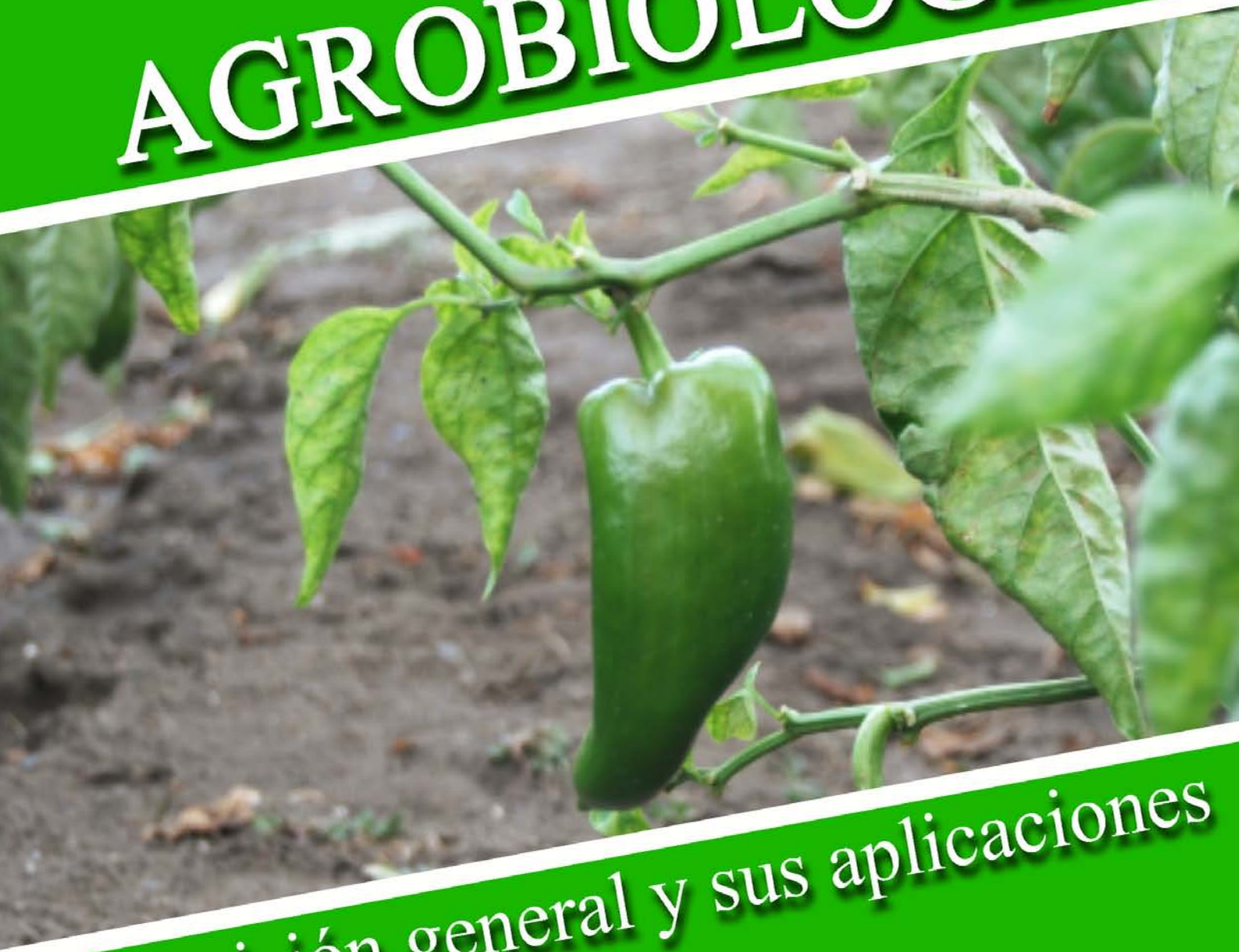


AGROBIOLOGÍA



Una visión general y sus aplicaciones

2020

Luis Guillermo Ramírez Mérida

AGROBIOLOGÍA

Una visión general y sus aplicaciones

Luis Guillermo Ramírez Mérida (Ed.)

Canoas

2020



Agrobiología
Una visión general y sus aplicaciones
© 2020 Mérida Publishers
<https://doi.org/10.4322/mp.2020.001>

Editor

Luis Guillermo Ramírez Mérida

Adaptação da capa e desenho gráfico

Reynaldo Miquel

Foto da capa

<https://unsplash.com>

Desi Min



Canoas - RS - Brasil

contact@meridapublishers.com

www.meridapublishers.com

Todos os direitos autorais pertencem a Mérida Publishers. A reprodução total o parcial dos trabalhos publicados, é permitida desde que sejam atribuídos créditos aos autores.



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

A281 Agrobiología [recurso eletrônico] : una visión general y sus aplicaciones / Organizador Luis Guillermo Ramírez-Mérida. – Canoas, RS: Mérida Publishers, 2020.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acceso: World Wide Web.

Inclui bibliografía

ISBN 978-65-991393-0-7

1. Agronomia – Pesquisa – Brasil. 2. Alimentos.
3. Sustentabilidade. I. Ramírez-Mérida, Luis Guillermo.

CDD 630

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

Presentación

La agrobiología se presenta como una ciencia multidisciplinaria que persigue desarrollar procedimientos que conduzcan a optimizar procesos que reproduzcan bienes y servicios, a fin de proporcionar mejoras al medio ambiente y a la sociedad. El manejo, procesamiento, y distribución de agua, representa una ventaja económica y de sostenibilidad ambiental lo que permite mantener ambientes hídricos más depurados, reciclados y eficientes. Además, para la nutrición y crecimiento de las plantas, un buen sistema y manejo de riego, junto con condiciones del suelo, fertilizantes biológicos y control de plagas aumentan los rendimientos en los cultivos. Por otro lado, la agrobiología se preocupa por mantener la salud y el bienestar nutricional. Partiendo de esto, el control de patógenos en alimentos y la producción de alimentos o suplementos alimenticios con alta propiedad nutricional y nutracéutica, son fundamentales para garantizar seguridad y calidad alimentaria en la población humana y animal. De esta forma, la agrobiología proporciona ventajas para el ambiente y la industria beneficiando la calidad de vida en el planeta. Este libro persigue mostrar fundamentos teóricos y prácticos, en base a experiencias vividas por académicos y profesionales que se desarrollan en esta área de estudio, proporcionando al lector fundamentos, herramientas, así como acciones reales y actuales de elementos que muestren aspectos agrobiológicos para la resolución de problemas.

Prof. Dr. Luis Guillermo Ramírez Mérida

Centro de Biotecnología Aplicada
Departamento de Biología
Universidad de Carabobo
Valencia, Venezuela

Índice

CAPÍTULO INTRODUCTORIO	6
Agrobiología, aspectos y generalidades	
Luis Guillermo Ramírez Mérida	
CAPÍTULO 1	10
Manejo de riego en el cultivo de pimentón <i>Capsicum annuum</i> L.	
Richard Alberto Rodríguez Padrón	
CAPÍTULO 2	30
Microalgas para el manejo de aguas residuales, actualidad y perspectivas	
Luis Guillermo Ramírez Mérida	
CAPÍTULO 3	45
Efecto de <i>Trichoderma</i> spp. sobre el desarrollo de plántulas de <i>Capsicum annuum</i> L. (pimentón) y el biocontrol del hongo fitopatógeno <i>Sclerotium</i> sp.	
Elisa Peña-Tovar y Domenico Pavone-Maniscalco	
CAPÍTULO 4.....	56
Principales bacterias transmitidas por alimentos, preservación y control	
Luis Daniel Martínez Angulo	
CAPÍTULO 5	78
Características nutraceuticas, herramientas de cultivo y estudio genotóxico de <i>Spirulina</i>	
Andressa Ribas Barreto y Maria Angélica Oliveira Linton	

CAPÍTULO INTRODUCTORIO

Agrobiología, aspectos y generalidades

Luis Guillermo Ramírez Mérida

<http://dx.doi.org/10.4322/mp.2020.001.00>

1. Introducción

La agrobiología como ciencia aparece por la necesidad de un grupo multidisciplinario de profesionales que persigue crear mejoras en los sistemas agroindustriales haciendo los procesos y procedimientos más sustentables con el planeta de manera de preservar el ecosistema y proporcionar productos alimenticios saludables, de mayor calidad nutritiva, sin la presencia de sustancias de síntesis química, así como bienes y servicios que lleven mayores beneficios para el consumidor garantizando una mejor calidad de vida y optimizando los recursos naturales.

La sociedad actual atraviesa por varios desafíos y problemas que se deben resolver como la sobrepoblación humana, contaminación de efluentes, aire, suelos y alimentos, calentamiento global, escasez de alimentos, agotamiento de recursos naturales, entre otros, lo cual ponen en peligro la integridad del planeta y los seres vivos que la conforman. Los avances científicos y tecnológicos, así como la formación y capacitación de profesionales en todos los niveles que aplique la agrobiología, pueden dar respuesta a estos escenarios. La agrobiología representa un sistema global de gestión de la producción, donde la actividad y diversidad biológica debe prevalecer marcando un ambiente con agrosistemas saludables, por lo que, la integración de procesos biológicos, físicos, mecánicos y agronómicos son fundamentales a fin de mantener un sistema de producción agrícola integral y sostenible que está ganando importancia en todo el mundo [1].

Para que un proceso agrobiológico a nivel de cultivo tenga éxito, deben tomarse en consideración varios aspectos como acondicionamiento de la tierra, abono y fertilizantes, condiciones de cultivo, rotación, manejo de plagas y sistema de riego [2-4]. Ya a nivel de procesos, metodologías adecuadas para tratamiento de aguas residuales, disminución de gases de efecto invernadero, seguridad alimentaria, entre otros, son de impacto e importancia Figura 1.

El mantener una diversidad biológica en diferentes niveles proporcionará estabilidad, resistencia y sostenibilidad del cultivo. La diversidad de las plantas puede aumentar el ciclo del nitrógeno y disminuir las plagas transmitidas por el suelo, que son mecanismos de retroalimentación que influyen en el crecimiento posterior de la planta. La rotación de cultivos promueve aspectos como aumento de la cantidad de biomasa, mejora la calidad de la concentración de nitrógeno mineral del suelo, de la materia orgánica y reduce la abundancia de nematodos que se alimentan de las plantas. Al comprender la retroalimentación planta-suelo, los efectos heredados de especies de plantas y rotación de especies se pueden emplear para el manejo sostenible de los agroecosistemas. La concentración de biomasa y nitrógeno de las plantas devueltas al suelo estimula la posterior productividad de la planta [5].

La mezcla de compuestos para elaborar abono y fertilizantes ha sido utilizada en el manejo de agroecosistemas mejorando la productividad y sostenibilidad de los mismos. Fertilizantes orgánicos elaborados con compuestos orgánicos e inorgánicos utilizando estiércol de cerdo reduce el uso de fertilizante químico mejorando la disponibilidad de nutrientes del suelo, la biomasa microbiana, las actividades enzimáticas y los procesos de nitrógeno del suelo y, en cierta medida, promueve los rendimientos de los cultivos [6]. Las lombrices de tierra son organismos autóctonos del suelo que pueden utilizarse como metodología para el acondicionamiento de la tierra de cultivo ya que descomponen compuestos que serán aprovechados por las plantas, en su movimiento elaboran canales que dan aeración y facilita el movimiento tanto de nutrientes como la infiltración de agua, interactúan con microorganismos ayudando en el control de plagas, esto gracias a la producción de enzimas extracelulares producidas en gran parte por hongos que actúan como controladores [7,8].

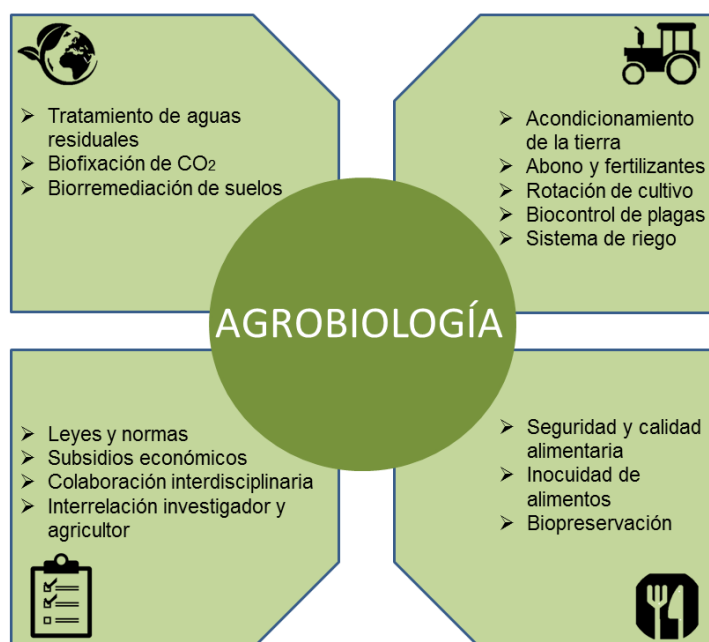


Figura 1. Sistemas de integración que conforman la agrobiología.

Grandes esfuerzos se realizan para reducir las emisiones de CO₂, como gas de efecto invernadero, mediante procesos biológicos. Las microalgas y el diseño de fotobiorreactores han demostrado ser tecnologías eficientes y económicas que además de ofrecer seguridad ambiental, generan productos de valor agregado [9]. Por otro lado, el aprovechamiento de desechos industriales o urbanos para generar procesos con productos de valor agregado, ha llamado la atención de industriales e investigadores. El uso de microorganismos en el tratamiento de aguas residuales ha marcado una pauta en las últimas décadas [10]. Los microorganismos fotosintéticos ofrecen un tratamiento alternativo para remover nutrientes, metales pesados, nitrógeno, fósforo y compuestos químicos [11]. En estos procesos, la biomasa colectada puede utilizarse como producto de interés industrial, al ser rica en proteínas, carbohidratos, lípidos, vitaminas y biomoléculas funcionales, por lo que se convierte en un producto o suplemento alimenticio con alta calidad nutricional y con potencial de mercado [12].

De forma general, la productividad de los cultivos se centra en el papel biológico que lleva beneficios para el crecimiento de los cultivos, el aumento de la absorción y la movilización de nutrientes, la defensa contra los fitopatógenos, así como la

biorremediación mediada por microorganismos o consorcios microbianos que conduce a la seguridad alimentaria, de manera de contribuir al bienestar de los agricultores y consumidores. Nuevas regulaciones y subsidios son fundamentales para seguir avanzando en procesos agrobiológicos, aunque una mayor cooperación, entendimiento y colaboración entre investigadores y productores conducirá a resultados más concretos y rentables. Este libro busca aportar información teórica y experimental que proporcione al lector fundamentos, herramientas, así como acciones reales y actuales de elementos que muestren aspectos agrobiológicos para la resolución de problemas.

2. Referencias

- [1] Santos J., Tavares M., Vasconcelos M., Afonso T. O processo de inovação tecnológica na Embrapa e na Embrapa Agrobiologia: desafios e perspectivas. Perspectivas em Ciência da Informação 2012; 17(4):175-194. <https://doi.org/10.1590/S1413-99362012000400011>.
- [2] Herrera W., Valbuena O., Pavone-Maniscalco D. Formulation of *Trichoderma asperellum* TV190 for biological control of *Rhizoctonia solani* on corn seedlings. Egypt J Biol Pest Control 30, 44 (2020). <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00246-9>.
- [3] Chamorro L., Baldivieso-Freitas P., Blanco-Moreno J., Armengot L., Sans F. Efecto del laboreo mínimo (chisel), la fertilización y los abonos verdes sobre la flora arvense y los rendimientos en una rotación de cultivos de cereales y leguminosas ecológicos. In: XVI Congreso de la Sociedad Española de Malherbología; 25-27 octubre, 2017; Pamplona. Actas: Universidad Pública de Navarra; 2017. (1). p. 125-130.
- [4] Rodríguez R., Lopes S., Sánchez-Girón S. Estimation of the optimal plot size and number of replications in a field pepper crop experiment with varying irrigation depths and application frequencies. Scientia Horticulturae 2018; 237:96-104. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.03.052>.
- [5] Barel J.M., Kuyper T.W., de Boer W., Douma J.C., De Deyn G. B. Data from: Legacy effects of diversity in space and time driven by winter cover crop biomass and nitrogen concentration. Dryad Digital Repository 2018; 55:299–310. <https://doi.org/10.5061/dryad.sp21b>.
- [6] Zhao J., Ni T., Li J., Lu Q., Fang Z., Huang Q., Zhang R., Li R., Shen B., Shen Q. Effects of organic–inorganic compound fertilizer with reduced chemical fertilizer application on crop yields, soil biological activity and bacterial community structure in a rice–wheat cropping system. Applied Soil Ecology 2016; 99:1-12. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.11.006>.
- [7] Steffen G., Antonioli Z., Steffen R., Jacques R. Importância ecológica e ambiental das minhocas. Revista de Ciencias Agrarias 2013; 36(2):137-147.
- [8] Chae Y., Kim D., An Y.J. Effects of fluorine on crops, soil exoenzyme activities, and earthworms in terrestrial ecosystems. Ecotoxicology and Environmental Safety 2018; 151:21-27. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.12.060>.
- [9] Ramírez-Mérida L.G., Zepka L.Q., Jacob-Lopes E. Current Status, Future Developments and Recent Patents on Photobioreactor Technology. Recent Patents Engineering 2015; 9(2):80-90. <https://doi.org/10.2174/1872212109666150206235316>.

