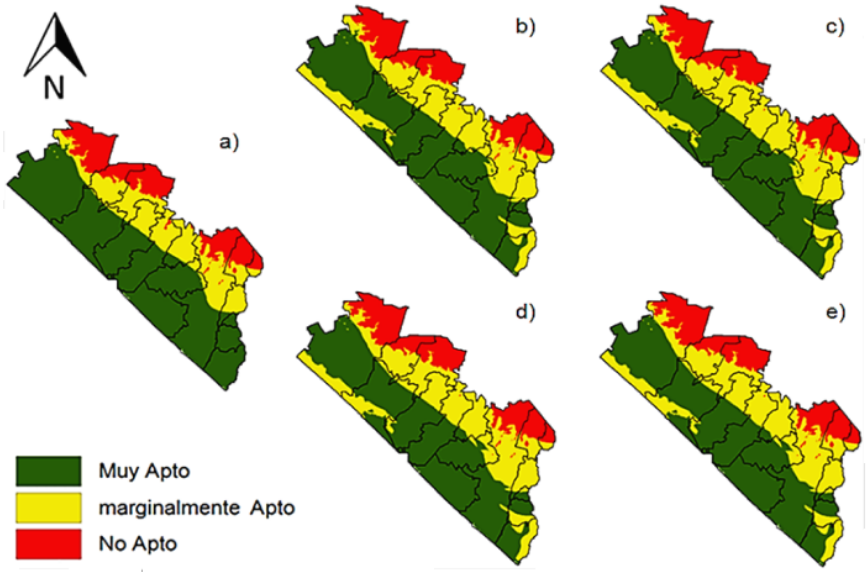

Figura 7. Zonificación para el cultivo de cacao: a) Aptitud actual y; Aptitud con escenarios de cambio climático para el año 2030: b) GFDL A2, c) GFDL B2, d) Hadley A2 y e) Hadley B2.

rimentos A2 del Informe Especial de Escenarios de Emisiones del Pacific Climate Impacts Consortium (IPCC, 2013) registraron que en promedio habrá un aumento de 2°*C* en la temperatura media de la región de estudio en comparación con la actual para mediados de la década de los 80 del presente siglo. Por su parte, la precipitación anual fue más errática en cuanto a su predicción, puesto que mostró cambios porcentuales positivos y negativos, aunque la mayoría de los modelos indicó un incremento significativo de la misma, entre ellos el modelo Hadley.

Es importante destacar que para O'Connor y col. (2020) las inquietudes transcendentales debidas al cambio climático se corresponden con la acelerada pérdida de la biodiversidad y la variación de la distribución de la vida silvestre; por lo que Rice (2018) sugirió que se genera disminución de los espacios disponibles para la agricultura, y, por ende, reducción en la oferta de alimentos. Para vislumbrar el impacto de la variabilidad climática, en el caso del cultivo de café, se requiere conocer la distribución en el mundo. Este cultivo se puede encontrar como policultivo tradicional, policultivo comercial y monocultivo. Cada una de las formas de manejo del cultivo tiene ventajas y desventajas. Según Janissen y Huynh (2018) y Torres y col. (2020) los policultivos tradicionales y los cultivos silvestres disminuyen la transpiración de las hojas, la velocidad del calentamiento nocturno y diurno, lo que se traduce en un menor estrés para la planta debido a cambios bruscos de temperatura.

Desde el punto de vista ambiental, estos sistemas permiten la conservación de una gran cantidad de plantas y animales, conservando los ecosistemas nativos. Por el contrario, el policultivo comercial retiene las especies correctamente asociadas a los cultivos que generan las utilidades monetarias para los cafeteros. El monocultivo y el policultivo comercial son los más productivos a corto plazo. Sin embargo, son los cultivos más susceptibles a las plagas porque ofrecen un entorno más propicio para el crecimiento de patógenos.

3.4 Escenarios de cambio climático por limitantes para el cultivo de café y cacao

Al igual que la aptitud actual (escenario base) por limitantes, los mapas de aptitud futura pretenden mostrar cómo se comportará la variabilidad de unidades existentes, es decir, si se reducirán o aumentarán el número de clases distintas debido al efecto del cambio climático. En la Figura 8 se aprecia que el modelo GFDL mostró para el cultivo del café 27 clases distintas, tres más que en el escenario base. Por otra parte, el modelo Hadley presentó 28 unidades distintas.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Tabla 6. Comparación de superficies (%) a nivel municipal del escenario base con escenarios de cambio climático para el cultivo de cacao en la región del Soconusco, Chiapas, México.

Municipio	Área total (ha)	Escenario base			Modelo GFDL A2 y B2			Modelo Hadley A2 y B2		
		Muy apto	Marginal apto	No apto	Muy apto	Marginal apto	No apto	Muy apto	Marginal apto	No apto
Acacoyagua	26.160,91	1,1	59,5	39,4	1,1	59,9	39,0	0,5	60,5	39,0
Acapetahua	55.293,91	95,7	4,3	-	77,9	22,1	-	75,2	24,8	-
Cacahoatán	17.996,89	-	39,3	60,7	-	39,4	60,6	-	39,4	60,6
Escuintla	39.464,77	3,2	43,9	52,9	3,2	44,1	52,7	2,6	44,7	52,7
Frontera Hidalgo	11.493,41	100,0	-	-	61,5	38,5	-	61,5	38,5	-
Huehuetán	30.644,37	89,1	10,9	-	84,3	15,7	-	75,1	24,9	-
Huixtla	43.295,09	63,7	34,9	1,4	63,6	36,3	0,1	62,5	37,4	0,1
Mapastepec	120.802,31	64,5	8,6	26,9	54,5	18,7	26,8	52,3	19,7	28,0
Mazatán	37.277,47	100,0	-	-	99,5	0,5	-	99,5	0,5	-
Metapa	3.054,27	99,9	0,1	-	91,9	8,1	-	76,3	23,7	-
Suchiate	22.997,88	100,0	-	-	61,2	38,8	-	61,2	38,8	-
Tapachula	95.371,22	51,2	30,2	18,6	48,6	32,8	18,6	46,4	35,0	18,6
Tuxtla Chico	13.073,17	16,9	83,1	-	10,9	89,1	-	6,2	93,8	-
Tuzantán	20.435,30	18,2	80,8	1,0	14,5	85,5	-	12,2	87,8	-
Unión Juárez	5.716,02	-	32,3	67,7	-	32,4	67,6	-	32,4	67,6
Villa Comaltitlán	45.800,34	70,0	30,0	-	66,6	33,4	-	65,4	34,6	-

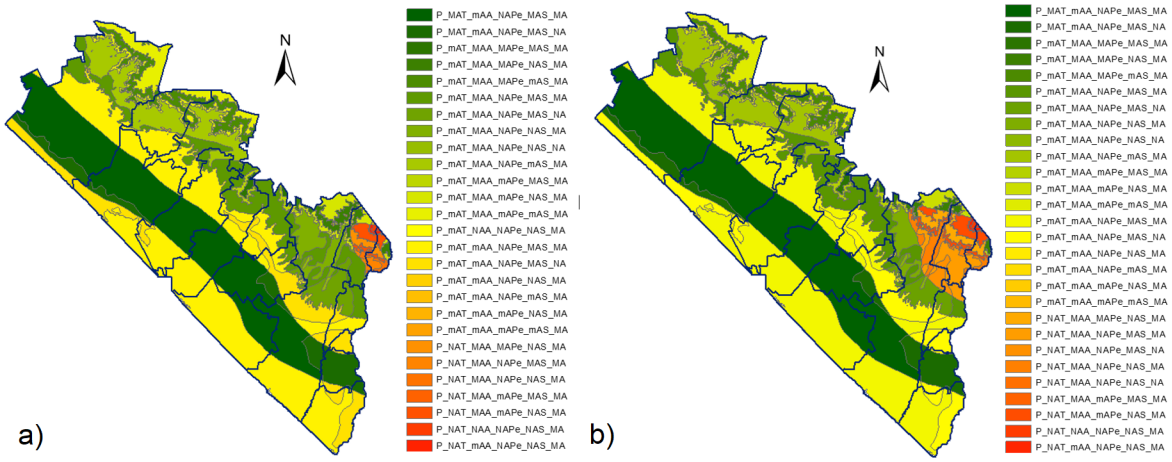

Figura 8. Aptitud futura por limitantes a) modelo GFDL A2 y B2, b) modelo Hadley A2 y B2 para café en escenarios de cambio climático en la región del Soconusco, Chiapas, México.

Para el cacao, el modelo GFDL mostró 47 clases distintas, es decir, 11 unidades más que en el escenario base; el modelo Hadley presentó 43 clases diferentes, Figura 9. Se deduce que los cacaotales y cafetales fueron adecuados para reforestar áreas completamente taladas y pueden convertirse en corredores biológicos entre segmentos de selva, permitiendo la repoblación de aves, mamíferos, reptiles y anfibios, entre otros, tal como lo sugirió Ogata (2007). Los sistemas agroforestales tanto de cafetales como de cacaotales fueron herramientas importantes para la conservación de la biodiversidad, porque presentaron diferentes especies y formas de vida vegetal y animal coincidiendo con lo indicado por Salgado-Mora y col. (2007), y produjeron muchas ventajas positivas, siendo necesario caracterizar los factores más relevantes en el aspecto socioeconómico y ambiental para mejorar las potenciali-

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

dades de los cultivos aquí estudiados y promoverse como una alternativa de manejo sostenible (Roa-Romero, Salgado-Mora y Álvarez-Herrera, 2009), pues pueden ser un "puente" entre el desarrollo agrícola y la conservación, facilitando la cooperación y la colaboración entre los finqueros y los conservacionistas (Parrish y col., 1999).

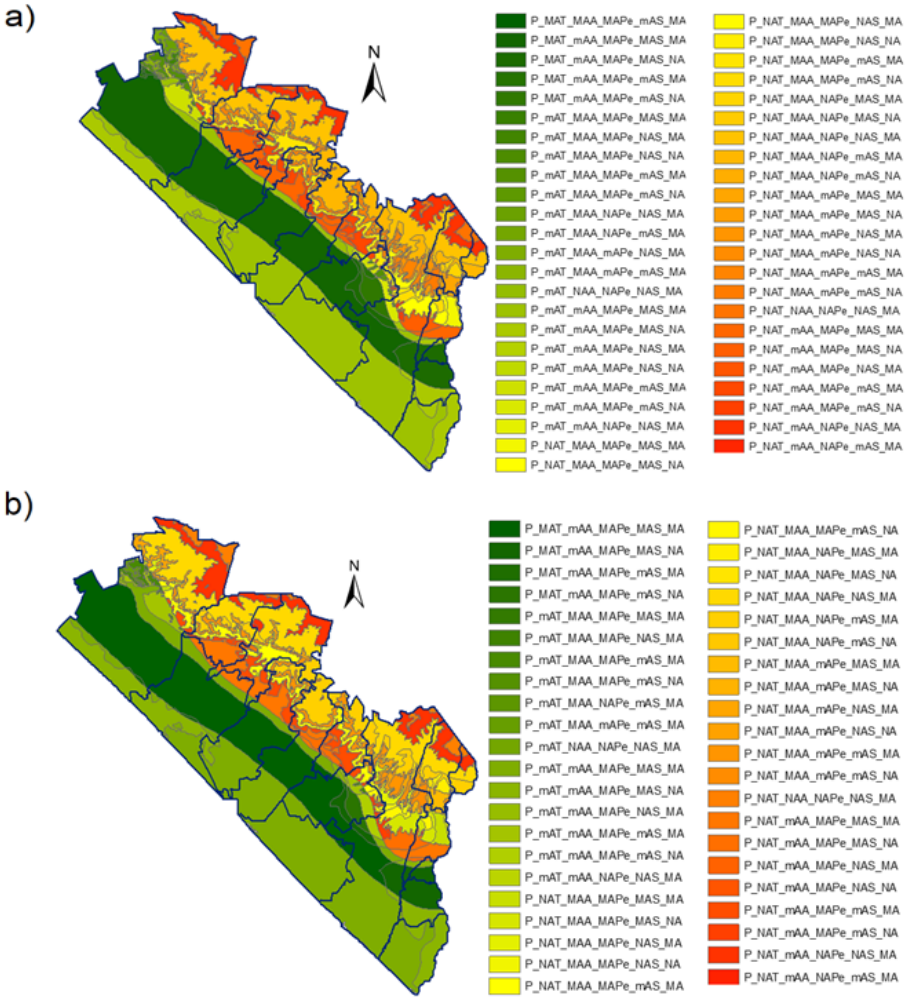

Figura 9. Aptitud futura por limitantes a) modelo GFDL A2 y B2, b) modelo Hadley A2 y B2 para cacao en escenarios de cambio climático en la región del Soconusco, Chiapas, México.

4 Conclusiones

Para el cultivo de café y cacao, el modelo GFDL predice en las áreas con muy alto potencial una reducción de 4,5 y 7,2%, y en las de potencial marginal un aumento de 5,3 y 7,4%, mientras que las áreas sin potencial presentan una disminución de 0,7 y 0,2%, respectivamente; este último caso representa un impacto positivo del cambio climático, aun cuando es menor que el producido en las zonas con muy alto potencial. Con respecto al modelo Hadley, éste pronostica para café y cacao en las áreas con muy alto potencial una reducción de la superficie del 4,8 y 9,3%, y en las áreas de potencial marginal un incremento de 3,9 y 9,2% y en las áreas sin potencial un incrementó de 1,0% y una disminución de 0,1%, respectivamente.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

La aptitud futura de ambos cultivos se verá afectada negativamente por el cambio climático. La disminución en la superficie con nivel muy apto para el establecimiento de ambos cultivos a lo largo del tiempo concuerda con la reducción en el volumen de producción que se presentó en la última década, según los datos históricos de producción. Para el año 2030 se perderá entre 5,5 y 5,8% de áreas potenciales para el establecimiento de café; mientras que en cacao se perderán entre 7,2 y 9,3% de las áreas potenciales.

Referencias

.

Avendaño, C. y col. (2011). *Diagnóstico del cacao en México*. Universidad Autónoma Chapingo.

Avendaño, C. y col. (2013). «Mejoramiento genético participativo en cacao (Theobroma cacao L.)» En: *Agroproductividad* 6.5, 71-81. Online:https://bit.ly/3ACMwBm.

Baumgartner, J., M. Esperón-Rodríguez y L. Beaumont (2018). «Identifying in situ climate refugia for plant species». En: *Ecography* 41.11, 1850-1863. Online:https://bit.ly/3H3Uk1s.

Beaumont, L. y col. (2019). «Incorporating future climate uncertainty into the identification of climate change refugia for threatened species». En: *Biological Conservation* 237, 230-237. Online:https://bit.ly/3nVR6Fu.

Comisión Económica para América Latina y el Caribe (2010). *Agricultura y cambio climático: instituciones, política e innovación*. Inf. téc. Comisión Económica para América Latina y el Caribe. Online:https://bit.ly/3fVEIRB.

Díaz, O. y col. (2013). «Current state of and perspectives on cocoa production in Mexico». En: *Ciencia e investigación agraria: revista latinoamericana de ciencias de la agricultura* 40.2, 279-289. Online:.

Espinosa-García, J. y col. (2015). «Productividad y rentabilidad potencial del cacao (Theobroma cacao L.) en el trópico mexicano». En: *Revista mexicana de ciencias agrícolas* 6.5, 1051-1063. Online:https://n9.cl/6d2j4.

Fatichi, S. y col. (2016). «Uncertainty partition challenges the predictability of vital details of climate change». En: *Earth's Future* 4.5, págs. 240-251.

Gómez, J. y col. (2008). «Spatial estimation of mean temperature and precipitation in areas of scarce meteorological information». En: *Atmósfera* 21.1, 35-56. Online:https://n9.cl/1qq9t.

Guisan, A. y col. (2014). «Unifying niche shift studies: insights from biological invasions». En: *Trends in ecology y evolution* 29.5, 260-269. Online:https://bit.ly/3Au5iuD.

Haggar, J. y K. Schepp (2012). «Coffee and climate change. Impacts and options for adaption in Brazil, Guatemala, Tanzania and Vietnam». En: *NRI Working Paper Series: Climate Change, Agriculture and Natural Resource* 4, 55. Online:https://bit.ly/3rLRiZb.

Hernández, E. y col. (2015). «Factores socieconómicos y parasitológicos que limitan la producción del cacao en Chiapas, México». En: *Revista mexicana de fitopatología* 33.2, 232-246. Online:https://bit.ly/3qX2Ol8.

ICI (2013). *Análisis del sector cacao elaborados*. Inf. téc. Inteligencia Comercial e Inversiones. Pro Ecuador, Instituto de Promoción de Importaciones e Inversiones. Online:https://bit.ly/3IxgY2g.

INEGI (1994). *Modelos de elevación digital. Cartas D15B21, D15B22, D15B31, D15B32, D15B41, D15B42, D15B43, D15B52, D15B53, D15B62 y D15B63*. INEGI.

— (2010). *XIII Censo de población y vivienda*. INEGI.

INIFAP (2018). *Agromapas digitales*. INIFAP.

IPCC (2013). «Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change». En: ed. por T. Stocker y col. Cambridge University Press. Cap. Summary for Policymakers, págs. 3-29.

Janissen, B. y T. Huynh (2018). «Chemical composition and value-adding applications of coffee industry by-products: A review». En: *Resources, Conservation and Recycling* 128, 110-117. Online:https://bit.ly/3KJF7oj.

Medina-Meléndez, J. y col. (2016). «Estudio del sistema de producción de café (Coffea arabica L.) en la región Frailesca, Chiapas». En: *CienciaUAT* 10.2, 33-43. Online:https://n9.cl/mwgu0.

Nájera, M. (2012). «El mono y el cacao: la búsqueda de un mito a través de los relieves del Grupo de la Serie Inicial de Chichén Itzá». En: *Estudios de cultura Maya* 39, 133-172. Online:https://bit.ly/32y1sUB.

O'Connor, B. y col. (2020). «Monitoring global changes in biodiversity and climate essential as eco-

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

logical crisis intensifies». En: *Ecological Informatics* 55, 101033. Online:https://bit.ly/3rMXKzb.

Ogata, N. (2007). «El cacao». En: *Biodiversitas* 72.3, 2-5. Online:https://bit.ly/3KKd5Jl.

Organización Internacional del Café (2018). *Producción total de los países exportadores de los a´ nos de cosecha de 2014/15*. OIC.

Ovalle-Rivera, O. y col. (2015). «Projected shifts in Coffea arabica suitability among major global producing regions due to climate change». En: *PloS one* 10.4, 1-13. Online:https://bit.ly/3KEXVoG.

Paes, M. (2010). «The impact of climatic variability and climate change on arabic coffee crop in Brazil». En: *Bragantia* 69.1, 239-247. Online:https://bit.ly/3ggZknH.

Parrish, J. y col. (1999). «Los cacaotales como herramienta para la conservación de la biodiversidad en corredores biológicos y zonas de amortiguamiento». En: *Agroforestería en las Américas* 6.22, 16-19. Online:https://bit.ly/3rNyIjk.

Pérez-Portilla, Emiliano y Daniel Geissert-Kientz (2006). «Zonificación agroecológica de sistemas agroforestales: el caso café (Coffea arabica L.)-Palma Camedor (Chamaedorea elegans Mart.)» En: *Interciencia* 31.8, 556-562. Online:https://n9.cl/nrqap.

Rice, R. (2018). «Coffee in the crosshairs of climate change: agroforestry as abatis». En: *Agroecology and Sustainable Food Systems* 42.9, 1058-1076. Online:https://bit.ly/3g27obu.

Roa-Romero, H., M. Salgado-Mora y J. Álvarez-Herrera (2009). «Análisis de la estructura arbórea del sistema agroforestal de cacao (Theobroma cacao L.) en el Soconusco, Chiapas-México». En: *Acta Biológica Colombiana* 14.3, 97-110. Online:https://bit.ly/3nY3h4z.

SIAP-SAGARPA (2019). *Cierre de la producción agrícola por estado 2019*. SIAP-SAGARPA.

SIAP (2018). *Intención de cosecha de cultivos perennes por estado en México 2018*. SIAP.

Salgado-Mora, M. y col. (2007). «Diversidad arbórea en cacaotales del Soconusco, Chiapas, México». En: *Interciencia* 32.11, 763-768. Online:https://n9.cl/xz2g6.

Suárez-Venero, G. y col. (2019). «Estructura e impacto de la diversidad taxonómica en cacao del Soconusco, Chiapas, México». En: *Agronomía Mesoamericana* 30.2, 353-365. Online:https://bit.ly/3Ha512n.

Torres, N. y col. (2020). «Impact of climate change and early development of coffee rust-An overview of control strategies to preserve organic cultivars in Mexico». En: *Science of the Total Environment* 738, 140225. Online:https://bit.ly/3u3Z2sm.

Torres, P., J. Cruz y R. Barradas (2011). «Vulnerabilidad agroambiental frente al cambio climático: Agendas de adaptación y sistemas institucionales». En: *Política y cultura* 36, 205-232. Online:https://bit.ly/34bfZG6.

Yepes, A. y M. Buckeridge (2011). «Respuestas de las plantas ante los factores ambientales del cambio climático global: Revisión». En: *Colombia forestal* 14.2, 213-232. Online:https://n9.cl/fpyoc.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

La granja:
Revista de
Ciencias de la Vida

pISSN:1390-3799; eISSN:1390-8596

http://doi.org/10.17163/lgr.n36.2022.06

Artículo científico / Scientific paper

Hidrología

Efecto del coeficiente teórico de descarga de vertederos sobre la medición de caudales en pequeños ríos Andinos

Effect of weir´s theoretical discharge coefficient on discharge measurements in small Andean streams

Mario Guallpa*[1], Rolando Célleri[2], y Patricio Crespo[2]

[1]*Ingeniero de Recursos Hídricos, Empresa Pública Municipal de Telcomunicaciones, Agua Potable, Alcantarillado y Saneamiento de Cuenca ETAPA EP, Ecuador.*
[2]*Profesor, Departamento de Recursos Hídricos y Ciencias Ambientales, Facultad de Ingeniería, Universidad de Cuenca, Ecuador.*

*Autor para correspondencia: mario.x.guallpa@gmail.com

Manuscrito recibido el 30 de marzo de 2021. Aceptado, tras revisión, el 14 de diciembre de 2021. Publicado el 1 de septiembre de 2022.

Resumen

Los Ecosistemas Andinos proveen importantes servicios hidrológicos para comunidades aguas abajo de los ríos. Debido a esta importancia, se han realizado varios estudios hidrológicos en los últimos años, con énfasis en la identificación de procesos hidrológicos e impactos de cambio de uso de la tierra. En estas investigaciones y para la operación de pequeños proyectos de riego y agua potable, los ríos de montaña se han equipado con vertederos compuestos de pared delgada para estimar los caudales. Para transformar el nivel de agua en caudal, las ecuaciones de los vertederos emplean coeficientes de descarga teóricos, los cuales no necesariamente se ajustan a las condiciones reales de campo, principalmente a la fluviomorfología del sitio y aspectos constructivos del vertedero, complicando sus mediciones. Por ello, este estudio analiza el efecto de utilizar coeficientes teóricos en lugar de coeficientes ajustados en campo. El estudio se realizó en 9 microcuencas ($0{,}2 - 7{,}53 km^2$) ubicadas en el Observatorio Ecohidrológico de Zhurucay, en el páramo del sur del Ecuador. Para calibrar los coeficientes, se generaron curvas de descarga mediante mediciones de dilución de sal y mecánicos. Los resultados revelaron que los coeficientes de descarga difieren de su valor teórico hasta en un 15% para vertederos de sección triangular (DCvn) y hasta un 25% para sección rectangular (DCr). El DCvn afecta 4 veces más en la estimación de caudales bajos y medios que el DCr en caudales altos. Por su parte, el aforo por dilución de sal es más preciso para caudales medios y altos, pero en caudales bajos, este sobrestima un 10%. En general, los resultados sugieren que es esencial ajustar los coeficientes en campo para evitar errores en diferentes estudios hidrológicos.

Palabras clave: Hidrología, Andes Tropicales, Monitoreo Hidrológico, Aforos, Ecuador.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Abstract

Andean ecosystems provide important hydrological services for downstream communities. Due to this importance, several hydrological studies have been carried out in recent years, with emphasis on hydrological processes identification and land use change impacts. In several studies, but also for the operation of small-scale irrigation and drinking water projects, small streams have been equipped with compound, sharp-crested weirs for discharge estimation. To transform the water level (stage) into a discharge (water rate), weir equations use theoretical discharge coefficients, which do not necessarily apply under the actual field conditions, mainly site fluviomorphology and weir construction aspects, introducing uncertainty in their measurements. Therefore, this study analyzes the effect of using theoretical coefficients instead of adjusted coefficients in field. The study was conducted on 9 micro-catchments ($0{,}2 - 7{,}53 km^2$) located in the Zhurucay Ecohydrological Observatory in the paramo of southern Ecuador. To calibrate the coefficients, discharge curves were generated by mechanical and salt-dilution gauging methods. Results revealed that the discharge coefficients differed from their theoretical value by up to 15% for triangular (V-notch) weir section (DCvn) and by up to 41% for rectangular weir section (DCr). The DCvn affects 4 times more in low and medium discharges estimation than DCvn in high discharges. On the other hand, salt-dilution method is more precise for medium and high discharges, but at very low discharges, it overestimates discharge up to 10%. Overall, results suggest that it is essential to calibrate the discharge coefficients in the field to avoid errors in hydrological studies.

Keywords: Hydrology, Tropical Andes, Hydrological monitoring, Gauging methods, Ecuador.

Forma sugerida de citar: Guallpa, M., Célleri, R. y Crespo, P. (2022). Efecto del coeficiente teórico de descarga de vertederos sobre la medición de caudales en pequeños ríos Andinos. La Granja: Revista de Ciencias de la Vida. Vol. 36(2):75-87. http://doi.org/10.17163/lgr.n36.2022.06

IDs Orcid:

Mario Guallpa: http://orcid.org/0000-0001-6651-2672
Rolando Célleri: http://orcid.org/0000-0002-7683-3768
Patricio Crespo: http://orcid.org/0000-0001-5126-0687

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

1 Introducción

Más del 50% de la población a nivel mundial obtiene agua proveniente de las montañas. Los Andes, que cubren una cadena montañosa continua en Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, Chile, Bolivia y Argentina, tienen más de 2'500 000 km^2 y albergan a más de 85 millones de habitantes (alrededor del 45% de la población total del país). Además, al menos otros 20 millones de personas que viven en las ciudades costeras del Pacífico de Sudamérica también dependen del agua proveniente de los Andes (Hofstede, Segarra y Mena, 2003; CONDESAN, 2012). Los ecosistemas de páramo, puna, jalca y bosque nublado montano constituyen depósitos de agua en los Andes (Ochoa-Tocachi, Buytaert y De Bièvre, 2016), y su regulación hidrológica natural se considera clave para el funcionamiento de los sistemas de agua potable y riego no regulados (es decir, sin embalses artificiales) en las zonas altoandinas (De Bièvre y col., 2003; Hamel y col., 2018).

En los últimos años se han llevado a cabo estudios hidrológicos en cuencas de páramo andinas, que van desde el estudio de los procesos hidrológicos y la generación de escorrentía (Mosquera y col., 2015; Correa y col., 2017; Correa y col., 2019; Mosquera, Segura y Crespo, 2018; Lazo y col., 2019) a los impactos de la agricultura (Buytaert y col., 2005; Buytaert y col., 2006; Crespo y col., 2010; Ochoa-Tocachi, Buytaert y De Bièvre, 2016) y la forestación con especies exóticas (Buytaert, De Bièvre e Iniguez, 2007; Crespo y col., 2012; Bonnesoeur y col., 2019; Bonnesoeur, Locatelli y Ochoa-Tocachi, 2018; Marín y col., 2018). Se han realizado estudios similares en bosques andinos (Tobón, 2008; Roa-García y col., 2011; Crespo y col., 2012), que se basan en datos hidrológicos recogidos en cuencas experimentales y representativas. Tal es la importancia del monitoreo hidrológico que ha dado origen a la Iniciativa Regional para el Monitoreo Hidrológico de los Ecosistemas Andinos-iMHEA (Célleri y col., 2010; Ochoa-Tocachi y col., 2018), el cual monitorea las precipitaciones y la descarga en más de 25 microcuencas (entre 0,2 y 10 km^2) distribuidas por los Andes Tropicales.

En la mayoría de estas pequeñas cuencas se utilizan vertederos con muesca en V (sección triangular) para medir la descarga (caudal) del canal abierto (Célleri y col., 2010; Crespo y col., 2010; Guallpa y Célleri, 2013; Mosquera y col., 2015; Ochoa-Tocachi y col., 2016), ya que permiten convertir la altura de agua en caudal con gran precisión y exactitud mediante el uso de la ecuación del vertedero. Sin embargo, es muy difícil encontrar condiciones de campo ideales para la construcción de vertederos y para la instalación de sensores de nivel de agua (Guallpa y Célleri, 2013). Estas desviaciones de las condiciones ideales aumentan la incertidumbre en las mediciones, porque el coeficiente de descarga de la ecuación del vertedero se ve afectado. Según varios autores (Westerberg y col., 2011; Guallpa y Célleri, 2013), estas incertidumbres deberían evaluarse antes de estimar los recursos hídricos, pero en la práctica rara vez se hace.

Los coeficientes de descarga teóricos fueron determinados en el laboratorio mediante ensayos en condiciones controladas (Bergmann, 1963). Sin embargo, cuando se construyen vertederos en pequeños ríos y quebradas de montaña, las condiciones de campo son diferentes a las del laboratorio. Existen dos condiciones que son difíciles de lograr en el campo 1) el nivel del agua debe medirse a una distancia mínima aguas arriba de cuatro veces la altura máxima sobre la cresta del vertedero; y 2) las velocidades del flujo de agua entrante deben ser cercanas a cero. La primera condición no se cumple porque, en la mayoría de los casos, el sensor se instala junto en la cresta del vertedero, por lo que las mediciones se ven afectadas por el descenso del nivel del agua sobre el vertedero; se elige esta posición porque es el lugar menos probable en el que los sedimentos arrastrados en épocas de lluvia puedan causar daños al sensor electrónico sumergido.

Por otro lado, la fuerte pendiente del cauce (Mosquera y col., 2015) y los caudales máximos no permiten mantener velocidades de flujo bajas sobre los vertederos. Por estas razones, el coeficiente de descarga del vertedero será diferente a los valores teóricos. No obstante, hasta ahora no se han encontrado estudios que evalúen el impacto de utilizar coeficientes de descarga teóricos en lugar de los determinados en el campo. Según Birgand, Lellouche y Appelboom (2013) y Coxon y col. (2015), no hay estudios acerca del potencial asociado a las mediciones de descarga en condiciones no ideales. Por esta razón, el objetivo de este estudio es identificar el efecto del uso de los coeficientes teóricos para calcular la descarga bajo condiciones no ideales de

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

construcción de vertederos en cuencas andinas.

2 Materiales

2.1 Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en el Observatorio Ecohidrológico de Zhurucay (Figura 1), que se encuentra en un ecosistema de páramo en el sur de Ecuador. El río Zhurucay es un afluente del río Jubones que desemboca en el océano Pacífico (Mosquera y col., 2015; Correa y col., 2019). La cuenca del río Zhurucay tiene un área de drenaje de 7,53 km^2 y un rango altitudinal entre 3400 y 3900 m s.n.m. La precipitación media anual es de 1345 mm con lluvias bien distribuidas durante el año, y se caracterizan por ser eventos frecuentes y de baja intensidad (Padrón, Crespo y Célleri, 2015). La evapotranspiración anual (ETa) es de 622 mm (Ochoa-Sánchez y col., 2019). La vegetación está compuesta principalmente por pastos de tussock (72 % de la cuenca) y plantas de cojín (24 %); las especies forestales como Polylepis y Pinos cubren el resto de la cuenca (Correa y col., 2017; Carrillo-Rojas y col., 2019).

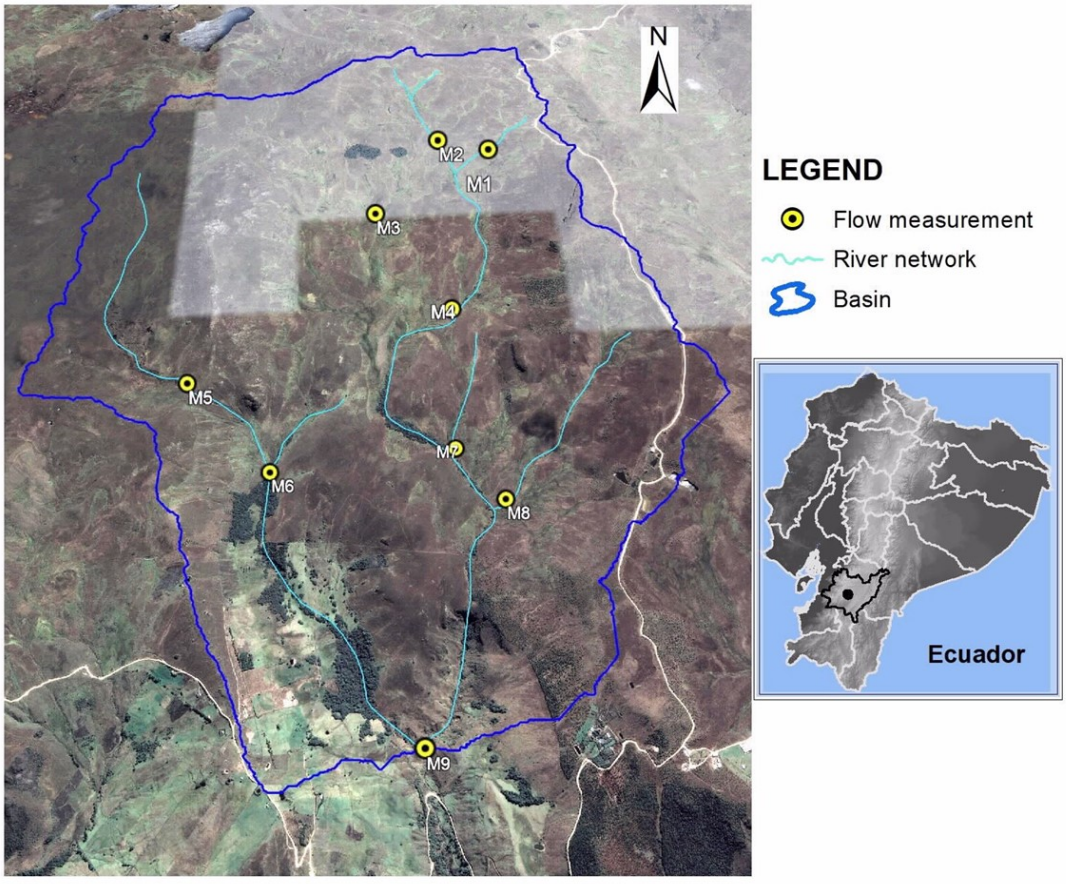

Figura 1. Área del estudio: Observatorio ecohidrológico de Zhurucay. M9: vertedero rectangular. M1 a M8: vertederos compuestos.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

2.2 Vertederos

El monitoreo de caudales en Zhurucay sigue un enfoque anidado, utilizando 9 vertederos situados aguas arriba o abajo de las confluencias. Estos vertederos son o bien vertederos compuestos de muesca en V y cresta afilada (que consisten en una parte de muesca en V (sección triangular) y una parte rectangular, y se denominan M1 a M8) o un vertedero rectangular de cresta afilada (M9). Existe descarga libre aguas abajo de los vertederos (es decir, aire bajo la lámina de descarga sobre el vertedero), lo cual es un requisito para utilizar la ecuación del vertedero (Figura 2). Cada vertedero tiene un sensor de nivel de agua con una precisión de 1 mm, y registra datos cada 5 minutos. En los arroyos más pequeños (de 0,2 a 3,28 km^2) se colocaron vertederos de muesca en V compuesta, ya que permiten medir con precisión descargas muy bajas (Célleri, De Bièvre y Ochoa, 2012). La construcción y las especificaciones de los vertederos se pueden encontrar en Bergmann (1963) y United States Bureau of Reclamation (2001).

Figura 2. Ejemplos de un vertedero rectangular (izquierda) y de un vertedero compuesto (muesca en V - rectangular) (derecha) en la zona de estudio.

Existen ecuaciones específicas para los vertederos en V y rectangulares. Para los vertederos de muesca en V, cuando la descarga se produce dentro de la sección triangular, se utiliza la ecuación de Kindsvater (Ecuación 1) ofrecida por el United States Bureau of Reclamation (2001). Para los vertederos rectangulares suprimidos de cresta aguda, Kindsvater y Carter (1959) desarrollaron la ecuación (Ecuación 2). Los mismos autores crearon una ecuación para estimar la descarga que pasa por un vertedero compuesto, que consiste en una parte con muesca en V (con un ángulo de muesca de 90 grados) y una parte rectangular (Ecuación 3).

$$Q = 1{,}37 * h^{5/2} \quad (1)$$

$$Q = 1{,}77 * L * h^{3/2} \quad (2)$$

$$Q = 1{,}37 * (h^{5/2} - (h-H)^{5/2}) + 1{,}77 * B(h-H)^{3/2} \quad (3)$$

Para las ecuaciones 1 a 3: Q es el caudal (m^3/s); h es la altura del agua desde el vértice de la muesca en V (m), medida en un punto situado a una distancia horizontal de 4H aguas arriba del vertedero; H es la altura de la muesca en V (m); B es la anchura combinada (m) de las partes rectangulares del vertedero; L es la anchura (m) del vertedero rectangular; y 1,37 y 1,77 son los coeficientes teóricos de descarga para la muesca en V (DCvn) y la sección rectangular (DCr), respectivamente. La H de todos los vertederos de Zhurucay es de 30 cm. Para este estudio se han considerado descargas bajas hasta 5,5 l/s (h<11 cm); descargas medias entre 5,5 y 67,5 l/s ($11 \leq h < 30$ cm), y valores superiores a 67,5 l/s ($h \geq 30$ cm) para descargas altas.

3 Métodos

Se cuestionaron y recalcularon los coeficientes de descarga de las ecuaciones 1 a 3. En primer lugar,

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

se midió el nivel del agua y la descarga en el campo en varias campañas de monitoreo, asegurándose de que se registraban todo el rango de caudales (de bajo a muy alto) (Sección 3.1). Las mediciones para caudales medios y altos (8 a 10 mediciones de descarga) se realizaron entre febrero a mayo (periodo de lluvias), y para caudales bajos (5 a 7 mediciones) entre agosto y septiembre (periodo seco). A continuación, se calcularon los coeficientes de descarga efectiva y se analizó el impacto del uso de los teóricos para la estimación de la descarga (Sección 3.2).

3.1 Métodos de medición de la descarga

Se utilizaron tres métodos de medición de caudales para estimar las curvas altura-descarga: volumétrico (volumen-tiempo), velocidad-área (medidor de corriente o correntómetro) y método de dilución. En esta sección, se detalla cada método. El método de dilución se describe con más detalle por ser el menos común.

3.1.1 Método volumétrico

Se utilizó un ecipiente o balde de 20 litros para recoger el agua que fluía por los vertederos con muescas en V. El tiempo de llenado del recipiente se midió con un cronómetro. La descarga se estimó como la división del volumen del recipiente entre el tiempo necesario para llenarlo (Hydromatch, 2014). Este método se utilizó para medir las descargas con un nivel de agua por encima del fondo del vertedero hasta 15,5 cm. Se realizaron varias mediciones para una mayor precisión de los resultados.

3.1.2 Método de velocidad-área (Medidor de la corriente)

La descarga se determinó a partir de la medición del área de la sección transversal del arroyo y de la velocidad media del flujo. Este método se detalla en la Guía de Prácticas Hidrológicas de la Organización Meteorológica Mundial (WMO, 1994). Estas mediciones se realizaron aguas arriba o aguas abajo del vertedero (distancia de 5 m aproximadamente), donde las condiciones del flujo de agua eran estables. La velocidad del flujo se midió utilizando una hélice de correntómetro que giraba alrededor de un eje horizontal. Cada revolución de la hélice genera un impulso eléctrico que es registrado por un registrador de datos. La velocidad de las revoluciones es proporcional a la velocidad del flujo (WMO, 1994). Antes de realizar las mediciones sobre el terreno, el equipo fue calibrado en el laboratorio según los manuales de fábrica. Este método se utilizó para medir las descargas medias y altas, cuando la altura del agua por encima del vertedero era superior a 15 cm. El método no se utilizó para las descargas bajas porque el bajo nivel de agua indicaba que la hélice no estaba totalmente sumergida.

3.1.3 Método químico (Dilución salina)

Este método se basa en la capacidad de la corriente para diluir uniformemente el trazador en el agua (Rantz, 1982). Los ríos y arroyos de montaña tienen en promedio pendientes superiores al 35% (Mosquera y col., 2015) y flujo turbulento. Estas características permiten la aplicación del método de dilución salina en la zona de estudio. Además, según Kite (1993), esta técnica debe aplicarse cuando la descarga es inferior a 15 m^3/s. En la zona de estudio, el caudal máximo medido es de 6 m^3/s en la salida (M9). Por lo tanto, el método se aplicó para medir la descarga baja, media y alta.

El método específico utilizado fue la inyección instantánea (Rantz, 1982). Frederick y Cobb (1985), Kite (1993) y Bronge y Openshaw (1996) describen el procedimiento detallado para la medición en campo, y se puede resumir en cuatro pasos: 1) diluir una cantidad de sal conocida en un recipiente de agua, 2) inyectar la solución aguas arriba en un punto en el que el flujo es turbulento, 3) medir la Conductividad Eléctrica (CE) inicial en el área de medición y luego en cada paso de tiempo (el paso de tiempo para el presente estudio fue de 1 segundo), 4) realizar medidas continuas hasta que la CE alcance el valor inicial ($\pm 2\mu S/cm$). Las mediciones de descarga son muy precisas cuando las relaciones inicial-máxima de las conductividades eléctricas están entre 2,5 y 3 (Bronge y Openshaw, 1996; Comina y col., 2013).

Para calcular la descarga, hay que construir la curva tiempo-CE. El área bajo la curva corresponde al aumento de la CE debido a la sal inyectada. El equivalente de sal que atraviesa la sección en cada paso de tiempo se obtiene entonces mediante el factor de conversión (K). En este caso, $K = 2{,}0832$ ($l/mg * \mu S/cm$). El área bajo la curva se determina mediante la Ecuación 4, y la descarga mediante la

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Ecuación 5. Donde A es el área bajo la curva de medición ($\mu S/cm * s$); EC(t) es la conductividad eléctrica en el tiempo t ($\mu S/cm$); ECbg es la conductividad eléctrica inicial del río ($\mu S/cm$); M es la cantidad de sal que se inyecta (mg); K es el factor de conversión; y Q es la descarga estimada (l/s).

$$A = \int \left(EC(t) - EC_{bg}(t)\right) dt \approx \sum \left(EC(t) - EC_{bg}(t)\right) \Delta t \tag{4}$$

$$Q = \frac{M}{A/K} \tag{5}$$

Para asegurarse de que la solución salina que se inyecta al río se mezcla correctamente, es necesario considerar una distancia adecuada entre el punto de inyección y el área de medición. Aunque existen varias ecuaciones para calcular esta longitud de mezcla (Kite, 1993; Comina y col., 2013; Comina y col., 2014), es mejor determinarla en campo para cada sitio (Tazioli, 2011). Como regla general, esta longitud debe estar entre 20 y 70 metros, dependiendo de la descarga y las condiciones del flujo en el área de medición (Sappa, Ferranti y Pecchia, 2015). Además, el tramo entre el punto de inyección y el área de medición debe ser recta y sin encharcamientos para que la sal no se separe del flujo principal (Hudson y Fraser, 2002). Debido a que cada corriente de las 9 microcuencas tiene diferentes propiedades fluviomorfológicas, se utilizaron diferentes relaciones de cantidad de sal-descarga para la medición del flujo. La Tabla 1 muestra una guía para la medición de caudales en el ecosistema de páramo con el método de dilución de sal, basado en la relación de CE inicial y máxima (μ_{max}/μ_0) que debe estar entre 2,5 y 3 para una adecuada medición de caudales (Comina y col., 2013).

La longitud determinada para las diferentes corrientes del área de estudio se encuentran entre 13 y 50 m. Salvo en las condiciones de bajo caudal, las longitudes se encontraban en el rango de 20 - 70 m, tal y como sugieren (Sappa, Ferranti y Pecchia, 2015). Aunque los valores mostrados en la Tabla 1 pueden servir de referencia para calibrar caudales en cuencas con condiciones similares, hay que tener en cuenta que la cantidad de sal a diluir y la longitud de mezcla dependen de la velocidad y turbulencia del flujo, de la CE inicial y de las condiciones de pendiente y encharcamiento del agua en el arroyo.

Tabla 1. Relación entre la cantidad de sal, la longitud de mezcla y la descarga para la medición de caudales por el método de dilución salina en la cuenca estudiada.

Cantidad de sal (M)	**Longitud de mezcla**	**Descarga (Q)**	**M/Q**	$\frac{\mu_{max}}{\mu_0}$
gr	**m**	**l/s**	$\frac{kg}{m^3}$	**-**
10	13	2,19	4,56	3,17
10	13	3,17	3,15	2,98
14	13	5,31	2,63	3,26
16	15	8,51	1,88	2,68
35	18	14,34	2,44	2,73
36	15	18,89	1,9	3,27
65	18	42,16	1,54	2,94
85	20	51,17	1,66	2,78
148	20	81,75	1,81	3,1
177	25	138,46	1,27	2,29
360	25	384,22	0,93	2,74
420	30	621,65	0,67	2,6
2500	50	1420	1,76	2,8

μ_{max}: máx. conductividad.
μ_0: conductividad inicial.

Para el total de ensayos realizados de medición del caudal, la relación media fue de 2,01 kg de sal por m3, con un mínimo de $0,67 kg/m^3$ y un máximo de $4,56 kg/m^3$. Estas relaciones coinciden con Valdes (2007), quién recomendó valores entre 2 a 5 kg/m3. Por otro lado, (Hudson y Fraser, 2002) demostraron que la cantidad de sal no es significativa para la aplicación del método de dilución de sal, y concluyeron que, si se aumenta la cantidad de sal, el área bajo la curva de CE aumentaría proporcionalmente y tendría un impacto mínimo en las estimaciones de descarga. No obstante, sugieren utilizar concentraciones de $2 kg/m^3$.

3.2 Calibración del coeficiente de descarga

Para calcular la curva de descarga de cada vertedero, se determinó el mejor método de calibración para las diferentes condiciones de campo. Para los caudales bajos, se consideró como referencia el método volumétrico por la alta precisión que tiene para estas condiciones. Para los caudales medios y altos, se consideró como referencia el método de dilución salina porque es muy preciso en ríos de montaña (Kite, 1993) y su precisión es superior al 95% en condiciones de mezcla completa (Moore, 2004). Para asegurarse de que los resultados del

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

presente estudio son significativos y para calcular las diferencias relativas entre los tres métodos descritos, se midió la descarga utilizando todos ellos simultáneamente.

Una vez calculadas las curvas de descarga, se pueden determinar los Coeficientes de Descarga (CD) para cada vertedero. Los CD se calcularon mediante el método de ajuste de mínimos cuadrados (World Bank y Government of the Netherlands funded, 1999), utilizando la relación altura de agua-descarga para cada vertedero y manteniendo constantes los exponentes de las ecuaciones (Ecuaciones 1 a 3). Para obtener la curva de descarga mejor ajustada a los puntos de calibración, se utilizó el Porcentaje de Sesgo Absoluto (PAB) (Ecuación 6) como índice estadístico para evaluar la diferencia entre las observaciones (medición) y la curva de descarga calibrada. Donde X son los datos ajustados; Y son los datos observados; y $\langle X,Y\rangle$ es la mitad de la media de la suma $X+Y$. Los criterios para categorizar los resultados se adoptaron de Tokay, Bashor y McDowell (2010), que se muestran en la Tabla 2.

$$PAB = \frac{(1/n)\sum_{i=1}^{n}\|X_i - Y_i\|}{\langle X,Y\rangle} \tag{6}$$

Tabla 2. Criterios para el índice de sesgo absoluto porcentual (PAB).

PAB	Ajuste
< 5	Excelente
$5-10$	Muy bueno
$10-15$	Bueno
$15-20$	Razonable
> 20	Bajo

4 Resultados y Discusión

4.1 Comparación entre los métodos de medición de caudales

En condiciones de bajo caudal, el método de dilución salina sobrestima ligeramente los valores en comparación con el método volumétrico (0,14 l/s) (la Figura 3 y la Tabla 3 muestran las diferencias entre los tres métodos de medición para 9 microcuencas). Esta sobreestimación podría deberse al hecho de que para condiciones de baja descarga la solución salina no se mezcla completamente en la corriente, siendo la principal condición para una medición eficiente, causando así este error. A medida que aumentan los valores de caudal, también aumenta la turbulencia y la diferencia entre los métodos de dilución salina y volumétrico disminuye hasta un punto en el que el método volumétrico arroja valores más altos para condiciones de caudal medio. Esto se debe a que la precisión del método volumétrico disminuye para una mayor descarga, es decir, el envase se llena de agua mucho más rápido y el tiempo de registro es más corto (< 2 segundos), lo que impide medir con precisión y generan errores de medición.

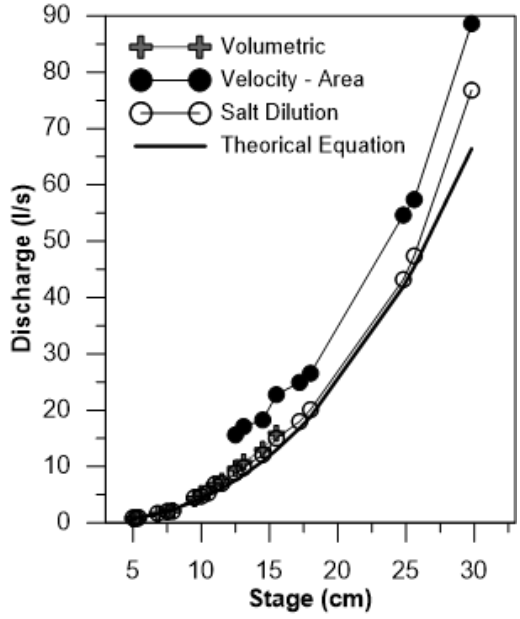

Figura 3. Relación etapa-descarga utilizando los tres métodos de medición, promedio de 9 cuencas.

El método de velocidad-área sobreestima la descarga un 40% en promedio con respecto al método de dilución salina (Figura 3 y Tabla 3). Esto podría deberse al hecho de que lo cauces aforados no cumplen las condiciones recomendadas por la Organización Meteorológica Mundial (WMO, 1994), en especial debido a que las líneas de flujo deben ser paralelas a lo largo de la sección del arroyo y que la altura de agua mínima por encima del vertedero debe ser de 15 cm. Estos resultados son similares a los presentados por Gees (1990) y Tazioli (2011); quienes encontraron diferencias de hasta 38% y 50% respectivamente para condiciones de baja y media

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

descarga. Por otro lado, Sappa, Ferranti y Pecchia (2015) concluyeron que los métodos de dilución salina y de velocidad-área son similares, con pequeñas diferencias entre el 1% y el 8%. Sin embargo, las diferencias con la presente investigación radican en que en ese estudio se utilizaron canales con flujo laminar para la medición del correntímetro.

Tabla 3. Diferencias entre los tres métodos de medición de caudales.

		Métodos de medición del caudal					
	Altura de agua	**Volumétrico**		**Velocidad-Área**		**Dilución de sal**	
	cm	**l/s**	**Diferencia* (%)**	**l/s**	**Diferencia* (%)**	**l/s**	**Diferencia* (%)**
Baja descarga	5	0,73				0,9	23,28
	5,2	0,8				0,9	12,5
	5,4	0,86				0,95	10,46
	6,8	1,52				1,7	11,84
	7,5	1,96				2	2,04
	7,9	2,16				2,05	-5,09
	9,5	4,34				4,5	3,68
	10	5,2				4,73	-9,03
	10,5	5,62				5,31	-5,51
Descarga media	11	6,81	-0,88			6,87	
	11,5	7,37	5,44			6,99	
	12,5	9,64	8,43	15,62	75,77	8,89	
	13,1	10,8	10,2	17,09	74,45	9,8	
	14,5	13	7,43	18,27	51,06	12,1	
	15,5	15,9	6	22,76	51,79	15	
	17,2			24,93	38,5	18	
	18			26,55	32,1	20,1	
	24,8			54,64	26,5	43,2	
	25,6			57,4	21,1	47,4	
	29,8			88,63	15,4	76,81	

*Para las descargas bajas, la diferencia es respecto al método volumétrico. Mientras que para las descargas medias y altas la diferencia es respecto al método de dilución de sal.

A partir de estos resultados, se construyó la curva de descarga para los diferentes vertederos, considerando los datos del método volumétrico para condiciones de baja descarga ($Q < 5,5$ l/s) y del método de dilución salina para condiciones de media ($5,5 \leq Q < 67,5$ l/s) y alta descarga ($Q \geq 67,5$ l/s).

4.2 Calibración de los coeficientes de descarga

La Tabla 4 muestra los coeficientes de descarga calibrados para los 9 vertederos; hubo 5 DCr que no se calibraron porque no había suficientes datos de medición de caudales sobre la descarga alta en estos vertederos. El error de ajuste de los valores de descarga aforados comparado con la curva de descarga calibrada son bajos ($PAB \leq 5\%$ en la Tabla 4). Por otro lado, los DCvn varían entre 1,19 y 1,56 para la sección triangular (DCvn teórico= 1,37), y entre 1,53 y 3,00 para la sección rectangular (DCr teórico= 1,77). Estas diferencias representan un error relativo de hasta el 15% para vertederos con sección en V (DCvn) y de hasta el 41,0% para la sección de vertedero rectangular (DCr) en comparación con los valores teóricos (Tabla 4). Las diferencias entre los coeficientes teóricos y los calibrados se deben a las características específicas de cada río y caudal, como la construcción de la estructura, la pendiente del cauce del río y la sección transversal.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Tabla 4. Coeficientes de descarga calibrados para las ecuaciones de descarga y su efecto en los coeficientes de escorrentía (RC) de cada microcuenca.

Vertedero	Coeficientes de descarga						Inicial	RC corregida	Error Relativo RC
	DCvn			DCr			mm/mm	mm/mm	%
	Valor	PAB	Error Relativo DCvn	Valor	PAB	Error Relativo DCr			
M1	1,235	3,9	10,90 %				0,625	0,564	10,82
M2	1,19	3,8	15,10 %				0,648	0,564	14,89
M3	1,557	1,95	-12,00 %				0,564	0,64	-11,88
M4	1,45	5,18	-5,50 %	2,39	5,4	-25,90 %	0,623	0,666	-6,46
M5	1,56	3	-12,20 %				0,56	0,63	-11,11
M6	1,521	8	-9,90 %				0,446	0,491	-9,16
M7	1,3	6,9	5,40 %	1,825	2,8	-3,00 %	0,873	0,855	2,11
M8	1,417	4,7	-3,30 %	3	4,3	-41,00 %	0,731	0,776	-5,8
M9				1,533	5,2	15,50 %	0,782	0,677	15,51

DCvn = Coeficiente de descarga para la sección triangular (Muesca en V). *DCr* = Coeficiente de descarga para la sección rectangular. *RC* = Coeficiente de escorrentía.

Con las curvas de descarga calibradas se obtuvo un hidrograma más preciso. Esto permite determinar el error en el rendimiento hídrico de cada microcuenca cuando se utilizan las ecuaciones teóricas con los coeficientes no calibrados. El coeficiente de escorrentía (CR = precipitación de entrada/escorrentía de salida) representa el rendimiento hídrico de una cuenca. El error relativo en el CR se sitúa entre el 2,11 % y el 15,51 % con un sesgo tanto negativo como positivo encontrado entre este grupo de vertederos, 6,56 % en promedio para todas las microcuencas (Tabla 4). Como se observa, cuando los vertederos no están calibrados, el cálculo del balance hídrico de las microcuencas se ve afectado.

Se realizó un análisis de sensibilidad de los coeficientes de descarga en el hidrograma. En primer lugar, se determinó la descarga anual acumulada cambiando sólo el DCvn ajustado en la Ecuación 3; luego, se hizo la misma estimación utilizando sólo el DCr calibrado (DCvn= coeficiente teórico). Según estos análisis, para un año hidrológico, la DCvn afecta 4 veces más las descargas bajas y medias que la DCr a las altas. La estimación del caudal es más sensible a DCvn porque en la mayor parte del tiempo (95 % del total de registros) el caudal es inferior a 65,5 l/s ($h < 30$ cm en este estudio); es decir, el caudal pasa sólo por la sección triangular de los vertederos. Además, la ecuación teórica para la sección triangular sólo es válida para un caudal superior a 1,41 l/s ($h = 6,4$ cm) (United States Bureau of Reclamation, 2001), que es mayor a los caudales bajos observados para la zona de estudio (0,70 l/s; $h = 5$ cm), especialmente en condiciones secas.

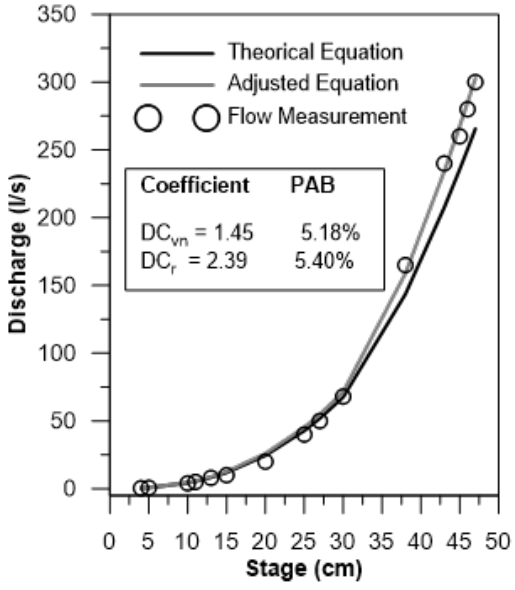

Figura 4. Calibración de la curva de descarga para el vertedero compuesto M4.

5 Conclusiones

Este estudio se centró en determinar los coeficientes de descarga de los vertederos instalados en campo y su importancia para el cálculo del caudal. Con respecto a los diferentes métodos de medición de caudales, se puede concluir que el método

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

de velocidad-área no es aplicable en todas las condiciones debido a las numerosas suposiciones que plantea y que no suelen cumplirse para los ríos de montaña, lo que provocó una sobreestimación de la descarga del 40% en promedio. El método de dilución salina es el mejor para las condiciones de descarga media y alta, pero para la descarga baja, subestima un 10% en comparación con el método volumétrico, que es más preciso para estas condiciones. El uso de este método es especialmente conveniente porque es de bajo coste, fácil de aplicar, tiene un bajo impacto y una alta precisión.

Por otra parte, aunque la geometría era la misma para los vertederos compuestos, los coeficientes calibrados variaban entre 1,190 y 1,557 para DCvn y entre 1,53 y 3,00 para DCr, debido a las diferentes características específicas del lugar. Cuando se utilizan los coeficientes de descarga teóricos, el error en el rendimiento hídrico de las microcuencas varía entre el 2,11% y el 15,51% para los diferentes vertederos en un año hidrológico. Estos errores afectan directamente al cierre del balance hidrológico de las microcuencas. Por lo tanto, concluimos que cada vertedero necesita tener una una calibración *in situ* del coeficiente de descarga como requisito para obtener estimaciones confiables de caudal.

La metodología y los resultados del presente estudio serán útiles para diferentes proyectos de monitoreo del agua en los ecosistemas andinos. Los valores de descarga se pueden evaluar y corregir para minimizar el error en los estudios hidrológicos y proyectos de desarrollo de recursos hídricos.

Agradecimientos

Este estudio se llevó a cabo en el marco del proyecto "Una red de investigación para la resiliencia de los sistemas hídricos y la disponibilidad de agua en las comunidades aguas abajo en América", y fue financiado por el Vicerrectorado de Investigación de la Universidad de Cuenca.

Referencias

Bergmann, J. (1963). *Compound Weir Study*. US Department of the Interior, Bureau of Reclamation, Office of Chief Engineer.

Birgand, F., G. Lellouche y T. Appelboom (2013). «Measuring flow in non-ideal conditions for short-term projects: Uncertainties associated with the use of stage-discharge rating curves». En: *Journal of hydrology* 503, 186-195. Online:https://bit.ly/3QoJZls.

Bonnesoeur, V., B. Locatelli y B. Ochoa-Tocachi (2018). *Impactos de la forestación en el agua y los suelos de los Andes: ¿Qué sabemos? Resumen de políticas*. Proyecto Infraestructura Natural para la Seguridad Hídrica. Proyecto "Infraestructura Natural para la Seguridad Hídrica"(INSH). Forest Trends, Lima, Perú, (8), pp. 72–86. doi: 10.17230/ricercare.2017.8.4.

Bonnesoeur, V. y col. (2019). «Impacts of forests and forestation on hydrological services in the Andes: A systematic review». En: *Forest Ecology and Management* 433, 569-584. Online: https://bit.ly/3mT8ERZ.

Bronge, C. y A. Openshaw (1996). «New instrument for measuring water discharge by the salt dilution method». En: *Hydrological processes* 10.3, 463-470. Online:https://bit.ly/3xSFngx.

Buytaert W.and Célleri, R., B. De Bièvre y V. Iniguez (2007). «The impact of pine plantations on water yield: a case study from the Ecuadorian Andes». En: *IAHS Publications-Series of Proceedings and Reports* 317, 225-228. Online:https://bit.ly/3QoNAzY.

Buytaert, W. y col. (2005). «The effect of land-use changes on the hydrological behaviour of Histic Andosols in south Ecuador». En: *Hydrological Processes: An International Journal* 19.20, 3985-3997. Online:https://bit.ly/39qHqPq.

Buytaert, W. y col. (2006). «Spatial and temporal rainfall variability in mountainous areas: A case study from the south Ecuadorian Andes». En: *Journal of hydrology* 329.3-4, 413-421. Online:https://bit.ly/3xvvaF8.

CONDESAN (2012). «Challenges and Opportunities for Sustainable Mountain Development in the Andes». En: *Biodiversidad, Cuencas andinas, y Modos de vida sostenibles*. International Expert Consultation on Mountains y Climate Change. Online: https://bit.ly/3Oha9oD.

Carrillo-Rojas, G. y col. (2019). «The breathing of the Andean highlands: Net ecosystem exchange and evapotranspiration over the páramo of southern Ecuador». En: *Agricultural and Forest Meteorology* 265, 30-47. Online:https://bit.ly/3mLZdn5.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Célleri, R., B. De Bièvre y B. Ochoa (2012). *Guía metodológica para el monitoreo hidrológico de ecosistemas Andinos*. Iniciativa MHEA. Online:https://bit.ly/3Okcv61.

Célleri, R. y col. (2010). «Understanding the hydrology of tropical Andean ecosystems through an Andean Network of Basins». En: *IAHSAISH Publication* 336, 209-212. Online:https://n9.cl/xfjw3y.

Comina, C. y col. (2013). «Discharge measurement with salt dilution method in irrigation canals: direct sampling and geophysical controls». En: *Hydrology and Earth System Sciences Discussions* 10.8, 10035-10060. Online:https://bit.ly/3tA4fXE.

— (2014). «Geophysical methods to support correct water sampling locations for salt dilution gauging». En: *Hydrology and Earth System Sciences* 18.8, 3195-3203. Online:https://bit.ly/3xvwCHN.

Correa, A. y col. (2017). «Temporal dynamics in dominant runoff sources and flow paths in the A ndean P áramo». En: *Water Resources Research* 53.7, 5998-6017. Online:https://bit.ly/3MPWl3m.

Correa, A. y col. (2019). «Spatially distributed hydro-chemical data with temporally high-resolution is needed to adequately assess the hydrological functioning of headwater catchments». En: *Science of the Total Environment* 651, 1613-1626. Online:https://bit.ly/3xNpBlV.

Coxon, G. y col. (2015). «A novel framework for discharge uncertainty quantification applied to 500 UK gauging stations». En: *Water resources research* 51.7, 5531-5546. Online:https://bit.ly/3O64n9g.

Crespo, P. y col. (2010). «Land use change impacts on the hydrology of wet Andean páramo ecosystems». En: *Status and perspectives of hydrology in small basins* 336, 71-76. Online:https://n9.cl/j6otk.

Crespo, P. y col. (2012). «Development of a conceptual model of the hydrologic response of tropical Andean micro-catchments in Southern Ecuador». En: *Hydrology and Earth System Sciences Discussions* 9.2, 2475-2510. Online:https://bit.ly/3xqrnJn.

De Bièvre, B. y col. (2003). «Night irrigation reduction for water saving in medium-sized systems». En: *Journal of Irrigation and Drainage Engineering* 129.2, 108-116. Online:https://bit.ly/3xnOFj0.

Frederick, A. y E. Cobb (1985). *Measurement of discharge using tracers*. Department of the Interior, US Geological Survey Washington.

Gees, A. (1990). «Flow measurement under difficult measuring conditions: Field experience with the salt dilution method». En: *Hydrology in Mountainous Regions I. Hydrological Measurements; The Water Cycle, edited by: Lang, H. and Musy, A., IAHS Publ* 193, 255-262. Online:https://bit.ly/3b8BIlP.

Guallpa, M. y R. Célleri (2013). «Efecto de la estimación de la presión atmosférica sobre el cálculo de niveles de agua y caudales». En: *Aqua-LAC* 5.2, 56-68. Online:https://bit.ly/3OiuSbv.