[10] Madakka M., Jayaraju N., Rajesh N., Ramanna M., Subhosh G. Chandra Development in the Treatment of Municipal and Industrial Wastewater by Microorganism. Recent Developments in Applied Microbiology and Biochemistry 2019; 263-273. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816328-3.00020-9>.

[11] Wang Y., Ho S., Cheng C., Guo W., Nagarajan D., Ren N., Lee D., Chang J. Perspectives on the feasibility of using microalgae for industrial wastewater treatment. Bioresource Technology 2016; 222:485-497. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.09.106>.

[12] Ramírez-Mérida L.G., Zepka L.Q., Jacob-Lopes E. Current production of microalgae at industrial scale. In: Pires J.C.M. (ed) Microalgae as a Source of Bioenergy: Products, Processes and Economics. Bentham Science Publishers; 2017, p 278-296. Sharjah, U.A.E. <http://dx.doi.org/10.2174/9781681085227117010013>.

Autor

Luis Guillermo Ramírez Mérida*

Centro de Biotecnología Aplicada, Departamento de Biología, Universidad de Carabobo, Campus Bárbula. Naguanagua. Código postal 2005. Carabobo, Venezuela.

* Autor de correspondencia: lgramire@uc.edu.ve / luisguillermolgrm@gmail.com

CAPÍTULO 1

Manejo de riego en el cultivo de pimentón *Capsicum annuum* L.

Richard Alberto Rodríguez Padrón

<http://dx.doi.org/10.4322/mp.2020.001.01>

Resumen

La gestión eficaz de los recursos hídricos es la clave para la sostenibilidad y rentabilidad de los cultivos. Este capítulo tiene como objetivo la revisión bibliográfica de estrategias experimentales empleadas para el uso eficiente de agua en el cultivo de pimentón, plantado bajo malla sombra y en campo. Se presentan resultados de dos ensayos en diferentes localidades, empleando la misma estrategia de riego deficitario. El cultivo del pimentón mostró un mayor rendimiento cultivado en campo abierto en comparación con el de 50% de sombra. Comparando las variables evaluadas, 50% del sombreado resultó en valores más bajos de tasa de crecimiento del diámetro del tallo, el índice de clorofila y el número de frutos por planta. Por otro lado, resultó en valores más altos, en la tasa de crecimiento de la planta y el índice del área foliar, mostrando frutos con mayor longitud y diámetro. En campo abierto los parámetros morfológicos mostraron valores más bajos de tasa de crecimiento de la planta; índice de área foliar y materia seca en plantas. Asimismo, resultó en valores más altos de diámetro del tallo e índice de clorofila. En cuanto a los parámetros del fruto resultaron de mayor número de frutos por planta, con frutos de menor longitud y diámetro. El manejo del riego diario aumentó el uso eficiente del agua. Las láminas de riego que mostraron mayor rendimiento fueron con frecuencia de riego diario con láminas de 60% ETc y frecuencia de riego interdiaria con láminas de 80% ETc.

Palabras clave: *Capsicum annuum* L., riego deficitario, riego por goteo, malla sombra.

1. Introducción

El pimentón (*Capsicum annuum* L.) es miembro de la familia de las solanáceas y son nativas de México, Centroamérica y norte de América del Sur [1, 2]. Es un cultivo importante en muchas partes del mundo por su importancia económica, ocupando el segundo lugar en la producción mundial. Los principales países productores son China, México, Turquía, Indonesia, España y Estados Unidos.

La falta generalizada de agua para la producción agrícola ha llevado frecuentemente a la necesidad de crear estrategias destinadas a optimizar la eficiencia de su uso [3]. La estrategia para asegurar el suministro de alimentos a la población mundial en los próximos 25 años, incluye inevitablemente el aumento paralelo de la producción agrícola. Y gran parte de este esfuerzo lo representa el riego, por lo que el mayor reto es mejorar la eficiencia y el rendimiento de la agricultura, el agua y la energía de los campos de regadío existentes [4, 5].

La escasez de los recursos hídricos requiere la gestión y el uso adecuado para el control de la disponibilidad de agua, dado que el sector agrícola es de las actividades que demandan más agua debido a las exigencias de cada cultivo [6]. Por lo tanto, son

muy necesarias todas las técnicas para ahorrar el agua de riego y aumentar el rendimiento con la eficiencia del uso del agua.

La gestión eficaz de los recursos hídricos es la clave para la sostenibilidad y rentabilidad del cultivo, lo que fomenta el desarrollo de nuevas técnicas para el análisis y la gestión eficiente del agua. Este capítulo tiene como objetivo la revisión bibliográfica de estrategias experimentales empleadas para el uso eficiente de agua en el cultivo de pimentón, plantado bajo malla sombra y en campo abierto.

2. Cultivo de pimentón

El pimentón (*Capsicum annuum* L.) pertenece a la familia *Solanaceae* y el género *Capsicum* [7], es típicamente de origen estadounidense y se presenta en formas silvestres desde el sur de Estados Unidos hasta el norte de Chile [2, 8]. Según [2], los indígenas ya lo cultivaban y consumían siglos antes de la colonización española. Fue introducido en España en 1493, desde donde se expandió a lo largo del siglo XVI a otras naciones de Europa, Asia y África, convirtiéndose en un alimento muy apreciado. Hay registros de que el primer cultivar que llegó a Brasil pertenecía al grupo "Cascadura".

Inicialmente introducido en los municipios de Mogi das Cruzes y Suzano en el estado de São Paulo, este grupo produce el tipo de fruta preferida por la mayoría de los consumidores, con forma aproximadamente cónica, ligeramente alargada y de color verde oscuro [9].

La planta es arbustiva, sus raíces alcanzan hasta un metro de profundidad, con poco desarrollo lateral y el tallo semileñoso puede superar un metro de altura. Soporta una ligera carga de frutas y, por lo tanto, requiere tutorado, debido a la alta productividad de los híbridos actuales, cuyo promedio en campo es de 40 t a 60 t ha⁻¹, mientras que bajo cultivo protegido alcanza 180 t ha⁻¹. Es autógama, aunque la tasa de cruce puede ser alta, según la acción de los insectos polinizadores. Las flores son solitarias, hermafroditas y el pedicelo está pendiente o inclinado en la etapa de antesis. La corola es blanca, sin manchas en la parte basal de los lóbulos, que son erectos [10].

La clasificación de la fruta es de tipo baya, con pericarpio algo carnoso, que constituye la parte utilizable, y el epicarpio verde oscuro se tiñe de color cuando madura. Siempre es hueca, con semillas blancas, planas y reniformes, de 3 mm a 5 mm de largo, conectadas a un cordón que existe dentro del fruto [2, 11]. El cáliz no tiene constricción en la unión con el pedicelo y puede arrugarse principalmente en plantas con frutos anchos.

El pimentón se cultiva en regiones tropicales y templadas. La temperatura tiene influencia directa en algunas funciones vitales para las plantas, tales como: germinación, sudoración, respiración, crecimiento, florecimiento y fructificación. Para cada etapa de desarrollo, presenta un rango de temperatura óptimo [12]. La planta es termofílica, siendo el rango de temperatura ideal para su desarrollo entre 16°C y 28°C. Según [13], la temperatura ideal para la germinación es entre 25°C y 30°C, y para el desarrollo vegetativo entre 25°C y 27°C durante el día y entre 20°C y 21°C durante la noche.

Para cultivos protegidos, se recomiendan temperaturas nocturnas de 20°C y diurnas entre 27°C y 30°C [14, 15]. El ciclo de cultivo desde la siembra hasta el inicio de la cosecha de frutas verdes es de aproximadamente 110 días, siendo el período más largo el de la producción de frutas maduras de color rojo, amarillo u otro color. La

cosecha dura de 3 a 6 meses, dependiendo del estado fitosanitario y nutricional de las plantas [10].

El fotoperiodo no es limitante en el cultivo del pimentón, ya que la floración y fructificación se producen en cualquier momento del día [10]. Sin embargo, se puede decir que es una planta opcional de día corto, es decir, la floración, fructificación y maduración de la fruta son más tempranas en días cortos, lo que favorece la productividad. La combinación de baja humedad relativa y alta temperatura puede causar una transpiración excesiva de la planta y, por consiguiente, caída de los brotes, flores y formación de pequeños frutos [16].

La comercialización de frutas de pimentón dulce puede ocurrir de varias maneras: en forma de frutas frescas, frutas deshidratadas, conservas, hojuelas o en polvo. El pimentón se obtiene al deshidratar o moler los frutos rojos, y se usa principalmente como colorante natural en la industria de procesamiento de alimentos y como ingrediente en conservas y embutidos [17].

La calidad de las frutas y hortalizas se caracteriza en función de atributos como la apariencia, sabor, textura y valor nutricional [18]. Esta caracterización, según [19], es importante, y deben observarse las variables necesarias para mejorar la comercialización en los mercados nacionales y extranjeros, así como para el desarrollo de técnicas de almacenamiento y manipulación post cosecha. Por lo que es de fundamental importancia evaluar el efecto de las prácticas de gestión en la productividad, la calidad química y física del producto, así como la longevidad durante el proceso de comercialización.

Debido a los cambios requeridos por el mercado y demandas de los consumidores, la mejora de este vegetal ha priorizado no solo la productividad, sino también la calidad del producto. En consecuencia, los objetivos principales han sido obtener frutos uniformes y de alta calidad, pulpa gruesa, plantas tempranas y resistentes a patógenos y plagas. Asimismo, el uso de híbridos se ha utilizado cada vez más gracias a sus ventajas, como una mayor resistencia a plagas y enfermedades, mayor uniformidad, vigor de la planta, homeostasis, maduración temprana, mayor calidad, rendimiento y patente natural, que garantizan el retorno de la inversión [20].

3. Necesidades hídricas

En general, puede decirse que la planta de pimentón tiene una necesidad uniforme de agua durante todo su ciclo. Es sensible tanto al exceso de raíz como a la falta de agua. La deficiencia de agua, entre otros factores, hace que las flores se caigan. El riego excesivo puede conducir a la asfixia de la raíz, lo que causa la pudrición de la raíz y el pie. Pero por otro lado, las irregularidades en el suministro de agua pueden favorecer a la aparición de necrosis apicales. En conclusión, el riego debe mantener el suelo húmedo, pero sin exceso [10, 21].

El riego realizado por aspersión, goteo o en surcos, se aplica para mantener el suelo cerca de las raíces con 80% o más de agua útil. Este alto contenido de agua debe mantenerse durante todo el ciclo del cultivo, especialmente durante la fructificación y cosecha. Sin embargo, se debe asegurar el drenaje de las tierras de cultivo, evitando el exceso de agua en el suelo, lo que, entre otros daños, como ya se señaló, causa la pudrición de la raíz. Se observa que los cultivares híbridos, que tienen un mayor potencial productivo, son más exigentes, tanto en fertilización como en disponibilidad de agua [2].

El sistema de riego por goteo es muy eficiente para regar pimentón, ya que ofrece numerosas ventajas, tales como: ahorro de agua; energía y mano de obra; mayor uniformidad de aplicación de agua; aplicación en cualquier tipo de suelo y topografía; menor gravedad de las enfermedades de la parte aérea; facilidad de fertirrigación; automatización, y mayor productividad. El riego por goteo puede y debe realizarse a alta frecuencia, ya que es un sistema fijo, que solo riega parte del suelo y minimiza la aparición de la mayoría de las enfermedades aéreas [22].

Según [23], evaluaron el crecimiento y productividad del cultivo de pimentón bajo la influencia de láminas de riego y dosis de potasio. Las variables de crecimiento y rendimiento fueron influenciadas por estas condiciones (láminas de riego y dosis de potasio). Cuando se fijó la dosis más baja, en el caso de la estimación del mayor número de frutas por planta; el peso promedio de la fruta, así como la productividad, se produjo con el uso de las láminas de riego de máxima eficiencia equivalente, un 96%, 102% y 120% de la evapotranspiración del cultivo (ETc), respectivamente.

En el cultivo de pimentón, [24] caracterizaron y relacionaron la radiación líquida con el calor latente equivalente, en milímetro de agua, en cultivos protegidos y de campo. El cultivo protegido, a pesar de recibir menos cantidad de radiación solar global, fue más eficiente al convertir la radiación líquida disponible en materia seca total y productividad de la fruta. También presentó menor cantidad de radiación líquida disponible y menos pérdidas de energía, demostrando ser más eficiente en el uso del agua.

Magalhães y Castro [25] observaron la evapotranspiración media máxima (ETm) en pimentón de campo de 524,22 mm. También, [22] indicaron necesidades de agua entre 450 mm y 650 mm, dependiendo esencialmente del ciclo adoptado y los sistemas de riego. [26] declararon que la necesidad de agua con pimentón en campo es del orden de 600 mm a 900 mm, y [27] encontraron 414,40 mm de evapotranspiración.

4. Manejo y disponibilidad del agua

El agua es uno de los recursos naturales más importantes para la agricultura, pero su disponibilidad está disminuyendo debido al aumento de la población en todo el mundo. El manejo efectivo de este recurso se considera de mucha importancia y el uso eficiente del agua de riego es la clave para la sostenibilidad y la rentabilidad de los cultivos. El alto consumo de agua en las regiones donde el agua es limitada, fomenta el desarrollo de nuevas técnicas para analizar y administrar eficientemente este recurso. El manejo adecuado y la calidad del agua de riego son fundamentales para obtener una alta productividad, calidad, reducción de costos y un uso racional del agua [28].

Se estima que el área bajo riego del mundo ocupa alrededor de 17% de todas las tierras cultivables y representa la producción de más de 40% de todos los alimentos consumidos. El área de riego en todo el mundo es equivalente a casi 2,5 veces la producción de alimentos de las zonas de secano [29].

Existe la tendencia natural a aumentar el uso del agua en el futuro, ya sea por el crecimiento de la población, que se traduce en una mayor necesidad de alimentos, o la disponibilidad de tierras aptas para su uso en la agricultura de riego, estimada en 470 millones de hectáreas. Por lo tanto, surge la expectativa de un aumento en la demanda de agua en el futuro cercano, pero no se pronostica un aumento del agua dulce en el planeta. Por el contrario, la deforestación y el uso inadecuado del suelo

han mantenido una alta escorrentía superficial con baja reposición continua de manantiales y fuentes de agua [30].

Como resultado del impacto del cambio climático para los agricultores, será más difícil predecir el suministro de agua y las sequías e inundaciones serán más frecuentes. Sin embargo, estos impactos variarán ampliamente de un lugar a otro. Los científicos predicen que las altas temperaturas beneficiarán a la agricultura en las latitudes del norte, mientras que en la mayoría de las regiones tropicales áridas y semiáridas se afrontará la disminución de las lluvias y la escorrentía. La tendencia adversa para los países de estas regiones es que experimentarán más inseguridad alimentaria [29]. Las áreas donde se espera que se reduzcan las lluvias tendrán que aumentar el almacenamiento y mejorar la gestión del agua. Los grandes sistemas de riego tienen que adaptarse a los cambios que ocurrirán en los sistemas de suministro de agua y apoyar medidas de control de agua a pequeña escala.

Hay cinco intervenciones políticas fundamentales:

1. Incluir medidas de adaptación y mitigación para la gestión del agua para la agricultura en los planes nacionales de desarrollo.
2. Promover medidas técnicas y de gestión para aumentar la flexibilidad de la agricultura de secano y riego, así como reducir la pérdida de agua en los sistemas de producción bajo riego.
3. Mejorar el conocimiento sobre el cambio climático y el agua, y difundir las buenas prácticas entre países y regiones.
4. Promover políticas nacionales para la gestión de riesgos a través de mejores redes para monitorizar y garantizar productos innovadores.
5. Movilizar fondos de adaptación para abordar los desafíos de la seguridad hídrica y alimentaria causados por el cambio climático.

La agricultura de secano, que comprende 96% del total de la tierra agrícola en África subsahariana, 87% en América del Sur y 61% en Asia, será la más afectada. En áreas marginales semiáridas, con estaciones secas prolongadas, habrá un mayor riesgo de fracaso de los cultivos sin garantizar la estabilidad de la producción, lo que originará la migración de las personas. En 2080, el área no apta para la agricultura de secano en el África subsahariana debido a las condiciones climáticas y a las limitaciones de suelo y tierra, puede aumentar de 30 a 60 millones de hectáreas [29]. Según [31], la gestión del riego es importante no solo para satisfacer las necesidades de agua de los cultivos, sino también para minimizar los problemas de enfermedades, la lixiviación de nutrientes y el gasto en agua y consumo de energía.

5. Malla sombra

Las mallas sombra se usan cada vez más, lo que reduce la incidencia directa de la luz solar en especies que necesitan menos flujo de energía radiante [32]. Rylski y Spigelman [33] comentan que es una alternativa relativamente económica, que protege a las plantas de la alta radiación solar directa y, en consecuencia, reduce la cantidad de frutas que se dañan por las quemaduras solares. Gruda [34] obtuvo plantas más vigorosas con frutos de mejor calidad y mayor rendimiento, en comparación con la producción en campo abierto. Setubal y Silva [35] señalan que la lechuga, procedente de regiones de clima templado, cuando se cultiva en condiciones de alta temperatura y luz, deja de manifestar todo su potencial genético, con reducción en el ciclo y anticipación de la fase reproductiva.

La temperatura afecta las funciones vitales de las plantas, como la germinación, transpiración, respiración, fotosíntesis, crecimiento y floración [36]. Es así que la

siembra en ambiente protegido puede ser utilizada para reducir los efectos de la temperatura sobre la planta [27]. Y es que en la agricultura se ha incrementado el uso de malla sombra para atenuar el flujo de radiación solar [37]. El exceso de radiación, generalmente acompañado por altas temperaturas, puede causar daños, como el aborto de flores, la reducción de los rendimientos e incidencia de desórdenes fisiológicos frutales, como pudrición apical y quemaduras de sol, que causan una pérdida significativa [38, 39]. Asimismo, la malla sombra reduce las necesidades de agua y aumenta el uso eficiente del agua de riego [40].

Debido a los factores característicos de las regiones tropicales, como la alta luminosidad y altas temperaturas, existe un uso cada vez mayor de malla sombra [41, 42]. La malla sombra reduce la incidencia directa de la luz solar, favorable a las especies que necesitan menor flujo de energía radiante, lo que reduce la temperatura. Esta menor incidencia de energía solar puede contribuir a disminuir los efectos extremos de la radiación, principalmente la fotorrespiración, y proporcionar mejores condiciones ambientales, aumentando la productividad y calidad de las hojas para el consumo de lechuga [43].

Whatley y Whatley [44] encontraron que las plantas que se mantienen a la sombra tienden a ser más altas y tienen un área foliar más grande que las que crecen a plena luz del sol, ya que la luz brillante favorece el desarrollo de células largas, mientras que las que crecen en ambientes cubiertos muestran mayor formación de parénquima lacustre, confirmando lo que observaron [45], al afirmar que las plantas que crecen en ambiente cubierto tienen mayor masa foliar que las que crecen a plena luz del sol.

6. Resultados

6.1. Experiencia I. Riego deficitario controlado. Caso de estudio Mérida, Venezuela

La investigación se realizó durante el periodo entre agosto de 2008 y enero de 2009, en el área experimental del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP-ULA), ubicada en San Juan de Lagunillas, municipio Sucre del Estado Mérida, Venezuela. Localizada en las coordenadas geográficas latitud 8.506985° y longitud -71.353014°, altitud 1.100 msnm. El clima de la región es seco y cálido, la temperatura promedio anual es de 22°C, máxima de 27°C y mínima de 17°C. La precipitación promedio anual registrada es de 500 mm. El suelo está clasificado como Cambortid Típico y tiene una profundidad efectiva de 21 cm [46].

Esta investigación se basó en una estrategia de riego deficitario controlado, con aplicación de láminas de riego (100%, 80% y 60% ETc) y frecuencias de riego (diaria e interdiaria), obteniéndose los siguientes resultados: comparando las frecuencias de riego establecidas, se muestran diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$), siendo el riego diario el de mayor rendimiento, con 4,8 kg m⁻² y 12 frutos por planta, incrementando el rendimiento en 11,25%, lo que demuestra la importancia de la aplicación del riego diario. La frecuencia de riego interdiaria mostró un rendimiento de 4,26 kg m⁻² y 10 frutos por planta. Lo que coincide por lo reportado por [47], al hacer mención de que el factor más importante que afecta al crecimiento y rendimiento del pimentón es la cantidad de agua de riego aplicada durante el período de desarrollo.

El rendimiento, número y peso de los frutos del cultivo de pimentón, se muestra en la (Tabla 1). La frecuencia de riego diaria no mostró diferencias estadísticamente significativas. El mayor rendimiento fue 5,03 de kg m⁻², 12 frutos por planta y el uso eficiente del agua de 12,01 kg m⁻³, con láminas de 100 % ETc. La frecuencia de riego interdiaria mostró diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$), logrando un rendimiento de 4,63 kg m⁻², con láminas de 80 % ETc y el uso de eficiente del agua de

12,93 kg m⁻³. El menor rendimiento fue de 3,90 kg m⁻², con láminas de 60 % ETc, disminuyendo 12,61%. Sezen et al. [48] obtuvieron los valores más altos de rendimiento: 3,5298 kg m⁻² y el uso de eficiente del agua de riego de 5,7 kg m⁻³, mediante la aplicación de riego de 570,4 mm para toda la temporada, con intervalos de 3 a 6 días.

ETc (%)	Rendimiento (kg m ⁻²)	Número de fruto (planta)	Peso de fruto (gr)
Frecuencia de riego diaria			
100	5,03 a	12 a	169,63 a
80	4,67 a	11 a	168,23 a
60	4,71 a	11 a	164,71 a
CV%	7,92	7,06	2,38
Sign.	ns	ns	ns
Frecuencia de riego interdiaria			
100	4,24 ab	11 a	168,42 a
80	4,63 a	11 a	166,50 a
60	3,90 b	10 a	163,83 a
CV%	5,87	6,55	2,80
Sign.	p≤0.05	ns	ns

Tabla 1. Rendimiento, número y peso de fruto en el cultivo de pimentón con frecuencia de riego (diario y cada dos días) y láminas de riego (100%, 80%, 60% ETc).

Medidas seguidas con la misma letra no presentan diferencia estadísticamente significativa entre sí por el Test de Tukey (p≤0.05).

Asimismo, en el tratamiento del déficit de agua aplicado, 367,3 mm redujo el rendimiento a 2,6730 kg m⁻² y el uso eficiente del agua de riego fue de 7,4 kg m⁻³. Dagdelen et al. [49] informaron que los períodos de formación de flores y frutas son de vital importancia para la producción del pimentón, y la falta de riego durante esas etapas presenta una reducción del rendimiento de 30% (2,2620 kg m⁻²) y 28% (2,1870 kg m⁻²) en relación con el riego continuo.

Igualmente Murat et al. [47], con intervalo de riego de 7 días y láminas de riego de 100% ETc, obtuvo un rendimiento de 2,77 kg m⁻², con el uso eficiente del agua de 7,5 kg m⁻³, aparte de que al tratamiento que aplicó 120 % ETc, también empleó láminas de déficit de agua de 50%, lo que tuvo un efecto negativo en el rendimiento y los parámetros de calidad de los frutos. Boicet et al. [50] sugieren la conveniencia de mantener niveles de humedad en el suelo no menor a 85% de la capacidad de campo en áreas plantadas de pimentón, obteniendo resultados productivos promedio de 1.497 kg m⁻² y el uso eficiente del agua de 3,41 a 5,09 kg m⁻³. También menciona que en la fase de maduración y cosecha se puede reducir hasta 12% la evapotranspiración total. En general, se acepta que el déficit de agua reduce el rendimiento en pimentón [48, 51, 52].

En la zona de estudio se efectuó un ensayo de riego deficitario en el cultivo de tomate, lo que mostró una producción de 6.271 kg m⁻² y 5.316 kg m⁻², con láminas de riego aplicadas en 80 % ETc y frecuencia de riego diaria [53]. Es evidente que los resultados con intervalo de riego menos frecuentes afectan a la producción, por lo que no es un riego adecuado como estrategia para el cultivo de pimentón. Por lo tanto, la aplicación de riego con intervalos más frecuentes, proporciona un aumento de la producción y el uso eficiencia de agua para el riego.

El número de frutos no se afectó entre las láminas de riego aplicadas en la misma frecuencia, pero sí entre las frecuencias. Adeoye et al. [54] señalan que el intervalo de riego tiene efecto sobre el número de frutos por planta, obteniendo 11 frutos, registrados en intervalos de 3 días, y 5 frutos en intervalo de 9 días. Dorji et al. [55]

obtuvieron un número promedio de frutos por plantas de entre 6, 11 y 14, lo que está relacionado con la frecuencia y las láminas de agua aplicada. No obstante, Fernandez et al. [56] reportaron que el déficit de agua no afecta el número de frutos. El efecto de déficit de agua es mucho más importante cuando el rendimiento se expresa como peso de fruto fresco. En el cultivo de tomate, Mitchell et al. [57] propuso que un riego moderado puede mejorar significativamente la calidad del fruto, sin disminuir el rendimiento comercial. Orgaz et al. [58] encontraron que el déficit hídrico acelera la maduración de los cultivos indeterminados, como el algodón. El número de frutos de pimentón está estrechamente relacionado con la frecuencia y cantidad de agua aplicada.

El riego deficitario es una estrategia fácilmente aplicable, con respuesta satisfactoria, representando una alternativa de importancia ante la actual escasez de recursos hídricos en algunas regiones, lo que permite un ahorro de agua cercano a 40% sin reducciones significativas del rendimiento. Con frecuencia de riego diaria e interdiaria se puede reducir el consumo de agua hasta en 20% ETc. El cultivo de pimentón responde muy bien a la restricción de aplicación de láminas de agua, siempre y cuando sea constante, ya que un exceso o déficit perjudica a su rendimiento. El uso de tecnología, como el riego localizado en la modalidad de cinta de goteo y riego deficitario, no presenta ningún tipo de restricción en la zona en estudio, lo que evidencia que el riego localizado crea un ambiente adecuado para el desarrollo óptimo del cultivo, que potencia sus características genéticas.

El rendimiento del pimentón está estrechamente relacionado con la frecuencia de riego y la cantidad de agua aplicada. El riego deficitario proporciona una estrategia de aplicación de agua con menor volumen de agua, pero en intervalos cortos, lo que proporciona un ahorro de agua.

La altura de la planta y parámetros morfométricos de fruto del cultivo de pimentón se muestran en la (Tabla 2). La longitud y diámetro del fruto no tuvieron un efecto significativo, lo que se corresponde con [59], cuando determinaron que las variables longitud y diámetro del fruto no mostraron diferencias estadísticamente significativas. Furlan et al. [60] en investigación con pimentón en cultivo protegido, utilizaron las láminas de 60%, 80%, 100% y 120% de la evaporación del tanque clase A y observaron que el factor de las láminas no influyó en el diámetro del fruto, presentando valores promedio que varían entre 6,52 cm y 6,79 cm.

El contenido de materia seca en fruto fue mayor en las láminas de 60% ETc en ambas frecuencias, oscilando entre 7,23 gr y 8,19 gr. Pulupol et al. [61] comentan que el peso del fruto seco del tomate se vio afectado cuando se aplicó riego deficiente durante todo el ciclo del cultivo, y el agua ahorrada por este método de riego no compensó la reducción en los rendimientos cuando se aplicó durante la floración y maduración. El diámetro del tallo no fue influenciado significativamente por las frecuencias de riego y las láminas de riego. Santana et al. [62] evaluaron el efecto de diferentes tensiones de agua en el suelo (10, 30, 50 y 60 kPa) en pimentón y descubrieron que el diámetro del tallo de las plantas era mayor cuando el riego se realizaba con menos tensión de agua en el suelo y que estuvo significativamente influenciado por el estrés hídrico del suelo. La altura de la planta mostró interacción entre las frecuencias de riego ($p \leq 0.05$). Las plantas que mostraron mayor crecimiento fue en la frecuencia de riego diaria, con láminas de 60% ETc, seguida de la frecuencia cada dos días y láminas de 80% ETc, al considerar que el déficit de agua estimula el crecimiento de la planta. Adeoye et al. [54] concluyó que el intervalo de riego de tres días mostró mayor crecimiento en las plantas que el riego diario, obteniendo diferencia entre los parámetros de crecimiento (diámetro del tallo, altura de la planta y área foliar). Estas observaciones están conformes con [63-65].

Enríquez et al. [59] obtuvieron mejor respuesta a la altura de la planta mediante la aplicación de láminas de riego de 75% de la evaporación (EV), que alcanzó una altura máxima de 105 cm, y asimismo mencionaron que el tratamiento que aplicó el 100% EV, alcanzó 93 cm y el tratamiento de 50% EV alcanzó 96 cm. Lima et al. [66], al trabajar con pimentón, con láminas de riego (0,80 y 1,20 ETc), dos frecuencias (1 día y 2 días) y dos dosis de rastrojo de maíz (0 y 1000 kg/ha), concluyeron que el tratamiento con 80% de ETc, con cubierta y frecuencia de dos días, produjo plantas de mayor altura. Tales resultados son particularmente relevantes para áreas sujetas a déficit hídrico.

ETc (%)	Parámetros de fruto			Altura de planta (cm)	Diámetro tallo (mm)	de
	Longitud (mm)	Diámetro (mm)	Masa seca (g)			
Frecuencia de riego diaria						
100	81	78	7,23	72,44 ^{aB}	17,24	
80	80	77	7,49	74,75 ^{aB}	18,35	
60	82	78	8,14	91,56 ^{aA}	17,56	
CV	4,46	2,07	7,65	Interacción	6,35	
Sig.	Ns	ns	ns	p≤0,05	Ns	
Frecuencia de riego interdiaria						
100	80	77	7,99 a	74,66 ^{aB}	17,11	
80	81	75	7,49 b	90,78 ^{aA}	18,41	
60	78	77	8,19 a	78,38 ^{bAB}	17,15	
CV	1,90	3,05	1,52	12,46	6,52	
Sig.	Ns	ns	p≤0,05	p≤0,05	ns	

Tabla 2. Altura de la planta y parámetros morfométricos del fruto del cultivo de pimentón, con frecuencia de riego diaria e interdiaria y láminas de riego de (60%, 80% y 100% ETc). Medias seguidas con la misma letra no presentan diferencia estadísticamente significativa entre sí por el Test de Tukey (p≤0.05). ns: no significativo; CV: coeficiente de variación (%).

Según estos resultados, la frecuencia y las láminas de riego aplicadas tienen efectos sobre los parámetros de crecimiento. La frecuencia de riego diaria con láminas de 60% ETc y frecuencia de riego interdiaria con láminas de 80% ETc, puede considerarse como una estrategia eficaz para el manejo del agua en pimentón.

6.2. Experiencia II. Riego deficitario controlado. Caso de estudio Río Grande del Sur, Brasil

La investigación se realizó durante la primavera-verano en los periodos entre 2013-2014 y 2014-2015, en el área experimental del Colegio Politécnico de la Universidad Federal de Santa María, ubicada en las coordenadas geográficas latitud 29°41'25"S, longitud 53°48'42"O y altitud de 110 m, Santa María, Rio Grande do Sul, Brasil. El clima en la región es húmedo subtropical (Cfa). Según el Instituto Meteorológico Nacional (Inmet), el promedio anual de evaporación, temperatura y precipitación es de 800-1.200 mm, 18°-20°C y 1.450-1.650 mm, respectivamente. El suelo predominante en la región es Argissolos Amarelos Distrófico Típico, con textura franca [67].

Esta investigación se basó en estrategia de riego deficitario controlado, cultivado bajo malla sombra y en campo abierto, aplicando láminas de riego (0%, 25%, 50%, 75% y 100% ETc) y frecuencias de riego diario, obteniendo los siguientes resultados: la relación entre el rendimiento y láminas de riego bajo malla sombra y en campo, se muestra en la (Figura 1). El rendimiento en campo aumentó con 50% y 75% ETc. En la temporada 2013-2014, los valores oscilaron entre 13,8 t ha⁻¹ en 0% y 37,1 t ha⁻¹ en 75%. El tratamiento 0% mostró reducción en el rendimiento de 54,7% y el tratamiento

100% se redujo en 19,9% en relación con el rendimiento máximo, que fue de 75% ETc.