Hamel, P. y col. (2018). «Watershed services in the humid tropics: Opportunities from recent advances in ecohydrology». En: *Ecohydrology* 11.3, e1921. Online:https://bit.ly/3O1vF0X.

Hofstede, R., P. Segarra y P. Mena (2003). *Los páramos del mundo: Proyecto Atlas Mundial de los Páramos*. Global Peatland Initiative/NClUCN/EcoCiencia.

Hudson, R. y J. Fraser (2002). *Alternative methods of flow rating in small coastal streams*. Landscape Ecology.

Hydromatch (2014). *Flow estimation for streams and small rivers*.

Kindsvater, C. y R. Carter (1959). «Discharge characteristics of rectangular thin-plate weirs». En: *Transactions of the American Society of Civil Engineers* 124.1, 772-801. Online:https://bit.ly/3tFXofs.

Kite, G. (1993). «Computerized streamflow measurement using slug injection». En: *Hydrological processes* 7.2, 227-233. Online:https://bit.ly/3ncCMrH.

Lazo, P. y col. (2019). «The role of vegetation, soils, and precipitation on water storage and hydrological services in Andean Páramo catchments». En: *Journal of Hydrology* 572, 805-819. Online:https://bit.ly/3OfAQtO.

Marín, F. y col. (2018). «Changes in soil hydrophysical properties and SOM due to pine afforestation and grazing in Andean environments cannot be generalized». En: *Forests* 10.1, 17. Online:https://bit.ly/39yjg5x.

Moore, R. (2004). «Introduction to salt dilution gauging for streamflow measurement part 2: Constant-rate injection». En: *Streamline Watershed Management Bulletin* 8.1, 11-15. Online:https://bit.ly/3O0X4A4.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Mosquera, G., C. Segura y P. Crespo (2018). «Flow partitioning modelling using high-resolution isotopic and electrical conductivity data». En: *Water* 10.7, 904. Online:https://bit.ly/3b7xZF1.

Mosquera, G. y col. (2015). «Runoff from tropical alpine grasslands increases with areal extent of wetlands». En: *Catena* 125, 120-128. Online:https://bit.ly/3xxUHO7.

Ochoa-Sánchez, A. y col. (2019). «Actual evapotranspiration in the high Andean grasslands: A comparison of measurement and estimation methods». En: *Frontiers in Earth Science* 7, 55. Online:https://bit.ly/3Hvmvr0.

Ochoa-Tocachi, B., W. Buytaert y B. De Bièvre (2016). «Regionalization of land-use impacts on streamflow using a network of paired catchments». En: *Water Resources Research* 52.9, 6710-6729. Online:https://bit.ly/3mVEj58.

Ochoa-Tocachi, B. y col. (2016). «Impacts of land use on the hydrological response of tropical Andean catchments». En: *Hydrological Processes* 30.22, 4074-4089. Online:https://bit.ly/2F56ycf.

Ochoa-Tocachi, B. y col. (2018). «High-resolution hydrometeorological data from a network of headwater catchments in the tropical Andes». En: *Scientific data* 5.1, 1-16. Online:https://go.nature.com/3tFXBPI.

Padrón R.and Wilcox, B., P. Crespo y R. Célleri (2015). «Rainfall in the Andean Páramo: new insights from high-resolution monitoring in Southern Ecuador». En: *Journal of Hydrometeorology* 16.3, 985-996. Online:https://bit.ly/3xWKThW.

Rantz, S. (1982). *Measurement and computation of streamflow*. US Department of the Interior, Geological Survey.

Roa-García, M. y col. (2011). «The role of land use and soils in regulating water flow in small headwater catchments of the Andes». En: *Water resources research* 47. Online:https://bit.ly/3b5pPga.5.

Sappa, G., F. Ferranti y G. Pecchia (2015). «Validation Of Salt Dilution Method For Discharge Measurements In The Upper Valley Of Aniene River (Central Italy)». En: *13th International Conference on Environment, Ecosystem and Development (EED'15)*.

Tazioli, A. (2011). «Experimental methods for river discharge measurements: comparison among tracers and current meter». En: *Hydrological Sciences Journal* 56.7, 1314-1324. Online:https://bit.ly/3Qmni1D.

Tobón, C. (2008). *Los bosques andinos y el agua*. Investigación y Sistematización 04. Programa Regional para la gestión social de Ecosistemas Forestales Andinos ECOBONA. Online: https://bit.ly/3HuBDox.

Tokay, A., P. Bashor y V. McDowell (2010). «Comparison of rain gauge measurements in the mid-Atlantic region». En: *Journal of Hydrometeorology* 11.2, 553-565. Online:https://bit.ly/3mUjBCF.

United States Bureau of Reclamation (2001). *Water Measurement Manual*. 3rd Edition. Water Resources Research Laboratory, US Department of the Interior.

Valdes, J. (2007). «Métodos de aforo para la estimación de la recarga de Acuíferos». Tesis de mtría. Universidad de Chile.

WMO (1994). *Guide to hydrological practices. Nro. 168*. World Meteorological Organization.

Westerberg, I. y col. (2011). «Stage-discharge uncertainty derived with a non-stationary rating curve in the Choluteca River, Honduras». En: *Hydrological Processes* 25.4, 603-613. Online:https://bit.ly/3NYPLc7.

World Bank y Government of the Netherlands funded (1999). *How to establish stage discharge rating curve*. World Bank y Government of the Netherlands funded.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

La granja:
Revista de
Ciencias de la Vida

pISSN:1390-3799; eISSN:1390-8596

http://doi.org/10.17163/lgr.n36.2022.07

Artículo científico / Scientific paper

Contaminación Ambiental

Efectividad del uso de diatomeas en la filtración de bacterias de transmisión hídrica

Effectiveness of the use of diatoms in the filtration of waterborne bacteria

Cristian Joao Vázquez*[1], Betzy Moreno Salazar[2] y Denisse Cadena Samaniego[2]

[1]*Departamento de Laboratorio Clínico/Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Código Postal 030302, La Troncal, Ecuador.*
[2]*Laboratorio de Microbiología/Universidad Nacional de Chimborazo. Código Postal 060104, Riobamba, Ecuador.*

*Autor para correspondencia: vazquezjcristian@hotmail.com

Manuscrito recibido el 09 de mayo de 2021. Aceptado, tras revisión, el 10 de diciembre de 2021. Publicado el 1 de septiembre de 2022.

Resumen

La transmisión bacteriana al ser humano puede vehiculizarse por el agua y ocasionar enfermedades entéricas, por lo que el objetivo de la presente investigación es evaluar la efectividad del uso de diatomeas en la filtración de bacterias hidrotransmisibles. El estudio fue realizado en la Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador, desde octubre de 2019 a marzo de 2020, combinando técnicas de cultivo en agar sangre y agar MacConkey; cuantificación de colonias y filtración frente a tiempo y longitud de filtro. Se utilizaron 120 muestras de diluciones de cepas comerciales de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* para contaminar el agua de tal forma que se pudiera evidenciar la eficacia de la filtración en diatomeas de distinta procedencia. Los resultados fueron contrastados con los rangos establecidos por la Organización Mundial de la Salud y se realizaron controles positivos y negativos de los medios de cultivo y agua. Las diatomeas de Guayaquil fueron las que indujeron a una mejor filtración del agua frente a las diatomeas de Palmira. Al aplicar el lecho filtrante de 10 cm de diatomeas, se obtuvo un crecimiento de 86 UFC/100ml en 24 horas, mientras que al aumentarse la cantidad del filtro a 20 cm se observó un descenso de la carga bacteriana del agua en 21 UFC/100ml en 10 horas. De acuerdo al rango establecido por la OMS el crecimiento bacteriano disminuyó, lo que indica que los filtros de diatomeas tienen la capacidad de retener bacterias. Por esto, se presume que, al combinarlas con materiales adicionales como carbón activado, su potencial filtrante se incrementaría.

Palabras clave: Diatomeas, filtro, cultivo, lecho filtrante.

Abstract

Bacterial transmission to humans can be carried by water and cause enteric diseases, so the objective of this paper is to evaluate the effectiveness of the use of diatoms in the filtration of waterborne bacteria. The study was carried out

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

at Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador; from October 2019 to March 2020, combining culture techniques on blood agar and MacConkey agar, colony quantification and filtration versus filter time and length. 120 dilutions samples of commercial strains of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were used to contaminate the water in such a way that the efficiency of filtration in diatoms of different origins could be observed. The results were contrasted with the ranges established by the World Health Organization and positive and negative controls were carried out on the culture media and water. The diatoms of Guayaquil were the ones that induced a better filtration of the water compared to the diatoms of Palmira. When applying the filter bed of 10 cm of diatoms, a growth of 86 CFU/100ml was obtained in 24 hours, while when the amount of the filter was increased to 20 cm, a decrease in the bacterial load of the water was observed by 21 CFU/100ml in 10 hours. According to the range established by the WHO, bacterial growth decreased, which indicates that diatom filters have the ability to retain bacteria. For this reason, it is presumed that, when combined with additional materials such as activated carbon, their filtering potential would increase.

Keywords: Diatoms, filter, culture, filter bed.

Forma sugerida de citar: Vázquez, C., Moreno Salazar, B. y Cadena Samaniego, D. (2022). Efectividad del uso de diatomeas en la filtración de bacterias de transmisión hídrica. La Granja: Revista de Ciencias de la Vida. Vol. 36(2):88-97. http://doi.org/10.17163/lgr.n36.2022.07

IDs Orcid:

Cristian Joao Vázquez: http://orcid.org/0000-0001-6827-599X
Betzy Juliette Moreno: http://orcid.org/0000-0002-0046-4206
Denisse Iveth Cadena: http://orcid.org/0000-0002-9672-4550

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

1 Introducción

Alrededor del mundo se han documentado diversos brotes microbianos de origen hídrico, debido a diferentes factores como la contaminación fecal de este recurso, por el que son perfectamente vehiculizados hasta encontrar un hospedero (Araujo y col., 1997; Rodríguez Miranda, García-Ubaque y García-Ubaque, 2016). Ejemplos de ello se pueden evidenciar incluso en países industrializados como Estados Unidos, en donde han existido diferentes casos (Rodríguez Gutiérrez, Guzmán Osorio y Verjan García, 2015; Lösch y Merino, 2016; Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, 2020; OMS, 2020) de brotes bacterianos de *Escherichia coli, Campylobacter jejuni* y *Legionella.* spp., según lo publicado por la revista Química Viva (Córdoba, Del Coco y Basualdo, 2010). Sin embargo, el brote microbiano de origen hídrico de mayor significancia ocurrió en Milwaukee, Estados Unidos, donde el coccidio *Cryptosporidium parvum* infectó alrededor de 403 000 personas, de entre las cuales causó serias complicaciones a pacientes inmunocomprometidos (Arora y Arora, 2009; Del Coco, Córdoba y Basualdo, 2009).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), al menos 2 000 millones de personas a nivel mundial se abastecen de agua potable que está contaminada por heces, otros 159 millones dependen de aguas superficiales que tienen una gran probabilidad de estar contaminadas. Además, se indica que el agua contaminada transmite enfermedades como diarrea (Godoy y col., 2011; Cabezas Sánchez, 2018), cólera (González, Casanova y Pérez, 2011; Zelada-Valdés, Ledón-Pérez y Fando-Calzada, 2015), disentería (González-Ramírez y col., 2020), fiebre tifoidea (Peranovich, 2019) y poliomielitis (Cué Brugueras, 2000), provocando más de 502 000 muertes por diarrea al año (OMS, 2019).

Estas infecciones suelen ocurrir debido a que las bacterias pueden usar el agua como vehículo hasta llegar a un hospedero nuevo (Ferrari y Torres, 1998; Rodríguez y col., 2015; Hernández y col., 2017; Palomino-Camargo y col., 2018), además de que estos microorganismos pueden mantenerse íntegros y sobrevivir durante semanas y meses en el agua (Marin y col., 2020). Factores como instalaciones defectuosas de tuberías, grifos en mal estado, reparaciones sin las medidas de seguridad necesarias, contenedores en malas condiciones o con malos cuidados higiénico-sanitarios y falta del debido mantenimiento de estas instalaciones, son motivos potenciales por los cuales el agua potable de consumo humano puede contaminarse (Duran y Torres, 2006), predisponiendo al ingreso y multiplicación de microorganismos, llegando a ocasionar patologías variadas en la persona que lo consuma (Grupo de Tratamiento de Aguas Residuales Universidad de Sevilla, 2020).

En Ecuador, en un estudio realizado por Palacios (2013), en el que se analizó la condición del agua de consumo humano en una región de Cotopaxi se observó que la contaminación por coliformes fecales alcanzaba una prevalencia del 35%, lo que representa un importante problema de salud pública, siendo así un foco de transmisión de infecciones para las personas que dispongan de estas fuentes de agua.

Así también, en varias zonas de la provincia de Chimborazo se han realizado varios estudios que han demostrado la contaminación hídrica de aguas tanto de riego agrario como de consumo humano. Además, se evidenció que las comunidades rurales de la región son las más afectadas debido a la ausencia de abastecimiento de agua de calidad, ya que se disponen de agua directamente de tuberías sin el previo tratamiento correspondiente (Lara y Martínez, 2019; Tipán y Martínez, 2019). Las bacterias encuentran en el agua un medio propicio para su proliferación y transporte, siendo así movilizadas de un punto geográfico a otro, suponiendo riesgo de contaminación a todo ser vivo que se vea involucrado en este ciclo.

Teniendo en cuenta que es posible eliminar la mayoría de microorganismos presentes en el agua potable mediante el uso de filtros de diferentes materiales (Chulluncuy, 2011; OMS, 2012; Ríos-Tobón, Agudelo-Cadavid y Gutiérrez-Builes, 2017), se espera que su aplicación reduzca considerablemente la carga bacteriana de este recurso, gracias a la acción de retención tanto de impurezas como de microorganismos que se encuentren en ella. Esta agua post filtración tiene que presentar una carga bacteriana baja o nula (según el rango de la OMS) para considerarse como consumible por el ser humano. La disminución de bacterias en el agua evidencia la efectividad de los filtros. Sin embargo, al requerirse

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

de varios materiales para la elaboración de filtros comerciales, se ha magnificado la investigación sobre materiales económicos y fáciles de encontrar para darles uso en la fabricación de filtros y por ende de poder obtener agua potable de manera eficiente y a un bajo costo (Leal, 2014). En consideración a esto, varios autores han considerado el estudio de la acción de varios materiales que funcionen como lechos filtrantes, ya sea arena (Gil, Khan y Hernández, 2002; Blacio y Palacios, 2011), carbón (Silupú y col., 2017; Marín Velásquez, Heredia-Jiménez y Alcarraz-Curi, 2019), diatomeas (Valencia, 2014), etc., y que, además de eso, sean de alta efectividad y de costo reducido.

El objetivo de este trabajo es verificar las bacterias de transmisión hídrica después de la utilización de lechos filtrantes con diatomeas procedentes de la región costera de Guayaquil y de la región andina de Palmira, ubicadas en el Ecuador, con la finalidad de comparar y demostrar la capacidad de filtración y purificación del agua frente a bacterias que puedan ser vehiculizadas en ella.

2 Materiales y Métodos

La presente investigación tiene un enfoque cuantitativo, de cohorte transversal, con un nivel exploratorio-descriptivo y un diseño experimental. La población considerada para el estudio se constituyó por las bacterias que se encontraban en las aguas analizadas en diferentes intervalos, en base a los rangos de riesgo de contaminación establecidos por la OMS (OMS, 2006), lo cual se realizó con el rango de riesgo intermedio. La muestra se determinó en base a la relación entre la altura del lecho filtrante (centímetros) y el tiempo de filtración del agua (horas).

Se incluyeron los datos pertenecientes al control positivo del agua, así como control positivo del filtro y los resultados realizados por triplicado que tuvieron una aproximación entre sí, excluyendo aquellos datos cuyos controles denotaban contaminación, especialmente el control negativo del agua y control negativo del filtro. El estudio no requirió de un permiso de bioética por no tratarse de una investigación humana.

Debido al diseño de tipo experimental de la investigación, se probó gradualmente los filtros con diatomeas (*Bacillariophyceae sensu lato*) de diferente origen geográfico (diatomeas comerciales de procedencia de Guayaquil y Palmira), contra bacterias de diferente tamaño, *Escherichia coli* (ATCC 25922) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) de cultivos comerciales, bacterias de amplia distribución hídrica (Robert Pullés, 2014), y se evaluaron posterior a la filtración en medios de cultivo bacteriológico; Agar Triptona Soja (TSA) como medio de enriquecimiento y medios específicos (agar sangre de carnero 5%) y diferenciales (agar MacConkey). Los medios de cultivo se prepararon de acuerdo a las especificaciones indicadas por la casa comercial HIMEDIA®. Se comprobó que los filtros no tuviesen contaminantes que pudieran alterar los resultados.

Para contaminar el agua, se realizaron diluciones 1/10 hasta obtener la dilución de rango intermedio de contaminación deseado, dilución 10^{-11} para *S. aureus*, mientras que para *E. coli* la dilución que le correspondió fue 10^{-13}, a lo cual se añadieron 9 ml de solución fisiológica estéril y 1 ml de caldo en el que se encontraba la bacteria contaminante.

Una vez obtenidas las diluciones de agua contaminada con bacterias a una concentración conocida, se procedió a usar las diatomeas en los filtros. Se utilizaron dos ensamblajes, la primera con diatomeas de Guayaquil y la segunda con diatomeas de Palmira. La cantidad de diatomeas utilizadas como lecho filtrante fue de 10 cm, 15 cm y 20 cm para cada procedencia respectivamente; mientras que en ambos casos los intervalos de tiempo de filtración fueron de 30 minutos, 3 horas, 10 horas y 24 horas. En cada tiempo establecido se realizó el cultivo para la verificación de la carga bacteriana.

Para la elaboración del filtro se utilizó un soporte de vidrio (Figura 1) en el cual se introdujeron las diatomeas por separado según su procedencia y altura del filtro (10 cm, 15 cm, y 20 cm). Los bordes fueron cubiertos con malla metálica y su base fijada a un grifo para controlar la filtración realizada. En el otro extremo del filtro, se dispuso un bidón el cual contenía el agua contaminada para ser filtrada, misma que desembocó en un matraz estéril en el que se recolectaba el material filtrado para su posterior cultivo y cuantificación bacteriana.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

3 Resultados

De las 120 muestras analizadas, se pudo comprobar que la diferencia es mínima entre las dos clases de diatomeas. Sin embargo, los filtros elaborados con diatomeas de procedencia de Guayaquil demostraron tener una mayor capacidad filtrante frente a aquellas diatomeas de Palmira. Obsérvese en la Tabla 1 que se utilizaron 2 filtros, siendo el filtro 1 de Guayaquil y el filtro 2 de Palmira.

Figura 1. Las diatomeas se colocaron en un soporte de vidrio el cual, a su vez, se conectaba a un grifo en un extremo, y a un bidón al otro.

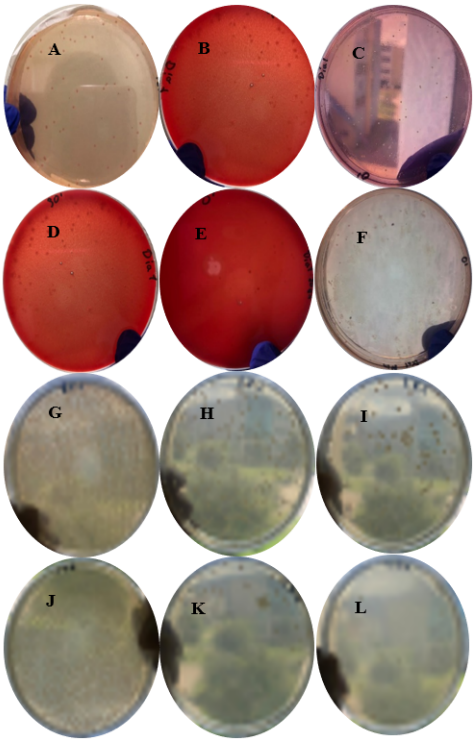

Figura 2. Al usar el filtro 2 (Palmira) de 10 cm, **A)** el crecimiento fue de 95 UFC/100ml con respecto a *E. coli*, en un período de 30 minutos (filtración escasa). **B)** se puede evidenciar el crecimiento de *S. aureus*, 74 UFC/100ml a las 3 horas. Al usar el filtro 2 de 15 cm, **C)** el crecimiento de *E. coli* fue de 74 UFC/100ml en 0 horas. **D)** crecimiento de *S. aureus* fue de 108 UFC/100ml a los 30 minutos. El uso del filtro 2 con 20 cm de longitud, arrojó los siguientes resultados: **E)** crecimiento de *S. aureus* de 24 UFC/100ml a las 0 horas. **F)** crecimiento de *E. coli*, 125 UFC/100ml a las 0 horas. **G, H, I)** se observa el patrón de diluciones consecutivas para *E. coli* hasta alcanzar una dilución de 10^{-13}. **J, K, L)** diluciones consecutivas de *S. aureus* hasta obtener una concentración de 10^{-11}.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

En cuanto al filtro 1, el uso de 10 cm de diatomeas tiene una filtración mínima dando un crecimiento de 86 UFC/100ml a las 10 horas de espera mientras que al utilizar una distancia de diatomea de 15 y 20 cm se obtuvo un crecimiento de 77 UFC/100ml a las 3 horas y 80 UFC/100ml a las 24 horas de espera, respectivamente en referencia a la cepa de *S. aureus*. Con respecto a la cepa de *E. coli*, al usar 10 cm de diatomea se obtuvo un crecimiento de 88 UFC/100ml a los 30 minutos de espera mientras que al usar 15 cm de diatomea se obtuvo un crecimiento de 53 UFC/100ml a las 3 horas y 21 UFC/100ml a las 10 horas con 20 cm de diatomeas.

En cuanto al filtro 2 (Palmira) el uso de 10 cm de diatomeas tiene una filtración mínima dando un crecimiento de 92 UFC/100ml a las 10 horas de espera, mientras que al utilizar una distancia de diatomea de 15 y 20 cm se obtuvo un crecimiento de 94 UFC/100ml a las 3 horas y 65 UFC/100ml a las 24 horas de espera respecto a la cepa de *S. aureus*. En cuanto a *E. coli*, al usar 10 cm de diatomea se obtuvo un crecimiento de 95 UFC/100ml a los 30 minutos de espera mientras que al usar 15 cm de diatomea se obtuvo un crecimiento de 96 UFC/100ml a las 3 horas y 65 UFC/100ml a las 10 horas al usar 20 cm de diatomeas.

La Tabla 2 refleja los resultados de la filtración del agua con utilización de diatomeas de Guayaquil como lecho filtrante. Se puede notar que el crecimiento varía a diferente medida de la diatomea. Al usar 10 cm de diatomeas el crecimiento fue de 94 UFC/100ml a los 30 minutos, mientras que ese crecimiento disminuyó a las 10 horas con 86 UFC/100ml y a las 24 horas hubo un crecimiento de 99 UFC/100ml. Con 15 cm de diatomeas el crecimiento fue similar, siendo 80 UFC/100ml a los 30 minutos, 77 UFC/100ml a las 3 horas y llegando a reducir el crecimiento a las 24 horas con 27 UFC/100ml. Por otra parte, con 20 cm de diatomeas se pudo tener un crecimiento de cifras menores, siendo 49 UFC/100ml a los 30 minutos, 21 UFC/100ml a las 10 horas y 37 UFC/100ml a las 24 horas.

La Tabla 3 muestra los resultados de la filtración del agua con utilización de diatomeas de Palmira como lecho filtrante. Al usar 10 cm de diatomeas el crecimiento fue de 95 UFC/100ml a los 30 minutos mientras que ese crecimiento se redujo a las 10 horas con 85 UFC/100ml y a las 24 horas hubo un crecimiento de 87 UFC/100ml. Con 15 cm de diatomeas el crecimiento fue de 88 UFC/100ml a los 30 minutos, 96 UFC/100ml a las 3 horas y llegando a disminuir el crecimiento a las 24 horas con 85 UFC/100ml. Por otra parte, con 20 cm de diatomeas se pudo tener un crecimiento de cifras menores, siendo 32 UFC/100ml a los 30 minutos, 59 UFC/100ml a las 10 horas y 53 UFC/100ml a las 24 horas.

Tabla 1. Comparación entre los filtros de diatomeas de Guayaquil y Palmira

Medida del lecho filtrante		**0 horas**		**30 minutos**		**3 horas**		**10 horas**		**24 horas**		
		UFC/100ml										
		S. aureus	*E. coli*	*S. aureus*	*E. coli*	*S. aureus*	*E. coli*	*S. aureus*	*E. coli*	*S. aureus*	*E. coli*	*Pm*
Filtro 1	10 cm	15	24	94	88	49	57	86	80	84	99	67,6
Filtro 2		65	82	95	95	74	40	92	85	65	87	78,0
Filtro 1	15 cm	77	82	80	90	77	53	27	44	27	40	59,7
Filtro 2		80	74	88	92	94	96	67	71	85	89	83,6
Filtro 1	20 cm	85	54	58	49	99	43	74	21	80	37	60,0
Filtro 2		24	86	32	81	83	96	59	61	65	83	67,0

UFC/100ml: unidades formadoras de colonias presentes en 100 mililitros de solución. **Pm:** promedio de crecimiento por filtro y medida. **Filtro 1:** Procedencia de Guayaquil. **Filtro 2:** Procedencia de Palmira.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Tabla 2. Filtración del agua con lecho filtrante, diatomeas de Guayaquil

FILTRO 1	**0 horas**		**30 minutos**		**3 horas**		**10 horas**		**24 horas**	
	UFC/100ml									
	S. aureus	*E. coli*	*S. aureus*	*E. coli*	*S. aureus*	*E. coli*	*S. aureus*	*E. coli*	*S. aureus*	*E. coli*
10 cm	15	24	94	88	49	57	86	80	84	99
15 cm	77	82	80	90	77	53	27	44	27	40
20 cm	85	54	58	49	99	43	74	21	80	37

UFC/100ml: unidades formadoras de colonias presentes en 100 mililitros de solución.

Tabla 3. Filtración del agua con lecho filtrante, diatomeas de Palmira

FILTRO 2	**0 horas**		**30 minutos**		**3 horas**		**10 horas**		**24 horas**	
	UFC/100ml									
	S. aureus	*E. coli*	*S. aureus*	*E. coli*	*S. aureus*	*E. coli*	*S. aureus*	*E. coli*	*S. aureus*	*E. coli*
10 cm	65	82	95	95	74	40	92	85	65	87
15 cm	80	74	88	92	94	96	67	71	85	89
20 cm	24	86	32	81	83	96	59	61	65	83

UFC/100ml: unidades formadoras de colonias presentes en 100 mililitros de solución.

4 Discusión

Los filtros tienen la función de reducir la contaminación presente en el agua, ya sean estos contaminantes elementos macroscópicos o microorganismos como las bacterias (Apella y Araujo, 2000). Los materiales que han sido de gran uso en las industrias para su elaboración han ido variando conforme surgen nuevas técnicas e investigaciones que favorecen la purificación del agua con mayor efectividad, como el polvo, carbón, entre otros. Debido a esto, en los últimos años se ha observado el incremento en la utilización de diatomeas para múltiples propósitos relacionados a la filtración del agua (Colín-García y col., 2013). En una investigación realizada por Valencia (2014), se menciona que las diatomeas tienen una amplia gama de utilidades, de entre las cuales el autor comprueba su validez para la filtración de agua de mar y eliminación de la carga salina. Es por ello que se considera que según se vaya avanzando e innovando el conocimiento con respecto a filtración por diatomeas, se aproveche su capacidad purificadora al momento de crear filtros de agua que faciliten la retención de contaminantes como polvo y, en el mejor de los casos, reducir la presencia de bacterias y parásitos.

Las diatomeas poseen múltiples utilidades al momento de innovar e investigar. Colín-García y col. (2013), mencionan la utilidad de las diatomeas como fuente de sílice (SiO_2) mismo que tiene muchas aplicaciones tecnológicas como son "la liberación de fármacos, las células fotovoltaicas y materiales cerámicos de alto rendimiento". De la misma manera, Nájera-Arce y col. (2018), hace referencia a la actividad antimicrobiana de las diatomeas, de tal forma que los extractos obtenidos de las especies pertenecientes a la clase Bacillariophyceae s.l., tienen cualidades bactericidas frente a Enterobacterias comunes como *E. coli, S. aureus, Pseudomona. sp*, entre otras; por lo tanto, la aplicación de diatomeas a la filtración de agua de consumo humano permite una acción tanto filtrante como antimicrobiana.

Al totalizar los resultados y contrastar las diatomeas de las regiones de Guayaquil y Palmira, se pudo evidenciar que los resultados obtenidos por filtración con las diatomeas de Guayaquil presentaron una mayor capacidad filtrante (en promedio 77.03 UFC/100ml) a diferencia de las diatomeas de Palmira (en promedio de 114.7 UFC/100ml) tanto en la cepa de *S. aureus* como en *E. coli*. La efectividad de filtración y retención de bacterias aumentó conforme se incrementó la cantidad de diatomeas utilizadas en el lecho filtrante, siendo mayor la purificación al utilizar una longitud de 20 centímetros de diatomeas, seguido de la cantidad de 15 centímetros y finalmente con la menor capacidad filtrante

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

al usar 10 centímetros de diatomeas.

Estos resultados difieren de los obtenidos por Caballero y Zuni (2017), quienes, en su investigación sobre la efectividad de filtros de agua con utilización de diatomeas y quitosano, tuvieron efectividad con el manejo de diatomeas de una región andina ubicada a aproximadamente 3000 msnm. Mediante el filtro que elaboraron en su investigación, se pudo reducir la carga bacteriana de una cepa de *E. coli* de 48 a 5 UFC/100ml mientras que en el estudio presente se logró una considerable mejoría en la filtración mediante el uso de diatomeas de la región costera (baja altitud geográfica), llegando a reducir la presencia de la cepa utilizada de 100 UFC/100ml a 77.03 UFC/100ml. Los datos obtenidos reflejan que las diatomeas por sí solas tienen la capacidad de retener bacterias y disminuir la carga bacteriana presente en el agua contaminada (Caballero y Zuni, 2017). De acuerdo al estudio realizado por Pereira y col. (2017), el carbón activado obtenido de las cáscaras de arroz actúa satisfactoriamente en la purificación del agua. Sin embargo, no se garantiza la eliminación de microorganismos presentes en ella. Por eso, se cree necesario el estudio de la combinación de diatomeas con carbón activado en el mismo filtro con la finalidad de evaluar el comportamiento de estos dos.

Pérez-Vidal y col. (2016), menciona que el uso de filtros comerciales cuya composición es mejor y más compleja, tienen una mayor efectividad en cuanto a la filtración del agua. Esto se debe a que los diferentes materiales dispuestos a lo largo del lecho filtrante cumplen con un porcentaje de la filtración del agua, por lo que, si se añadiese una capa de diatomeas, la filtración bacteriana se aumentaría y se obtendría un resultado más favorable (Calizaya-Anco, Avendaño-Cáceres y Delgado-Vargas, 2013).

5 Conclusiones

Al comparar las tierras de diatomea como lechos filtrantes tanto de Guayaquil como de Palmira se puede comprobar que la tierra de diatomea de Guayaquil es la que arrojó mejores datos.

Se utiliza *S. aureus* para obtener las concentraciones variadas para contaminar el agua y pasarla por el filtro para verificar el lecho filtrante. Hay un crecimiento no menos de 15 UFC/100ml a la hora 0 en el filtro 1 con 10 cm de tierra de diatomea de Guayaquil.

Se realiza la contaminación de agua con bacilos *E. coli* para obtener las concentraciones variadas para contaminar el agua y pasarla por el filtro y verificar el lecho filtrante. Hay un crecimiento no menos de 21 UFC/100ml a las 10 horas en el filtro 1 con 20 cm de tierra de diatomea de Guayaquil.

El tiempo de filtración no es de gran influencia en la purificación del agua debido a que aún con la variación de tiempo, la contaminación seguía siendo la misma.

Referencias

Apella, M. y P. Araujo (2000). *Microbiología del agua. Conceptos básicos*. Tucumán.

Araujo, R. y col. (1997). «Phages of enteric bacteria in fresh water with different levels of faecal pollution». En: *Journal of Applied Microbiology* 82.3, 281-286. Online: https://bit.ly/3DJ9QPe.

Arora, D. y B. Arora (2009). «AIDS-associated parasitic diarrhoea». En: *Indian Journal of Medical Microbiology* 27.3, 185-190. Online: https://bit.ly/3x7Somd.

Blacio, D. y J. Palacios (2011). «Filtros biológicos para la potabilización del agua, posibilidades de uso de FLA (filtros lentos de arena) con agua superficial de nuestra región». Universidad de Cuenca. Online: https://bit.ly/3vHDmRZ.