Kara y Yildirim [68] informaron resultados similares en *Capsicum annuum* L. cv. Carliston con diferentes niveles de riego (0,2; 0,5; 0,8; 1,0 y 1,2 ETc); los rendimientos fueron 18,78; 20,60; 21,57; 18,90 y 15,16 Mg ha⁻¹, respectivamente, con rendimiento máximo de 0,8 ETc. Padrón et al. [69] evaluaron la frecuencia de riego y láminas de riego, encontrando que el riego diario presentó mejor rendimiento del cultivo en comparación con el riego interdiario. Los rendimientos de los cultivos fueron similares con riegos diarios a 60%, 80% y 100% ETc. Además, Sezen et al. [70] informaron de los valores de rendimiento más altos con riego completo (44,2-47,8 t ha⁻¹) y riego deficitario de 50% y 75% (34,9-36,0 t ha⁻¹ y 40,8 a 47,2 t ha⁻¹, respectivamente). Estos resultados muestran que el cultivo de pimentón se vio afectado por el riego deficitario, así como por el exceso de agua causado por las altas precipitaciones. El cultivo de pimentón irrigado con mayor frecuencia tiende a ser más eficiente en el uso del agua, sin afectar el rendimiento, en comparación con el cultivo irrigado con menos frecuencia. Asimismo, Yildirim et al. [71] al estudiar el efecto de diferentes tratamientos de riego (0,0; 0,2; 0,5; 0,8; 1,0, y 1,2 de ETc) en pimentón para determinar el estrés con un intervalo fijo de 7 días durante toda la temporada de sequía, reportaron rendimientos de 3,25, 8,64, 16,93, 20,08, 27,67 y 24,61 t ha⁻¹, respectivamente. Mencionaron que el factor más importante que afecta el crecimiento y rendimiento en los cultivos de pimentón es la cantidad de agua de riego aplicada durante todo el período de desarrollo.

El rendimiento máximo bajo malla sombra se obtuvo en el tratamiento de 50% ETc. El rendimiento varió de 11,0 t ha⁻¹ en 0% ETc a 22,2 t ha⁻¹ en 50% ETc. El tratamiento 0% presentó reducción de 50,3% en el rendimiento y reducción de 13,4% en 100% ETc. Díaz-Pérez [72] estudiando el efecto de los niveles de sombra de 0,30%, 47%, 63% y 80% en *Capsicum annuum* cv. Heritage, informó que el rendimiento aumentó a medida que se incrementó el nivel de sombra hasta 35% y luego disminuyó al aumentar los niveles de sombra. [40] informaron sobre un rendimiento en pimentón dulce *C. annuum* cv. Selika entre 5,93 y 9,26 kg m⁻² en 30% de sombra. Ilahy et al. [73] reportan que el rendimiento en (*C. annuum* cv 'Beldi'), cultivado a 0,50% y 100% de sombra, varió entre 0,9 kg/planta y 1,15 kg/planta, respectivamente. Además, [74] informaron que el rendimiento comercial del cv 'Herminio' de pimentón dulce varió de 2,55 kg/planta en condiciones sin sombra, en comparación con 2,53 kg/planta en condiciones de sombra.

Los tratamientos en campo abierto mostraron rendimientos acumulativos más altos. La tendencia se observó durante todo el período de cosecha, lo que probablemente se deba al aumento de la radiación y mayor actividad fotosintética. López-Marin et al. [74] reportaron rendimientos más altos con 40% de sombra. Esto se atribuyó a la reducción de la incidencia de radiación. Asimismo, se observó que el cultivo se vio afectado negativamente por las altas temperaturas con sombreado, que disminuyó la temperatura promedio diaria en 2,5°C al mediodía y 0,6°C en la mañana, creando un microclima favorable para el desarrollo del cultivo.

Díaz-Pérez [75] Informó que los niveles moderados de sombra (30% y 47%) fueron los más favorables para el crecimiento y función de las plantas de pimentón. Así mismo, [40] informaron que 30% de sombra negra de malla reduce la radiación solar, la velocidad del viento, las necesidades de agua y aumenta de uso eficiencia de agua en el pimentón.

En campo abierto se observó quemadura solar en el fruto, con mayor intensidad de 55 a 85 días después del trasplante, cuando el cultivo había reducido el área foliar, con

pérdidas de rendimiento de 1,4%, 2,2%, 2,3%, 3,3% y 1,7% en tratamientos de riego 0%, 25%, 50%, 75% y 100%, respectivamente. Bajo malla sombra, el fruto no mostró quemaduras solares. Ilahy et al. Por otro lado, [73] informaron pérdidas de rendimiento debido a la quema de sol, que van de 0,69 kg/planta en campo abierto a 0,18 kg/planta en condiciones de sombra.

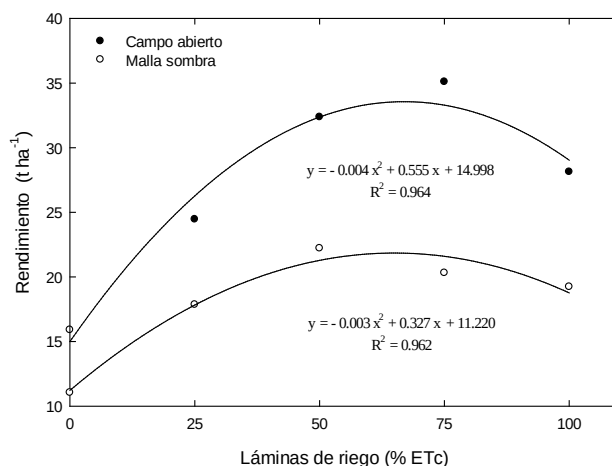


Figura 1. Rendimiento y láminas de riego en el cultivo en pimentón, cultivado bajo malla sombra y en campo abierto.

El uso eficiente de agua disminuyó al aumentar las láminas de riego (Figura 2). El eficiente uso del agua y el uso eficiente de agua de riego fueron más altos en campo abierto que bajo malla sombra. Las parcelas sin riego mostraron reducción del eficiente del uso de agua (3 kg m^{-3} en campo abierto y $2,1 \text{ kg m}^{-3}$ bajo malla sombra). Los valores de eficiencia del uso de agua en campo abierto oscilaron entre $18,5 \text{ kg m}^{-3}$ en 25% ETc y $5,3 \text{ kg m}^{-3}$ en 100% ETc, y bajo malla sombra entre $13,5 \text{ kg m}^{-3}$ en 25% ETc y $3,6 \text{ kg m}^{-3}$ en 100% ETc. Los valores de eficiencia del uso de agua de riego en campo abierto variaron entre $29,4 \text{ kg m}^{-3}$ en 25% ETc y $8,5 \text{ kg m}^{-3}$ en 100% ETc, y bajo malla sombra entre $21,6 \text{ kg m}^{-3}$ en 25% ETc y $5,8 \text{ kg m}^{-3}$ en 100% ETc. Los valores de uso eficiente del agua y el uso eficiente del agua de riego de este estudio fueron similares a los reportados previamente por [76], que mediante riego por goteo determinaron valores de eficiencia del uso de agua entre $7,76 \text{ kg m}^{-3}$ y $10,71 \text{ kg m}^{-3}$ en pimentón. Sezen et al. [70] reportan eficiencia del uso de agua de $6,9 \text{ kg m}^{-3}$ y eficiencia del uso de agua de riego de $5,7 \text{ kg m}^{-3}$, aplicando agua de riego de 570,4 mm para toda la temporada de crecimiento a intervalos de 3 a 6 días. Guang-Cheng et al. [77] determinaron en el pimentón picante que el valor de la eficiencia del uso de agua y la eficiencia del uso de agua de riego en los invernaderos oscila entre $6,7$ y $10,4 \text{ kg m}^{-3}$ y de $6,3$ a $10,6 \text{ kg m}^{-3}$, respectivamente. Demirel et al. [78] determinaron que los valores de eficiencia del uso de agua y eficiencia del uso de agua de riego en pimentón cultivado en la región de Tracia, en Turquía, varían de $2,4$ a $7,0 \text{ kg m}^{-3}$ y de $0,3$ a $9,1 \text{ kg m}^{-3}$, respectivamente. Kara y Yıldırım [68] informaron eficiencia del uso de agua en *C. annuum* L. cv. Carliston con niveles de riego de 0,2%, 0,5%, 0,8%, 1,0% y 1,2% de ETc, entre 6,0, 4,1, 3,6, 2,7 y $2,1 \text{ kg m}^{-3}$, respectivamente. Además, [71] informaron resultados de eficiencia del uso de agua y eficiencia del uso de agua de riego en pimentón con tratamientos de riego (0,0, 0,2, 0,5, 0,8, 1,0, 1,2 de ETc) de 1,6, 3,3, 5,3, 5,5, 6,9 y $5,7 \text{ kg m}^{-3}$ y de 2,0, 3,8, 6,0, 6,1, 7,5 y 6,2, respectivamente. Los picos se obtuvieron del tratamiento con 1,0 ETc.

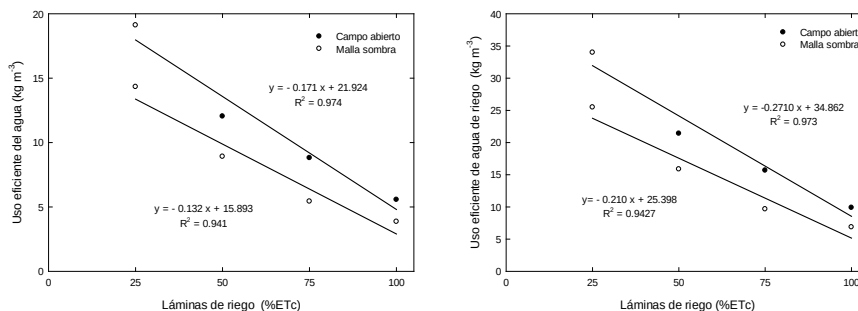


Figura 2. Uso eficiente del agua en función de láminas de riego en el cultivo de pimentón bajo malla sombra y en campo abierto.

La calidad del fruto en el cultivo de pimentón bajo malla sombra y en campo abierto se muestran en la (Tabla 3). En campo abierto presentaron diferencias estadísticas en la calidad del fruto, número de fruto por planta, diámetro del fruto, peso del fruto y en malla sombra la cantidad de fruto por planta, peso y materia seca del fruto. La variable que mostró el efecto de interacción entre la malla sombra y en campo abierto fue el peso del fruto. La calidad del fruto en campo abierto y en malla sombra se vio afectada significativamente, mostrando el menor diámetro, longitud y peso del fruto y el menor número de fruto por planta. Los niveles de riego de 50% y 75% ETc obtuvieron la mejor calidad de fruto. Sin embargo, el peso máximo del fruto y menor contenido de materia seca del fruto se presentaron mediante el tratamiento 100% ETc, en malla sombra. En resumen, el fruto de más alta calidad (mayor peso y menor materia seca e incidencia de quemaduras solares) se obtuvo a la sombra. Sezen et al. [70] informaron incremento en el rendimiento, aumentando el número de fruto. Se necesita suministro uniforme de agua en el suelo durante la temporada de crecimiento para prevenir el tamaño y forma del fruto y mejorar el rendimiento.

Trat. (%ETC)	Fruto por planta	Longitud (cm)	Diámetro (cm)	Peso (gr)	Materia seca (%)
Campo abierto					
0	6 ^b	13.4	5.6 ^b	126.50 ^{bC}	5.3
25	7 ^{ab}	14.8	6.6 ^a	134.00 ^{bBC}	5.3
50	9 ^a	14.3	6.1 ^{ab}	142.10 ^{bAB}	5.3
75	9 ^a	14.9	5.9 ^{ab}	153.20 ^{bA}	5.2
100	8 ^{ab}	15.0	5.5 ^b	144.70 ^{bAB}	5.0
Sig.	*	ns	*	*	ns
Malla sombra					
0	5 ^b	16.9	6.0	154.20 ^{aC}	5.1 ^a
25	7 ^{ab}	16.5	6.5	176.60 ^{aB}	5.0 ^{ab}
50	8 ^a	18.0	6.7	179.50 ^{aB}	5.2 ^a
75	8 ^a	16.4	6.2	188.6 ^{aAB}	4.9 ^{ab}
100	7 ^{ab}	17.8	6.3	198.90 ^{aA}	4.6 ^b
Sig.	*	ns	ns	**	*

Tabla 3. Calidad de fruto del pimentón bajo malla sombra y campo abierto

Trat: tratamientos, las letras indican diferencias significativas en * $P \leq 0.05$ y ** $P \leq 0.01$. Sig.: no significativa.

Rylski y Spigelman [33] informaron cambios en el desarrollo de la planta debido al efecto de la sombra. Según los autores, la sombra afectó el número de fruto por planta, la ubicación del fruto en la planta, el desarrollo y rendimiento. De igual manera, el número más bajo de fruto por planta se obtuvo con sombra de 47% a densidad de 5

plantas m⁻², con sombra de 47% y 26%, a densidad de 6,7 plantas m⁻². En sombra, las frutas individuales eran más grandes y tenían pericarpio más grueso. La sombra redujo el daño del fruto por el sol en 36%, a plena luz del sol a 3% y 4%, bajo sombra 26% y 47%. El mayor rendimiento de alta calidad se obtuvo con 12% y 26% de sombra. Por otro lado, [79] refieren que la sombra en las plantas de pimentón afectó tanto al rendimiento como a la calidad del fruto. El rendimiento total y comercial aumentó con el nivel de sombra de 40% y luego disminuyó (con sombra de 50%). La sombra de pimentón (40%) puede ser una opción para reducir las condiciones de estrés por calor y extender la temporada primavera-verano hacia septiembre, concluyendo que la malla sombra fotoselectiva y dispersiva de luz proporcionan nueva herramienta para la protección de cultivos. Cambiar la intensidad de la luz y el espectro de radiación tiene un gran impacto en el sistema de producción total.

La máxima eficiencia técnica de producción en campo abierto fue de 34,2 t ha⁻¹ con 69,4% de ETc, y bajo malla sombra fue de 20,1 t ha⁻¹ con 54,5% de ETc. La diferencia de eficiencia máxima de producción fue de 14 t ha⁻¹ y una reducción de 14% de ETc. El pimentón bajo 50% de sombra podría ahorrar de 14% a 25% del agua de riego. Asimismo, la quemadura solar en fruto mejora al aumentar el número de plantas por metro cuadrado. El rendimiento del pimentón en campo abierto fue significativamente mayor, con 75% de ETc, siendo más alto con 50% ETc bajo sombra. El punto de máxima eficiencia de producción fue de 69,4% de ETc en campo abierto y 54,5% de ETc bajo sombra. Por lo tanto, con menos de 50% de sombras, puede haber hasta 25% de ahorro de agua. El riego con mayor frecuencia tiende a aumentar el uso eficiente de agua de riego. Se pueden recomendar láminas de riego por goteo entre 50% y 75% ETc.

7. Discusión

En los últimos años, el número de productores que abandonaron la agricultura intensiva tradicional en favor de nuevas formas de agricultura y productos con mayor valor agregado está creciendo sustancialmente. Los cultivos protegidos han sido fundamentales en este desarrollo. Además, el uso eficiente de agua de riego es la clave para la sostenibilidad y la rentabilidad del cultivo. El manejo adecuado y la calidad del agua de riego son de importancia fundamental para obtener alta productividad, calidad, reducción de costos y uso racional del agua.

El cultivo del pimentón mostró un mayor rendimiento cultivado en campo abierto en comparación con el de 50% de sombra. En comparación con las variables evaluadas, 50% del sombreado resultó en valores más bajos de tasa de crecimiento del diámetro del tallo, el índice de clorofila y número de frutos por planta. Por otro lado, resultó en valores más altos la tasa de crecimiento de la altura de la planta y el índice del área foliar, así como la cantidad de hojas por planta y materia seca total en las plantas, pero mostraron frutos con mayor longitud y diámetro en comparación con los obtenidos en campos abiertos. El sombreado de 50% estimuló el crecimiento de la planta, pero con un diámetro de tallo más pequeño, en respuesta natural a la disminución de la luz solar.

Con respecto al rendimiento (número de frutas/ha), fue menor, ya que la planta gastó más energía en el crecimiento y la formación del área foliar que en la producción de fruta. De igual manera, las frutas se contaban en menor cantidad, pero de mayor calidad, observándose que la maduración de las frutas en estas condiciones era más lenta y los frutos tenían paredes más gruesas. Debido a los resultados de la clorofila-a y la clorofila-b, hay una reducción en las condiciones de sombra, con tasa menor de fotosíntesis líquida que las plantas en campo abierto. Además, la fotosíntesis está vinculada con la respiración, un hecho de que las plantas en sombra muestran una

tasa de respiración baja, lo que las hace de un menor costo operativo, disminuyendo el consumo de agua de riego.

Por otro lado, el contenido de clorofila en las hojas es indicador del nivel de estrés y estado nutricional de la planta en la agricultura de precisión. También se observa que el sistema de hojas a la sombra tenía hojas más grandes y delgadas, en comparación con las hojas en campo abierto. El suelo, bajo sombra, resultó en mayor retención de humedad, interfiriendo en algunos procesos fisiológicos de la planta, atenuando los cambios de temperatura y el crecimiento del tejido vegetal.

El cultivo del pimentón en campo abierto resultó en parámetros morfológicos con valores más bajos de tasa de crecimiento de la planta; índice de área foliar; cantidad de hojas por planta; materia seca total en plantas, y la longitud y diámetro del fruto. Asimismo, resultó en valores más altos de diámetro del tallo e índice de clorofila. En cuanto a los parámetros del fruto, dieron como resultado un mayor número de frutos por planta, con frutos de menor longitud y diámetro en comparación con los obtenidos en sombra.

En todos los tratamientos en campo abierto, la fruta maduró más rápido que el tratamiento de sombreado. En los tratamientos en campo abierto la maduración de la fruta fue más temprana en las profundidades más pequeñas de agua de riego aplicada, por lo que se puede inferir que el déficit de agua acelera la maduración de las frutas de pimentón en el campo abierto. Las láminas de máxima eficiencia técnica del rendimiento cultivado en campo abierto y con 50% de sombra, fueron de 69,4% y 54,5% ETc, respectivamente. El rendimiento en campo abierto y con 50% de sombra fue significativamente mayor, con 75% y 50% ETc, respectivamente. Con 50% de sombra se produjo ahorro de aproximadamente 25% en el agua de riego. El uso eficiente del agua de riego disminuyó con el aumento de las láminas de riego, obteniéndose en campo abierto y sombra 30 kg m⁻³ y 20 kg m⁻³, respectivamente.

La malla sombra es una alternativa para la producción hortícola, minimizando los efectos de la variabilidad ambiental en veranos con altas temperaturas, mitigando los niveles de radiación solar y asegurando mayor control de los factores externos, como lluvia, viento, granizo y heladas. En algunos casos, según el porcentaje de sombreado y del color de la malla, puede mejorar el desarrollo de los cultivos, permitiendo la producción agrícola durante todo el año, con productos de mayor calidad y mejor precio en el mercado, permitiendo el uso racional del agua de riego, aprovechando la estructura para el tutorado, y como consecuencia un ahorro de tiempo y dinero, lo que permitió un mayor retorno financiero.

Además de la combinación de cultivos bajo malla sombra y campos abiertos en los meses fríos y durante el verano, será posible tener dos cultivos agrícolas por año. Sin embargo, el uso de malla sobra puede presentar el inconveniente de reducir el flujo de luz a niveles inadecuados, promoviendo la prolongación del ciclo, incrementando la altura de la planta y la reducción del rendimiento.

8. Conclusión

La determinación de láminas de riego óptimas proporciona características vegetativas y rendimientos económicamente rentables. El manejo del riego diario aumentó el uso eficiencia de agua. En tratamientos sin sombra, los valores más altos dieron como resultado tasa de crecimiento del diámetro del tallo; índice de clorofila y número de frutos por planta y con sombra. Valores más altos en tasa de crecimiento de la altura de la planta; índice de área foliar; cantidad de hojas por planta; materia seca total de la planta y masa seca en fruto. El déficit y el exceso de agua afectan a la fenología, al

rendimiento, el crecimiento de la planta y al desarrollo del área foliar. En la región, a pesar de las frecuentes e intensas lluvias, la inversión en el sistema de riego está justificada para obtener rendimiento económicamente rentable en el cultivo de pimentón.

9. Referencias

- [1] Echer M.M., Fernandes M.C.A., Ribeiro R.L.D., Peracchi AL. Evaluation of *Capsicum* genotypes for resistance to the broad mite. Horticultura Brasileira 2002; 20:217-221. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362002000200020>.
- [2] Filgueira F.A.R. Solanáceas: agrotecnologia moderna na produção de tomate, batata, pimentão, pimenta, berinjela e jiló. Lavras, MG: UFLA, P. 2003. 333 p.
- [3] Rodríguez, P.R.A., Rázuri, R.L., Swarowsky, A., Rosales, D.J. Efecto del riego deficitario y diferentes frecuencias en la producción del cultivo de pimentón. Interciencia 2014; 39:591-596.
- [4] Mukherji A. y Facon T. Revitalizing Asia's irrigation: to sustainable meet tomorrow's food needs. Colombo, Sri Lanka: International Water Management Institute. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations 2009. 38 p.
- [5] Melgarejo M.J. y López O.M.I. Las identidades española y argentina: Agricultura, Agua y Energía. Estudios Rurales 2012; 1:1-39.
- [6] Albuquerque, F. D. S.; Silva, E. F. F.; Filho J. A. C. A.; Lima G. S. Necessidade hídrica e coeficiente de cultivo do pimentão fertirrigado. Irriga 2012; 17:481-493. <https://doi.org/10.15809/irriga.2012v17n4p481>.
- [7] Casali V.W.D., Stringheta P.C. Melhoramento do pimentão e pimenta para fins industriais. Informe Agropecuário 1984; 10:23-25.
- [8] Souza V.F., Marouelli W.A., Coelho E.F., Pinto J.M., Coelho F.M.A. Irrigação e fertirrigação em fruteira e hortaliças. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. (Informação Tecnológica) 2011. 721-736 p.
- [9] Reifschneider, F. J. B. *Capsicum*: pimentas e pimentões no Brasil. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia; Embrapa Hortaliças 2000.
- [10] Filgueira, F. A. R. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2008. 412 p.
- [11] Camargo, L. D. S. As hortaliças e seu cultivo. 3 ed. Campinas: Fundação Cargill. 1992. 252 p.
- [12] Tivelli, S. W. A cultura de pimentão. In: GOTO, R.; Tivelli, S. W. (Orgs.). Produção de hortaliças em ambiente protegido: condições subtropicais. São Paulo: UNESP 1998; 225-226 p.
- [13] Fontes, P. C. R. Olericultura: teoria e prática. Viçosa, MG: Editora Universidade Federal de Viçosa 2005; 486 p.

- [14] Zatarim, M., Cardoso, A.I.I., Furtado E.L. Efeito de tipos de leite sobre oídio em abóbora plantadas a campo. *Horticultura Brasileira* 2005; 23:198-201. <https://www.scielo.br/pdf/hb/v23n2/25052.pdf>
- [15] Amorim L., Rezende J.A.M., Bergamin Filho A. *Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos*. 4. ed. Volume 1 Piracicaba, SP: Ceres, 2011. 704 p.
- [16] Reis, J. B. S. Análise da sensibilidade de duas cultivares de pimentão a diferentes condições de regime hídrico. 92 f. Dissertação (Mestrado em Irrigação e Drenagem) - Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2002.
- [17] Finger F.L. y Silva D.J.H. Cultura do pimentão e pimentas. In: FONTES, P. C. R. (Ed.). *Olericultura: teoria e prática*. Viçosa, MG: UFV 2005. 429-437 p.
- [18] Chitarra M.I.F. Fisiologia e qualidade de produtos vegetais. In: BORÉM F.M. (Ed.). *Armazenamento e processamento de produtos agrícolas*. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola, 27. Anais... Poços de Caldas: SBEA 1998, 1-58 p.
- [19] Rocha M.C., Carmo M., Polidoro J.C., Silva D., Fernandes M.D.C.A. Características de frutos de pimentão pulverizados com produtos de ação bactericida. *Horticultura Brasileira* 2006; 24:185-189.
- [20] Miranda J. D.; Casali V. Métodos de melhoramento aplicados às espécies autógamas. In: Simpósio Brasileiro sobre *Capsicum*. 1. Anais...Dourados 1988; 15-30 p.
- [21] Cermeño Z. S. *Estufas-instalações e manejo*. Lisboa. Litexa Editora, Ltda. 1990; 355 p.
- [22] Marouelli W.A. y Silva W.L.C. *Irrigação na cultura do pimentão*. Brasília: Embrapa Hortaliças, (Circular Técnica 101). 2012. 20 p.
- [23] Albuquerque F.S., Silva Ê.F.F., Albuquerque Filho J.A.C., Nunes M. F.F.N. Crescimento e rendimento de pimentão fertigado sob diferentes lâminas de irrigação e doses de potássio. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 2011; 15:686-694. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662011000700006>.
- [24] Cunha A.R., Escobedo J.F., Klosowski E.S. Estimativa do fluxo de calor latente pelo balanço de energia em cultivo protegido de pimentão. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 2002; 37:735-743. <https://www.scielo.br/pdf/pab/v37n6/10549.pdf>.
- [25] Magalhães C.D. y Castro P.T. Determinação do Coeficiente de cultura (Kc) do pimentão (*Capsicum annuum*) através do balanço hídrico. *Revista Ciência Agronômica* 1983; 14:107-113. <http://www.inovagri.org.br/revista/index.php/rbai/article/view/681>.
- [26] Doorenbos J. y Kassam A.H. Efeito da água no rendimento das culturas. Trad. de H. R. Gheyi, A. A. De Sousa, F. A. V. Damasceno E J. F. De Medeiros. Campina Grande: UFPB, (FAO. Estudos de Irrigação e Drenagem, 33) 1994. 306 p.
- [27] Santos E.S., Silva E.F.R., Silva A.O. Determinação da evapotranspiração de referência (ET_o) e de cultura (ET_c) do pimentão no semi-árido pernambucano. IX Jornada de ensino, Pesquisa e Extensão (JEPEX), 2009.

- [28] Padrón R.A.R., Nogueira H.M.C.M., Cerquera R.R., Albino G.D., Nogueira C.U. Characterization physical-hydric of the yellow argisol soil for establishment of project and irrigation management. *Acta Iguazu* 2015. 4:36-47. <https://doi.org/10.5897/AJAR2016.11754>.
- [29] FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación. Conferencia de Alto Nivel sobre la Seguridad Alimentaria Mundial: los Desafíos del Cambio Climático y la Bioenergía. El cambio climático, el agua y la seguridad alimentaria. 2008.
- [30] Christofidis D. Irrigação, a fronteira hídrica na produção de alimentos. *Irrigação e Tecnologia Moderna* 2002; 54:46-55.
- [31] Carvalho J.A., Rezende F.C., Aquino R.F., Freitas W.A., Oliveira E.C. Análise produtiva e econômica do pimentão-vermelho irrigado com diferentes lâminas, cultivado em ambiente protegido. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 2011; 15:569-574. <https://www.scielo.br/pdf/rbeaa/v15n6/v15n06a05.pdf>.
- [32] Bezerra Neto F., Rocha R.H.C., Rocha R.C.C., Negreiros M.Z., Leitão M.M.V.B.R., Nunes G.H.S., Espínola Sobrinho J., Queiroga R.C.L.F. Sombreamento para produção de mudas de alface em alta temperatura e ampla luminosidade. *Horticultura Brasileira* 2005; 23:133-137. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362005000100028>.
- [33] Rylski I. y Spigelman M. Effect of shading on plant development, yield and fruit quality of sweet pepper grown under conditions of high temperature and radiation. *Scientia Horticulturae* 1986; 29:31-35.
- [34] Gruda, N. Impact of environmental factors on product quality of greenhouse vegetables for fresh consumption. *Critical Reviews in Plant Sciences* 2005; 24:227-247. <https://doi.org/10.1080/07352680591008628>.
- [35] Setubal W.J. y Silva A.R. Avaliação do comportamento de alface de verão em condições de calor no município de Teresina–PI. *Horticultura Brasileira* 1992; 10:17.
- [36] Goto R. y Tivelli S.W. Produção de hortaliças em ambiente protegido: condições subtropicais. Sao Paulo: UNESP, cap. 01, 1998; 319 p.
- [37] Pezzopane J.E.M., Oliveira P.C., Reis E.F., Lima J.S.S. Microclimatological alterations caused by plastic screen uses. *Eng. Agríc* 2004; 24:9-15.
- [38] Espinoza W. Manual de produção de tomate industrial no Vale do São Francisco. Brasília: IICA/CODEVASF 1991; 301 p.
- [39] Olle M, y Bender I. Causes and control of calcium deficiency disorders in vegetables: A review. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 2009; 84:577-584. <https://doi.org/10.1080/14620316.2009.11512568>.
- [40] Silva V.F. Cultivares de alface em diferentes espaçamentos sob temperatura e luminosidade elevadas. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Universidade Federal Rural do Semi- Árido/ESAM. Mossoró-RN. 1999; 25 p.
- [41] Queiroga R.C.F., Bezerra Neto F., Negreiros M.Z., Oliveira A.P., Azevedo C.M.S.B. Produção de alface em função de cultivares e tipos de tela de sombreamento nas condições de Mossoró. *Horticultura Brasileira* 2001; 19:192-196. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362001000300006>.

- [42] Maciel S.P.A., Zanella F., Lima A.L.S. Efeito do sombreamento sobre a produção de alface em hidroponia. *Ciência & Consciência* 2007; 2. <https://www.scielo.br/pdf/cagro/v32n2/03.pdf>.
- [43] Whatley J.M., Whatley F.R. A luz e a vida das plantas: temas de biologia. São Paulo: Universidade de São Paulo 1982; 101 p.
- [44] Kendrick R.E., Frankland B. Fitocromo e crescimento vegetal. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1981; 76 p.
- [45] Ochoa G., Malagón D. Atlas de microscopia electrónica en suelos de Venezuela. CIDIAT – ULA Mérida, 1979; 40 p.
- [46] Murat Y., Kursad D., Erdem B. Effect of restricted water supply and stress development on growth of bell pepper (*Capsicum Annuum* L.) under drought conditions. *Journal of Agro Crop Science* 2012; 3:1-9.
- [47] Sezen S.M., Yazar A., Eker S. Effect of drip irrigation regimes on yield and quality of field grown bell pepper. *Agricultural Water Management* 2006; 81:115-131.
- [48] Dagdelen N., Yilmaz E., Sezgin F., Gurbuz T. Effects of water stress at different growth stages on processing pepper (*Capsicum annuum* Cv. Kapija) yield, water use and quality characteristics. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 2004; 7:2167-2172. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2004.2167.2172>.
- [49] Boicet T., Verdecia J., Pujol P., Alarcón A., Boudet A. Respuesta de producción del cultivo del pimiento (*Capsicum annuum* L.) al riego deficitario en un período fuera de la época. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias* 2001; 10:75-78.
- [50] Smittle D.A., Dickens W.L., Stansell J.R. Irrigation regimes affect yield and water use by bell pepper. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 1994; 119:936-939.
- [51] Dalla C.L., Gianquinto G. Water stress and water table depth influence yield, water use efficiency, and nitrogen recovery in bell pepper, lysimeter studies. *Australian Journal Agricultural Research* 2002; 53:201-210. <https://doi.org/10.1071/AR00133>.
- [52] Rázuri R.L., Romero G., Romero C.E., Hernández J.D., Rosales J.G. Efecto del riego deficitario controlado en la producción del cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) bajo riego localizado. *Agricultura Andina* 2008; 14:31-48.
- [53] Adeoye P.A., Adesiji R.A., Oloruntade A.J., Njemanze C.F. Effect of irrigation intervals on growth and yield of bell pepper (*Capsicum annuum*) in a tropical semi-arid region. *American Journal of Experimental Agriculture* 2014; 4:515-524. <https://doi.org/10.9734/AJEA/2014/7788>.
- [54] Dorji K., Behboudian M.H., Zegbe D.J.A. Water relations, growth, yield, and fruit quality of hot pepper under deficit irrigation and partial rootzone drying. *Scientia Horticulturae* 2005; 104:137-149. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2004.08.015>.
- [55] Fernandez M.D., Gallardo M., Bonachela S., Orgaz F., Thompson R.B., Fereres E. Water use and production of a greenhouse pepper crop under optimum and limited water supply. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 2005; 80:87-96. <https://doi.org/10.1080/14620316.2005.11511897>.