Caballero, P. y D. Zuni (2017). «Elaboración de filtros de diatomita activada con adición de quitosano para la descontaminación de las aguas del rio Chili a nivel de laboratorio». Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Online: https://bit.ly/3EEUtrJ.

Cabezas Sánchez, C. (2018). «Infectious diseases related to water in Perú». En: *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica* 35.2, 309–316. Online: https://bit.ly/37zDaLZ.

Calizaya-Anco, J., M. Avendaño-Cáceres e I. Delgado-Vargas (2013). «Evaluación de la calidad del agua fluvial con diatomeas (Bacillariophyceae), una experiencia en Tacna, Perú». En: *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* 30.1, 58-63. Online: https://bit.ly/3uciL8H.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (2020). *La* E. coli *y la seguridad de los alimentos*. Online: https://bit.ly/3uaO5of.

Chulluncuy, N. (2011). «Tratamiento de agua para consumo humano». En: *Ingeniería industrial* 29, 153-170. Online: https://bit.ly/3Ozctbp.

Colín-García, M. y col. (2013). «Sílice de las Algas Diatomeas (Clase Bacillariophyceae) como material complejo y su importancia nanotecnológica». En: *La Granja* 17.1, 5-15. Online: https://bit.ly/3LJlts9.

Córdoba, M., V. Del Coco y J. Basualdo (2010). «Agua y salud humana». En: *Química viva* 9.3, 105-119. Online: https://bit.ly/3y5LZsv.

Cué Brugueras, M. (2000). «Erradicación de la poliomielitis». En: *Revista Cubana de Farmacia* 34.3, págs. 221-224.

Del Coco, V., M. Córdoba y J. Basualdo (2009). «Criptosporidiosis: una zoonosis emergente». En: *Revista Argentina de Microbiología* 41.3, 185-196. Online: https://bit.ly/37kIuD9.

Duran, J. y A. Torres (2006). «Los problemas del abastecimiento de agua potable en una ciudad media». En: *Espiral, Estudios sobre Estado y Sociedad* 12.36, 129-162. Online: https://n9.cl/odats.

Ferrari, C. y E. Torres (1998). «Contaminación de los alimentos por virus: un problema de salud pública poco comprendido». En: *Revista Panamericana de Salud Pública* 3.6, 359-366. Online: https://bit.ly/3ucqCDo.

Gil, J., L. Khan y A. Hernández (2002). «Arenas de río procesadas como filtros de riegos localizados». En: *Agronomía Tropical* 52.4. Online: https://bit.ly/38mibwE.

Godoy, P. y col. (2011). «Brote de gastroenteritis por el consumo de agua de suministro público causado por *Shigella sonnei*». En: *Gaceta Sanitaria* 25.5, 363-367. Online: https://bit.ly/370tbzp.

González-Ramírez L.and Falconí-Ontaneda, F. y col. (2020). «Dispersión hídrica de enteroparásitos en una zona agropecuaria de gran altitud, en Los Andes Ecuatorianos». En: *Kasmera* 48.2, Online: https://n9.cl/9tz2d.

González, L., M. Casanova y J. Pérez (2011). «Cólera: historia y actualidad». En: *Revista de Ciencias Médicas de Pinar del Río* 15.4, 280-294. Online: https://bit.ly/3r2hhvV.

Grupo de Tratamiento de Aguas Residuales Universidad de Sevilla (2020). *Bacterias*. Online: https://bit.ly/3xejacV.

Hernández, S. y col. (2017). «Bacterias enteropatógenas asociadas a enfermedad diarreica aguda en niños». En: *Acta Médica del Centro* 11.2, 28-34. Online: https://bit.ly/3udDOHU.

Lara, I. y E. Martínez (2019). «Identificación de bacterias de importancia clínica en productos agrícolas de la cuenca del Río Guamote». Universidad Nacional de Chimborazo. Online: https://bit.ly/3OBuy8E.

Leal, M. (2014). *Tecnologías convencionales de tratamiento de agua y sus limitaciones*.

Lösch, L. y L. Merino (2016). «Presencia de *Legionella* spp. en depósitos domiciliarios de agua potable en Resistencia, Chaco, Argentina». En: *Revista Argentina de Microbiología* 48.4, 329-332. Online: https://bit.ly/3r6riIe.

Marín Velásquez, T., V. Heredia-Jiménez y M. Alcarraz-Curi (2019). «Filtro de cascarilla de Ricinus communis y carbón vegetal para tratamiento de agua contaminada con hidrocarburos: diseño de un sistema en serie por etapas». En: *Ingeniería del agua* 23.3, 187-198. Online: https://bit.ly/38qQm6p.

Marin, M. y col. (2020). «Caracterización de agentes bacterianos aislados en brotes de enfermedades transmitidas por alimentos». En: *Medisan* 24.2, 235-251. Online: https://bit.ly/37JD5G1.

Nájera-Arce, C. y col. (2018). «Actividad antibacteriana de diatomeas marinas aisladas de Acapulco, Guerrero, México». En: *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 53.2, 195-207. Online: https://bit.ly/3r9i3Hz.

OMS (2006). *Guías para la calidad del agua potable*. Organización Mundial de la Salud.

— (2012). *Evaluación de métodos para el tratamiento doméstico del agua*. Organización Mundial de la Salud. Online: https://bit.ly/3v9MDD4.

— (2019). *Agua, datos y cifras*. Organización Mundial de la Salud. Online: https://bit.ly/3uYCVT1.

— (2020). *Campylobacter*. Organización Mundial de la Salud. Online: https://bit.ly/3j9deJM.

Palacios, C. (2013). «Distribución de coliformes fecales en el área marina de la costa ecuatoriana en las provincias de Esmeraldas y Manabí, 2008-2013». En: *Acta Oceanográfica del Pacífico* 18.1, 59-64. Online: https://bit.ly/3NSsbxZ.

Palomino-Camargo, C. y col. (2018). «Delphi methodology in food safety management and foodborne disease prevention». En: *Revista Peruana*

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

de Medicina Experimental y Salud Pública 35.3, 483-490. Online: https://bit.ly/3v3a6F3.

Peranovich, A. (2019). «Waterborne diseases in Argentina and Brazil at the beginning of the 21st century». En: *Saúde e Sociedade* 28.2, 297-309. Online: https://bit.ly/3NVGpy3.

Pereira, F. y col. (2017). «Purificación de agua mediante carbón activo proveniente de la cáscara de arroz». En: vol. 1. 1. Universidad Técnica de Machala, 767-777. Online: https://bit.ly/3K0ivyg.

Pérez-Vidal, Andrea y col. (2016). «Evaluación del tratamiento de agua para consumo humano mediante filtros Lifestraw® y Olla Cerámica». En: *Revista de Salud Pública* 18.2, 275-289. Online: https://n9.cl/8ktu0n.

Ríos-Tobón, S., R. Agudelo-Cadavid y L. Gutiérrez-Builes (2017). «Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano». En: *Revista Facultad Nacional de Salud Pública* 35.2, 236-247. Online: https://n9.cl/t9rxi.

Robert Pullés, M. (2014). «Microorganismos indicadores de la calidad del agua potable en Cuba». En: *Revista CENIC Ciencias Biológicas* 45.1, 25-36. Online: https://bit.ly/3jcqvBi.

Rodríguez Gutiérrez, V., L. Guzmán Osorio y N. Verjan García (2015). «Campylobacter spp. in poultry products and its impact in public health». En: *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia* 10.2, 203-213. Online: https://bit.ly/3LCoo66.

Rodríguez Miranda, J., C. García-Ubaque y J. García-Ubaque (2016). «Enfermedades transmitidas por el agua y saneamiento básico en Colombia». En: *Revista de Salud Pública* 18.5, 738-745. Online: https://bit.ly/3r782un.

Rodríguez, H. y col. (2015). «Las enfermedades transmitidas por alimentos, un problema sanitario que hereda e incrementa el nuevo milenio». En: *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria* 16.8, 1-27. Online: https://n9.cl/ng3zc.

Silupú, C. y col. (2017). «Caracterización de filtros comerciales para agua a base de carbón activado para el tratamiento de agua del río Tumbes-Perú». En: *Revista Colombiana de Química* 46.3, 37-45. Online: https://n9.cl/pzbcv.

Tipán, I. y Martínez (2019). «Detección de bacterias de importancia clínica en el agua del río Guamote, 2019». Universidad Nacional de Chimborazo. Online: https://bit.ly/3k8bO2U.

Valencia, L. (2014). «Utilización de diatomitas para desalinizar aguas de mar». Universidad Nacional de San Agustín. Online: https://bit.ly/393cFzm.

Zelada-Valdés, A., T. Ledón-Pérez y R Fando-Calzada (2015). «El cólera: una enfermedad infecciosa reemergente. El candidato vacunal cv 638, una herramienta para su prevención». En: *Revista CENIC. Ciencias Biológicas* 46.2, 131-143. Online: https://bit.ly/3E0Cs6Z.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

La granja:
Revista de
Ciencias de la Vida

pISSN:1390-3799; eISSN:1390-8596

http://doi.org/10.17163/lgr.n36.2022.08

Artículo científico / Scientific paper

Contaminación Ambiental

Efectos contrastivos de la evaluación de la contaminación ambiental en dos zonas del Distrito Metropolitano de Quito, Ecuador

Contrasting effects of air pollution asessment in two areas of the Quito Metropolitan District, Ecuador

Daniel Cornejo-Vásconez[1], Fabián Rodríguez-Espinosa*[1,2], Alejandra Guasumba[3] y Theofilos Toulkeridis[2]

[1]*Facultad de Economía, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.*
[2]*Departamento de Ciencias de la Tierra y Construcción, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, Sangolquí, Ecuador.*
[3]*Departamento de Geografía, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador.*

*Autor para correspondencia: ffrodriguez3@espe.edu.ec

Manuscrito recibido el 11 de mayo de 2020. Aceptado, tras revisión, el 29 de octubre del 2021. Publicado el 1 de septiembre de 2022.

Resumen

Uno de los principales factores de contaminación del aire dentro de las zonas urbanas es la quema de gasolina por parte de autos, camiones ligeros y motocicletas. La quema de gasolina libera gases contaminantes como el dióxido de nitrógeno, el dióxido de azufre, el monóxido de carbono y el benceno, entre otros. Entre ellos, el dióxido de nitrógeno (NO_x) es el que destaca por la concienciación de la gente sobre dicha contaminación. En esta investigación se utilizó el Método de los Precios Hedónicos (MPH) para determinar la percepción de la gente sobre la calidad del aire como indicador y estimar el efecto de los gases en el mercado inmobiliario. Se seleccionaron dos zonas del Distrito Metropolitano de Quito para evaluar los efectos de la contaminación en los inmuebles. Una con mayor concentración de gases ubicada dentro del casco histórico de Quito, y la otra con mejor calidad de aire conocida como el sector Bellavista. Los resultados de los tres modelos diferentes indicaron que una reducción de 1 ($\mu g/m^3$) de NO_x aumentaría un promedio de 4,54% el valor del mercado inmobiliario, lo que representa un valor de USD 2.032.326,24 para las propiedades de la muestra. Una disminución de 5 ($\mu g/m^3$) aumentaría en un 22,7% el valor de las propiedades.

Palabras clave: Gases de efecto invernadero, precio hedónico, valor de la vivienda, contaminación del aire, Quito.

Abstract

One of the main factors of air contamination within urban areas is burning gasoline by cars, light trucks and motorcycles. Gasoline burning liberates pollution gases such as Nitrogen dioxide, Sulfur dioxide, Carbon monoxide, benzene,

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

besides others. Among these, Nitrogen dioxide (NO_x) is the one that stands out for the people's awareness of such contamination. We used the Hedonic Price Method (HPM) in order to determine people's perception of air quality as a proxy and estimate the effect of gases on the housing market. We selected two areas of Quito Metropolitan District in order to evaluate contamination effects on properties. One with a higher concentration of gases located within the historic district of Quito. The other with better air quality called the Bellavista district. The results of three different models indicated that a reduction of 1 ($\mu g/m^3$) of NO_x would increase an average of 4.54% of the housing market value, which it represents 2,032,326.24 USD in value for sample properties. A decrease of 5 $\mu g/m^3$ will increase in 22.7% of properties value.

Keywords: Greenhouse gases, hedonic price, housing value, air contamination, Quito.

Forma sugerida de citar: Cornejo-Vásconez, D., Rodríguez-Espinosa, F., Guasumba, A., y Toulkeridis, T. (2022). Efectos contrastivos de la evaluación de la contaminación ambiental en dos zonas del Distrito Metropolitano de Quito, Ecuador. La Granja: Revista de Ciencias de la Vida. Vol. 36(2):98-112. http://doi.org/10.17163/lgr.n36.2022.08

IDs Orcid:

Daniel Cornejo-Vásconez: http://orcid.org/0000-0001-5182-3793
Fabián Rodríguez-Espinosa: http://orcid.org/0000-0002-2754-1347
Alejandra Guasumba: http://orcid.org/0000-0001-6119-2454
Theofilos Toulkeridis: http://orcid.org/0000-0003-1903-7914

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

1 Introducción

El aire limpio se considera uno de los requisitos básicos para la salud y el bienestar de los seres humanos (World Health Organization, 2016). La pureza o contaminación del aire puede determinar diferentes problemas sociales y económicos (Panayotou, 2016; Gulia y col., 2015; Victor, 2017). Es posible estimar los daños físicos por medio de los análisis de los impactos de visibilidad, los impactos de lluvia ácida, los daños a los cultivos y a la vegetación, los impactos del valor de los inmuebles, los impactos de corrosión y suciedad, los efectos de recreación y los efectos sobre la salud. De igual forma, la mala calidad del aire se asocia con la incidencia de enfermedades a corto y largo plazo, en especial del sistema respiratorio y neurológico, como han señalado varios autores como Zivin y Shrader (2016), Calderón-Garcidueñas y col. (2016) y Perera (2017).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que, en 2014, el 82% de la población de los países en desarrollo podría estar sujeta a niveles que tienden a superar las normas mínimas de calidad estipuladas en sus directrices sobre la calidad del aire (World Health Organization, 2006; World Health Organization, 2016). Este problema es más significativo en las grandes ciudades de todos los continentes (Smith y Huang, 1993; Bayer, Keohane y Timmins, 2009; Kennedy, Cuddihy y Engel-Yan, 2007). Sin embargo, es difícil evaluar el impacto de la contaminación atmosférica en la salud. Varios estudios han utilizado el valor de una vida estadística (VVE) como método para estimar la reducción marginal en el riesgo de muerte prematura (Sanchez Martinez y col., 2018; World Bank, 2016; Franchini y Mannucci, 2015; World Health Organization, 2016). Sin embargo, estos estudios requirieron datos completos de muertes prematuras para estimar el coste potencial. El presente estudio no ha tomado en cuenta los efectos de la contaminación sobre la salud debido a la falta de acceso de la información sobre muertes prematuras, ya que dicha información se limita a los centros de salud y a las oficinas gubernamentales de salud que no la facilitan.

En cambio, en la investigación se estimó el impacto de los daños físicos en el valor de los inmuebles. Diferentes investigaciones han demostrado que este impacto también afecta el precio de los hogares, menoscabando el valor del patrimonio privado de los ciudadanos (Bajari, Fruehwirth y Timmins, 2012; Cebula, 2009; Neupane y Gustavson, 2008; Égert y Mihaljek, 2007; Chau y col., 2006; Kiel, 2006; Jackson, 2001; Harrison Jr. y Rubinfeld, 1978; Rodriguez y col., 2017). Estas investigaciones se han basado en el estudio clásico de Rosen (1974), quien desarrolló la base teórica del modelo hedónico, y los estudios de Freeman III (1974), así como de Harrison Jr. y Rubinfeld (1978), quienes realizaron estudios empíricos de la teoría. Estas investigaciones determinaron la demanda y los beneficios del aire limpio en las zonas urbanas. La contaminación atmosférica es un problema que se origina por las actividades antropogénicas y ha estado directamente relacionada con las diferentes actividades individuales y económicas de los ciudadanos (Toulkeridis y col., 2020). Esta preocupación surge dentro de los espacios urbanos abiertos según la intensidad de la quema de combustibles fósiles ya sea por la actividad industrial o por el uso de vehículos (World Health Organization, 2016). Por lo tanto, la reducción de la contaminación permite a los ciudadanos de cualquier ciudad respirar un aire menos contaminado (World Bank, 2016; World Health Organization, 2016) o mejorar el valor de una propiedad. Esto se convierte en un servicio medioambiental, cuya valoración monetaria se mejora como parte de las medidas de política adecuadas que protegen la salud y la situación económica a nivel del patrimonio. Adicionalmente, la calidad relativa del aire afecta la (des-) valorización de los bienes raíces debido a los niveles de contaminación de su ubicación (Del Giudice y col., 2017; Saaty y De Paola, 2017).

En este sentido, la contaminación representa un elemento negativo y el método hedónico de fijación de precios se adapta como una técnica que permite la valoración económica de la calidad del aire como servicio ambiental. En consecuencia, se busca inferir sobre la voluntad de pagar para recibir una mejor calidad del aire y su impacto en el mercado inmobiliario. El supuesto persigue que los individuos pagarán un precio más alto por una casa, apartamento u oficina, que puede estar ubicada en un área con menos contaminación ambiental, en comparación con una propiedad con características similares en un área con mayor contaminación (Harrison Jr. y Rubinfeld, 1978; Echegaray-Aveiga y col., 2020; Robayo, Llorca y Toulkeridis, 2020; Poma y col., 2021). Usando la metodología mencionada, el presente estudio puede estimar el valor eco-

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

nómico de la calidad del aire en la ciudad de Quito, en el centro de Ecuador, contrastando los efectos de la contaminación del aire en dos áreas conocidas, tales como Bellavista y el Distrito Histórico. Este propósito se basará en su ubicación geográfica, contenido geomorfológico, acceso a vehículos y distribución de viviendas, lo que puede indicar diferentes niveles promedio de contaminación (Toulkeridis y col., 2016; Nugra y col., 2016; Guanochanga y col., 2018; Guanochanga y col., 2019; Fuertes y col., 2019; Borja-Urbano y col., 2021).

1.1 El estudio de caso de la ciudad de Quito

El Distrito Metropolitano de Quito (DMQ) es una gran ciudad con una altura considerable, donde aún no se ha llevado a cabo una evaluación de la situación de la calidad del aire (Figura 1). Hoy en día, la ciudad de Quito cuenta aproximadamente con tres millones de habitantes, siendo la más poblada del país. A pesar de ello, es la ciudad con mayor actividad industrial general del país, con un Valor Agregado Bruto (VAB) de USD 23,7 billones, según las Cuentas Regionales del Banco Central del Ecuador (BCE, 2015). Simultáneamente, la flota de vehículos ha crecido un 57% desde 2012, situando la ciudad por encima de la media nacional (INEC, 2016), aumentando la contaminación del aire en el DMQ.

Según el Informe de Calidad del Aire de la Secretaría de Medio Ambiente de Quito (SAQ) en el DMQ (SAQ, 2017), la principal fuente de contaminación del aire del DMQ es el transporte que utiliza combustible diésel y gasolina, agravado por la congestión vehicular causada por vehículos privados. Además, hay un impacto importante del uso de combustible pesado por plantas termoeléctricas y otras industrias en áreas específicas del DMQ. Tales actividades son responsables de la concentración de partículas contaminantes en el aire tales como óxidos de nitrógeno (NO_x), monóxido de carbono (CO), dióxido de azufre (SO_2) materia particulada (PM_{10}), $PM_{2,5}$, amoniaco (NH_3) o benceno, entre otras, basadas en la Norma Ecuatoriana de Calidad del Aire (NECA). Según Baca (2014), la principal fuente de contaminación son las fuentes móviles, como los vehículos privados y el transporte público, la segunda fuente de contaminación atmosférica en el DMQ son las fuentes de contaminación de área, como las instalaciones de eliminación de residuos, y en menor grado las fuentes estacionarias.

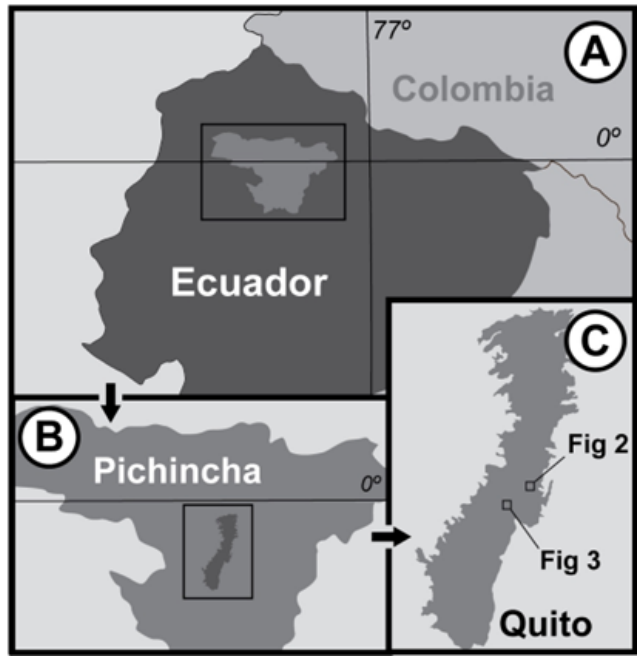

Figura 1. Área de estudio.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

La calidad del aire es considerada como un servicio ambiental de acuerdo a la Iniciativa de Economía de los Ecosistemas y la Biodiversidad (The Economics of Ecosystems and Biodiversity, 2013), y sus resultados de valoración económica o monetaria son esenciales para orientar a los políticos con el fin de mejorar la salud de los ciudadanos. Adicionalmente, el impacto de la calidad del aire en el valor de la propiedad inmobiliaria o la devaluación de una propiedad debido a los niveles de contaminación del aire como elemento negativo puede demostrar el valor económico de la calidad del aire. El método hedónico de precios permitió valorar el impacto de esta externalidad, estimando la voluntad de los compradores de pagar por una mejor calidad del aire a través del mercado de la vivienda. Se supone que los compradores pagarían un valor adicional por propiedades ubicadas en áreas con menos contaminación (Harrison Jr. y Rubinfeld, 1978).

El presente estudio busca estimar el valor económico de la calidad del aire en Quito contrastando el impacto de la contaminación en dos áreas, Bellavista y el Centro Histórico, que representan dos niveles diferentes de contaminación. La elección de estos dos sectores busca captar el efecto de la purificación del aire por los ecosistemas forestales cercanos. El barrio de Bellavista limita con el Parque Metropolitano de Quito, que es un parque recreativo arbolado, donde los grados de contaminación son relativamente bajos. El Centro Histórico de Quito representa algunas características espaciales tales como calles estrechas, flujo constante de tráfico y atascos de tráfico, flujo de transporte público cerca de áreas de establecimientos industriales además de otros contaminantes del aire, que permiten entender que los valores de contaminación ambiental exceden el promedio de la ciudad para esta área.

Gracias a la Red Metropolitana de Monitoreo Atmosférico de Quito (REMMAQ) que determina la calidad del aire de la ciudad, hemos podido cuantificar la calidad del aire de ambas áreas. La RENMAQ ha evaluado la calidad del aire desde 2003 con unas 39 estaciones en toda la zona urbana, los valles circundantes y a nivel regional y de calle (SAQ, 2017), y se espera que permita la transparencia sobre las tarifas asumidas por los ciudadanos de Quito en relación al precio de sus hogares. Por lo tanto, consideramos que los resultados del presente estudio pueden servir para presentar los beneficios que pueden representar para la ciudad y, específicamente, para el patrimonio de quiteños. Además, la adopción de medidas puede mejorar la calidad del aire y proteger el ecosistema que apoya su purificación.

La purificación del aire es un servicio ambiental ofrecido por los ecosistemas. Dentro de la clasificación de la Iniciativa de Economía de los Ecosistemas y Biodiversidad TEEB, que divide los bienes y servicios ambientales por categorías (suministro, regulación, apoyo vital y cultura), la calidad del aire se ha concebido como una regla de los servicios de regulación de los ecosistemas (The Economics of Ecosystems and Biodiversity, 2013). Mientras tanto, en Ecuador, la NECA define el aire contaminado como la presencia de sustancias en la atmósfera, resultantes de actividades humanas o procesos naturales presentes a una gran concentración, durante un tiempo extendido y en circunstancias que interfieren con el confort, la salud o el bienestar de los seres humanos o del medio ambiente (Ministerio del Ambiente del Ecuador, 2011). Para la NECA y el SAQ, las sustancias más representativas en la atmósfera son principalmente SO_2, CO, NO_2, O_3 y benceno y en menor cantidad M_{10}, $PM_{2,5}$, cadmio y mercurio inorgánico. La revisión de los estudios preliminares sobre la evaluación de la calidad del aire indica un interés sobre la variable NO_2 como indicador para la contaminación (Smith y Huang, 1993), mientras que otros sugieren que las variables de contaminación están fuertemente correlacionadas. Si este es el caso, entonces se recomienda utilizar NO_2 como indicador, ya que está vinculado a la mayor contaminación visual, tal como los procesos de combustión (Harrison Jr. y Rubinfeld, 1978).

1.2 Método hedónico de fijación de precios

El método de precios hedónico (MPH) identifica el flujo de servicios ambientales como características que describen de una manera particular un bien del mercado, normalmente de bienes raíces (Hanley y Barbier, 2009). La validez teórica del método se ha basado en la teoría del valor del enfoque propuesto (Rosen, 1974; Lancaster, 1979), que indica que una unidad de bien o servicio (h_i) dentro del grupo de bienes y servicios del mismo mercado se ha descrito por un vector de sus características, conocida como Z (Hanley y Barbier, 2009). En este sentido, el precio de esta unidad de bien o servicio ($p(h_i)$) se pue-

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

de entender como una función de las características. Formalmente, la relación se define de la siguiente manera:

$$p(h_i) = f(Z_i) \quad (1)$$

Sobre la base de la definición propuesta del MPH, la práctica ha establecido que el valor de una casa perteneciente al conjunto de casas del universo de interés, depende de dos condiciones. La primera es un vector de características (número de habitaciones, metros cuadrado, barrio, criminalidad, etc.), mientras que la segunda es un vector de variables ambientales como la proximidad a los parques. Al diferenciar el precio por la cantidad de cualquier característica, el precio implícito se obtiene en términos relativos. El precio implícito documenta la disposición de pago de una persona debido a cierta cantidad o calidad de una de sus características (Hanley y Barbier, 2009).

Si se trata de identificar adecuadamente la magnitud del efecto del inmueble y el servicio ambiental en el precio de mercado de los bienes raíces, la teoría permite desglosar las características y mantener constantes todas aquellas, excepto la variable ambiental; es decir, cuando se aplica la condición de *ceteris paribus* (Schiffer, 1991; Boumans y Morgan, 2001). La lógica subyacente al concepto de precio implícito establece que los agentes buscan maximizar su utilidad, de modo que adapten sus compras a la condición de racionalidad y a la percepción de buena calidad, lo que lleva al punto en que la tasa marginal de sustitución (TMS) es igual al precio implícito de una determinada característica (Hanley y Barbier, 2009).

Este argumento resulta de gran importancia ya que valida dos supuestos fundamentales de la investigación: 1) Los agentes están en la capacidad de reflejar y considerar factores como la contaminación del aire y otras características de una casa al momento de elegir; 2) Se establece el principio de que los agentes hacen una oferta «al margen». Esto implica que el dinero que están dispuestos a pagar es igual al beneficio generado por el conjunto de características de la casa. De hecho, esta condición es necesaria para que exista el intercambio. En este contexto, es normal pensar que el precio de una casa refleja, en parte, la voluntad de pagar a un comprador por una mejor calidad del aire como una característica deseable.

1.3 Función de precio hedónico para el caso de la calidad del aire

La intención es definir la función teórica entre el precio de la propiedad inmobiliaria y la variable ambiental de interés, específicamente la calidad del aire. Además, se proponen las variables explicativas pertinentes. Se puede estimar una función hedónica de precios estableciendo las relaciones entre el precio de la propiedad y sus características particulares:

$$p_i = f\left(CS_i, CN_i, CE_i + \varepsilon_i\right) \quad (2)$$

Donde, siguiendo la categorización de Égert y Mihaljek (2007) y Hanley y Barbier (2009) se tiene:
$p_i =$ precio de la propiedad i.
$CS_i =$ características del sitio (número de habitaciones, sin baños, superficie, sin garajes, antigüedad y zonas verdes).
$CN_i =$ características del vecindario (criminalidad y distancia al parque más cercano).
$CE_i =$ características ambientales (en este caso resulta de interés la contaminación en la zona).
$\varepsilon_i =$ término de error.

La función de precio hedónico permite obtener el precio implícito. Por lo tanto, se puede obtener el cambio marginal en el precio de la propiedad asociado al cambio marginal de cualquiera de las características propuestas. En cuanto a la relación de interés entre el precio p_i y la contaminación ambiental, se espera que no siga un patrón lineal. Siguiendo el argumento de Rosen (1974), lo que se desea es la calidad del aire ya que está directamente relacionada con el precio de la vivienda, pero a un ritmo decreciente. Por lo tanto, se espera que $\frac{\partial p_i}{\partial CE_i} > 0$, pero $\frac{\partial^2 p_i}{\partial {CE_i}^2} < 0$: el coste marginal de la calidad del aire, su precio implícito, caiga mientras aumenta el nivel de calidad del aire. Cuando hay bajos niveles de contaminación, se espera que las personas valoren mucho menos dicho atributo en comparación con un área con graves problemas de contaminación.

2 Metodología

El presente estudio considera dos zonas cuyos niveles de contaminación difieren significativamente. Primero está la zona del Centro Histórico de Quito (HDQ) (Figura 2) y segundo la zona de Bellavista en el centro norte de la ciudad. Es importante considerar que un criterio para elegir la zona de Bellavista

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

es su ubicación, puesto que aborda el extremo suroeste del Parque Metropolitano de Quito (Figura 3), que permite procesos continuos de purificación del aire. El siguiente mapa geográfico se ha construido de acuerdo con la información del Gobierno Abierto de Quito (GAQ), sobre la base de los límites de la Figura 2. Resulta interesante comparar el mapa geográfico del HDQ (Figura 3) con el que se presentó con la zona Bellavista (Figura 2). En el Centro Histórico no hay mayor presencia de áreas verdes tales como parques. Además, hay un mayor número de construcción de viviendas. Sobre la base de estos resultados según una división geográfica de las zonas elegidas, se puede definir la siguiente matriz de información de la muestra según la información de la cantidad (N) de viviendas (Tabla 1).

Figura 2. Mapa geográfico de la zona de Bellavista.

Tabla 1. Matriz del número de viviendas para la muestra

Zona	No. de Propiedades (N=)	Nivel de Confianza (%)	Rango de Error (%)	Tamaño de la muestra
Bellavista	3.056	95 %	5 %	**342**
Centro Histórico	15.456	95 %	5 %	**375**

Los resultados del tamaño de la muestra se obtienen en base al siguiente método de cálculo:

$$n = \frac{\frac{z^2 * \sigma^2}{e^2}}{1 + \left(\frac{z^2 * \sigma^2}{e^2 N}\right)} \quad (3)$$

Donde,
$e =$ rango de error ($= 5\%$)
$z =$ puntuación z (a un nivel de significancia de 95 %)
$N =$ tamaño de la población

En el presente estudio se ha tomado una muestra focal debido a la disponibilidad de la información. La muestra tiene un total de n = 149 observaciones, de las cuales 80 corresponden al Centro Histórico y 69 al área de Bellavista. La muestra incluye información sobre el valor de los bienes raíces y la contaminación del aire en la zona donde se encuentra. Además, recopila datos sobre otros determinantes del precio de la propiedad que han sido considerados significativos como variables de control. En la Tabla 2 se presentan y definen las variables relacionadas con los niveles de contaminación en el HDQ o Bellavista, y aquellas con características de control adicionales que puedan afectar al precio. Además, se muestra el origen de información de cada variable.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

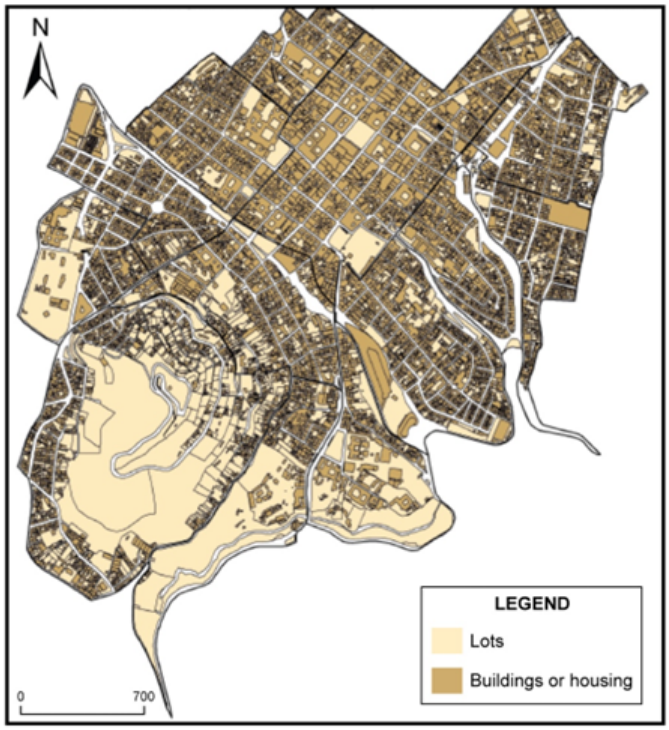

Figura 3. Mapa geográfico del HDQ.

Tabla 2. Matriz de variables del modelo hedónico. Fuentes: (a) Plusvalia.com, (b) Vive1.com, (c) OLX.com, (d) Secretaría de Ambiente del DMQ, (e) Fiscalía General del Estado

Concepto	Variable	Definición	Unidades	Fuente
Precio	Precio de mercado	Precio de mercado de los bienes raices (a la fecha de estudio)	USD	a, b, c
Precio m^2	Precio m^2	Precio de mercado de los bienes raices (a la fecha de estudio)	USD/m^2	a, b, c
Contaminación	SO_2	Concentración annual promedio (= año 2016) de dióxido de azufre zonado	µm/m^3	d
Contaminación	CO	Concentración annual promedio (= año 2016) de dióxido de monóxido de carbono	mg/m^3	d
Contaminación	NO_2	Concentración annual promedio (= año 2016) de dióxido de nitrógeno zonado	µm/m^3	d
Contaminación	O_3	Concentración annual promedio (= año 2016) de dióxido de ozonozonado	µm/m^3	d
Contaminación	Benzeno	Concentración annual promedio (= año 2016) de dióxido de benceno zonado	µm/m^3	d
Cuartos	No. de cuartos	Número de habitaciones disponibles	cuartos	a, b, c
Baños	No. of baños	Número de baños disponibles	baños	a, b, c
Superficie	Superficie	Extensión de superficie	m^2	a, b, c
Parqueaderos	No. de garages	Número de garajes propios disponibles	parqueos	a, b, c
Antiguedad	Años de antigüedad	Número de años desde la construcción de la propiedad	años	a, b, c
Áreas verdes	Áreas verdes	Disponibilidad de áreas verdes como jardines, terrazas verdes, etc.	0=no 1=yes	a, b, c
Inseguridad	Criminalidad	Suma zonificada de denuncias de delitos contra las personas y la propiedad privada año 2016	denuncias	e

2.1 El método de precios hedónico

2.1.1 Modelo de los precios hedónicos (MPH)

Se presentan dos MPH básicos: I y II, considerando las reflexiones teóricas presentadas en las secciones anteriores. El MPH I demuestra un cambio lineal entre la evolución de las variables ambientales y el precio de la vivienda. La diferencia entre el modelo II y el I es la aplicación de la hipótesis de la relación con la disminución de las tasas entre el precio de una propiedad y la calidad ambiental en el mercado inmobiliario. En este sentido, se aplica un factor de corrección exponencial. De igual forma se consideran las variables: transformación de las ha-

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

bitaciones, superficie y antigüedad, elevándolas al cuadrado en ambas zonas para el modelo general II. Los modelos se obtienen con o sin la aplicación del logaritmo natural en la variable dependiente. En este sentido, se obtienen modelos Log-Log (elasticidades) y Semi-Log (semi-elasticidad), que también proporcionan información de interés en este estudio. En general, los modelos se definen de la siguiente manera:

Definición del MPH I:

$$\ln(p_i) = \beta_0 + \beta_j \sum_{j=1} \ln\left(contaminación_i^j\right) + \beta_k \sum_{k=5} ln\left(características_i^k\right) + \varepsilon_i \quad (4)$$

Definición del MPH II:

$$\ln(p_i) = \beta_0 + \beta_j \sum_{j=1} \ln\left(contaminación_i^j\right) + \beta_k \sum_{k=5} \ln\left(características_i^k\right) + \beta_l \sum_{l=13} \ln\left[\left(contaminación_i^l\right)^{0,5}\right] + \beta_{19} cuartos_i^2 + \varepsilon_i \quad (5)$$

Donde,

$\ln(p_i)$ = precio de la propiedad i
$\ln\left(contaminación_i^j\right)$ =logaritmo natural de la variable $j = 1 \ldots 5$, del conjunto de variables de contaminación: { SO_2,CO_2,NO_2,O_3 y Benceno }
$\ln\left(contaminación_i^l\right)^{0,5}$ = logaritmo natural de la variable $l = 6 \ldots 10$, del conjunto de variables de la raíz cuadrada de la contaminación: {$SO_2^{0,5}$,$CO_2^{0,5}$,$NO_2^{0,5}$,$O_3^{0,5}$ y Benceno^{0,5} }
$\ln\left(características_i^k\right)$ = logaritmo natural de la variable $k = 11 \ldots 18$, del conjunto de variables características de la propiedad: {cuartos, baños, garaje, antigüedad, áreas verdes y criminalidad}
$cuartos_i^2$ = número de habitaciones por metro cuadrado y ε_i = término de error

3 Resultados y discusión

La contaminación atmosférica entre el Centro Histórico de Quito y Bellavista difiere al considerar las variables de contaminación resultantes de las actividades antropogénicas. A continuación se muestran los resultados de las mediciones de la concentración de SO_2, CO, NO_2, O_3 y Benceno (Figura 4).

Los resultados indican que para todos los contaminantes, el HDQ mantiene niveles más bajos de calidad del aire en comparación con Bellavista. Esto corrobora la afirmación acerca de la existencia de niveles más altos de contaminación relacionados con los procesos de combustión (CO, NO_2, SO_2 y Benceno), e, indirectamente, se refleja en niveles más altos de O_3 entre ambas zonas. En relación a los precios de la vivienda y el precio por metro cuadrado, se obtiene la siguiente información.

Los resultados de otras características del inmueble fueron los previstos. Las variables como superficie de construcción, tamaño de la parcela, número de dormitorios, número de baños, antigüedad de la casa, y la presencia de jardín fue significativa en 99%. Entre las características del vecindario, sólo el garaje fue significativo en 95%, mientras que las áreas verdes fueron insignificantes. Se seleccionaron todas las variables significativas con las variables ambientales y se realizó de nuevo el modelo de regresión final.

El precio medio de la zona de Bellavista supera el del Distrito Histórico en USD 47.267 (Figura 5). En promedio, los precios de inmuebles en el Centro Histórico son menores aunque en esta zona la propiedad más cara de la muestra se ofrece con un precio de USD 1'480.000, siendo casi USD 900.000 más alto que la propiedad más cara de Bellavista. Al comparar esta información con respecto a los precios mínimos obtenidos, se concluye que hay mayor variabilidad de precios en la muestra del Centro Histórico en comparación con Bellavista. Otra forma de tener una comprensión más precisa del mercado inmobiliario en ambos sectores es evaluando su precio por metro cuadrado.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

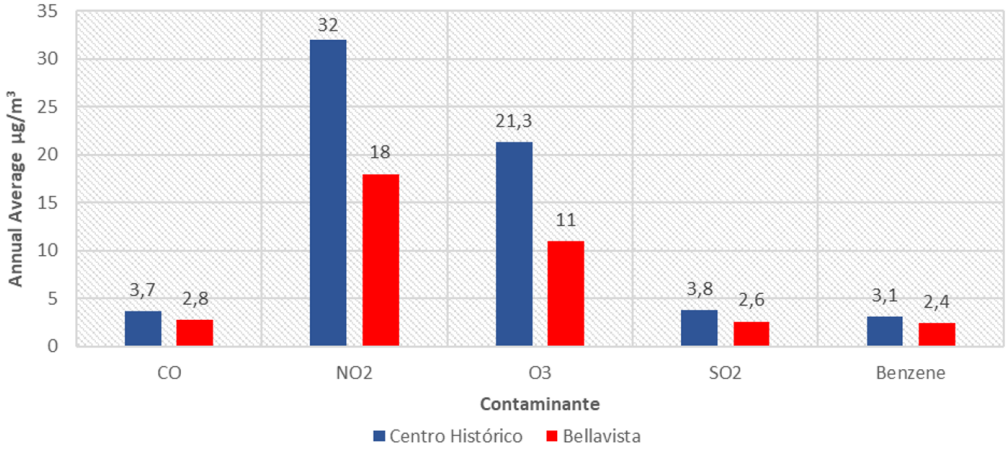

Figura 4. Comparación de contaminantes por área de estudio.

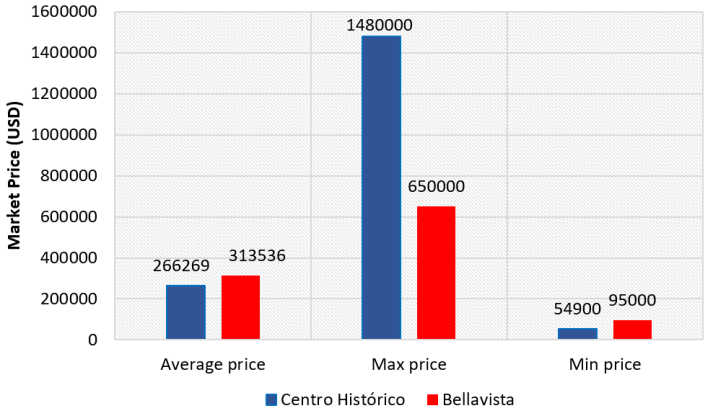

Figura 5. Comparativa de precios de mercado de la vivienda según zona de estudio. Adaptado de sitios web de bienes raíces.

La Figura 6 muestra que el mercado inmobiliario en el área de Bellavista es más caro comparado con el Centro Histórico. Por lo tanto, el metro cuadrado promedio es casi tres veces mayor. Esto ocurre incluso considerando el precio máximo o mínimo por metro cuadrado. En general, la zona de Bellavista es más atractiva desde el punto de vista de la valoración de los inmuebles que allí se ofrecen. Esto es un resultado positivo basado en los objetivos del estudio actual, ya que existen claras diferencias entre el Centro Histórico y Bellavista en cuanto al precio de la vivienda por metro cuadrado.

Para obtener los resultados de los modelos empíricos de la función del precio hedónico, se ha tenido en cuenta la concentración media anual de miligramos por metro cúbico de NO_2, ya que las variables de contaminación están muy correlacionadas, evitando problemas de multicolinealidad. Posiblemente esto se deba a la estrecha relación entre las fuentes de contaminación, como los procesos de combustión de CO, NO_2, SO_2 y Benceno. Una posible solución podría verse en la extensión a otras áreas de estudio, reflejando una mayor variabilidad a las medidas de contaminación. Sin embargo, nos encontramos con la forma funcional más óptima que permite la bondad del ajuste y mayor significado posible para las diferentes propuestas del modelo.

En este sentido, los resultados de los modelos de la versión semi-log se ajustan mejor a estas es-

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

pecificaciones. Los modelos que consideraron la relación a tasas decrecientes entre NO_2 y los precios de la vivienda indicaron una falta de mejora en la especificación del modelo. La estimación del valor exponencial adecuado es más apropiada cuando se estudia un mayor número de zonas. Por lo tanto, esto puede explicar brevemente el modelo a pesar de tener una validación teórica. Los modelos se corrigen por heteroscedasticidad. En particular, algunas variables tales como el precio por metro cuadrado (m^2) o la antigüedad de la vivienda mostraron este problema. A continuación se presentan los resultados de la elaboración de modelos que figuran en la Tabla 3.

Se obtuvieron altos niveles de los valores de $R^2 =$ 91 %), que son similares a los obtenidos por Cebula (2009) de $R^2 = 87\,\%$, Chau y col. (2006) $R^2 = 87\,\%$, y Jackson (2001) con $R^2 = 81\,\%$, indicando que las variables en la ecuación explican en gran medida la variación del precio de la vivienda en la muestra. La variable NO2 tiene un signo negativo y resulta ser muy significativa, incluso con un nivel de confianza del 99 % en los tres modelos propuestos. Adicionalmente, el Modelo III disminuye en 1 μgm^{-3} en la concentración media anual de NO_2, aumentando con el precio promedio de los hogares en un 4,54 %. Con estos datos, se ha podido evaluar la calidad del aire tal como se muestra en la Tabla 4, al tiempo que se consideran los resultados del Modelo III.

Tabla 3. Resultados de los Modelos I, II y III. Las estadísticas t están entre paréntesis. *Supera el nivel de confianza del 95 % (t>1,96); **Supera el nivel de confianza del 99 % (t>2,58)

Variable	Modelo I	Modelo II	Modelo III
Dependiente	Log (pm)	Log (pm)	Log (pm)
Constante	8,99	6,30	1,217
	(9,72)	(12,02)	(0,44)
Log (Precio (m^2))	0,5288	0,8389	2,44
	(5,81)**	(15,26)**	(2,84)**
Log (Precio (^{2}))^2			-0,1227
			(-1,87)
Habitación	0,0852	0,0694	0,0677
	(3,86)**	(4,05)**	(4,00)**
Habitación^2	-0,0029	-0,0022	-0,00213
	(-5,17)**	(-4,64)**	(-4,54)**
Baños	0,0530	-0,0106	-0,011
	(3,28)**	(-0,88)	(-0,96)
Garaje	0,0394	0,0106	0,008
	(2,25)*	(0,85)	(0,67)
Superficie	0,0012	0,0039	0,0039
	(7,71)**	(11,87)**	(11,86)**
Superficie^2		-1,35E-06	-1,32E-06
		(-6,05)**	(-6,04)**
Antigüedad	0,0045	0,0076	0,0063
	(2,76)**	(3,45)**	(2,87)**
Antiguedad^2		-0,00005	-0,00004
		(-2,58)**	(-2,38)*
Áreas verdes	0,9188	0,0338	0,0336
	(1,40)	(0,71)	(0,44)
NO_2	-0,0546	-0,0430	-0,0454
	(-3,79)**	(-4,99)**	(-5,08)**
R^2	0,77	0,9	0,91

LA GRANJA: *Revista de Ciencias de la Vida* 36(2) 2022:98-112.
©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Las estimaciones demostraron que una disminución en el promedio anual de un miligramo por metro cúbico de NO_2 aumenta el precio de la vivienda en un 4,5 %. Asimismo, una disminución de cinco miligramos por metro cúbico de NO_2 aumenta en un 22,7 % el precio de los hogares de la muestra. En el primer caso, hay un aumento en el capital de USD 2'032.326,24 considerando las 148 viviendas en el área de estudio. En el segundo caso, la renta variable aumenta, en términos agregados, en USD 10'161.632,22. El precio promedio de las 148 viviendas aumenta entre USD 13.731,93 y 68.659,67, ya que la contaminación del aire disminuye entre uno y cinco miligramos por metro cúbico de NO_2. Obviamente, una disminución de más de 5 μgm^{-3} de NO_2 resultaría en mayores beneficios económicos. Así, de acuerdo con la reducción en los niveles anuales promedio de miligramos por metro cúbico de NO_2, los propietarios se beneficiarán de un mejor valor de sus propiedades, y por lo tanto, sus activos. En última instancia, su situación económica mejora debido a la calidad relativa del aire en la zona donde se encuentra el inmueble.

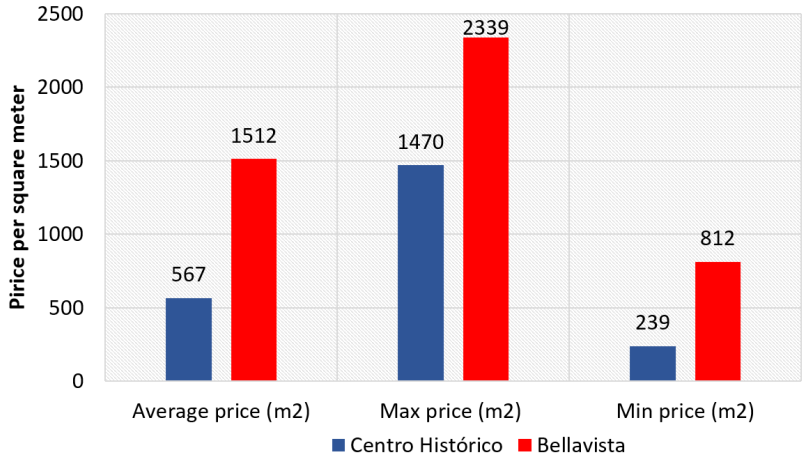

Figura 6. Comparativa de precios m^2 de viviendas según zona de estudio. Fuente: Sitios web de bienes raíces.

Tabla 4. Evaluación de la calidad del aire.

Variaciones		**Muestra Focal**				
Δ^- (NO_2) (μm/m3)	Δ^+ (Precio) (%)	Precio medio (USD)	Cantidad de hogares (n)	Δ Patrimonio (USD)	Δ Precio medio (USD)	Diferencia de precios medios (USD)
1	4,5 %	302 465,51	148	2'032 326,24	316 197,44	13 731,93
2	9,1 %	302465,51	148	4'064 652,49	329 929,38	27 463,87
3	13,6 %	302 465,51	148	6'096 978,73	343 661,31	41 195,80
4	18,2 %	302 465,51	148	8'129 304,98	357 393,24	54 927,74
5	22,7 %	302 465,51	148	10'161 631,22	371 125,18	68 659,67

4 Conclusiones

Las dos zonas estudiadas de la ciudad de Quito están directamente afectadas (entendido como un elemento negativo) por diferentes actividades económicas que generan contaminación. Nuestros resultados demuestran que NO_2 (32 μgm^{-3}) tiene el valor más alto entre los contaminantes urbanos. Hay una diferencia significativa entre el Centro Histórico y Bellavista, siendo 32 μgm^{-3}, y 23 μgm^{-3}, respectivamente. Estos niveles de contaminación tienen un efecto directo sobre el precio de los inmuebles, tal

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

como se ha indicado. Las diferencias en los precios de la vivienda se deben en parte a los distintos niveles de contaminación en ambas zonas.

Los modelos econométricos indicaron que una disminución en el promedio anual de un miligramo por m^3 de NO_2 aumenta el precio de la vivienda en un 4,5%, lo que significa un aumento en el capital social de USD 2'032.326,24. El precio promedio de las 148 viviendas aumenta aproximadamente USD 13.731,93 si la contaminación del aire disminuye en un miligramo por metro cúbico de NO_2. Obviamente, una mayor reducción de los contaminantes resultará en mayores beneficios económicos.

Estos resultados pueden ayudar a establecer políticas que tengan la intención de mejorar la calidad del aire. Las políticas tales como la promoción de áreas verdes en zonas con altos niveles de contaminación pueden mejorar las injustas sanciones en los inmuebles de los propietarios. Además, los resultados obtenidos indican la importancia de mantener áreas boscosas pues juegan un papel importante en la purificación del aire, permitiendo a la gente beneficiarse directamente del aire.

El estudio actual considera una muestra focal y esto conduce a limitaciones al inferir los resultados a nivel de la población. Sin embargo, el R^2 (0,91) es muy alto, permitiendo generalizar nuestros resultados y justificar una investigación más extensa en el DMQ con respecto a la contaminación del aire y sus efectos en el inmueble. Además, el estudio se concentró sólo en el contaminante NO^2, por lo que resulta muy importante medir los otros 3 contaminantes.

Referencias

BCE (2015). *Cuentas Nacionales Regionales*. Inf. téc. Banco Central del Ecuador, Quito, Ecuador. Online: https : / / www . bce . fin . ec / index . php / component / k2 / item / 293 - cuentas - provinciales/.

Baca, J. (2014). *Informe Final Inventario de Emisiones de Contaminantes Criterio, DMQ 2011*. Inf. téc. Secretaría de Ambiente, Distrito Metropolitano de Quito.

Bajari, P., J. Fruehwirth y C. Timmins (2012). «A rational expectations approach to hedonic price regressions with time-varying unobserved product attributes: The price of pollution». En: *American Economic Review* 102.5, 1898-1926. Online:https://bit.ly/38l8LkY.

Bayer, P., N. Keohane y C. Timmins (2009). «Migration and hedonic valuation: The case of air quality». En: *Journal of Environmental Economics and Management* 58.1, 1-14. Online:https : / / bit . ly / 3kgGRJz.

Borja-Urbano, S. y col. (2021). «Valuing the Impact of Air Pollution in Urban Residence Using Hedonic Pricing and Geospatial Analysis, Evidence From Quito, Ecuador». En: *Air, Soil and Water Research* 14, 11-26. Online:https://bit.ly/3ESFavG.

Boumans, M. y M. Morgan (2001). «Ceteris paribus conditions: materiality and the application of economic theories». En: *Journal of Economic Methodology* 8.1, págs. 11-26.

Calderón-Garcidueñas, L. y col. (2016). «Air pollution, a rising environmental risk factor for cognition, neuroinflammation and neurodegeneration: The clinical impact on children and beyond». En: *Revue neurologique* 172.1, 69-80. Online:https://bit.ly/399dJBL.

Cebula, R. (2009). «The hedonic pricing model applied to the housing market of the city of Savannah and its Savannah historic landmark district». En: *Review of Regional Studies* 39.1, 9-22. Online:https://bit.ly/38kXkd8.

Chau, K. y col. (2006). «How do people price air quality: empirical evidence from Hong Kong». En: *Presented at the 12th Annual Conference of the Pacific Rim Real Estate Society, Auckland, New Zealand*. The University of Auckland Business School.

Del Giudice, V. y col. (2017). «The monetary valuation of environmental externalities through the analysis of real estate prices». En: *Sustainability* 9.2, 1-16. Online:https://bit.ly/3vGd2aM.

Echegaray-Aveiga, R. y col. (2020). «Possible effects of potential lahars from Cotopaxi volcano on housing market prices». En: *Journal of Applied Volcanology* 9.1, 1-11. Online:https : / / bit . ly / 3xZeoA2.

Égert, B y D. Mihaljek (2007). *Determinants of House Prices in Central and Eastern Europe*. Inf. téc. William Davidson Institute Working Paper Number 894.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Franchini, M. y P.M. Mannucci (2015). «Impact on human health of climate changes». En: *European Journal of Internal Medicine* 26.1, págs. 1-5.

Freeman III, M. (1974). «On estimating air pollution control benefits from land value studies». En: *Journal of environmental economics and management* 1.1, 74-83. Online:https : / / bit . ly / 3rOGU3A.

Fuertes, W. y col. (2019). «Data Analytics on Real-Time Air Pollution Monitoring System Derived from a Wireless Sensor Network». En: *International Conference on Information Technology Systems*. Springer, pág. 57.

Guanochanga, B. y col. (2018). «Towards a Real-Time Air Pollution Monitoring Systems Implemented using Wireless Sensor Networks: Preliminary Results». En: *2018 IEEE Colombian Conference on Communications and Computing, COLCOM 2018 – Proceedings*. IEEE.

Guanochanga, B. y col. (2019). «Real-time air pollution monitoring systems using wireless sensor networks connected in a cloud-computing, wrapped up web services». En: *Proceedings of the Future Technologies Conference (FTC) 2018*. Springer, págs. 171-184.

Gulia, S. y col. (2015). «Urban air quality management-A review». En: *Atmospheric Pollution Research* 6.2, 286-304. Online:https://bit.ly/3xQajy6.

Hanley, N. y E. Barbier (2009). *Pricing Nature: cost-benefit analysis and environmental policy*. Edward Elgar Publishing.

Harrison Jr., D. y D.L. Rubinfeld (1978). «Hedonic housing prices and the demand for clean air». En: *Journal of environmental economics and management* 5.1, 81-102. Online:https : / / bit . ly / 3vArWPS.

INEC (2016). *El parque automotor de Ecuador creció 57 % en cinco años*.

Jackson, T.O. (2001). «The Effects of Environmental Contamination on Real Estate: A Literature Review». En: *European Journal of Internal Medicine* 9.2, págs. 94-116.

Kennedy, C., J. Cuddihy y J. Engel-Yan (2007). «The changing metabolism of cities». En: *Journal of industrial ecology* 11.2, 43-59. Online:https : / / bit . ly/36OqHUU.

Kiel, K. (2006). «Environmental Valuation: Interregional and Intraregional Perspectives». En: Ashgate: Aldershot. Cap. Environmental contamination and house values, págs. 121-146.

Lancaster, T. (1979). «Econometric Methods for the Duration of Unemployment». En: *Econometrica* 47.4, 939-956. Online:https://bit.ly/37v4qfd.

Ministerio del Ambiente del Ecuador (2011). *Normativa Ecuatoriana de Calidad del Aire (NECA), Libro VI Anexo 4.* Inf. téc. Quito, Ecuador: Ministerio del Ambiente del Ecuador.

Neupane, A. y K. Gustavson (2008). «Urban property values and contaminated sites: A hedonic analysis of Sydney, Nova Scotia». En: *Journal of Environmental Management* 88.4, 1212-1220. Online:https://bit.ly/3veAH34.

Nugra, H. y col. (2016). «A Low-Cost IoT Application for the Urban Traffic of Vehicles, Based on Wireless Sensors Using GSM Technology». En: *IEEE/ACM 20th International Symposium on IEEE, Distributed Simulation and Real-Time Applications DS-RT)*. IEEE, págs. 161-169.

Panayotou, T. (2016). «The environment in anthropology (Second Edition): A Reader in Ecology, Culture, and Sustainable Living». En: New York Press. Cap. Economic growth and the environment, págs. 140-148.

Perera, F. (2017). «Multiple threats to child health from fossil fuel combustion: impacts of air pollution and climate change». En: *Environmental health perspectives* 125.2, 141-148. Online:https://bit.ly/3vdf6rK.

Poma, P. y col. (2021). «Estimation of Biogas Generated in Two Landfills in South-Central Ecuador». En: *Atmosphere* 12.10, 1365. Online:https : / / bit . ly/3kgxKIW.

Robayo, N., J. Llorca y T. Toulkeridis (2020). «Population, territorial and economic analysis of a potential volcanic disaster in the city of Latacunga, Central Ecuador based on GIS techniques – Implications and potential solutions». En: *IEEE/ACM 20th International Symposium on IEEE, Distributed Simulation and Real-Time Applications DS-RT)*. Springer, Cham, págs. 549-563.

Rodriguez, F. y col. (2017). «Economic risk assessment of Cotopaxi volcano, Ecuador, in case of a future lahar emplacement». En: *Natural Hazards* 85.1, 605-618. Online:https://bit.ly/3xV2oQm.

Rosen, S. (1974). «Hedonic prices and implicit markets: product differentiation in pure competition». En: *Journal of political economy* 82.1, 34-55. Online:https://bit.ly/3EVQLdh.

SAQ (2017). *Informe de Calidad de Aire 2016 del Distrito Metropolitano de Quito*. Inf. téc. Secretaria de Ambiente del DMQ, Quito, Ecuador.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Saaty, T. y P. De Paola (2017). «Rethinking design and urban planning for the cities of the future». En: *Buildings* 7.3, 76. Online:https://bit.ly/3xUHIrM.

Sanchez Martinez, G. y col. (2018). «Health Impacts and Economic Costs of Air Pollution in the Metropolitan Area of Skopje». En: *International Journal of Environmental Research and Public Health* 15.4, 626. Online:https://bit.ly/39CE3o7.

Schiffer, S. (1991). «Ceteris paribus laws». En: *Mind* 100.1, 1-17. Online:https://bit.ly/3ELt33r.

Smith, V. K. y J. Huang (1993). «Hedonic models and air pollution: twenty-five years and counting». En: *Environmental and Resource Economics* 3.4, 381-394. Online:https://bit.ly/39gxZSd.

The Economics of Ecosystems and Biodiversity (2013). *Guidance Manual for TEEB Country Studies. Version 1.0.*

Toulkeridis, T. y col. (2016). «Causes and consequences of the sinkhole at El Trébol of Quito, Ecuador-implications for economic damage and risk assessment». En: *Natural Hazards and Earth System Sciences* 16.9, 2031-2041. Online:https://bit.ly/3EQIveo.

Toulkeridis, T. y col. (2020). «Climate Change according to Ecuadorian academics–Perceptions versus facts». En: *La Granja* 31.1, 21-46. Online:https://bit.ly/37LP8CT.

Victor, P. A. (2017). *Taylor y Francis Group LLC*. Secretaria de Ambiente del Distrito Metropolitano de Quito.

World Bank (2016). *The Cost of Air Pollution: Strengthening the Economic Case for Action*. Inf. téc. World Bank and Institute for Health Metrics and Evaluation.

World Health Organization (2006). *Air Quality Guidelines: global update 2005*. Inf. téc. Druckpartner Moser, Germany: WHO Regional Office for Europe publications. 496 pp.

— (2016). *Ambient air pollution: a global assessment of exposure and burden of disease*. Inf. téc. Geneva, Switzerland: WHO Document Production Services. 121 pp.

Zivin, J. y J. Shrader (2016). «Temperature extremes, health, and human capital». En: *The Future of Children* 26.1, 31-50. Online:https://bit.ly/3EPF0oT.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

La granjA:
Revista de
Ciencias de la Vida
pISSN:1390-3799; eISSN:1390-8596
http://doi.org/10.17163/lgr.n36.2022.09

Artículo científico / Scientific paper

Ciencias Veterinarias

Efecto de factores embriotróficos a diferentes tensiones de oxígeno en cultivo *IN VITRO* sobre el desarrollo embrionario de alpacas hasta la etapa de blastocisto

Effect of embryotrophic factors at different oxygen tension for *IN VITRO* culture on the embryonic development of alpacas up to the blastocyst stage

Teodosio Huanca Mamani

Programa de Introducción a la Investigación en Medicina y Sanidad Veterinaria, Instituto Nacional de Innovación Agraria, Perú.

*Autor para correspondencia: teodosiohuancamamani@gmail.com

Manuscrito recibido el 10 de octubre de 2020. Aceptado, tras revisión, el 30 de septiembre de 2021. Publicado el 1 de septiembre de 2022.

Resumen

La alpaca es el camélido sudamericano doméstico de mayor importancia para el Perú, país que a nivel regional cuenta con el 87% de estos animales. Ya que las formas tradicionales de reproducción no garantizan su calidad genética, la reproducción *in vitro* es una alternativa para su mejoramiento. Este estudio evaluó la influencia de los factores embriotróficos de desarrollo epidérmico (EGF) y de crecimiento insulínico (IGF-1) y tensiones de oxígeno en el desarrollo *in vitro* de ovocitos de alpaca hasta la etapa de blastocistos. A partir de ovarios de animales sacrificados, se obtuvieron ovocitos que se colocaron en medio TCM-199, suplementado con piruvato de sodio, glutamina, estradiol (E2), hormona folículo estimulante (FSH), hormona luteinizante (LH), factor embriotrófico (EGF o IGF-1), 5% de suero fetal bovino y gentamicina (10μL/mL) durante 32 horas, a 38,5 °C, con 5% de CO_2 y humedad relativa mayor de 95%, con tensiones O_2 entre 6 y 20%. Posteriormente, los ovocitos fueron fecundados con semen fresco y cultivados en medio KSOMaa durante 48 horas. Los cultivos fueron diferenciados por factores de crecimiento (EGF e IGF-1) y tensiones de O_2 (6% y 20%), más el grupo control sin suplementar con EGF o IGF-I, para valorar las tasas de división de ovocitos y blastocistos a partir de ovocitos. Mediante análisis de conglomerados, se establecieron diferencias significativas entre los tratamientos con $\alpha = 0{,}05$ para cada variable de respuesta, observándose la mayor tasa de divisiones de ovocitos (24,8%) con EGF a 6% de O_2 y la mayor producción de blastocistos/ovocito (18,4%) con IGF-1 a 6% de O_2 . Se concluye que la adición de factores embriotróficos y una baja tensión de O_2 son favorables para el desarrollo embrionario *in vitro* en alpacas.

Palabras clave: Alpaca, camélidos, clivaje, fertilización, ovocitos, reproducción.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Abstract

The alpaca is the most important South American domestic camelid for Peru, a country that regionally has 87% of these animals. Since traditional forms of reproduction do not guarantee its genetic quality, *in vitro* reproduction is an alternative for its improvement. This study evaluated the influence of embryotrophic factors of epidermal development (EGF) and insulin-like growth factor (IGF-1) and oxygen tension on the *in vitro* development of alpaca oocytes up to the blastocyst stage. From ovaries of sacrificed animals, oocytes were obtained and placed in TCM-199 medium, supplemented with sodium pyruvate, glutamine, estradiol (E2), follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), embryotrophic factor (EGF or IGF-1), 5% fetal bovine serum and gentamicin (10μL/mL) for 32 hours, at 38.5 °C, with 5% CO_2 and relative humidity greater than 95%, with O_2 tensions between 6 and 20%. Subsequently, the oocytes were fertilized with fresh semen and cultured in KSOMaa medium for 48 hours. Cultures were differentiated by growth factors (EGF and IGF-1) and O_2 tensions (6% and 20%), plus the control group without EGF or IGF-I supplementation, to assess oocyte and blastocyst division rates from oocytes. By cluster analysis, significant differences were established between treatments with $\alpha = 0.05$ for each response variable, with the highest rate of oocyte divisions (24.8%) with EGF at 6% O_2 and the highest blastocyst/oocyte production (18.4%) with IGF-1 at 6% O_2. It is concluded that the addition of embryotrophic factors and low O_2 tension are favorable for *in vitro* embryo development in alpacas.