- [56] Mitchell J.P., Shennan C., Grattan S.R., May D.M. Tomato yields and quality under water deficit and salinity. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 1991; 116:215-221. <https://doi.org/10.21273/JASHS.116.2.215>.
- [57] Orgaz F., Mateos L., Fereres E. Season length- and cultivar determine the optimum evapotranspiration deficit in cotton. *Agronomy Journal* 1992; 84:700-706. <https://doi.org/10.2134/agronj1992.00021962008400040031x>.
- [58] Enríquez A.G., Palacios H.R., Cabrera F.A.V. Influencia en aplicación de diferentes láminas de riego sobre el desarrollo vegetativo y producción de *Capsicum* L. Variedad Unapal Serrano. XIX SIMPÓSIO DE RECURSOS BRASILEIROS, Anais, 2011.
- [59] Furlan R.A., Rezende F.C., Alves D.R.B., Folegatti M.V. Lâmina de irrigação e aplicação de CO₂ na produção de pimentão cv. Mayata, em ambiente protegido. *Horticultura Brasileira* 2002; 20:547-550. <https://www.scielo.br/pdf/hb/v20n4/14490.pdf>.
- [60] Pulupol L.U., Behboudian M.H., Fisher K.J. Growth, yield, and postharvest attributes of glasshouse tomatoes produced under deficit irrigation. *Hort Science* 1996; 31:926-929. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.31.6.926>.
- [61] Santana M.J., Carvalho J.A., Faquin V., Queiroz T.M. Produção do pimentão (*Capsicum annuum* L.) irrigado sob diferentes tensões de água no solo e doses de cálcio. *Ciência e Agrotecnologia* 2004; 28:1385-1391. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542004000600022>.
- [62] Gadissa T., Chemedda D. Effects of drip irrigation levels and planting methods on yield and yield components of green pepper in Bako, Ethiopia. *Agricultural Water Management* 2009; 96:1673-1678. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2009.07.004>.
- [63] Akinbile C.O., Yussouf M.S. Growth and water use pattern of chilli pepper under different irrigation scheduling and management. *Asian Journal of Agricultural Research* 2011; 5:154-163. <https://doi.org/10.3923/ajar.2011.154.163>.
- [64] Halim, A.E. Impact of alternate furrow irrigation with different irrigation intervals on yield, water use efficiency and economic return of corn. *Chilean Journal of Agricultural Research* 2013; 73:175-180. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392013000200014>.
- [65] Lima P.A., Montenegro A.A.A., Lira Júnior M.A., Santos F.X., Pedrosa E.M.R. Efeito do manejo da irrigação com água moderadamente salina na produção de pimentão. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, Recife 2006; 1:73-80. <https://www.redalyc.org/pdf/1190/119018241011.pdf>.
- [66] Streck E.V., Kämpf N., Dalmolin R.S.D., Klamt E., Nascimento P.D., Schneider P., Giasson E., Pinto L.F.S. Solos do Rio Grande do Sul, 2 ed, Porto Alegre, EMATER/RS-ASCAR 2008. 222 p.
- [67] Kara H.O., Yıldırım M. Water and radiation use efficiencies of pepper (*Capsicum annuum* L. cv. Carliston). *Scholars Journal of Agriculture and Veterinary Sciences* 2015; 2(2A):87-93. <https://saspjournals.com/wp-content/uploads/2015/02/SJAVS-22A87-93.pdf>.
- [68] Padrón R.A.R., Ramírez L.R., Swarowsky A., Daboín J.R. Effect of deficit irrigation and different frequencies in the production of bell pepper. *Interciencia* 2014; 39:591-596.

- [69] Sezen S.M., Yazar A., Şengül H., Baytorun N., Daşgan Y., Akyildiz A., Tekin S., Onder D., Ağçam E., Akhoundnejad Y., Gügercin Ö. Comparison of drip-and furrow-irrigated red pepper yield, yield components, quality and net profit generation. *Irrigation and Drainage* 2015; 64:546-556. <https://doi.org/10.1002/ird.1915>.
- [70] Yildirim M., Demirel K., Bahar E. Effect of restricted water supply and stress development on growth of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) under drought conditions. *Journal of Agronomy and Crop Science* 2012; 3:1-9.
- [71] Díaz-Pérez J.C. Bell pepper (*Capsicum annuum* L.) crop as affected by shade level: fruit yield, quality, and postharvest attributes, and incidence of phytophthora blight (caused by *Phytophthora capsici* Leon.). *HortScience* 2014; 49:891-900. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.49.7.891>.
- [72] Ilahy R., R'him T., Tlili I., Jebari H. Effect of different shading levels on growth and yield parameters of a Hot Pepper (*Capsicum annuum* L.) Cultivar 'Beldi' G rown in Tunisia. *Global Science Books* 2013; 7:32-35.
- [73] López-Marin J., Gálvez A., Conesa A., Martínez-Nicolás J., González A. Comportamiento fisiológico del pimiento en invernadero bajo diferentes condiciones de sombreado. *Actas de Horticultura* 2012; 60:337-342.
- [74] Díaz-Pérez J.C. Bell Pepper (*Capsicum annuum* L.) crop as affected by shade level: microenvironment, plant growth, leaf gas exchange, and leaf mineral nutrient concentration. *HortScience* 2013; 48:175-182. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.48.2.175>.
- [75] Kong Q., Li G., Wang Y., Huo H. Bell pepper response to surface and subsurface drip irrigation under different fertigation levels. *Irrigation Science* 2012; 30:233-245. <https://pubag.nal.usda.gov/catalog/523797>.
- [76] Guang-Cheng S., Na L., Zhan-Yu Z., Shuang-En Y., Chang-Ren C. Growth, yield and water use efficiency response of greenhouse-grown hot pepper under Time-Space deficit irrigation. *Scientia Horticulturae* 2010; 126:172-179. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.07.003>.
- [77] Demirel K., Genç L., Saçan M. Effects of different irrigation levels on pepper (*Capsicum annuum*) yield and quality parameters in semi-arid conditions. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty* 2012; 9(2):7-15.
- [78] Milenković L., Ilić Z.S., Durovka M., Kapoulas N., Mirecki N., Fallik E. Yield and pepper quality as affected by light intensity using colour shade nets. *Agric. For.* 2012; 58:19-33.

Autor

Richard Alberto Rodríguez Padrón*

Universidad Tecnológica del Uruguay, Francisco Antonio Maciel s/n, CP 97000, Durazno, Uruguay.

* Autor de correspondencia: richard.rodriquez.p@utec.edu.uy / rarpadron@gmail.com

CAPÍTULO 2

Microalgas para el manejo de aguas residuales, actualidad y perspectivas

Luis Guillermo Ramírez Mérida

<https://doi.org/10.4322/mp.2020.001.02>

Resumen

El uso de microalgas para el desarrollo de diversos procesos industriales, ha venido aumentando en los últimos años debido a la diversidad y capacidad metabólica que poseen. Los residuos industriales ricos en nitrógeno y fósforo son removidos de manera significativa mediante bioprocesos microalgales, por lo que esta tecnología viene a impulsar mejoras en el proceso ya que además de proveer agua reciclada, genera bioproductos con valor añadido y disminuye las emisiones de gases de efecto invernadero. La tecnología aplicada con microalgas para el tratamiento de residuos industriales persigue generar procesos sostenibles, económicos y eficientes que garanticen el vertido de aguas bajo parámetros estándares que permitan preservar el medio ambiente y la calidad de vida de los ciudadanos. El empleo de lagunas algales de alta tasa presenta beneficios económicos, al tratar los efluentes contaminados y aprovechar la biomasa de microalgas generada. El crecimiento de microalgas en cultivos compuesto por aguas residuales puede verse limitado por la energía de iluminación o la fuente de carbono, esto debido a la gran carga de nutrientes y materia orgánica presente en estos efluentes. De igual forma, otros parámetros físicos, químicos y biológicos deben ser controlados para así garantizar que el proceso alcance su máximo rendimiento. Los altos volúmenes de residuos industriales, muchos de ellos con riesgos químicos bajos, pueden aprovecharse para producir a gran escala biomasa microalgal que genere empresas altamente lucrativas. Esta revisión pretende mostrar aspectos destacados resaltantes relacionados con el tratamiento de efluentes mediante el uso de microalgas.

Palabras clave: Aguas residuales, biomasa, efluentes agroindustriales, HRAP, pigmentos.

1. Introducción

El desarrollo sostenible y sustentable a nivel industrial es un proceso que ha venido ganando espacios en años recientes. Las plantas de tratamiento de aguas residuales industriales persiguen ir evolucionando e impulsando procesos más económicos, que generen mayor valor agregado y que sean amigables con el ambiente. De esta forma, establecer metodologías que equilibren los vectores medio ambiente, economía y sociedad será imprescindible en las plantas de tratamiento a mediano plazo. La preservación del medio ambiente es una necesidad y está rígidamente controlada por estándares regulatorios, por lo que la implementación de sistemas de control de la contaminación influye en gran medida sobre el impacto económico mundial. Por esto, la búsqueda de procesos industriales sostenibles representa un criterio decisivo en la elección de rutas tecnológicas de procesamiento industrial.

El tratamiento de las aguas residuales puede ser en tres niveles. Nivel primario, eliminando sólidos sedimentables que pueden causar problemas operativos en los pasos subsiguientes. Nivel secundario, donde un proceso físico y biológico interactúa consumiendo la materia orgánica disuelta y oxidando los nutrientes principales a nitrato y ortofosfato. Terciario, consiste en un tratamiento avanzado que elimina nitratos, fosfatos y compuestos orgánicos traza [1]. Normalmente, el nitrógeno es removido sin reciclaje convirtiéndolo en N_2 que pasará a la atmósfera [2]. El fósforo se precipita principalmente mediante la adición de cationes como calcio, aluminio y hierro, lo que resulta en un proceso costoso [3]. Como alternativa para el tratamiento terciario y eliminación de nitrógeno y fósforo surge el uso de microalgas.

El tratamiento biológico de las aguas residuales con microalgas proporciona ventajas económicas y ambientales al proceso de operación. Durante el proceso metabólico de microalgas, se libera oxígeno que puede usarse para producir aireación mecánica o generar un ambiente aeróbico propicio para el crecimiento de bacterias que actúan en sinergia con las microalgas, desarrollando procesos más eficientes [4]. Por otro lado, la biomasa de microalgas producida puede usarse para generar varios productos de interés comercial [5].

Las características fisicoquímicas del efluente o del agua residual son de gran importancia para el desarrollo de microalgas cuyo propósito es reducir los compuestos orgánicos e inorgánicos del efluente, que servirán como nutrientes para la formación de biomasa, sin embargo, la eficiencia del tratamiento biológico dependerá del tipo de cepa utilizada [6]. La productividad y el rendimiento de microalgas en los sistemas agrícolas a gran escala y los métodos de recolección son clave para la implementación exitosa de esta tecnología, tanto para el tratamiento de aguas residuales como para la generación de productos de valor agregado [7]. En comparación con el tratamiento biológico convencional, la ventaja de usar microalgas en aguas residuales sin ningún tipo de tratamiento previo es que actúa como un floculante que mejora la velocidad de sedimentación.

Aunque las microalgas generalmente se adaptan eficientemente al ambiente de aguas residuales, generando procesos eficientes, el suministro de gas de combustión industrial en un solo sistema, favorece el crecimiento de biomasa que genera ventajas tales como: fijación de CO_2 , reducción de compuestos de nitrógeno y fosfatos, producción de mayor cantidad de bioproductos Figura 1.

El rápido crecimiento urbano en todo el mundo conlleva un aumento en el uso de los recursos hídricos, lo que conduce a una distribución poco uniforme y al agotamiento de los recursos de agua potable bien sea porque se desperdicia, está contaminada o se gestiona de manera no sostenible. Dado este hecho, el tratamiento de aguas residuales se aplica ampliamente para conservar el agua potable disponible, así como para mantener de forma apropiada las aguas servidas haciendo que los efluentes puedan reutilizarse o devolverse al medio ambiente en condiciones apropiadas. Entre las fuentes de aguas residuales (industriales, domésticas, agrícolas, entre otras), las de origen municipal tienen un mayor potencial para el crecimiento de microalgas [8].

Las microalgas se han utilizado para tratar las aguas residuales municipales por suspensión y por células inmovilizadas [9, 10]. Además, el tratamiento de aguas residuales se vuelve más eficiente cuando se usan piscinas de microalgas y bacterias [11]. De esta forma, el uso de microalgas para el tratamiento de aguas residuales representa una tecnología que viene a impulsar mejoras en el proceso ya que además de proveer agua reciclada, genere bioproductos con valor añadido y disminuye las emisiones de gases de efecto invernadero. Este capítulo busca mostrar de forma

amplia aspectos relacionados con el tratamiento de efluentes mediante el uso de microalgas.

2. Función de las microalgas en el tratamiento biológico de aguas residuales

El agua residual es el resultado de acciones antropogénicas en el ambiente, pudiendo aparecer por procesos de escorrentías, domésticos e industriales. Poseen una composición muy variada y rica en nutrientes, lo que permite que pueda proliferar una gran diversidad de microorganismos que pueden ocasionar riesgos en la salud pública [12]. La acumulación de nutrientes en los cuerpos de agua favorece la multiplicación de organismos fototróficos, producto de la eutrofización del agua. Este fenómeno conlleva a la disminución del oxígeno disuelto en agua provocando la muerte de los organismos aeróbicos, lo que reduce la riqueza de especies y afecta gravemente la cadena trófica en el cuerpo de agua [13].

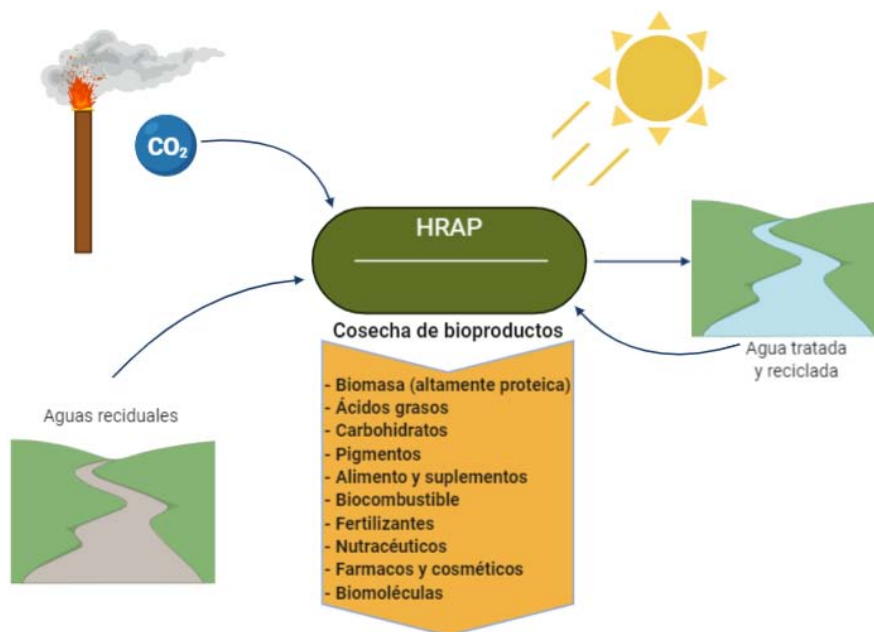


Figura 1. Esquema de tratamiento de aguas residuales con microalgas.

El desarrollo de tecnologías sostenibles, económicas y eficientes para el tratamiento de aguas residuales es una acción clara por parte de investigadores y empresarios a fin de cumplir las normas nacionales e internacionales que garantizan el vertido de aguas bajo parámetros estándares que permitan preservar el medio ambiente y la calidad de vida de los ciudadanos [14].

La biorremediación, bioaumentación y mejoras en el proceso como la bioventilación y la bioestimulación, han mostrado ser muy eficientes en la depuración de aguas residuales eliminando contaminantes orgánicos e inorgánicos, como nitrógeno, fósforo, metales pesados, entre otros [15], así como compuestos xenobióticos, productos sintéticos tóxicos, no generados por procesos biosintéticos naturales, como halocarburos, nitroaromáticos, bifenilos policlorados, dioxinas, sulfonatos alquilbencílicos, hidrocarburos del petróleo y plaguicidas [16].

El empleo de microalgas para el tratamiento de aguas residuales, fue utilizado por primera vez en los años 1950 en California por William Oswald. El papel de las microalgas fue el de asimilar nutrientes y dar soporte a las bacterias mediante la producción fotosintética de oxígeno. Por su parte, las bacterias estarían involucradas

en la degradación de materia orgánica, siendo el mismo proceso utilizado en los lodos activados [17]. En la actualidad, el uso de microalgas en el tratamiento de aguas residuales ha ganado espacio en procesos a escala piloto y de laboratorio, siendo las más utilizadas para este fin especies de Clorofíceas, dinoflagelados y cianobacterias.

Las microalgas tienen un sistema metabólico bastante amplio, fundamentalmente autotróficos, pudiendo ser heterotrófico y/o mixotrófico en ciertas especies. Por sus capacidades fotosintéticas, convierten la energía solar en biomasa, consumen una cantidad significativa de nutrientes para el crecimiento, ya que requieren altas cantidades de nitrógeno (N) y fósforo (P) para síntesis de proteínas (45-60% del peso seco de las microalgas), ácidos nucleicos y fosfolípidos. De esta manera, el empleo de microalgas en el tratamiento de aguas residuales ha sido utilizado ampliamente, en varios niveles, arrojando resultados promisorios.

Las microalgas son empleadas en el tratamiento de aguas residuales no solo por su capacidad para remover de manera significativa el nitrógeno y el fósforo sino también a su capacidad para eliminar organismos patógenos, esto debido al desarrollo de pH extremos y de sustancias con efecto antibacterial que pueden ser excretadas por ellas [18]. Por otro lado, es posible obtener bioproductos de interés industrial durante el bioproceso que generan valor agregado. Siendo la biomasa microalgal rica en lípidos, proteínas, polisacáridos, compuestos fenólicos, carotenoides, entre otros bioproductos pueden ser utilizados como fuente de ingredientes para productos funcionales en la industria de alimentos, que combinado con procesos de microencapsulación proporciona mayor estabilidad [19].