Keywords: Alpaca, camelids, cleavage, fertilization, oocytes, reproduction.

Forma sugerida de citar: Huanca Mamani, T. (2022). Efecto de factores embriotróficos a diferentes tensiones de oxígeno en cultivo in vitro sobre el desarrollo embrionario de alpacas hasta la etapa de blastocisto. La Granja: Revista de Ciencias de la Vida. Vol. 36(2):113-121. http://doi.org/10.17163/lgr.n36.2022.09

ID Orcid:

Teodosio Huanca Mamani: http://orcid.org/0000-0001-5881-8671

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

1 Introducción

En Suramérica, la cría de camélidos domésticos como llamas (*Lama glama*) y alpacas (*Vicugna pacos*) forma parte de una cultura ancestral, sobre todo en Perú y Bolivia, países que cuentan con el 98,89 % de la población total de alpacas (87,9 % Perú y 10,9 % Bolivia) y el 93,4 % del total de llamas (60,8 % Bolivia y 32,5 % Perú), según cifras reportadas por el Ministerio de Agricultura y Riego del Perú (MINAGRI) (MINAGRI, 2015). En el caso del Perú, se reporta una población de 3 685 516 alpacas y de 1 257 000 llamas, por lo que los estudios genéticos y reproductivos de estas especies son de suma importancia para el país, debido a su gran potencial productivo y comercial, sobre todo de la alpaca, basado en la producción de fibra, carne, piel y estiércol como abono orgánico, además de su uso como animal para recreación y producción de sueros terapéuticos (MINAGRI, 2019). Según el último censo agropecuario del Perú realizado en el año 2012 por el Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI), las regiones con mayor densidad de alpacas son Puno con 39,6 %, Cusco con 14,8 % y Arequipa con 12,7 %; la variedad Huacaya representa el 80,4 % de la población total (INEI, 2013).

A pesar de la importancia de las alpacas para el Perú, su reproducción se realiza principalmente por monta natural, sin considerar la variabilidad genética y el mejoramiento de la especie con fines comerciales, lo que ha llevado a una disminución de la calidad genética (Huanca, 2012). Así, la reproducción *in vitro* se muestra como una alternativa viable para el mejoramiento genético y el aumento de la productividad de la alpaca, ya que esta técnica está altamente desarrollada en bufalinos, bovinos, ovinos y porcinos (Liang y col., 2020; Javvaji y col., 2020; Dubeibe y col., 2019; Gonella Diaza y col., 2013; Rodrigues y col., 2013). Asimismo, se ha reportado la factibilidad de la reproducción de camélidos por inseminación artificial, transferencia de embriones y fertilización *in vitro* (Ruiz, 2018; Pérez, Zevallos y Perez, 2017; Pacheco, Vélez y Pezo, 2016), siendo necesario el estudio de las condiciones que permitan el desarrollo exitoso de la reproducción de alpacas mediante técnicas *in vitro*, de suma importancia para la región andina, ya que no existen protocolos específicos para ello.

Puesto que la producción *in vitro* de embriones es limitada, debido a la reducida sobrevivencia tanto embrionaria como fetal y la elevada frecuencia de anormalidades fetales, placentarias o neonatales, se buscan alternativas que mejoren la producción de embriones con esta técnica, dirigiendo la atención a los factores de crecimiento que, en condiciones *in vivo*, regulan los procesos de mitogénesis, diferenciación y apoptosis celular (Block, 2007; Kane, Morgan y Coonan, 1997).

Los factores de crecimiento o factores embriotróficos más empleados en estudios experimentales para aumentar la eficacia de maduración de los ovocitos y la producción *in vitro* de embriones son el factor de crecimiento insulínico (Insulin growth factor, IGF), por sus efectos en el crecimiento, desarrollo y maduración folicular inducida por las gonadotrofinas (Lenz, Benavides y Uribe-Velásquez, 2007) y contribución a la pre-implantación y desarrollo del embrión en bovinos (Lima y col., 2006; Stefanello y col., 2006; Block, 2007), el factor de crecimiento epidérmico (Epidermal growth factor, EGF), que estimula la proliferación y diferenciación celular (Adams, 1999), y que le relaciona con la maduración ovocitaria (Harper y Brackett, 1993), el factor de crecimiento transformador (Transforming growth factor, TGF) y el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (Platelet-derived growth factor, PDGF) (Block, 2007).

Por otra parte, los mejores rendimientos de cultivos embrionarios se obtienen con concentraciones de O_2 más bajas que la atmosférica, debido al menos parcialmente, a la reducción de la generación de radicales libres de O_2, reduciendo su efecto deletéreo (Legge y Sellens, 1991; Noda y col., 1991; Umaoka y col., 1992). Además, la reducida tensión de O_2 intrauterina, reportada en estudios *in vivo*, implicaría una protección a la pre-implantación del blastocisto (Clark y col., 2006). Así, se ha reportado un mejor desarrollo de ovocitos bovinos madurados en 5 % de O_2 (Hashimoto y col., 2000; Van Blerkom, Antczak y Schrader, 1997).

Con estos antecedentes, se buscó establecer las condiciones idóneas para el desarrollo embrionario de alpacas al evaluar la influencia de los factores embriotróficos EGF e IGF-1 y la tensión de oxígeno al 6 % y 20 % sobre la tasa de división de ovocitos post primer cultivo embrionario de 48 h en medio KSOMaa, y la tasa blastocistos a partir de ovocitos

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

post siete días de segundo cultivo embrionario en SOFaa.

2 Materiales y Métodos

2.1 Lugar del estudio

La investigación se realizó en el Centro de Investigaciones y Producción (CIP) Quimsachata, de la estación experimental agraria ILLPA – Puno, del Instituto Nacional de Innovación Agraria-INIA – Perú, ubicada entre los distritos de Santa Lucía y Cabanillas de las provincias de Lampa y San Román en la región Puno, 15° 44′ 00″ Latitud Sur y 70° 41′ 00″ Longitud Oeste, en la zona agroecológica denominada puna seca, con una altitud promedio de 4300 msnm, y una temperatura que fluctúa entre 2 °C (mayo a julio) y 15 °C (septiembre a diciembre) (Díaz, 2013).

2.2 Colección de las muestras de ovarios

La recolección de ovarios se realizó a partir de animales beneficiados en el camal del distrito de Nuñoa, con un muestreo aleatorio que no consideró el estado reproductivo de las alpacas. Los ovarios colectados se colocaron y transportaron en un termo, entre 35 y 37 °C, sumergidos en solución salina al 0,9% y suplementada con gentamicina (10μL/mL).

2.3 Procesamiento de los ovocitos

Utilizando el método Slicing modificado (Lorenzo y col., 2015) se colectaron 1051 ovocitos, seleccionados en las categorías I y II. Para su maduración, los ovocitos se colocaron en medio TCM-199, suplementado con piruvato de sodio, glutamina, estradiol (E2), hormona folículo estimulante (FSH), hormona luteinizante (LH), factor embriotrófico (EGF o IGF-1) en concentraciones entre 10 y 50 ng/ml, 5% de suero fetal bovino y gentamicina (10μL/mL) durante 32 horas, a 38,5 °C, con 5% de CO_2 y humedad relativa mayor de 95%, con tensiones O_2 de 6% o 20%. En la tabla 1 se observa la distribución de los ovocitos en función de la inclusión de factores embriotróficos y la tensión de O_2.

Tabla 1. Distribución de ovocitos de alpacas

Factor Embriotrófico	Tensión de oxígeno%	N° de Ovocitos
EGF	6	205
	20	219
IGF-I	6	206
	20	210
Control	6	211
	20	211

Posterior a la maduración, los ovocitos fueron trasladados a un medio de fecundación (FER-TALP suplementado con 0.25 mM de piruvato sodio, 6mg/ml de BSA y 50μg/mL de gentamicina), en el que fueron lavados tres veces. Paralelamente se realizaba la capacitación espermática, mediante lavados en Sperm-TALP suplementado con 1,0 mM piruvato de sodio, 3 mg/ml de BSA fracción V y 50μg/mL de gentamicina con 4 μL de heparina y 30 μL de PHE/ (penicilamina, hipotaurina y epinefrina) y centrifugado a 1500 rpm/10 min. El pellet así formado fue resuspendido en 1mL del medio FERT – TALP.

La fecundación *in vitro* se realizó con espermatozoides provenientes de un macho de probada fertilidad, que luego de capacitados fueron transferidos a gota de 80 μl del medio de fecundación y se colocaron en incubadora durante 10 horas.

2.4 Desarrollo del embrión

Al finalizar el periodo de fecundación, los posibles cigotos fueron retirados de las gotas de fecundación e introducidos a placas multipocillos con 500 μl de medio de cultivo KSOM-AA, donde se adicionaron EGF o IGF-1 (10-50 10 y 50 ng/ml) a 38,5 °C, máxima humedad relativa >95%, tensión de CO_2 del 5% y 6 o 20% de tensión de O_2. La tasa de división de cigotos fue evaluada 48 horas después de la fecundación y luego fueron trasladados al medio de cultivo SOFaa, adicionando EGF o IGF-1 bajo las condiciones ya mencionadas. Al día siete posterior a la fecundación, se observaron los estadios de blastocisto.

2.5 Tratamiento estadístico de los datos

El experimento combinó los factores embriotróficos EGF IGF-1 y un grupo control con dos niveles de

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

tensión de O_2 (6 y 20%). Para establecer las diferencias y similitudes de la aplicación conjunta de los tratamientos sobre las tasas de divisiones de ovocitos y de blastocistos obtenidos a partir de ovocitos (blastocistos /ovocitos), se utilizó el análisis de conglomerados por distancia Euclidiana para vecinos más cercanos con un nivel de confianza de 95%. Esta técnica permite la agrupación de las variables de acuerdo a sus distancias, en clústeres entre los que no existe diferencia significativa de acuerdo a lo establecido en el análisis, ya que son excluyentes respecto a los factores que no pertenecen al grupo, no estableciéndose jerarquías, sino grupos diferenciados estadísticamente (Cuadras, 2020). Se utilizó el paquete estadístico InfoStat versión 2018 para todos los análisis estadísticos.

3 Resultados y Discusión

3.1 Tasa de división de ovocitos

Una vez desarrollado el experimento, se observó que la menor tensión de O_2 (6%) produjo la mayor tasa de división de ovocitos y formación de blastocistos por ovocito, en comparación con el grupo control y 20% de O_2. (Tabla 2)

Tabla 2. Tasas de división de ovocitos y blastocistos por ovocito tras la aplicación de EGF e IGF-I con dos tensiones de O_2.

Factor Embriotrófico	Tensión de O_2(%)	Divisiones Ovocitos (%)	Blastocistos/ Ovocitos (%)
EGF	6	51(24,9)	29(14,1)
	20	13 (5,9)	12 (5,5)
IGF-I	6	42(20,4)	38(18,4)
	20	24(11,4)	14(6,7)
Control	6	33(15,6)	6 (2,8)
	20	33(15,6)	6 (2,8)

Del mismo modo, el porcentaje de divisiones de ovocitos (24,9%) fue mayor con el factor embriotrófico EGF con 6% de O_2, menor al reportado por Benavides, Huanca y Quintanilla (2015), quienes, al analizar la influencia de la tensión de oxígeno sobre el desarrollo embrionario bovino, obtuvieron el 69,7% de divisiones de ovocitos con 5% de O_2. Sin embargo, estos autores no evalúan el efecto de EGF; en tanto Ahumada (2011), con adición de EGF, obtuvo el 74,15% de clivaje en ovocitos bovinos cultivados a 5% de O_2.

En la figura 1, el dendrograma correspondiente a divisiones de ovocitos presenta tres clústeres como grupos que difieren significativamente cuando se toma el corte de acuerdo al resultado de la distancia cofenética calculada en 0,72. Se destaca un clúster con los tratamientos de EGF e IGF-1 con 6% de O_2, que al encontrarse separados del grupo control con diferentes tensiones de O_2, indicaría que EGF e IGF-I aumentan significativamente la división de ovocitos, aunque entre los factores embriotróficos no hubo diferencias con dicha tensión de O_2. Por otra parte, que el IGF-I con 20% de tensión de O_2 forme un clúster con el grupo control, con ambas tensiones de O_2 sugeriría que IGF-I, bajo estas condiciones, no afecta la división de ovocitos, mientras que el tratamiento EGF con 20% de O_2 ejercería un efecto inhibitorio sobre esta variable.

Estos resultados coinciden con lo reportado por Delgado (2018), que con 2% de O_2 observó mayor división de ovocitos y mejora en la calidad de embriones bovinos que con el 5% y 20% de O_2 en la atmósfera de cultivo. Del mismo modo, Arias y col. (2007) reporta resultados similares a la investigación actual, aplicado a embriones de bovinos; bajo condiciones de alta (20%) y baja (7%) tensión de O_2. Al respecto, estudios en ovinos y porcinos han concluido que la ausencia de O_2 promueve la capacidad de activarse y mejora la partenogénesis de los ovocitos en cultivos *in vitro* (Iwamoto y col., 2005; Loren y col., 2016; Yao y col., 2019).

En contraste, He y col. (2020) reportaron que la tasa de escisión de ovocitos de yak fue significativa-

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

mente menor (P <0,05) con una concentración de O_2 al 5% que con concentraciones de 10% y 20%, mejorando la maduración y la competencia del desarrollo de los ovocitos. Por otra parte, Rodrigues y col. (2013) no observaron que la división de ovocitos caninos sea afectada por tensiones de O_2 de 5% o 20%. Las diferencias entre estos resultados probablemente se expliquen, al menos parcialmente, por las características propias del desarrollo embrionario de estas especies.

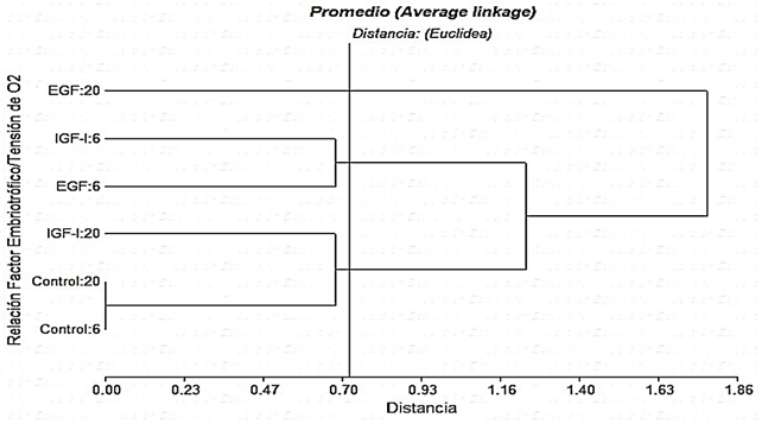

Figura 1. Dendrograma de conglomerados para la variable respuesta número de divisiones de ovocitos

3.2 Tasa de blastocistos a partir de ovocitos

La figura 2 muestra el dendograma del análisis de conglomerados con cuatro clústeres bien definidos con el corte de acuerdo a la distancia cofenética de 0,48, indicando que existen diferencias significativas entre los tratamientos experimentales y el grupo control con ambas tensiones de O_2, es decir que el empleo de EGF e IGF-1 con 6 y 20% de O_2 incrementa la formación de blastocistos. Por otra parte, el porcentaje de blastocistos/ovocito obtenido, es superior al 14,0% reportado por Soto-Martínez y col. (2019), también con embriones bovinos evaluados en medio líquido oviductal sintético secuencial, evitando la acumulación de sustancias embriotóxicas a tensión máxima de 5% de O_2.

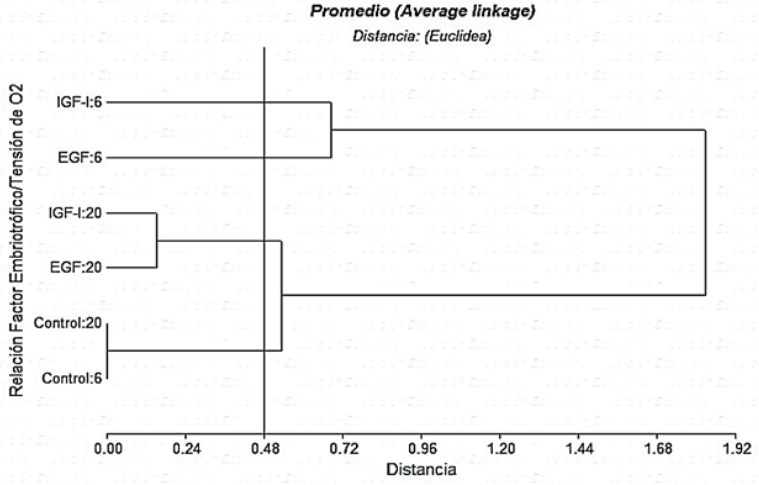

Figura 2. Dendrograma de conglomerados para la variable respuesta número de blastocistos por ovocitos

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Ahora bien, el número de blastocistos por ovocitos no fue modificado por EGF e IGF-I al utilizar una tensión de O_2 de 20 % por lo que se ubicaron en el mismo clúster, mientras que el factor embriotrófico IGF-1 al 6 % de tensión de O_2 registró el mayor número de blastocistos por ovocitos (18,4 %); este resultado es similar al reportado por Sirisathien y Brackett (2003), quienes obtuvieron en bovinos, un mayor número de blastocistos por ovocitos con IGF-1 que con EGF; es decir, proporciones similares de ovocitos activados partenogenéticamente se convirtieron en blastocistos que en los ovocitos inseminados (28,8 %). Asimismo, Yong y col. (2017), destacaron la importancia del tratamiento con factores de crecimiento para la maduración *in vitro* de ovocitos de porcinos, lo que es consistente con los resultados del presente estudio.

En cuanto al efecto del IGF-1, Javvaji y col. (2020) informan que la adición de este factor mejoró significativamente la maduración de ovocitos ovinos en comparación con ovocitos no tratados, al regular la expresión de PI3K/Akt y la señalización de apoptosis, los cuales están relacionados con la activación de los ovocitos en ovinos. Finalmente, la adición del factor de crecimiento epidérmico (EGF) al medio de maduración estimula la maduración de los ovocitos; pero sólo la complementación con EGF incrementa el desarrollo embrionario y de blastocisto; esta evidencia está en concordancia con Richani y Gilchrist (2018), quienes determinaron que la red EGF también domina la traducción de las transcripciones maternas en el ovocito inactivo, una fase que es integral para la competencia del ovocito. Además, hay analogía con el estudio de Salgado, Simanca y Vergara (2013), demostrando que hubo diferencia significativa ($p<0,05$) de la EGF sobre la proporción de ovocitos, explicando la mayor proporción de ovocitos bajo tratamiento con 50 ng/mL.

4 Conclusiones

La tasa de división *in vitro* de los ovocitos de alpacas cultivados en medio KSOM-AA y de formación de blastocistos en medio SOFaa, ambos con adición de factores embriotróficos (EGF e IGF-1), se vieron favorecidos por baja tensión de oxígeno (6 %), con resultados significativos respecto a los grupos control, observándose mayor porcentaje de divisiones de ovocitos con el tratamiento EGF y en blastocistos por ovocito con el tratamiento IGF-1.

Si bien el uso de los factores embriotróficos EGF e IGF-1 y las bajas tensiones de O_2 generó un aumento en el número de divisiones y número de blastocistos por ovocitos, indicando que bajo las condiciones de este estudio pueden emplearse para una mejora en el desarrollo embrionario *in vitro* en alpacas, es necesario disponer de información adicional que permita dilucidar los mecanismos de acción de los factores embriotróficos, con el fin de optimizar el procedimiento y lograr una reproducción de alpacas *in vitro* viable que lleve al mejoramiento genético de la especie.

Referencias

Adams, G. (1999). «Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants». En: *Journal of Reproduction and Fertility-Supplement* 54, 17-32. Online:https://bit.ly/3s03x3s.

Ahumada, C. (2011). «Efecto de factores de crecimiento en el cultivo sobre el desarrollo y calidad de embriones bovinos producidos in vitro en grupos reducidos». Tesis de máster. Universitat Politécnica de Valéncia. Online:https://bit.ly/3c9LTnl.

Arias, C. y col. (2007). «Efecto de la suplementación con alanina y glicina sobre los clivajes iniciales de embiones bovinos producidos in vitro». En: *Revista MVZ Córdoba* 12.2, 1020-1027. Online:https://bit.ly/3hMGIvF.

Benavides, L., W. Huanca y L. Quintanilla (2015). «Efecto del Método de Colección y Tensión de Oxígeno sobre el Desarrollo de Ovocitos Bovinos Fecundados y Cultivados in vitro». En: *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 26.4, 596-603. Online:https://bit.ly/3FfARt4.

Block, J. (2007). «Use of insulin-like growth factor-1 to improve post-transfer survival of bovine embryos produced in vitro». En: *Theriogenology* 68, S49-S55. Online:https://bit.ly/3CdzNEc.

Clark, A. y col. (2006). «Mathematical modelling of oxygen concentration in bovine and murine cumulus–oocyte complexes». En: *Reproduction* 131.6, 999-1006. Online:https://bit.ly/3navdCy.

Cuadras, C. (2020). *Nuevos métodos de análisis multivariante*. Noveduc Libros.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Delgado, G. (2018). «Efecto de tres niveles de oxígeno en la atmósfera de cultivo y la adición de un antioxidante comercial en el desarrollo de embriones bovinos producidos in vitro». En: *Acta universitaria* 28.2, 53-57. Online:https://n9.cl/c3h9tr.

Díaz, R. (2013). *Estudio de caracterización climática de la precipitación pluvial y temperatura del aire para la cuenca de los ríos Coata e Ilave*. Inf. téc. SENAMHI-Puno. Online:https://bit.ly/3pTDmtx.

Dubeibe, D. y col. (2019). «Importance of lipid metabolism on oocyte maturation and early embryo development: Can we apply what we know to buffalo?» En: *Animal reproduction science* 211, 106220. Online:https://bit.ly/3qAPWRW.

Gonella Diaza, Á. y col. (2013). «Generalidades de la producción de embriones bovinos in vitro». En: *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* 4.1, 65-80. Online:https://bit.ly/3pTCIfB.

Harper, K. y B. Brackett (1993). «Bovine blastocyst development after in vitro maturation in a defined medium with epidermal growth factor and low concentrations of gonadotropins». En: *Biology of reproduction* 48.2, 409-416. Online:https://n9.cl/k9xwl.

Hashimoto, S. y col. (2000). «Low oxygen tension during in vitro maturation is beneficial for supporting the subsequent development of bovine cumulus–oocyte complexes». En: *Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research* 57.4, 353-360. Online:https://bit.ly/3ncpMTy.

He, H. y col. (2020). «Low oxygen concentrations improve yak oocyte maturation and enhance the developmental competence of preimplantation embryos». En: *Theriogenology* 156, 46-58. Online:https://bit.ly/3qE1QKW.

Huanca, W. (2012). «Biotecnologías reproductivas en camélidos sudamericanos domésticos como alternativas para la mejora genética». En: *XVI Congreso Venezolano de Producción e industria Animal, Asociación Venezolana de Producción Animal*.

INEI (2013). *Resultados definitivos del IV censo nacional agropecuario – 2012*. Inf. téc. Instituto Nacional de Estadística e Informática del Perú. Online:https://bit.ly/3bgK20K.

Iwamoto, M. y col. (2005). «Low oxygen tension during in vitro maturation of porcine follicular oocytes improves parthenogenetic activation and subsequent development to the blastocyst stage». En: *Theriogenology* 63.5, 1277-1289. Online:https://bit.ly/2YM8BPp.

Javvaji, P. y col. (2020). «IGF-1 treatment during in vitro maturation improves developmental potential of ovine oocytes through the regulation of PI3K/Akt and apoptosis signaling». En: *Animal biotechnology*, 1-8. Online:https://bit.ly/30k9RJR.

Kane, M., P. Morgan y C. Coonan (1997). «Peptide growth factors and preimplantation development». En: *Human reproduction update* 3.2, 137-157. Online:https://bit.ly/3qDqICI.

Legge, M. y M. Sellens (1991). «Free radical scavengers ameliorate the 2-cell block in mouse embryo culture». En: *Human Reproduction* 6.6, 867-871. Online:https://n9.cl/fimv6.

Lenz, M., G. Benavides y L. Uribe-Velásquez (2007). «Papel del factor de crecimiento semejante a insulin-1 (IGF-1) en la regulación de la función ovárica». En: *Biosalud* 6, 149-159. Online:https://bit.ly/3DjiH9c.

Liang, Y. y col. (2020). «Effects of L-carnitine on embryo development of vitrified swamp buffalo oocytes following in vitro fertilization». En: *Livestock Science* 232, 103933. Online:https://bit.ly/2YOyIFm.

Lima, PF y col. (2006). «Effect of retinoids and growth factor on in vitro bovine embryos produced under chemically defined conditions». En: *Animal reproduction science* 95.3-4, 184-192. Online:https://bit.ly/3onrh0y.

Loren, P. y col. (2016). «Modulación del estado de óxido-reducción por peróxido de hidrógeno en la etapa de maduración ovocitaria: efecto sobre el desarrollo embrionario en bovinos». En: *International Journal of Morphology* 34.2, 431-435. Online:https://n9.cl/5ris2.

Lorenzo, M. y col. (2015). «Comparación de dos técnicas para la obtención de complejos cumulus ovocito porcinos». En: *InVet* 17.1, 25-34. Online:https://bit.ly/30lHAmm.

MINAGRI (2015). *Población y producción animal*. Inf. téc. Ministerio de Agricultura y Riego del Perú.

MINAGRI (2019). *Potencial productivo y comercial de la alpaca*. Inf. téc. Ministerio de Agricultura y Riego del Perú. Online:https://bit.ly/3Dq1Ql8.

Noda, Y. y col. (1991). «Involvement of superoxide radicals in the mouse two-cell block». En: *Molecular reproduction and development* 28.4, 356-360. Online:https://bit.ly/3Ch4ZSU.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Pacheco, J., V. Vélez y D. Pezo (2016). «Evaluación de la eficiencia de la transferencia de embriones interespecie entre alpacas y llamas obtenidos por ovulación simple». En: *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 27.1, 64-69. Online:https://n9.cl/c5lz8.

Pérez, M., J. Zevallos y U. Perez (2017). «Comparación de sistemas de cultivo de embriones de alpacas». En: *Revista de Investigaciones Altoandinas* 19.2, 157-164. Online:https://bit.ly/3Htz59J.

Richani, D. y R. Gilchrist (2018). «The epidermal growth factor network: role in oocyte growth, maturation and developmental competence». En: *Human reproduction update* 24.1, 1-14. Online:https://bit.ly/3DoNf9O.

Rodrigues, B. y col. (2013). «Similar patterns of embryo development in canine oocytes cultured in vitro at oxygen tensions of 5 and 20%». En: *Theriogenology* 79.8, 1224-1228. Online:https://bit.ly/3nljK2U.

Ruiz, B. (2018). «In vitro production and transfer of embryos in South American Camelids: New opportunities and challenge». En: *Spermova* 8.1, 54-60. Online:https://bit.ly/3FsGyEp.

Salgado, R., J. Simanca y O. Vergara (2013). «Efecto del factor de crecimiento epidermal (EGF) sobre la maduración de ovocitos bovinos cultivados In vitro». En: *Revista Científica* 23.4, 325-328. Online:https://bit.ly/3wRfI5J.

Sirisathien, S. y B. Brackett (2003). «TUNEL analyses of bovine blastocysts after culture with EGF and IGF-I». En: *Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research* 65.1, 51-56. Online:https://bit.ly/3oDfYkS.

Soto-Martínez, Y. y col. (2019). «Desarrollo embrionario de bovino in vitro cocultivado con células oviductales y del cumulus oophorus». En: *Revista de Salud Animal* 41.1, 1-8. Online:https://bit.ly/2YUytsr.

Stefanello, J. y col. (2006). «Effect of angiotensin II with follicle cells and insulin-like growth factor-I or insulin on bovine oocyte maturation and embryo development». En: *Theriogenology* 66.9, 2068-2076. Online:https://bit.ly/3cgI3sJ.

Umaoka, Y. y col. (1992). «Effects of oxygen toxicity on early development of mouse embryos». En: *Molecular reproduction and development* 31.1, 28-33. Online:https://bit.ly/30Cbtzc.

Van Blerkom, J., M. Antczak y R. Schrader (1997). «The developmental potential of the human oocyte is related to the dissolved oxygen content of follicular fluid: association with vascular endothelial growth factor levels and perifollicular blood flow characteristics.» En: *Human reproduction* 12.5, 1047-1055. Online:https://bit.ly/3nouc9Y.

Yao, X. y col. (2019). «Kaempferol attenuates mitochondrial dysfunction and oxidative stress induced by H2O2 during porcine embryonic development». En: *Theriogenology* 135, 174-180. Online:https://bit.ly/3qJ7LOQ.

Yong, H. y col. (2017). «Treatment of epidermal growth factor (EGF) enhances nuclear maturation of porcine oocytes and stimulates expression of ER/Golgi transport proteins». En: *Development & reproduction* 21.2, 131-138. Online:https://bit.ly/3nlOJfb.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

La granja:
Revista de
Ciencias de la Vida

pISSN:1390-3799; eISSN:1390-8596

http://doi.org/10.17163/lgr.n36.2022.10

Artículo científico / Scientific paper

Ciencia de alimentos

CC BY NC SA

Riesgos de contaminación química en leche y sus derivados

Risks of chemical contamination in milk and its derivatives

Sixto Reyna* y José Arteaga

Departamento de Veterinaria, Carrera de Medicina Veterinaria. Universidad Técnica de Manabí, Código Postal 130103, Portoviejo, Ecuador.

*Autor para correspondencia: sixto.reyna@utm.edu.ec

Manuscrito recibido el 10 de noviembre de 2020. Aceptado, tras revisión, el 19 de octubre de 2021. Publicado el 1 de septiembre de 2022.

Resumen

La leche es un alimento completo y equilibrado que, junto a sus derivados, son componentes importantes de una dieta saludable en amplios sectores de la población, pues suministran proteínas, lípidos, hidratos de carbono, vitaminas, minerales y compuestos bioactivos. Sin embargo, estos alimentos son susceptibles de contaminación a partir de una amplia variedad de productos químicos, cuya presencia más allá de ciertos límites legalmente establecidos, determina una ingesta crónica de pequeñas dosis de estos compuestos. Al acumularse en el organismo, y en función de su toxicidad, tienen el potencial de ocasionar severas afecciones en diversos órganos y sistemas, constituyendo un importante problema de salud pública. Esta revisión busca describir el ingreso de contaminantes químicos (aflatoxinas, residuos de fármacos veterinarios, dioxinas, bifenilos policlorados, análogos a las dioxinas, desinfectantes y detergentes) a la cadena alimenticia, así como los potenciales efectos sobre la salud del consumidor, los Límites Máximos de Residuos de estos contaminantes establecidos para la leche bovina y los métodos más frecuentes utilizados para su detección. En base a esto, se plantean medidas tendentes a evitar este tipo de contaminación en productos lácteos, cuya calidad está estrechamente relacionada con las condiciones del medio circundante, que a su vez se asocia con actividades antropogénicas, prácticas agrícolas, de producción animal y condiciones de procesamiento.

Palabras clave: Alimentos, Bovino, Leche, Inocuidad, Toxicidad

Abstract

Milk is a complete and balanced food that, along with its derivatives, represent important components of a healthy diet for the population, since they provide proteins, lipids, carbohydrates, vitamins, minerals and bioactive compounds. However, these foods are susceptible to contamination by a wide variety of chemical products, whose presence beyond certain established legal limits determines a chronic intake of small doses of these compounds. By accumulating in the body, and depending on their toxicity, they have the potential to cause serious affections in various

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

organs and systems, constituting a major public health problem. This review seeks to describe the entry of chemical contaminants (aflatoxins, veterinary drug residues, dioxins, polychlorinated biphenyls, dioxin analogues, disinfectants and detergents) into the food chain, as well as the potential effects on consumer health, the Maximum Residue Limits of these contaminants established for bovine milk and the most frequent methods used for their detection. Based on this, measures are proposed to avoid this type of contamination in dairy products, whose quality is closely related to the conditions of the surrounding environment, associated with anthropogenic activities, agricultural practices, animal production and processing conditions.

Keywords: Foods, Bovine, Milk, Safety, Toxicity

Forma sugerida de citar: Reyna, S. y Arteaga, J. (2022). Riesgos de contaminación química en leche y sus derivados. La Granja: Revista de Ciencias de la Vida. Vol. 36(2):122-134. http://doi.org/10.17163/lgr.n36.2022.10

IDs Orcid:

Sixto Reyna: http://orcid.org/0000-0002-3950-9993
José Arteaga: http://orcid.org/0000-0002-2929-0940

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

1 Introducción

La leche es un líquido blanco que segregan las mamas de las hembras de los mamíferos para alimento de sus crías (RAE, 2019). Con una producción estimada de 522 millones de toneladas métricas en el año 2019, la leche bovina es la más consumida por la población (85%), aunque en algunas regiones se registra un significativo consumo de leche de búfalo (11%) y de otros rumiantes (3,9%) (Kalyankar y col., 2016; STATISTA, 2020). En todas las latitudes los lácteos son susceptibles a contaminación química (OMS, 2018; Dimitrieska y col., 2016), que ocurre a través de los suelos, prácticas agrícolas, prácticas de producción lechera y durante su procesamiento (Nguyen y Flint, 2020; Priyanka, Sheoran y Ganguly, 2017), constituyendo un problema importante para la salud pública puesto que 1) varios de los agentes químicos son altamente estables, por lo que se incorporan a la cadena alimenticia incluso cuando su uso esté prohibido desde hace décadas, 2) no son susceptibles de disminuir tras la aplicación de tratamientos físicos, químicos o biológicos de la leche, contaminando por extensión a los derivados lácteos, 3) la naturaleza lipofílica de varios contaminantes determina un efecto acumulativo en el organismo animal y su presencia en la grasa de los lácteos 4) la exposición crónica a estos contaminantes tiene el potencial de deteriorar severamente la salud de la población (Akhtar y Ahad, 2017; Ismail y col., 2019). Por ello se revisará el conjunto de contaminantes de la leche y sus derivados en relación a sus características estructurales, en aspectos como su ingreso al organismo animal, a los mecanismos por los que ejercen efectos deletéreos sobre la salud, tras el consumo crónico de lácteos con concentraciones de agentes químicos en niveles superiores a los límites máximos de residuos (LMR) permitidos en leche bovina, y que se describen en la presente revisión. Finalmente, se señalan los principales métodos utilizados para su detección y se proponen estrategias para prevenir y controlar la contaminación química de los lácteos.

2 Contaminantes químicos

2.1 Aflatoxinas

Las aflatoxinas (AF) son micotoxinas ampliamente distribuidas que, tras contaminar los cultivos e ingresar en la cadena alimenticia, afectan la salud y productividad animal y la seguridad alimentaria de la población al presentar efectos tóxicos, mutagénicos, teratogénicos, carcinógenos e inmunosupresores (OMS, 2018; Dimitrieska y col., 2016; Ayar, Sert y Çon, 2007).

Aunque se han reportado más de veinte tipos de AF (Nguyen y Flint, 2020), AFB1, AFB2, AFG1 y AFG2 son las principales micotoxinas relacionadas con la contaminación de los lácteos. AFB1 y AFG1 difieren estructuralmente de AFB2 y AFG2 al disponer de un enlace doble adicional. Por otra parte, las AFG presentan un anillo de furano, mientras las AFB disponen de un anillo de lactona. En función de su grado de toxicidad y carcinogenicidad, resulta el siguiente orden: AFB1 $>$ AFG1 $>$ AFB2 $>$ AFG2, cuyas estructuras se observan en la Figura 1 (AECOSAN, 2015).

La aflatoxina B1 (AFB1) es producida por hongos, particularmente *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* (Fels-Kler y Camenzuli, 2016; Duarte y col., 2013). *A. flavus* coloniza principalmente las partes aéreas de las plantas, encontrándose en alimentos almacenados como cacahuete, maíz, semillas de algodón y piensos. *A. parasiticus* se encuentra principalmente en el suelo y tiene una distribución similar a *A. flavus*, pero raramente se observa en el maíz (Van Asselt y col., 2016; IARC, 2002). Aunque la temperatura y la humedad son los principales factores que inciden sobre la presencia de AF en los alimentos, el transporte internacional de productos agrícolas determina que ninguna región del planeta está libre de ella (IARC, 2002).

En el tejido hepático de los rumiantes la AFB1 es metabolizada a aflatoxina M1 (AFM1), que es secretada en la orina, heces y leche, principalmente durante las 48 horas posteriores al consumo de alimentos contaminados, reduciéndose a niveles indetectables 96 horas después (Marchese y col., 2018; Nguyen y Flint, 2020). Las tasas de traspaso de AFB1 a AFM1 en leche se han estimado entre 0,3% a 6,2% (Vaz y col., 2020), siendo el maíz y otros alimentos concentrados contaminados las principales fuentes de AFM1 en la leche cruda (Fink, 2008), que a su vez es el principal introductor de esta aflatoxina en la dieta humana (Dimitrieska y col., 2016; Duarte y col., 2013; Vaz y col., 2020). AFM1 apenas es afectada por la pasteurización (Neagu y col., 2009), encontrándose en la leche pasteurizada (Van

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Asselt y col., 2016), ultra pasteurizada (UHT) (Duarte y col., 2013), quesos (Urbán y col., 2009) y yogur (Rahimirad y col., 2014).

Aunque no se ha especificado una Ingesta Diaria Tolerable (IDT) para las AFM1, la Unión Europea ha establecido su LMR en 0,05 μg/L para leche cruda, leche pasteurizada y leche utilizada en la elaboración de productos lácteos, y en 0,025 μg/L para fórmulas y alimentos dietéticos para infantes; mientras que en Estados Unidos, China y Brasil el LMR para AFM1 en leche es 0,5 μg/L. A pesar de que los niveles máximos de AF están regulados en más de 80 países, no existe armonización internacional al respecto (Nguyen y Flint, 2020; Akbar y col., 2019; Vaz y col., 2020; Rahimirad y col., 2014).

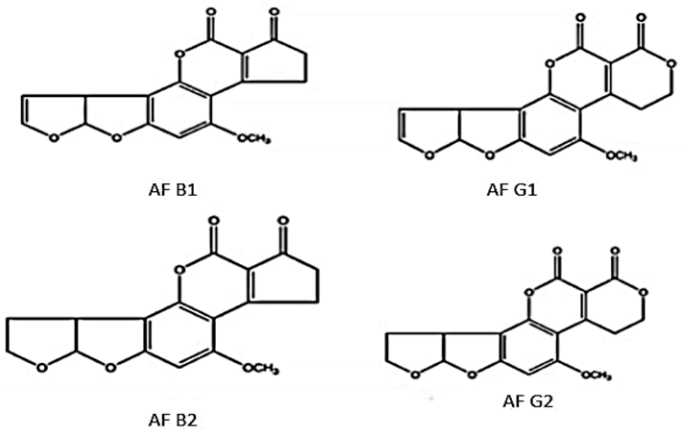

Figura 1. Estructura molecular de las aflatoxinas B y G (AECOSAN, 2015)

Debido a la estabilidad, toxicidad y los LMR permitidos para las AF, y en particular AFM1, su cuantificación es extremadamente importante. En este sentido, el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) se utiliza comúnmente con fines de cribado, mientras que la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) con detección por fluorescencia o espectroscopía de masas se emplea frecuentemente para la identificación y cuantificación de AF en alimentos y piensos (Vaz y col., 2020; Rahimirad y col., 2014).

Para reducir la contaminación fúngica y la producción de AF en los alimentos se ha planteado la rotación de cultivos, la prevención de infestaciones y el deterioro de granos, el uso de variedades de semillas resistentes, cosechas con bajos niveles de humedad, la promoción de la deshidratación, el almacenamiento y el transporte adecuado de granos y el monitoreo de AF en los piensos (Van Asselt y col., 2016; IARC, 2002). Aunque es imposible prevenir completamente la contaminación de la leche (Ayar, Sert y Çon, 2007), limitar el acceso del ganado lechero a alimentos con altas concentraciones de AFB1 contribuye a evitar la contaminación láctea (Dimitrieska y col., 2016; Ayar, Sert y Çon, 2007). Por otra parte, la aplicación de métodos físicos, químicos y biológicos como alternativas para reducir el contenido de AFM1 en leche es cuestionable y representa un riesgo adicional para la seguridad alimentaria (Nguyen y Flint, 2020; Rahimirad y col., 2014).

2.2 Residuos de fármacos veterinarios

Antibióticos

Los antibióticos son utilizados desde el siglo anterior como promotores de crecimiento animal y en la prevención y tratamientos de enfermedades (Albright, Tuckey y Woods, 1961; Sachi y col., 2019). El incumplimiento de los tiempos de retiro de la leche, el uso de antibióticos fuera de las prescripciones, su empleo como aditivos alimentarios y un limitado o inexistente sistema de monitoreo, entre otros factores, determinan LMR de residuos de antibióticos (RA) superiores a los legalmente establecidos, lo que representa una seria amenaza para la salud pública, especialmente de grupos etarios vulnera-

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

bles, y contribuye a la aparición de la resistencia microbiana (Priyanka, Sheoran y Ganguly, 2017; Albright, Tuckey y Woods, 1961; Kurjogi y col., 2019; Sachi y col., 2019). Para la detección de RA en leche se utilizan métodos de tamizaje y confirmatorios; los primeros incluyen ensayos de inhibición de crecimiento bacteriano, ensayos enzimáticos de unión a receptores e inmunoensayos (Navrátilová, 2008; Padol y col., 2015), mientras que las pruebas cromatográficas tienen carácter confirmatorio, ofreciendo mayor sensibilidad, especificidad y cuantificación del analito (Priyanka, Sheoran y Ganguly, 2017; Sachi y col., 2019).

Como medidas para reducir la concentración de RA en los lácteos se ha propuesto la educación del productor lechero, el cumplimiento estricto del tiempo de retiro (Albright, Tuckey y Woods, 1961), el uso de técnicas adecuadas para la detección de RA en lácteos (Priyanka, Sheoran y Ganguly, 2017; Sachi y col., 2019), la supresión de antibióticos como promotores de crecimiento, la adopción de prácticas de manejo e higiene durante el ordeño y procesado de la leche y la reducción al mínimo del uso de antibióticos o su sustitución por probióticos, inmunomoduladores, ácidos orgánicos y suplementos alimenticios (Priyanka, Sheoran y Ganguly, 2017; Sachi y col., 2019; Padol y col., 2015; Yang y col., 2019).

Antihelmínticos

Los antihelmínticos se utilizan para tratar parasitosis de gusanos planos (tenias y trematodos) y gusanos redondos (nemátodos). En función de su estructura química y modo de acción, se clasifican principalmente en benzimidazoles (albendazol, fenbendazol, flubendazol, mebendazol, oxfendazol, tiabendazol, triclabendazol), tetrahidropirimidinas (levamisol, pirantel, morantel), imidazoles (tetramisol, levamisol) y lactonas macrocíclicas (abamectina, doramectina, ivermectina, selamectina, moxidectina) (Romero-González, Frenich y Vidal, 2014).

El uso incorrecto de antihelmínticos contribuye a su ingreso en la cadena alimenticia, observándose sus residuos en la leche (Romero-González, Frenich y Vidal, 2014; Cerqueira y col., 2014). En este alimento, la concentración de benzimidazoles no es afectada por la cocción, el almacenamiento a bajas temperaturas (−18 °C), el horneado o la acción de microondas (Tsiboukis y col., 2013), mientras que los residuos de levamisol son estables durante los procesos de fermentación y el tratamiento térmico del suero, persistiendo en quesos (Whelan y col., 2010). Frente al tratamiento térmico, las lactonas macrocíclicas presentes en la leche son parcialmente degradadas, lo que no sucede cuando están presentes en la crema de leche (Avcı y Filazi, 2020).

En varias especies, los benzimidazoles se han asociado con efectos carcinogénicos, genotóxicos, embriotóxicos y teratogénicos (Romero-González, Frenich y Vidal, 2014; Tsiboukis y col., 2013; Santos y col., 2019), mientras que la ivermectina presenta efectos mutagénicos y teratogénicos en varios mamíferos, además de un efecto ecotóxico (Santos y col., 2019; Pérez-Cogollo y col., 2018). Así, los residuos de antihelmínticos en los alimentos implican un riesgo para la salud pública (Padol y col., 2015; Romero-González, Frenich y Vidal, 2014; Avcı y Filazi, 2020). En la Tabla 1 se aprecian los LMRs permitidos de varios antihelmínticos y antibióticos en leche bovina. Por otra parte, el seguimiento de las prescripciones veterinarias, la observancia de periodos de retiro en la producción láctea tras la aplicación de los antihelmínticos y el control y monitoreo de residuos de antiparasitarios contribuyen a prevenir su contaminación. Los métodos cromatográficos son los más utilizados para identificar y confirmar la presencia de antihelmínticos en la leche (Cerqueira y col., 2014; Santos y col., 2019).

Pesticidas organoclorados y organofosforados

Los pesticidas son "compuestos químicos destinados a prevenir, destruir, atraer, repeler o controlar cualquier plaga, incluidas las especies no deseadas de plantas o animales durante la producción, almacenamiento, transporte y procesamiento de alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales o que pueden ser administrados a animales para el control de ectoparásitos" (FAO/OMS, 2013).

En función de su capacidad de incorporarse a la cadena alimenticia, de bioacumulación y toxicidad, los pesticidas organoclorados (POC) y organofosforados (POF) destacan como contaminantes de la leche y sus derivados, que, a pesar de su progresiva prohibición, aún constituyen un riesgo para la salud pública.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Tabla 1. Límite Máximo de Residuos (LMRs) para antimicrobianos y antihelmínticos en leche bovina (FAO/OMS, 2008).

Antimicrobianos	**LMRs (μg/l)**
Amoxicilina	4
Bencilpenicilina	4
Ceftiofur	100
Clortetraciclina/ oxitetraciclina/ tetraciclina	100
Dihidroestreptomicina/ estreptomicina	200
Espiramicina	200
Gentamicina	200
Monensina	2
Neomicina	1500
Pirlimicina	100
Sulfadimidina	25
Tilosina	100
Antihelmínticos	**LMRs (μg/l)**
Albendazol	100
Doramectina	15
Eprinomectina	20
Febantel/Fenbendazole/ Oxfendazole	100
Ivermectina	10
Tiabendazol	100

Los POC o hidrocarburos clorados son compuestos químicos sintéticos de amplio espectro que incluyen a los derivados de los etanos, como el diclorodifeniltricloroetano (DDT), ciclodienos, entre ellos clordano, aldrin, dieldrin heptacloro, endrín y toxafeno, y los hexaclorociclohexanos (HCH) como el lindano (Zaragoza-Bastida y col., 2016).

Las principales rutas de contaminación por POC incluyen inadecuadas prácticas de manejo, como el almacenaje de pesticidas junto a alimentos, la fumigación de cosechas en áreas adyacentes a las granjas lecheras, provocando la deposición de pesticidas en el agua y alimentos (Bedi y col., 2018), la transmisión transcutánea, la fertilización del suelo con lodos residuales y la utilización de alimento animal procedente de países en los que aún se utiliza lindano y DDT (Rusu y col., 2016; Fischer y col., 2016). La elevada estabilidad en el ambiente y liposolubilidad determinan la deposición de los POC en tejidos animales particularmente ricos en grasas y en la leche (Zaragoza-Bastida y col., 2016; Rusu y col., 2016), siendo considerados como un contaminante orgánico persistente (COP) (OMS, 2020). La movilización del tejido adiposo para mantener la secreción láctea, particularmente en ganadería basada en el pastoreo o en caso de desnutrición del ganado, implica que la leche de estos animales registre un incremento en la concentración de estos pesticidas (Fischer y col., 2016).

A pesar de reportarse concentraciones decrecientes de POC y sus derivados en relación a estudios precedentes, debido probablemente a que estos compuestos fueron prohibidos décadas atrás, aún se informa en distintas regiones del mundo de contaminación por POC, ocasionalmente superando los LMR establecidos en leche cruda, leche pasteurizada, crema agria, queso y mantequilla. Así, los humanos están expuestos a estos contaminantes principalmente a través de alimentos de origen animal (Akhtar y Ahad, 2017; Ishaq y Nawaz, 2018; Rusu y col., 2016), constituyendo una amenaza para la salud pública debido a sus efectos mutagénicos, teratogénicos y deletéreos sobre los sistemas endocrino, cardiovascular y respiratorio. Adicio-

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

nalmente, varios pesticidas organoclorados como DDT, HCH y hexaclorobenceno (HCB) son posibles cancerígenos para el ser humano (Rusu y col., 2016).

Por otra parte, al presentar menor estabilidad y persistencia, los pesticidas organofosforados (POF) como diclorvos, diazinón, dimetoato, clorpirifos, malatión y metilparatión han reemplazado a los POC. Así, ingresan al organismo animal a través de alimentos y aguas contaminadas, bien por inhalación, por el uso de insecticidas en pasturas, establos y factorías lecheras, o a través de la piel intacta tras la aplicación de ectoparasiticidas y posterior violación del periodo de retiro establecido (Bedi y col., 2018; Fischer y col., 2016; Fernández, Mancipe y Fernández, 2010). La naturaleza lipofílica y su capacidad para unirse covalentemente a las proteínas determinan la presencia de POF en la leche y su posterior incorporación a la cadena alimenticia, detectándose en leche pasteurizada, leche cruda y quesos (Salas y col., 2003; Al-Julaifi y col., 2015; Pagliuca y col., 2006). Los POF tienen potenciales efectos sobre la salud humana y animal, ocasionando la estimulación excesiva de los receptores de acetilcolina y con ello debilidad o parálisis muscular, excesiva actividad secretora y cambios en el estado de conciencia (Bedi y col., 2018; Fernández, Mancipe y Fernández, 2010). En la Tabla 2 se exponen los LMR en leche para varios pesticidas organoclorados y organofosforados.

Se ha planteado que el control de la polución ambiental en las explotaciones lecheras (Bedi y col., 2018), el mejoramiento de las condiciones de almacenamiento de los alimentos destinados al ganado lechero, los programas de educación a granjeros, el control de ventas de pesticidas, la aplicación de agricultura orgánica, la implementación de métodos de manejo integrados de pastos (Rusu y col., 2016), la identificación de fuentes de contaminación, el monitoreo de residuos de pesticidas en el alimento animal y en lácteos mediante cromatografía de gases (GC), cromatografía líquida/ espectrometría de masas (LC/MS) y cromatografía líquida acoplada a espectrómetros de masas en tándem (LC/MS/MS) (Akhtar y Ahad, 2017) pueden contribuir a reducir la presencia de estos pesticidas en la leche y sus derivados.

Tabla 2. LMRs para varios organoclorados y organofosforados (Ishaq y Nawaz, 2018; Pagliuca y col., 2006).

Organoclorados	**LMR μg/kg**
DDT	40
DDE	40
Dieldrin	6
γ-HCH	1
α- endosulfan	100
β-endosulfan	100
Sulfato de endosulfán	100
Organofosforados	**LMR μg/kg**
Acefato	20
Clorpirifos	10
Clorpirifos- metil	10
Diazinón	10
Metamidofos	10
Metidation	20
Forato	20
Pirimifos-metil	50

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

2.3 Metales pesados

Son elementos metálicos y metaloides, con una densidad mayor en comparación a otros elementos metálicos (5 g/cm^3 o un peso atómico entre 63,5-200,6 g/mol), se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente e inducen a toxicidad sistémica incluso en bajos niveles de exposición (Ismail y col., 2019; Mahmoudi y col., 2017; Jan y col., 2015). Aunque en este grupo se han considerado al hierro (Fe), zinc (Zn), níquel (Ni) y cobre (Cu) cuando se encuentran en productos alimenticios más allá de ciertos límites, los metales pesados más tóxicos hallados en los alimentos generalmente son mercurio (Hg), arsénico (As), cadmio (Cd) y plomo (Pb). Acorde a las ediciones de la Comisión del Códex Alimentarius de 2011 y 1999, se ha establecido el nivel máximo permitido de Pb y Cd en leche en 0,02 μg/ml y 0,01 μg/ml, respectivamente. La Unión Europea ha establecido en 0,1 μg/ml el nivel máximo permitido para As, en tanto que la legislación hindú estipula en 1,0 μg/ml como los límites máximos permisibles de mercurio en la leche y productos lácteos (Ismail y col., 2019).

Actividades antropogénicas como la urbanización, la industrialización, el riego con agua contaminada, la aplicación de fertilizantes que contienen metales pesados y condiciones no higiénicas en el procesamiento y distribución de la leche determinan su ingreso al organismo, reportándose en muestras de leche cruda, pasteurizada y en polvo (Ismail y col., 2019; Mahmoudi y col., 2017; Jan y col., 2015). La contaminación de la leche y sus derivados con metales pesados es importante para la salud pública, porque ocasionan lesiones y enfermedades especialmente en infantes y ancianos, quienes son los principales consumidores de lácteos (Ismail y col., 2019; Mahmoudi y col., 2017). Así, una de las principales causas del saturnismo o plumbosis es justamente el consumo de leche contaminada con plomo, cuya tasa de absorción en niños es 40% mayor que en los adultos (Ismail y col., 2019; Harlia, Rahmah y Suryanto, 2018). Desde el punto de vista fisiopatológico, los metales estimulan la generación de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, generando estrés oxidativo y deteriorando el sistema antioxidante celular (Jan y col., 2015).

Entre los métodos utilizados para detectar metales pesados en lácteos se menciona la electroforesis capilar, voltamperometría de pulso y métodos espectrométricos. Para prevenir el ingreso de estos elementos en la cadena alimenticia se ha propuesto reducir sus concentraciones en el agua destinada a vacas lecheras, utilizando agentes adsorbentes como esmectita, paligorskita y zeolita, así como el monitoreo del alimento, el uso de materiales inocuos para el procesamiento y envasado de lácteos, el análisis periódico de estos productos y el monitoreo del agua utilizada en el procesamiento de la leche y productos lácteos (Mahmoudi y col., 2017). Adicionalmente, el suministro de comino (*Cuminum cyminum L.*), cúrcuma blanca (*Curcuma zedoaria Rosc.*) y cúrcuma amada (*Curcuma mangga Val.*) en el alimento de vacas lecheras reduce la concentración de plomo en la leche y la incrementa en las heces, probablemente al modular el microbiota ruminal (Nurdin, Putra y Amelia, 2013). Así mismo, se ha observado una menor concentración de metales pesados en el yogur en comparación con la leche cruda, efecto atribuido a procesos de fermentación, como consecuencia de la actividad bacteriana (Enb y col., 2009).

2.4 Dioxinas y bifenilos policlorados análogos a las dioxinas (PCB-AD)

Son un grupo de compuestos policlorados, casi aromáticos planares con estructuras físicas y químicas similares, constituidos por 75 congéneres de policlorodibenzo-p-dioxinas (PCDD) y 135 policlorodibenzofuranos (PCDF). De las dioxinas (PCDD/Fs), 17 presentan propiedades toxicológicas y 12 de los 209 bifenilos policlorados (PCB); al adoptar una estructura planar análoga a las dioxinas presentan propiedades toxicológicas similares a éstas (análogos a las dioxinas, PCB-AD) (DO, 2011; AECOSAN, 2018).

Estos compuestos se caracterizan por ser altamente estables en el medio por su ubicuidad, por su toxicidad y su capacidad de ingresar al organismo a través del aire, suelo o sedimentos, mediante inhalación, absorción cutánea y especialmente por la ingesta de alimentos contaminados (AECOSAN, 2018; Gallego y col., 2005). En rumiantes, la ingesta de PCDD/Fs y PCB-AD ocurre principalmente durante el pastoreo, por el consumo de pasto contaminado y partículas de suelo, así como por el consumo de ensilados y forrajes sometidos a procesos de secado (Bogdal y col., 2017).

Una vez acumulados en el organismo, princi-

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

palmente en el tejido adiposo animal, la gestación y lactancia significarán la movilización de estos compuestos, incrementando su concentración en la leche que, junto a sus derivados, se convierte en una potencial fuente de dioxinas y PCB-AD para el consumidor (Gallego y col., 2005; Schulz y col., 2005; Piskorska-Pliszczynska y col., 2017). Se han detectado dioxinas en más del 90% de las muestras de fórmulas infantiles, de mantequillas y otros productos lácteos (yogur, postres lácteos congelados, productos horneados que contienen lácteos) y diversos tipos de quesos (CFIA, 2019), planteando una seria amenaza para la salud pública. Las PCDD/Fs y PBC-AD presentan efectos cancerígenos, teratogénicos, y mutagénicos, y se asocian con alteraciones dérmicas y hemáticas que actúan como un disruptor endocrino causante de alteraciones reproductivas, inmunológicas y neurológicas (Gallego y col., 2005).

Para prevenir que los alimentos destinados a animales productores de leche sean contaminados por dioxinas y PCB-AD, se ha planteado la identificación de zonas agrícolas con importante presencia de estos compuestos, la identificación y seguimiento de piensos e ingredientes de piensos originarios de estas zonas, el monitoreo de la concentración de dioxinas y PCB-AD en fangos cloacales y compost utilizados en agricultura, y la identificación y control de procesos críticos de fabricación de piensos (por el ejemplo el secado artificial mediante calentamiento directo) (FAO/OMS, 2018). También se puede prevenir la ingesta de partículas del suelo contaminado por dioxinas y PCB al reducir la densidad animal durante el pastoreo y al incrementar la disponibilidad de pasturas. Debido a que las dioxinas permanecen en el organismo animal durante 30 a 60 días antes de ser excretadas a través de la leche, se ha propuesto la transferencia de animales a suelos no contaminados por un periodo de tres meses, a fin de reducir su contenido en la leche. Puesto que se ha reportado contaminación láctea con PCB-AD tras la ingesta de restos de pinturas en establos y el pastoreo en zonas cercanas a centros industriales, estas deben considerarse como potenciales fuentes de contaminación (Gallego y col., 2005; Bogdal y col., 2017; Schulz y col., 2005).

Los PCDD/Fs y los PCB-AD, junto con los pesticidas organoclorados, son los contaminantes orgánicos persistentes (COPs) más frecuentes (OMS, 2020), que son liberados en el ambiente como consecuencia de diversas actividades antropogénicas e ingresan a la cadena alimentaria debido a su capacidad de transporte, toxicidad y persistencia (Figura 2).

La detección de las PCDD/Fs y PCB-AD se basa en la cromatografía de gases junto con la espectrometría de masas de alta resolución (GC-HMRS). También se utilizan métodos basados en la cromatografía de gases junto con la espectrometría de masas en tándem (GC-MS/MS). Alternativamente se han desarrollado técnicas de bioensayo como métodos de cribado de alto rendimiento (FAO/OMS, 2018).

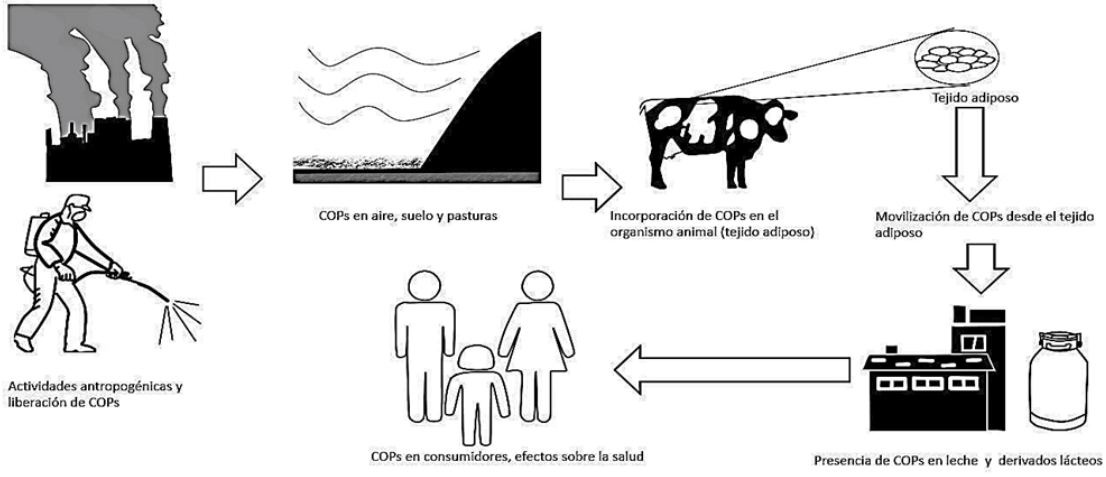

Figura 2. Ingreso de Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs) en la cadena alimentaria

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

2.5 Desinfectantes y detergentes

La limpieza y desinfección son pasos críticos en la producción primaria y en el procesamiento posterior de lácteos, permitiendo eliminar restos de leche y minimizando el nivel de contaminación bacteriana en las instalaciones de ordeño. Para ello se emplean detergentes que incluyen tensioactivos en su composición y de desinfectantes, disponiendo de una amplia gama de productos que contienen biocidas como cloro, yodo, amonio cuaternarios y dióxido de cloro (Van Asselt y col., 2016; Fischer y col., 2016; Kirsanov y col., 2020). Si los procedimientos de lavado y desinfección en las vacas lecheras, así como el lavado y enjuague de los equipos de ordeño y almacenamiento de la leche se realizan incorrectamente, los residuos de detergentes y desinfectantes contaminan esa leche y sus derivados (Fischer y col., 2016; Merin y col., 1985; Šalomskienė y col., 2013; Siobhan y col., 2012). Así, los equipos y utensilios utilizados en el procesamiento de la leche deben limpiarse, desinfectarse y enjuagarse con agua potable (a menos que las instrucciones del fabricante indiquen lo contrario) para posteriormente escurrirse y secarse (FAO, 2004).

Aunque los residuos de cloro en la leche se degradan rápidamente sin representar un riesgo para la salud (Fischer y col., 2016; Šalomskienė y col., 2013), el contacto del cloro con materia orgánica da lugar a que la leche presente residuos de contaminantes no añadidos intencionalmente, como el triclorometano (TCM) o cloroformo (Siobhan y col., 2012). Otros desinfectantes como dióxido de cloro generan subproductos cuya ingesta inhibe la absorción de yodo (Van Asselt y col., 2016), mientras que los amonios cuaternarios son estables en la leche, afectando negativamente la salud de los consumidores e inhibiendo los procesos de fermentación láctea y de elaboración de quesos (Siobhan y col., 2012). El LMR de desinfectantes y detergentes en leche y otros alimentos se ha estimado en 0,1 mg/kg (DO, 2014). Por otra parte, la elevada ingesta de yodo a partir de sus residuos en la leche puede conducir a desórdenes en la función de la glándula tiroides, principalmente en niños (Fischer y col., 2016).

Debido a la amplia variedad de productos desinfectantes, se han descrito varias técnicas analíticas para su detección en alimentos, incluyendo pruebas colorimétricas simples, potenciómetro con electrodos selectivos de iones, cromatografía de capa fina y cromatografía líquida y gaseosa. Para la cuantificación y detección de cloratos, percloratos y amonio cuaternarios en leche y productos lácteos se emplea la cromatografía - espectrometría de masas en tándem (Fischer y col., 2016).

3 Conclusiones

La leche es una fuente de nutrientes para un amplio sector de la población. Sin embargo, las actividades antropogénicas tendentes a mejorar la productividad animal y el procesamiento de lácteos ocasionan un riesgo de contaminación química de estos productos. Debido a la ubicuidad de estos contaminantes y sus efectos deletéreos tras su ingesta crónica a través de la leche y derivados lácteos, se han establecido Límites Máximos Residuales para la mayoría de estos compuestos, siendo necesario prevenir, o al menos minimizar, y monitorear la concentración de contaminantes químicos de lácteos, utilizando técnicas adecuadas de detección, contribuyendo a la seguridad alimentaria de la población.

Referencias

AECOSAN (2015). *Alfatoxinas*. Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Online: https://bit.ly/342IthQ.

— (2018). *Contaminantes orgánicos persistentes (POPs) y otros contaminantes (Melamina, Bisfenoles).* Inf. téc. Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Online:https://bit.ly/33VLswx.

Akbar, N. y col. (2019). «Occurrence and seasonal variations of aflatoxin M1 in milk from Punjab, Pakistan». En: *Toxins* 11.10, 574. Online: https://bit.ly/3I1GgWl.

Akhtar, S. y K. Ahad (2017). «Pesticides residue in milk and milk products: Mini review». En: *Pakistan Journal of Analytical y Environmental Chemistry* 18.1, 37-45. Online: https://bit.ly/3tkzgja.

Al-Julaifi, M. y col. (2015). «Quantitative Determination of Organophosphorus Compounds in Hard Cheese Using Gas Chromatography Coupled With Ion Trap-Tandam Spectrometry». En: *Egyptian Journal of Chemistry and Environmental Health* 1.1, 113-133. Online: https://bit.ly/3cN7EJj.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Albright, J., S. Tuckey y G. Woods (1961). «Antibiotics in milk-A review». En: *Journal of Dairy Science* 44.5, 779-807. Online: https://bit.ly/3KeZoCb.

Avcı, B. y A. Filazi (2020). «The effects of heat applications on macrocyclic lactone-structured antiparasitic drug residues in cows' milk». En: *Food Additives y Contaminants: Part A* 37.7, 1145-1155. Online: https://bit.ly/3tok3NV.