Organismos involucrados	Producto evaluado	Medio de cultivo	Proceso	%de remoción	Ref
<i>C. sorokiniana</i> , <i>C. vulgaris</i> y <i>S. obliquus</i> .	Biomasa	Diclofenac	FBR columna de burbuja.	67 – 87	[21]
<i>Aphanothece microscópica</i> <i>Nägeli</i>	Clorofila-a	Efluentes de procesamiento de productos Lácteos	Reactor en estado heterotrófico	96,90 materia orgánica, 73,5% N y 89,80% P	[22]
<i>Chlorella vulgaris</i>	Biomasa	Agua residual proveniente de granja de ganado	FBR	79,84 DQO, 82,70 N y 98,17 P	[23]
<i>Spirulina platensis</i>	Biomasa	Efluentes de piscicultura	Sistema abierto	Más de 98,0 N, 95,0 P	[24]
Consorcio de microalgas, con predominio de <i>Tetraselmis</i> sp.	Biomasa	Efluentes de la industria de cuero	FBR	88,61 N y 92,58 P	[25]
Microalgas Clase Clorofícea	Biomasa	Efluentes urbanos	Sistema integrado de microalgas, tanque de almacenamiento de efluentes y <i>wetland de flujo vertical</i>	58,0 DBO, 63,0 P y 100 N amoniacal	[26]
<i>C. biconvexa</i>	Biomasa	Efluente agroindustrial de aceite de palma	FBR <i>air lift</i> de placa plana	64,13 N, 96 P	[27]
<i>Chlorella vulgaris</i> <i>Spirulina máxima</i>	y Biomasa	Laguna contaminada con residuos domésticos	Sistemas abiertos	Más de 86,0 nitratos, 82,0 de nitritos y 90,0 fosfatos	[28]

Tabla 1. Procesos productivos microalgales en el tratamiento de residuos.
FBR: Fotobiorreactor

Las aguas de desecho industrial presentan altas cargas de compuestos nocivos no solo para el ambiente sino también para los seres humanos. Debido a la capacidad de las microalgas de remover metales pesados, compuestos tóxicos orgánicos y xenobióticos, su uso no permite la contaminación secundaria. La industria farmacológica presenta muchas sustancias que al no ser metabolizadas por los pacientes son vertidas a los efluentes a través de la orina y las heces [20]. Estos productos pudieran ser una amenaza para el ecosistema en vista que estos compuestos están diseñados para estimular una respuesta fisiológica específica en el organismo diana. Sin embargo, cuando estas sustancias son vertidas a los cuerpos de agua entran en contacto con un sinnúmero de seres vivos, cuya reacción al fármaco es completamente desconocida, representando una seria amenaza para el ambiente [21]. La Tabla 1 muestra algunos de estos procesos.

3. Laguna algal de alta tasa (*High Rate Algal Ponds, HRAP*)

Esta tecnología se inició en pequeñas comunidades rurales, debido a su simplicidad en el funcionamiento y su bajo costo, comparado con la tecnología de lodos activados. Estas lagunas permiten el desarrollo de la biomasa microalgal pues aprovecha todos los nutrientes presentes en el agua residual, así como la eliminación de otros contaminantes. La biomasa se puede comercializar para obtener diversos productos de interés industrial. Lo que ayuda a pagar los gastos de mantenimiento y construcción cuyo beneficio principal es un tratamiento efectivo de las aguas residuales, no solo de origen doméstico sino también a nivel industrial [29]. Estos sistemas aprovechan la capacidad de las microalgas para la fijación de dióxido de carbono, remoción de nitrógeno y fósforo, desarrollo de sustancias antibióticas para la eliminación de patógenos y la retención de metales pesados [30].

Las HRAP presentan alta productividad de biomasa microalgal y en comparación a las lagunas de estabilización poseen alta capacidad para el tratamiento de aguas residuales, esto debido a que su tiempo de retención celular es mayor que el tiempo de retención hidráulico. La mayoría de estos sistemas tienen una medida aproximada de 1 m de profundidad y 3 m de largo. Su forma es abierta y circular, lo que los hace dependientes de las condiciones externas, como el clima. La mezcla de los efluentes se realiza de manera continua y completa. En el caso del tiempo de retención hidráulico es de 2-8 días, mientras que tiempo de retención celular es de 4-13 días [31]. El funcionamiento del HRAP está basado principalmente en la oxidación de la materia orgánica mediante la oxigenación fotosintética proporcionada por las microalgas del sistema, las cuales aprovechan la energía solar y la materia orgánica. El oxígeno liberado durante la fotosíntesis es aprovechado por el resto de los microorganismos que también colaboran en la mineralización de nutrientes como nitrógeno y fósforo. Este sistema evidencia la capacidad de las microalgas para interactuar de manera simbiótica con la flora microbiana, reduciendo los agentes contaminantes del agua en forma conjunta [32].

La tecnología de HRAP, son utilizadas para tratar efluentes que ya pasaron por un tratamiento previo, con el fin de eliminar las sustancias contaminantes que persisten a los métodos convencionales. Esto es consecuencia de la extraordinaria capacidad de las microalgas para asimilar cantidades significativas de nutrientes orgánicos e inorgánicos disueltos, y no solo asimilan nutrientes, también contaminantes de distintas naturaleza [33]. Se han reportado la utilización de HRAP para el tratamiento de efluentes de criaderos de cerdos, donde se alcanzó una eliminación del DQO mayor al 90 % [34]. También se han empleado este sistema para el tratamiento de aguas residuales urbanas en Rabat, Marruecos, evidenciando una alta eficiencia en la eliminación de DQO, nitrógeno y fósforo, de 80, 85 y 63 % respectivamente. Además

se pudo observar la eliminación de 1,23 unidades logarítmicas de coliformes fecales y la completa eliminación de huevos de helmintos [35].

El sistema HRPAs no solo elimina contaminantes a través del mecanismo de asimilación de nutrientes, sino también por la volatilización del amonio generada por los grandes aumentos del pH en el agua, consecuencia de la intensa actividad fotosintética durante el día. Por otro lado, se logra la precipitación del fósforo mediante la unión con algunos cationes polivalentes como hierro, calcio y magnesio [36]. En diversos procesos de remoción de nutrientes inorgánicos con microalgas, el fósforo suele tener el menor rendimiento. Sin embargo, Xu et al. [37] adicionaron un biorreactor de membrana a base de *Chlorella* sp a un sistema HRPAs, logrando una eliminación de hasta un 83,1 % del fósforo presente en el agua. Posteriormente se puede retirar la biomasa de microalgas y con ello el fósforo del agua residual. Este hallazgo permite la optimización de los sistemas de tratamiento de agua, aumentando el nivel de eliminación de fósforo, elemento fundamental para la eutrofización de los cuerpos de agua, y en consecuencia la pérdida de diversidad.

Otro uso que tiene el sistema HRPAs, es su aplicación como sistema secundario para el tratamiento de lixiviados de rellenos sanitarios. A pesar del éxito reportado, se sugiere un tratamiento previo para concentraciones altas de lixiviados, consecuencia de que el medio puede ser tóxico para la biomasa microalgal. Para el desarrollo de este sistema se emplearon *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus quadricauda*, *Euglena gracilis*, *Ankistrodesmus convolutus* y *Chlorococcum oviforme*. Se pudo observar que las microalgas lograron una buena reducción del DQO 91,0 %, nitrógeno amoniacal 99,9 % y fosfatos 86,0 % logrando además la acumulación de metales pesados como zinc, arsénico, cadmio, cobre, cromo y plomo. Sin embargo, la alta bioacumulación de metales en la microalga evita que su biomasa pueda ser empleada como alimento o en biofertilizantes, a pesar de ello es posible emplearla en la fabricación de biocombustibles, o simplemente limitar su uso a la recuperación de estos metales por desorción [38]. El mecanismo mediante el cual la microalgas eliminan metales pesados, consiste en la producción de péptidos, capaces de unirse a los metales, formando compuestos organometálicos que se acumulan en la vacuola con el fin controlar la concentración de iones de metales pesados en el citoplasma ayudando a prevenir o neutralizar los efectos tóxicos potenciales que poseen [39].

La tecnología de HRPAs, se ha desarrollado principalmente en países con variación estacional. Al aplicar estos sistemas es fundamental que se tenga en cuenta las variables ambientales como: temperatura, luz solar disponible, precipitaciones, entre otras. Esto se debe a que son sistemas abiertos cuya dinámica ecológica se ve afectada por el entorno. Algunas modificaciones simples en la operación del estanque como los sistemas operados en serie, generan mayores rendimientos de biomasa microalgal y una mejor calidad del agua residual sin mayores costos de capital operativos [40]. Del mismo modo se ha evidenciado que las microalgas comúnmente empleadas para el desarrollo de estos sistemas corresponden a *Scenedesmus* sp., *Microactinium* sp., *Ankistrodesmus* sp., *Euglena* sp., *Chlamydomonas* sp., *Desmodesmus* sp., *Chlorella* sp., *Dictyosphaerium* sp., y *Pediastrum* sp. [41].

En las aguas residuales domésticas tradicionales, las relaciones de carbono a nitrógeno a fósforo (C: N: P) son 20: 8: 1, mientras que las relaciones C: N: P para microalgas son 50: 8: 1. El carbono adicional necesario para la fotosíntesis de microalgas se suministra a partir de dióxido de carbono libre, que es el principal factor limitante en los HRPAs. Aunque las bacterias en los estanques generan una alta concentración de CO₂, una alta tasa fotosintética puede crear un déficit de CO₂. Se estima que el 30% del carbono total requerido por las microalgas se puede suministrar mediante la incorporación de CO₂ en estos estanques [42].

4. Crecimiento microalga en limitaciones de iluminación

El crecimiento de microalgas en cultivos compuesto por aguas residuales puede verse limitado por la energía de iluminación o la fuente de carbono, esto debido a la gran carga de nutrientes y materia orgánica presente en estos efluentes [43]. El comportamiento del cultivo microalgal con iluminación limitada es diferente cuando la limitación es de nutrientes, en este último, la mayor densidad celular puede lograrse en estado estacionario. La densidad celular es, por lo tanto, constante y no es una función del caudal medio o del tiempo de retención hidráulica (HRT) promedio en el cultivo. En un cultivo con nutrientes limitados, la tasa de crecimiento disminuye y no habrá crecimiento neto de la población a medida que el nutriente limitante se agote [44]. El comportamiento microalgal en condiciones de cultivo discontinuo en aguas residuales presentará un crecimiento exponencial continuo, a medida que aumenta la densidad celular puede producirse solapamiento celular afectando la incidencia de iluminación por lo que la luz se convierte en el factor que limita el crecimiento.

Partiendo de esto, la circulación y rotación de las células en el medio de cultivo representa un factor de importancia para garantizar que un alto porcentaje de las células puedan ser alcanzadas por la intensidad de iluminación. Así, un buen sistema de mezcla y circulación de líquido en el sistema hace que las células no estén en iluminación u oscuridad constante, y por el contrario, alternan esta incidencia de luz para evitar procesos de fotosaturación o fotoinhibición y consecuentemente disminución de procesos metabólicos microalgales. La influencia de los ciclos de luz/oscuridad ha sido reportada como un factor determinante en la actividad fotosintética y en las tasas de crecimiento de las microalgas en sistemas de cultivo [45]. Siendo la luz un sustrato limitante en esos sistemas, los ciclos de luz/oscuridad proporcionan ciertas ventajas metabólicas a las células de microalgas. La producción de biomasa microalgas es proporcional a la intensidad de la luz proporcionada, y por lo tanto constante si la intensidad de la luz es constante.

En cultivos continuos con luz limitada, la densidad celular en estado estacionario será proporcional a la cantidad de fotones capturados durante el HRT promedio. La densidad celular por área, por lo tanto, depende principalmente del HRT y la intensidad de iluminación. A pesar del carácter fotoautotrófico de las microalgas, algunas especies tienen la capacidad de crecer sin luz en fuentes de carbono orgánico en lugar de dióxido de carbono, como ácidos orgánicos, azúcares, acetato o glicerol [46]. Algunos estudios muestran que el carbono orgánico total (TOC) y la DQO pueden reducirse entre un 20 a 50%. De igual forma, durante los ciclos de luz/oscuridad, la concentración celular es menor que la del esquema de iluminación continua, sin embargo, la tasa de eliminación específica de carbono orgánico en ciclos de luz/oscuridad muchas veces es mayor que durante la iluminación continua. Esto muestra que ciertas especies de microalgas presentan metabolismos heterotróficos en los períodos oscuros [47].

5. Producción de pigmento microalgal a partir de residuo agroindustrial

Las principales ventajas del tratamiento de aguas residuales por microalgas, es que no se genera contaminación adicional ya que la biomasa es cosechada y el reciclado eficiente de los nutrientes es posible. Los residuos agroindustriales tienen riesgos químicos bajos, están potencialmente disponibles a gran escala y pueden generar una biomasa, rica en pigmentos naturales y otras biomoléculas [48].

Las microalgas son una fuente de diversas moléculas bioactivas. Estos organismos poseen rutas metabólicas capaces de generar metabolitos primarios y secundarios que pueden ser utilizados para el uso en áreas de la industria química, de alimentos,

farmacéutica, agraria y ambiental [49]. La producción de pigmentos mediante tecnologías eficientes y productivas, viene hacer un punto clave para una comercialización económicamente competitiva.

Entre los tres grupos de pigmentos encontrados en microalgas tenemos: carotenoides, ficobilinas y clorofila. Los carotenoides de microalgas, se han utilizado en propósitos comerciales debido a sus propiedades colorantes y alto poder antioxidante asociado con la prevención del cáncer, la arteriosclerosis, el envejecimiento y las enfermedades degenerativas [50].

El uso de β -caroteno y luteína ha sido de gran importancia en la agroindustria, ya que se ha utilizado con grandes ventajas para la alimentación de las aves de corral debido a su importancia para la coloración amarillo-naranja de la yema de huevo y, para la alimentación en acuicultura [51]. Entre las ventajas de producir carotenoides de origen microalgal, está el hecho de ser un producto natural, a diferencia del β -caroteno sintético, además la producción por microalgas permite la formación de isómeros *trans* y *cis* de carotenoides los cuales proveen amplia ventaja para procesos como antioxidantes [52], por otra parte, los carotenoides naturales pueden ser consumidos en grandes cantidades ya que el organismo regulará su uso [53].

Dunaliella salina fue la primera microalga que se comercializó como una fuente de producto químico de alto valor (aproximadamente USD 300-1500 kg⁻¹) mostrando ciertas ventajas como, la capacidad de crecer en medios altamente salinos lo que evita riesgos de contaminación por otros microorganismos y altos contenidos de β -caroteno [54].

Los carotenoides son productos intracelulares, por lo que su productividad depende de la cantidad de biomasa conseguida, y de factores relacionados con el medio de cultivo, tipo de cepa, y uso de un fotobiorreactor adecuado [55, 56]. La biomasa es el principal bioproducto para la biorefinería de pigmentos de microalgas, en este sentido, muchas iniciativas se han investigado para producir pigmentos futuros a partir de microalgas, sobre todo en una etapa experimental. La Tabla 2 muestra algunos pigmentos generados en el cultivo de microalgas.

Los procesos de producción en base a cultivos heterotróficos tienen un potencial bajo costo de producción, en comparación con la producción convencional de pigmentos por microalgas mediante cultivo fototrófico [54], desde que la materia prima utilizada para alimentar el cultivo es insignificante. Al comparar la producción de ficobiliproteínas y clorofila-a de *Aphanothece microscopica Nägeli* cultivada en sistemas autotróficos y heterotróficos utilizando efluentes de la industria láctea. Se observaron las mayores concentraciones de pigmento en la fase logarítmica: mayores concentraciones de clorofila-a en cultivos autotróficos y predominio de aloficocianina y ficoeritrina en cultivos heterotróficos. Los resultados mostraron el efecto de las variables en estudio para la producción de pigmentos, en la fase de crecimiento logarítmico, lo que indica la posibilidad de producir en sistemas heterotróficos de *Aphanothece microscopica Nägeli*, aproximadamente 3.185 ton/año de biomasa, para 3.127 kg/año clorofila, 232.825 kg/año ficocianina, 47.775 kg/año aloficocianina y 7.008 kg/año ficoeritrina, cuando se utiliza efluente de industria láctea como medio de cultivo [63].

Por lo que la potencialidad de producir pigmentos a partir de cultivos de microalgas utilizando residuos agroindustriales, puede considerarse como una plataforma emergente para la obtención de estos productos. Se sabe que especies de *Spirulina* pueden acumular hasta 0,8 a 1,0% p/p de β -caroteno. Especies de *Dunaliella salina* y

D. bardawil, está entre los principales organismos portadores de carotenoides, proporcionando en condiciones ideales, rendimientos de 400 mg β -caroteno/m² [64].