Ayar, A., D. Sert y A. Çon (2007). «A study on the occurrence of aflatoxin in raw milk due to feeds». En: *Journal of food safety* 27.2, 199-207. Online: https://bit.ly/3ndw451.

Bedi, J. y col. (2018). «Pesticide residues in milk and their relationship with pesticide contamination of feedstuffs supplied to dairy cattle in Punjab (India)». En: *Journal of Animal and Feed Sciences* 27.1, 18-25. Online: https://bit.ly/33qvWrC.

Bogdal, C. y col. (2017). «Dynamic transgenerational fate of polychlorinated biphenyls and dioxins/furans in lactating cows and their offspring». En: *Environmental science y technology* 51.18, 10536-10545. Online: https://bit.ly/3zSWlun.

CFIA (2019). *Dioxins and dioxin-like compounds in selected foods, CA*. Inf. téc. Canadian Food Inspection Agency. Online: https://bit.ly/2S3yKSJ.

Cerqueira, M. y col. (2014). «Detection of antimicrobial and anthelmintic residues in bulk tank milk from four different mesoregions of Minas Gerais State-Brazil». En: *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 66.2, 621-625. Online: https://bit.ly/3GjHfk7.

DO (2011). *Reglamento (UE) No. 1259/2011 de la Comisión Por el que se modifica el Reglamento (CE) no 1881/2006 en lo relativo a los contenidos máximos de dioxinas, PCB similares a las dioxinas y PCB no similares a las dioxinas en los productos alimenticios. ref: UE. L 320/18*. Diario Oficial de la Unión Europea. Online: https://bit.ly/335ogIK.

— (2014). *Reglamento (UE) No 1119/2014 de la Comisión que modifica el anexo III del Reglamento (CE) no 396/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo a los límites máximos de residuos de cloruro de benzalconio y cloruro de didecildimetilamonio en determinados productos. Ref: L 304/43*. Diario Oficial de la Unión Europea. Online: https://bit.ly/335ogIK.

Dimitrieska, E. y col. (2016). «Assessment of aflatoxin contamination in raw milk and feed in Macedonia during 2013». En: *Food control* 59, 201-206. Online: https://bit.ly/33bAaUn.

Duarte, S. y col. (2013). «Aflatoxin M1 in marketed milk in Portugal: Assessment of human and animal exposure». En: *Food Control* 30.2, 411-417. Online: https://bit.ly/3GmNpzN.

Enb, A. y col. (2009). «Chemical composition of raw milk and heavy metals behavior during processing of milk products». En: *Global Veterinaria* 3.3, 268-275. Online: https://bit.ly/33sxdOR.

FAO (2004). *Code of hygienic practice for milk and milk products CAC/RCP 57*. Inf. téc. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Online: https://bit.ly/3cCYqz4.

FAO/OMS (2008). *Límites máximos de residuos (LMR) y recomendaciones sobre la gestión de riesgos (RGR) para residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos. Roma: IT. Comisión del Codex Alimentarius, ref: CX/MRL 2-2018*. Inf. téc. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura / Organización Mundial de la Salud. Online: https://n9.cl/8uwl3.

— (2013). *Food standards programme. Codex Alimentarius commission procedural manual. Twenty-first edition*. Inf. téc. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura / Organización Mundial de la Salud. Online: https://bit.ly/337zzQM.

— (2018). *Código de prácticas para prevenir y reducir la contaminación en los alimentos y piensos por dioxinas y bifenilos policlorados (BPC) análogos a las dioxinas, 2018*. Inf. téc. Comisión del Codex Alimentarius, ref: CXC 62-2006. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura / Organización Mundial de la Salud. Online: https://bit.ly/3i87I7n.

Fels-Kler, H. Van der y L. Camenzuli (2016). «Effects of milk yield, feed composition, and feed contamination with aflatoxin B1 on the aflatoxin M1 concentration in dairy cows' milk investigated using Monte Carlo simulation modelling». En: *Toxins* 8.10, 290. Online: https://bit.ly/3tNuefp.

Fernández, D., L. Mancipe y D. Fernández (2010). «Intoxicación por organofosforados». En: *Revista Med* 18.1, 84-92. Online: https://bit.ly/3tob67g.

Fink, J. (2008). «Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: A review». En: *Food Additives and Contaminants* 25.2, 172-180. Online: https://bit.ly/3fgaXL5.

Fischer, W. y col. (2016). «Contaminants of milk and dairy products: contamination resulting from

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

farm and dairy practices». En: *Encyclopedia of Dairy Sciences* 2, 887-97. Online: https://bit.ly/3tOdkgm.

Gallego, M. y col. (2005). «Las dioxinas en la producción animal: situación actual». En: *Producción animal* 20.212, 60-72. Online: https://bit.ly/3GnBP7P.

Harlia, E., K. Rahmah y D. Suryanto (2018). «Food safety of milk and dairy product of dairy cattle from heavy metal contamination». En: *IOP conference series: earth and environmental science*. Vol. 102. 1, 012050. Online: https://bit.ly/3treiz1.

IARC (2002). *Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene*. Vol. 82. International Agency for Research on Cancer. Lyon: FR.

Ishaq, Z. y M. Nawaz (2018). «Analysis of contaminated milk with organochlorine pesticide residues using gas chromatography». En: *International Journal of Food Properties* 21.1, 879-891. Online: https://bit.ly/3fo30Di.

Ismail, A. y col. (2019). «Heavy metals in milk: global prevalence and health risk assessment». En: *Toxin Reviews* 38.1, 1-12. Online: https://bit.ly/3tlq2TH.

Jan A.and Azam, M. y col. (2015). «Heavy metals and human health: mechanistic insight into toxicity and counter defense system of antioxidants». En: *International journal of molecular sciences* 16.12, 29592-29630. Online: https://bit.ly/3nnyXQJ.

Kalyankar, S. y col. (2016). «The Encyclopedia of Food and Health». En: ed. por B. Caballero, P. Finglas y F. Toldrá. Vol. 3. Oxford: Academic Press. Cap. Milk: sources and composition, págs. 741-747.

Kirsanov, V. y col. (2020). «Influence of devices for cleaning the milk pipes of the milking units on the ecology of milk production». En: *IOP conference series: earth and environmental science*. Vol. 422. 1, 012075. Online: https://bit.ly/3tl5dHU.

Kurjogi, M. y col. (2019). «Detection and determination of stability of the antibiotic residues in cow's milk». En: *PloS one* 14.10, e0223475. Online: https://bit.ly/3qm3HDH.

Mahmoudi, R. y col. (2017). «A review of the importance, detection and controlling of heavy metal in milk and dairy products». En: *Malaysian Journal of Science* 36.1, 1-16. Online: https://bit.ly/3FosSd5.

Marchese, S. y col. (2018). «Aflatoxin B1 and M1: Biological properties and their involvement in cancer development». En: *Toxins* 10.6, 214. Online: https://bit.ly/33rxAta.

Merin, U. y col. (1985). «The effect of residues of detergents and detergents-sanitizers on the performance of antibiotic test and the organoleptic quality of milk». En: *Le Lait* 65.649-650, 163-167. Online: https://bit.ly/3zQNf1o.

Navrátilová, P. (2008). «Screening methods used for the detection of veterinary drug residues in raw cow milk–a review». En: *Czech J Food Sci* 26.6, 393-401. Online: https://bit.ly/33tbPt8.

Neagu, D. y col. (2009). «Aflatoxin M1 determination and stability study in milk samples using a screen-printed 96-well electrochemical microplate». En: *International Dairy Journal* 19.12, 753-758. Online: https://n9.cl/wnny0.

Nguyen, T. y J. Flint S.and Palmer (2020). «Control of aflatoxin M1 in milk by novel methods: A review». En: *Food chemistry* 311, 1-370. Online: https://bit.ly/3A6SLND.

Nurdin, E., D. Putra y T. Amelia (2013). «Analysis of heavy metal lead (Pb) levels with Aas in cow's milk by giving cumin (Cuminum cyminum L.), white turmeric (Curcuma zedoaria Rosc.) and mango turmeric (Curcuma mangga Val.)» En: *Pakistan journal of biological sciences: PJBS* 16.21, 1373-1377. Online: https://bit.ly/3I5Xzpf.

OMS (2018). *Aflatoxins*. Inf. téc. Organización Mundial de la Salud. Online: https://n9.cl/l4q2d.

— (2020). *Persistent organic pollutants (POPs), international programme on chemical safety, food safety*. Organización Mundial de la Salud. Online: https://bit.ly/2GjBskf0.

Padol, A. y col. (2015). «Occurrence, public health implications and detection of antibacterial drug residues in cow milk». En: *Environment y We an International Journal of Science and Technology* 10.2015, 7-28. Online: https://bit.ly/3fiQzsv.

Pagliuca, G. y col. (2006). «Organophosphorus pesticides residues in Italian raw milk». En: *Journal of dairy research* 73.3, 340-344. Online: https://bit.ly/3nljnoG.

Pérez-Cogollo, L. y col. (2018). «Toxicidad y efectos adversos de las lactonas macrocíclicas sobre los escarabajos estercoleros: una revisión». En: *Revista mexicana de biodiversidad* 89.4, 1293-1314. Online: https://n9.cl/2mht9.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Piskorska-Pliszczynska, J. y col. (2017). «Elimination of dioxins in milk by dairy cows after the long-term intake of contaminated sugar beet pellets». En: *Food Additives y Contaminants: Part A* 34.5, 842-852. Online: https://bit.ly/3fkcY8W.

Priyanka, P., M. Sheoran y S. Ganguly (2017). «Antibiotic residues in milk-a serious public health hazard». En: *Journal of Environment and Life Sciences* 2.4, 99-102. Online: https://bit.ly/30juPpf.

RAE (2019). *Leche, Asociación de Academias de la Lengua Española*. Real Academia Española. Online: https://bit.ly/30eJHW600.

Rahimirad, A. y col. (2014). «Aflatoxin M1 concentration in various dairy products: evidence for biologically reduced amount of AFM1 in Yoghurt». En: *Iranian journal of public health* 43.8, 1139 Online: https://bit.ly/3fhpupE.

Romero-González, R., A. Frenich y J. Vidal (2014). «Veterinary drugs residues: anthelmintics». En: *Encyclopedia of Food Safety* 3, 45-54. Online: https://bit.ly/3fAt1jf.

Rusu, L. y col. (2016). «Pesticide residues contamination of milk and dairy products. A case study: Bacau district area, Romania». En: *Journal of Environmental Protection and Ecology* 17, 1229-1241. Online: https://bit.ly/3cBgTfc.

STATISTA (2020). *Global cow milk production 2015 to 2019*. Online: https://bit.ly/344SlYf00.

Sachi, S. y col. (2019). «Antibiotic residues in milk: Past, present, and future». En: *Journal of advanced veterinary and animal research* 6.3, 315-332. Online: https://bit.ly/3zWaN4J.

Salas, J. y col. (2003). «Organophosphorus pesticide residues in Mexican commercial pasteurized milk». En: *Journal of agricultural and food chemistry* 51.15, 4468-4471. Online: https://n9.cl/e42wj.

Šalomskienė, J. y col. (2013). «Impact of the residues of detergents and disinfectants used in dairy farms on the results of inhibitor tests for raw milk». En: *Advances in Bioscience and Biotechnology* 4.2, 266-272. Online: https://bit.ly/3KkT4ZV.

Santos, P. y col. (2019). «Ivermectin and albendazole withdrawal period in goat milk». En: *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal* 20, 1-12. Online: https://bit.ly/3ts0lAS.

Schulz, A. y col. (2005). «Dioxin concentration in milk and tissues of cows and sheep related to feed and soil contamination». En: *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 89.3-6, 72-78. Online: https://bit.ly/339edFF.

Siobhan, R. y col. (2012). «Evaluation of trichloromethane formation from chlorine-based cleaning and disinfection agents in cow's milk». En: *International journal of dairy technology* 65.4, 498-502. Online: https://bit.ly/3I00v6K.

Tsiboukis, D. y col. (2013). «Anthelmintics residues in raw milk. Assessing intake by a children population». En: *Polish journal of veterinary sciences* 16.1, 85-91. Online: https://bit.ly/339Yq6G.

Urbán, G. y col. (2009). «Niveles de aflatoxina M1 en quesos frescos producidos en diferentes zonas de México». En: *Revista de Salud Animal* 31.2, 115-121. Online: https://bit.ly/33J1jOx.

Van Asselt, E. y col. (2016). «Overview of food safety hazards in the european dairy supply chain». En: *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 16.1, 59-75. Online: https://bit.ly/3GRUYyY.

Vaz, A. y col. (2020). «Detection methods for aflatoxin M1 in dairy products». En: *Microorganisms* 8.2, 246. Online: https://bit.ly/3rrc1Bc.

Whelan, M. y col. (2010). «Investigation of the persistence of levamisole and oxyclozanide in milk and fate in cheese». En: *Journal of agricultural and food chemistry* 58.23, 12204-12209. Online: https://bit.ly/3KjeVAQ.

Yang, W. y col. (2019). «Effective treatment of bovine mastitis with intramammary infusion of Angelica dahurica and Rheum officinale extracts». En: *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2019, 1-8. Online: https://bit.ly/351i7B3.

Zaragoza-Bastida, A. y col. (2016). «Implications of the use of organochlorine in the environment, and public health». En: *Abanico veterinario* 6.1, 43-55. Online: https://bit.ly/3Ac2jXt.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Normas para autores

El presente manual describe los pasos que deberá tener en cuenta para realizar un envío satisfactorio de su manuscrito. Tómese el tiempo necesario para leer cuidadosamente el presente documento.

1 Información general

«La Revista de Ciencias de la Vida, La Granja» es una publicación científica bilingüe de la Universidad Politécnica Salesiana de Ecuador, editada desde enero de 2002 de forma ininterrumpida, con periodicidad fija semestral, especializada en Ciencias de la Vida, Ambientales y sus líneas transdisciplinares como Ciencias de la Tierra, Biotecnología y Ciencias Agropecuarias, y Desarrollo Local Sostenible, entre otras.

Es una revista científica arbitrada, que utiliza el sistema de evaluación externa por expertos (*peer- review*), bajo metodología de pares ciegos (*doble-blind review*), conforme a las normas de citación del estilo Harvard. El cumplimiento de este sistema permite garantizar a los autores un proceso de revisión objetivo, imparcial y transparente, lo que facilita a la publicación su inclusión en bases de datos, repositorios e indexaciones internacionales de referencia.

«La Revista de Ciencias de la Vida, La Granja» se encuentra indexada en SCOPUS, en el Emerging Source Citation Index ESCI de la Web of Science, en el directorio y catálogo selectivo del Sistema Regional de Información en Línea para Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal (Latindex), en el Sistema de Información Científica REDALYC, en el Directorio de Revistas de Acceso Abierto DOAJ en el sistema de Clasificación Integrada de Revistas Científicas CIRC, en BaseSearch, la Máquina de Búsqueda Académica de *Bielefeld*, y en más de 42 repositorios, bibliotecas y catálogos especializados de Iberoamérica.

La revista se edita en doble versión: impresa (ISSN: 1390-3799) y electrónica (e-ISSN: 1390-8596), en español e inglés, siendo identificado además cada trabajo con un DOI (Digital Object Identifier System).

Todos los artículos son publicados para poder acceder a su contenido de manera abierta sin restricciones económicas, tanto en las fases de envío, revisión, publicación y traducción integrada de los manuscritos.

2 Alcance y política

2.1 Temática

Contribuciones originales en materia de Ciencias de la Vida, Ambientales y sus líneas transdisciplinares como Ciencias de la Tierra, Biotecnología y Ciencias Agropecuarias, y Desarrollo Local Sostenible y todas aquellas disciplinas conexas interdisciplinarmente con la línea temática central.

2.2 Aportaciones

«La Revista de Ciencias de la Vida, La Granja» edita preferentemente resultados de investigación empírica, teórica o experimental (*Scientific Articles*), redactados en español y/o inglés, siendo también admisibles selectas revisiones bibliográficas (*Reviews*).

Todos los trabajos deben ser originales, no haber sido publicados en ningún medio ni estar en proceso de arbitraje o publicación.

De esta manera, las aportaciones en la revista pueden ser:

a. Investigaciones Científicas (*Scientific Articles*):

5.000 a 6.500 palabras de texto, incluyendo título, resúmenes, introducción, materiales y métodos, resultados, conclusiones, tablas, figuras y referencias. Las referencias deberán estar citadas, ser actuales y selectivas de alrededor de unas 40 obras.

b. Revisiones (*Reviews*):

Máximo sugerido 7.000 palabras de texto, incluidas tablas y referencias. Se valorará especialmente las referencias justificadas, actuales y selectivas de alrededor de unas 50 obras.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

«La Revista de Ciencias de la Vida, La Granja» tiene periodicidad semestral (20 artículos por año), publicada en los meses de marzo y septiembre.

2.3 Política económica abierta

«La Revista de Ciencias de la Vida, La Granja», es una revista abierta, donde todos los artículos son publicados para poder acceder a su contenido de manera abierta sin restricciones de contenido o económicas, tanto en el proceso de revisión como de publicación y traducción integra de los manuscritos. La revista es publicada por el Editorial Abya-Yala, en Quito, Ecuador.

2.4 Copyright

Las obras que se publican en «La Revista de Ciencias de la Vida, La Granja» están sujetas a los siguientes términos:

1. La Universidad Politécnica Salesiana (RUC: 0190151530001) conserva los derechos patrimoniales (copyright) de las obras publicadas, y favorece y permite la reutilización de las mismas bajo la licencia *Creative Commons* Reconocimiento-No-Comercial-Sin Obra Derivada 3.0 Ecuador, por lo cual se pueden copiar, usar, difundir, transmitir y exponer públicamente, siempre que:
    - Se cite la autoría y fuente original de su publicación (revista, editorial, URL y DOI de la obra).
    - No se usen para fines comerciales u onerosos.
    - Se mencione la existencia y especificaciones de esta licencia de uso.
2. La publicación otorgará a cada artículo un *Digital Object Identifier* (DOI). Ejemplo: Navarrete, Bernardo, Oswaldo Valarezo, Ernesto Cañarte y Ramón Solórzano. 2017. Efecto del nim (*Azadirachta indica Juss.*) sobre Bemisia tabaci Gennadius (*Hemiptera: Aleyrodidae*) y controladores biológicos en el cultivo del melón Cucumis melo L. La Granja: Revista de Ciencias de la Vida. Vol. 25(1):33-4. https://doi.org/10.17163/ret.n12.2016.05

3 Presentación, estructura y envío de los manuscritos

Todos los autores han registrarse con sus créditos, filiaciones institucionales, país e identificador ORCID en la plataforma OJS; si bien sólo uno de ellos será el responsable de correspondencia. Ningún autor podrá enviar o tener en revisión dos manuscritos de forma simultánea, estimándose una carencia de un número consecutivo (1 año).

Cuando presente el artículo, usted no debe intentar diseñar el manuscrito, no justifique el documento, o centre los títulos, ni utilice el formato de doble columna. El único formato requerido es que los nombres en latín de los organismos deben estar en itálicas.

Los trabajos se presentarán en tipo de letra Arial número 10, interlineado doble (excepto para los títulos de tablas y figuras), justificado completo y sin tabuladores ni espacios en blanco entre párrafos. Todas las líneas deberán estar enumeradas de forma automática (Word>Diseño de pagina>Números de línea>continuo). Solo se separarán con un espacio en blanco los grandes bloques (título, autores, resumen, introducción, materiales y métodos, resultados, conclusiones y referencias). La página debe tener 2 centímetros en todos sus márgenes (descargar “manuscrito anonimizado”).

Los trabajos deben presentarse en documento de Microsoft Word (.doc o .docx) o LateX (.tex) que incluya las referencias en formato (.bib), siendo necesario que el archivo esté anonimizado en Propiedades de Archivo, de forma que no aparezca la identificación de autor/es.

Los manuscritos deben ser enviados única y exclusivamente a través del OJS (Open Journal System), en el cual todos los autores deben darse de alta previamente. No se aceptan originales enviados a través de correo electrónico u otra interfaz.

Por motivos de mejoramiento de la visibilidad e impacto de las publicaciones, todos los autores deben tener un número ORCID <https://orcid.org/>y se sugiere que al menos uno de los autores tenga una cuenta en Research Gate <https://www.researchgate.net/home>.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

3.1 Estructura del manuscrito

Para aquellos trabajos que se traten de investigaciones científicas, los manuscritos seguirán la estructura IMRDC (Introducción, Materiales y Métodos, Resultados, Discusión y Conclusiones), cualquier uso de anexos se enviará como un documento aparte en Word o Latex y será catalogada como información complementaria (descargar "manuscrito anonimizado").

Los trabajos que se traten de Revisiones Bibliográficas, podrán ser más flexibles en sus epígrafes, especialmente en Materiales y Métodos, Resultados y Discusión. En todas las tipologías de trabajos son obligatorias las Referencias que en lo posible deberán incluir un link electronico de referencia. En cualquier caso los documentos constarán de las siguientes secciones:

a. Título (español) / *Title* (inglés):

Conciso pero informativo, en castellano en primera línea y en inglés en segunda. Se aceptan como máximo 25 palabras con espacios incluidos. El título no solo es responsabilidad de los autores, pudiéndose proponer cambios por parte del Consejo Editorial.

Es necesario escribirlo en mayúsculas y minúsculas, centrado; si contiene nombres científicos de taxa, destacarlos con cursivas, sin el autor del taxón.

b. Nombres y filiación de los autores:

Nombre(s) y Apellido(s) de cada uno de los autores, organizados por orden de prelación. Junto a los nombres ha de seguir centro de trabajo, dirección, ciudad, país, correo electrónico de cada autor y número de ORCID. Adicionalmente se debe incluir qué autor será el responsable del manuscrito o autor por correspondencia, señalándolo con un asterisco (*). Dicha información será únicamente presentada en el archivo modelo denominado "presentación-portada" (descargar "presentación-portada")

c. Resumen (español) / *Abstract* (inglés):

Tendrá como extensión máxima 250 palabras, primero en español y después en inglés. En el resumen se describirá de forma concisa implícita o explícitamente y en este orden: Justificación del tema; Objetivos; Metodología y muestra; Principales resultados; Principales conclusiones. Ha de estar escrito de manera impersonal "El presente trabajo analiza...". En el caso del abstract no emplee traductores automáticos, tome el debido cuidado al traducir su resumen, es la primera impresión que tendrá el revisor.

d. Palabras clave (español) / *Keywords* (inglés):

Se deben exponer de 4 a 6 descriptores por cada versión idiomática relacionados directamente con el tema del trabajo. Trate de no repetir las mismas palabras del título. Deben colocarse tanto en español, como en inglés.

e. Introducción:

Se sugiere utilizar el sistema SPPR Situación (Estado del Arte), Problema, Pregunta (Hipótesis del Estudio) y Respuesta (Objetivo del Estudio). De esta manera, se debe exponer de manera clara y con suficientes referencias bibliográficas el estado del arte actualizado de su estudio, el planteamiento del problema, el contexto de la problemática, la justificación, fundamentos y propósito del estudio, utilizando la literatura más significativa y actual del tema.

f. Materiales y métodos:

Deben ser redactados de forma que el lector pueda comprender con facilidad el desarrollo de la investigación. Describirá cronológicamente la metodología, la muestra y la forma de muestreo, así como se hará referencia al tipo de análisis estadístico empleado. Asegurando en todo momento la replicabilidad de su experimento explicando el diseño experimental, equipos de laboratorio utilizados y programas computacionales, entre otros. En toda metodología utilizada, es necesario exponer las razones que han conducido a su empleo y describir sus posibles limitaciones.

g. Resultados y Discusión:

Se procurará resaltar las observaciones más importantes. Debe incluir la información cuantitativa o cualitativa que sustentará las conclusiones finales. Aparecerán en una secuencia lógica en el texto y las Tablas, Figuras y ecuaciones imprescindibles evitando la duplicidad de datos. Toda tabla, figura o ecuación deberá estar citada en el texto y enumerada secuencialmente.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Para el caso de las ecuaciones, emplee el editor de ecuaciones de Word o mediante programación en Latex, coloque de manera consecutiva las ecuaciones ordenándolas mediante un número encerrado entre paréntesis (1), para mejor compresión vea el documento "manuscrito anónimizado".

Las fotos, ilustraciones y gráficas únicamente se presentan como figuras, y éstas, al igual que las tablas, deben incluir una descripción explicativa para cada una, ver manuscrito anónimizado.

En el texto, toda tabla y figura deben ser nombradas, analizadas y discutidas resaltando los hallazgos más representativos y/o limitaciones del estudio. Cite dentro del texto Figura 6 o Tabla 1, por ejemplo. No abrevie la palabra figura o tabla.

Las figuras pueden ser dibujos lineales, mapas, o fotografías de medios tonos en blanco y negro o a color en resolución de 300 dpi, es decir el tamaño de la figura debe ser grande, apropiado para la publicación en formato de calidad. Cada figura debe ser adjuntada con el envío en formato TIFF,PNG o JPG enumeradas en el orden de aparición. Los autores deberán tomar en cuenta que las leyendas y ejes de las figuras deben ser perfectamente legibles tanto al ampliar como reducir la figura.

Diseñe las figuras para que se ajusten eventualmente al tamaño final de la revista 19,2 × 26,2 cm. Asegúrese de que las inscripciones o detalles, así como las líneas, tengan tamaños y grosores adecuados de tal manera que no queden ilegibles cuando sean reducidos a su tamaño final (números, letras y símbolos deben ser reducidos al menos a 2,5 mm de altura después que las ilustraciones han sido reducidas para ajustarse a la página impresa). Idealmente, las ilustraciones lineales deben ser preparadas a aproximadamente a un cuarto de su tamaño final de publicación, ejemplo: 4, 7 × 6, 5 cm.

Diferentes elementos en la misma figura deben ser deletreados a, b, c, d, etcétera. Las fotografías deben gravarse con alto contraste y en alta resolución. Recuerde que las fotografías frecuentemente pierden contraste en el proceso de impresión. Si las figuras han sido previamente usadas, es de responsabilidad única del autor el obtener el/los permisos correspondientes. Evite problemas posteriores relacionados con los derechos de autor.

h. Conclusiones y Discusión:

El apartado de Discusiones puede aparecer en los Resultados o en las Conclusiones, a preferencia del autor. Las Conclusiones resumirán los hallazgos más importantes, relacionando las propias observaciones con estudios de interés, señalando aportaciones y limitaciones, sin redundar datos ya comentados en otros apartados. Asimismo, el apartado de discusión y conclusiones debe incluir las implicaciones y líneas para futuras investigaciones.

i. Agradecimientos (opcionales):

El *Council Science Editors* recomienda a los autor/es especificar la fuente de financiación de la investigación. Se considerarán prioritarios los trabajos con aval de proyectos competitivos nacionales e internacionales. En todo caso, para la valoración científica del manuscrito, este debe ir anonimizado con XXXX solo para su evaluación inicial, a fin de no identificar autores y equipos de investigación, que deben ser explicitados en la Carta de Presentación y posteriormente en el manuscrito final.

j. Referencias:

Las citas bibliográficas deben reseñarse en forma de referencias al texto. Bajo ningún caso deben incluirse referencias no citadas en el texto, ni tampoco deben ser incluidas citas solamente en el texto sin contener su respectiva referencia. Su número debe ser suficiente para contextualizar el marco teórico con criterios de actualidad e importancia. Se presentarán alfabéticamente por el primer apellido del autor, siguiendo el estilo Harvard, que se describe a continuación y/o que se puede presentar con el gestor de citas del procesador de texto utilizado.

3.2 Normas para las referencias

3.2.1 Como se cita en el texto

Harvard es un estilo de citación que permite colocar los dos apellidos del autor (muchas veces éstos aparecen separados con un guión), si es que los presenta. Caso contrario se utiliza un solo apellido, como es usual en la tradición anglosajona.

Un autor: Samaniego (2012); (Samaniego, 2012); Valdés-Pérez (2016); (Valdés-Pérez, 2016); (Valdés Pérez, 2016); Valdés Pérez (2016).

Hasta tres autores: Samaniego, Vásquez y Torres (2010); (Samaniego, Vásquez y Torres, 2010).

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

Más de tres autores: Samaniego *et al*. (2010); (Samaniego *et al*., 2010)

3.2.2 Referencias

a. Artículo de revista (incluir siempre el DOI del artículo o en lo posible la dirección electrónica URL del artículo):

Arnold, M. y Osorio, F. (1998) Introducción a los Conceptos Básicos de la Teoría General del Sistemas. Revista Cinta de Moebio [en línea], (3). Universidad de Chile. Disponible en <https://goo.gl/FwjAqo>[consulta: 20 enero 2005].

Dhillon, B. (2004) Should Doctors Wear Ties? Medical Monthly [en línea], 3 (1), 55-88. Disponible en <https://goo.gl/pHzUxJ>[consulta: 20 abril 2006].

b. Libros completos:

Un Autor:
Holt, DH 1997, Management principles and practices, Prentice Hall, Sydney.

Dos Autores:
McCarthy, EJ, William, DP & Pascale, GQ 1997, Basic marketing, Irwin, Sydney.

Tres o más autores:
Bond, WR, Smith, JT, Brown, KL & George, M 1996, Management of small firms, McGraw-Hill, Sydney.

c. Medios electrónicos:

Reed, S 2015, 'Shift to lower-carbon energy is too slow, report warns', New York Times, 9 November. Available from: https://goo.gl/iczP53. [10 November 2015].

Es prescriptivo que todas las citas que cuenten con DOI (Digital Object Identifier System) estén reflejadas en las Referencias (pueden obtenerse en http://goo.gl/gfruh1). Todas las revistas y libros que no tengan DOI deben aparecer con su link (en su versión online, en caso de que la tengan, acortada, mediante Google Shortener: http://goo.gl

Los artículos de revistas deben ser expuestos en idioma inglés, a excepción de aquellos que se encuentren en su idioma de origen, caso en el que se expondrá en ambos idiomas utilizando corchetes. Todas las direcciones web que se presenten tienen que ser acortadas en el manuscrito, a excepción de los DOI que deben ir en el formato indicado (https://doi.org/XXX).

3.3 Epígrafes

Los epígrafes del cuerpo del artículo se numerarán en arábigo. Irán sin caja completa de mayúsculas, ni subrayados, ni negritas. La numeración ha de ser como máximo de tres niveles: 1. / 1.1. / 1.1.1.

Al final de cada epígrafe numerado se establecerá un espacio.

4 Proceso de envío

Deben remitirse a través del sistema OJS previo registro en la dirección <http://revistas.ups.edu.ec/index.php/granja/user/register>de la revista, los siguientes archivos:

Archivo N°1: Cover Letter, Cesión de derechos y declaración de conflictos de interés:
Descargue el modelo "cover letter".

Archivo N°2: Presentación-portada:
Este archivo (Word o Latex), contendrá tres apartados claramente identificables:

a) Título en español e inglés, nombres y apellidos de los autores de forma estandarizada con número de ORCID, filiación y grado académico.

b) Resumen, abstract, palabras claves y keywords.

c) Una declaración de que el manuscrito se trata de una aportación original, no enviada ni en proceso de evaluación en otra revista, confirmación de las autorías firmantes, aceptación (si procede) de cambios formales en el manuscrito conforme a las normas y cesión parcial de derechos a la editorial (descargar "presentación-portada").

Archivo N°3: Manuscrito totalmente anonimizado, conforme a las normas referidas en precedencia.

Archivo N°4: El autor de correspondencia deberá presentar una lista de 5 potenciales revisores del ar-

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

tículo que cumplan los siguientes criterios (descargar modelo "evaluadores sugeridos"):

- No ser del mismo país del autor de correspondencia. Por ejemplo, si el autor de correspondencia trabaja en Brasil, el revisor propuesto NO puede estar vinculado a instituciones del mismo país del autor de correspondencia, es decir, "Brasil").

El formato de este archivo podrá realizarse en cualquier procesador de texto Word / LateX y se deberá aportar de cada potencial revisor la siguiente información:

- Nombres y Apellidos
- Filiación
- Grado académico
- Correo electrónico
- Código Orcid correspondiente

Indicar brevemente la pertinencia de dicho revisor para la evaluación del manuscrito

El no cumplimiento de algunas de los requisitos de la presente normativa
podrá ser causal de rechazo AUTOMATICO del manuscrito.
Tome el debido tiempo para completar de manera correcta el proceso de envío.

©2022, Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.

LA GRANJA:
REVISTA DE CIENCIAS DE LA VIDA

"Cerca del cielo"
Tercer Lugar del Concurso de Fotografía por el
20 Aniversario de La Granja.
Jorge Luis Solorzano Párraga (2022)

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA DEL ECUADOR
Juan Cárdenas Tapia, sdb
Rector

©Universidad Politécnica Salesiana
Turuhuayco 3-69 y Calle Vieja, Cuenca, Ecuador
Teléfono: (+593 7) 205 00 00 Fax: (+593 7) 408 89 58 Casilla postal 2074
Correo electrónico: srector@ups.edu.ec
Web: www.ups.edu.ec