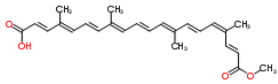
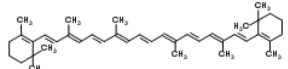
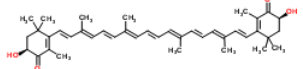
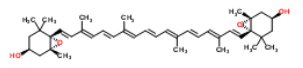
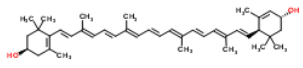
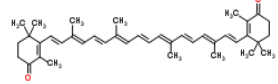
Pigmento	Estructura química	Microalgal representatives	Application	Ref.
Bixina		<i>Dunaliella salina</i>	Colorante, aditivo de alimentos	[57]
β -Caroteno		<i>Botryococcus braunii</i> , <i>Dunaliella salina</i> , <i>Dunaliella bardawil</i>	Antioxidante, aditivo alimenticio	[57]
Astaxantina		<i>Haematococcus pluvialis</i>	Antioxidante, aditivo alimenticio para salmón.	[58]
Violaxantina		<i>Dunaliella Tertiolecta</i> , <i>Botryococcus braunii</i> , <i>Nannochloropsis sp.</i>	Aditivo alimenticio, antitumoral	[59]
Luteina		<i>Chlorella sorokiniana</i> , <i>Dunaliella tertiolecta</i>	Aditivo alimenticio, antitumoral, antioxidante, conseguir cambios en la pigmentación de tejido animal.	[60,61]
Cantaxantina		<i>Nannochloropsis sp</i>	Aditivo alimenticio como colorante para salmón, y pollos	[62]

Tabla 2. Estructura química de pigmentos de microalgas y aplicaciones.

De igual forma, las investigaciones en cepas poco estudiadas para este fin, han evidenciado resultados prometedores, así Rodrigues et al. [65] cultivaron cepas de *Phormidium autumnale* en cultivo heterotrófico utilizando agua residual de matadero como medio de cultivo. Un total de (70,22 $\mu\text{g g}^{-1}$) de trans- β -caroteno, (26,25 $\mu\text{g g}^{-1}$) trans-zeaxantina, (21,92 $\mu\text{g g}^{-1}$) trans-luteina, (19,87 $\mu\text{g g}^{-1}$) trans-echinenona y (15,70 $\mu\text{g g}^{-1}$) cis-echinenona fueron separados de la biomasa microalgal, mostrando la posibilidad de obtener 107902,5 kg/año de carotenoide a escala industrial.

La aplicación del concepto de biorrefinería microalgal utilizando residuos agroindustriales, podría significar importantes oportunidades para el uso sostenible de los recursos. Siempre habrá conversión de contaminantes disueltos en las aguas residuales, contribuyendo a mejorar el medio ambiente durante el proceso productivo una vez que se dé la estabilización de los compuestos para la descarga en cuerpos de agua.

6. Consideraciones finales

El tratamiento de aguas residuales constituye un proceso fundamental para mantener un equilibrio ecológico, sanitario adecuado a las normativas establecidas. La

sostenibilidad, eficiencia y economía en el tratamiento de aguas residuales es hoy en día una opción que se persigue alcanzar. El tratamiento biológico de las aguas residuales con microalgas proporciona ventajas económicas y ambientales al proceso de operación. En los últimos años, el interés en el uso de microalgas en el tratamiento de aguas residuales ha aumentado debido a la capacidad de evitar el uso de aireación en el proceso por la simbiosis microalgas y bacterias, así como por la generación de bioproductos que proporcionan valor agregado durante el bioproceso. La implementación de sistemas algales de alta tasa en el tratamiento de aguas residuales puede proveer tratamientos terciarios eficientes y de bajo costo. A su vez, es posible utilizar la biomasa de microalgas para la biofixación de CO₂ y con ello ayudar a mantener la huella de carbono. Todo esto genera un proceso autosustentable que proporciona ventajas para el ambiente y la industria beneficiando la calidad de vida en el planeta.

7. Referencias

- [1] Droste R.L. Theory and Practice of Water and Wastewater Treatment. New York, NY: JohnWiley and Sons; 1997.
- [2] Muylaert K., Beuckels A., Depraetere O., Foubert I., Markou G., Vandamme D. Wastewater as a source of nutrients for microalgae biomass production. In: Moheimani N., McHenry M., de Boer K., Bahri P. (eds). Biomass Biofuels from Microalgae. Springer; 2015, p.75–94. Cham, Switzerland. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-16640-7>.
- [3] George T., Franklin L., Stensel H.D. Wastewater Engineering: Treatment and Reuse. New York, NY: Metcalf and Eddy, Inc; 2003.
- [4] Praveen P., Loh K.C. Photosynthetic aeration in biological wastewater treatment using immobilized microalgae-bacteria symbiosis. Applied microbiology and biotechnology 2015; 99(23):10345-10354. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-015-6896-3>.
- [5] Koller M., Muhr A., Braunegg G. Microalgae as versatile cellular factories for valued products. Algal Research 2014; 6:52-63. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2014.09.002>.
- [6] Wang Y., Ho S., Cheng C., Guo W., Nagarajan D., Ren N., Lee D., Chang J. Perspectives on the feasibility of using microalgae for industrial wastewater treatment. Bioresource Technology 2016; 222:485-497. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.09.106>.
- [7] Jacob-Lopes E., Ramírez-Mérida L.G., Queiroz M.I., Zepka L.Q. Microalgal Biorefineries. In: Jacob-Lopes E., Zepka L. (eds.) Biomass. InTech; 2015, p.81-106. Rijeka, Croatia. <https://doi.org/10.5772/59969>.
- [8] Bhatnagar A., Bhatnagar M., Chinnasamy S., Das K.C. *Chlorella minutissima*—a promising fuel alga for cultivation in municipal wastewaters. Applied Biochemistry and Biotechnology 2010; 161:523–536. <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8771-0>.
- [9] Solé A., Matamoros V. Removal of endocrine disrupting compounds from wastewater by microalgae co-immobilized in alginate beads. Chemosphere 2016; 164:516-523. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.08.047>.

- [10] Shi J., Podola B., Melkonian M. Application of a prototype-scale Twin-Layer photobioreactor for effective N and P removal from different process stages of municipal wastewater by immobilized microalgae. *Bioresource Technology* 2014; 154:260-266. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.11.100>.
- [11] Su Y., Mennerich A., Urban B. Municipal wastewater treatment and biomass accumulation with a wastewater-born and settle able algal-bacterial culture. *Water Research* 2011; 45:3351–3358. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.03.046>.
- [12] Ajonina C., Buzie C., Rubiandini R.H., Otterpohl R. Microbial Pathogens in Wastewater Treatment Plants (WWTP) in Hamburg. *Journal of Toxicology and Environmental Health A* 2015; 78(6):381-7. <https://doi.org/10.1080/15287394.2014.989626>.
- [13] Spietz R.L., Williams C.M., Rocap G., Horner-Devine M.C. A Dissolved Oxygen Threshold for Shifts in Bacterial Community Structure in a Seasonally Hypoxic Estuary. *PLoS One* 2015; 10(8):e0135731. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135731>.
- [14] Villena J.A. Calidad del agua y desarrollo sostenible. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica* 2018; 35(2) <http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2018.352.3719>.
- [15] Pereira A., Freitas D. Uso de micro-organismos para a biorremediação de ambientes impactados. *REGET* 2012; 6(6).
- [16] Weber B.D., Santos A.A. Utilização da biorremediação como ferramenta para o controle da degradação ambiental causada pelo petróleo e seus derivados. *Engenharia Ambiental - Espírito Santo do Pinhal* 2013; 10(1):114-133.
- [17] Oswald W.J. The high-rate pond in waste disposal. *Developments in industrial microbiology* 1963; 4:112-119.
- [18] Ramírez-Mérida L.G., Zepka L.Q., Menezes C.R., Jacob-Lopes E. Microalgae as Nanofactory for Production of Antimicrobial Molecules. *Journal Nanomedicine & Nanotechnology* 2015; S6-004. <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7439.S6-004>.
- [19] Ramírez-Mérida L.G., Menezes C., Zepka L.Q., Jacob-Lopes E. Microalgas: potencial para la producción de compuestos bioactivos nanoencapsulados. *Ciência e Natura* 2015; 37:7-17. <http://dx.doi.org/10.5902/2179-460X19690>.
- [20] Bilotta L. Implantação de um laboratório de análise da qualidade da água e efluentes de uma indústria farmacêutica. *Revista Gestão Industrial* 2014; 10(2):393-405. <http://dx.doi.org/10.3895/S1808-04482014000200009>.
- [21] Escapa C., Coimbra R., Paniagua S., García A., Otero M. Comparative assessment of diclofenac removal from water by different microalgae strains. *Algal Research* 2016; 18:127-134. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2016.06.008>.
- [22] Streit N., Ramírez Mérida L., Zepka L.Q., Jacob-Lopes E., Queiroz M.I. Producción de pigmentos naturales (clorofila-a) en biorrefinerías agroindustriales. *Ciencia y Tecnología* 2015; 8(2):27-34. <http://dx.doi.org/10.18779/cyt.v8i2.201>.
- [23] Lv J., Liu Y., Feng J., Liu Q., Nan F., Xie S. Nutrients removal from undiluted cattle farm wastewater by the two-stage process of microalgae-based wastewater treatment.

Bioresource Technology 2018; 264:311–318. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2018.05.085>.

[24] Nogueira S., Souza J., Maia H., Saboya J., Farias W. Use of *Spirulina platensis* in treatment of fish farming wastewater. Revista Ciência Agronômica 2018; 49(4):599-606. <https://dx.doi.org/10.5935/1806-6690.20180068>.

[25] Pena A., Fontoura J., Trierweiler L., Gutterres M. Estudo de um consórcio de microalgas na remoção de nutrientes de efluentes de curtume. Revista eletrônica científica da UERGS 2017; 3(4):743-752. <https://doi.org/10.21674/2448-0479.34.743-752>.

[26] Silveira E., Wink M., Zappe A., Kist L., Machado Ê. Sistema integrado com microalgas e wetland construído de fluxo vertical no tratamento de efluentes urbanos. Engenharia Sanitaria e Ambiental 2019; 24(2):305-313. <https://doi.org/10.1590/s1413-41522019161655>.

[27] Nascimento R., Fernandes M., Santana H., Cereijo C., Garcia L., Siqueira F., Brasil B. Avaliação do cultivo de microalgas em fotobiorreatores de placas planas para a produção de biomassa e biorremediação de efluente da agroindústria de óleo de palma. Processos Bioquímicos 2016; p. 103-109.

[28] Ortiz-Villota M., Romero-Morales M., Meza-Rodríguez L. La biorremediación con microalgas (*Spirulina máxima*, *Spirulina platensis* y *Chlorella vulgaris*) como alternativa para tratar la eutrofización de la laguna de Ubaque, Colombia. Revista de Investigación, Desarrollo e Innovación 2018; 9(1):163-176. <https://dx.doi.org/10.19053/20278306.v9.n1.2018.8153>.

[29] Villar-Navarro E., Baena-Nogueras R., Paniw M., Perales J., Lara-Martín P. Removal of pharmaceuticals in urban wastewater: High rate algae pond (HRAP) based technologies as an alternative to activated sludge based processes. Water Research 2018; 139:19-29. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.03.072>.

[30] Park J., Craggs R. Nutrient removal in wastewater treatment high rate algal ponds with carbon dioxide addition. Water Science & Technology 2011; 63(8):1758-1764. <https://doi.org/10.2166/wst.2011.114>.

[31] Arcila J., Buitrón G. Microalgae–bacteria aggregates: effect of the hydraulic retention time on the municipal wastewater treatment, biomass settleability and methane potential. Journal of Chemical Technology & Biotechnology 2016; 91(11). <https://doi.org/10.1002/jctb.4901>.

[32] Cerón V., Madera C., Peña M. Uso de lagunas algales de alta tasa para tratamiento de aguas residuales. Ingeniería y Desarrollo 2015; 33(1):98-125. <https://dx.doi.org/10.14482/inde.33.1.5318>.

[33] Gutiérrez R., Ferrer I., González-Molina A., Salvadó H., García J., Uggetti E. Microalgae recycling improves biomass recovery from wastewater treatment high rate algal ponds. Water Research 2016; 106(1):539-549. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.10.039>.

[34] Aguirre P., Álvarez E., Ferrer I., García J. Treatment of piggery wastewater in experimental high rate algal ponds. Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal 2011; 2(2):57-66.

- [35] El Hamouri B. Rethinking natural, extensive systems for tertiary treatment purposes: The high-rate algae pond as an example. *Desalination and water treatment* 2009; 4(1-3):128-134. <https://doi.org/10.5004/dwt.2009.367>.
- [36] Sukačová K., Červený J. Can algal biotechnology bring effective solution for closing the phosphorus cycle? Use of algae for nutrient removal - review of past trends and future perspectives in the context of nutrient recovery. *European Journal of Environmental Sciences* 2017; 7(1):63–72. <https://doi.org/10.14712/23361964.2017.6>.
- [37] Xu M., Bernards M., Hu Z. Algae-Facilitated chemical phosphorus removal during high-density *Chlorella emersonii* cultivation in a membrane bioreactor. *Bioresource technology* 2014; 153:383-387. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.026>.
- [38] Mustafa E.M., Phang S.M., Chu W.L. Use of an algal consortium of five algae in the treatment of landfill leachate using the high-rate algal pond system. *Journal of Applied Phycology* 2012; 24(4):953-963. <https://doi.org/10.1007/s10811-011-9716-x>.
- [39] Priya M., Gurung N., Mukherjee K., Bose S. Microalgae in Removal of Heavy Metal and Organic Pollutants from Soil. *Microbial Biodegradation and Bioremediation* 2014; 23:519-537. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800021-2.00023-6>.
- [40] Sutherland D., Park J., Ralph P., Craggs R. Improved microalgal productivity and nutrient removal through operating wastewater high rate algal ponds in series. *Algal Research* 2020; 47:101850. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101850>.
- [41] Cho D., Choi J., Kang Z., Kim B., Oh H., Kim H., Ramanan R. Microalgal diversity fosters stable biomass productivity in open ponds treating wastewater. *Scientific Reports* 2017; 7:1979. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02139-8>.
- [42] Craggs R., Lundquist T., Benemann J. Wastewater treatment and algal biofuel production. In: Borowitzka M., Moheimani N. (eds). *Algae for Biofuels and Energy*. Springer; 2013, p.153-163. Murdoch, Australia. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-5479-9>.
- [43] Kang D., Kim K., Heo T., Kwon G., Lim C., Park J. Inhibition of Photosynthetic Activity in Wastewater-Borne Microalgal–Bacterial Consortia under Various Light Conditions. *Sustainability* 2019; 11: 2951. <https://doi.org/10.3390/su11102951>.
- [44] James I., Yoon L., Chow Y. Effect of phosphorus-limited nutrients on growth and glucose production from microalgae. *AIP Conference Proceedings* 2019; 2137:020005. <https://doi.org/10.1063/1.5120981>.
- [45] Janssen M., de Bresser L., Baijens T., Tramper J., Mur L.R., Snel J.F.H., Wijffels R.H. Scale-up aspects of photobioreactors: Effects of mixing-induced light/dark cycles. *Journal of Applied Phycology* 2000; 12:225–237. <https://doi.org/10.1023/A:1008151526680>.
- [46] Choi H., Lee S. Advances in microalgal biomass/bioenergy production with agricultural by-products: Analysis with various growth rate models. *Environmental Engineering Research* 2019; 24(2):271-278. <https://doi.org/10.4491/eer.2018.193>.
- [47] Lee K., Lee C. Effect of Light/Dark Cycles on Wastewater Treatments by Microalgae. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 2001; 6(3):194-199 <https://doi.org/10.1007/BF02932550>.

- [48] Durvasula R., Hurwitz I., Fieck A., Subba D. Culture, growth, pigments and lipid content of *Scenedesmus* species, an extremophile microalga from Soda Dam, New Mexico in wastewater. *Algal Research* 2015; 10:128-133. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.04.003>.
- [49] Zhu L. Biorefinery as a promising approach to promote microalgae industry: An innovative framework. *Renewable & Sustainable Energy Reviews* 2015; 41:1376-1384. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.09.040>.
- [50] Raposo M., Morais R., Morais A. Health applications of bioactive compounds from marine microalgae. *Life Sciences* 2013; 93:479-486. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2013.08.002>.
- [51] Yaakob Z., Ali E., Zainal A., Mohamad M., Takriff M.S. An overview: biomolecules from microalgae for animal feed and aquaculture. *Journal of Biological Research (Thessaloniki)* 2014; 21:6 <https://doi.org/10.1186/2241-5793-21-6>.
- [52] Guedes A., Amaro H., Malcata F. Microalgae as Sources of Carotenoids. *Marine Drugs* 2011; 9(4):625–644. <https://doi.org/10.3390/md9040625>.
- [53] Dufossé L., Galaup P., Yaron A., Arad S., Blanc P., Chidambara K., Ravishankar G. Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use: a scientific oddity or an industrial reality? *Trends in Food Science & Technology* 2005; 16:389–406. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.02.006>.
- [54] Borowitzka M. High-value products from microalgae-their development and commercialization. *Journal Applied Phycology* 2013; 25:743–756. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-9983-9>.
- [55] Ramírez-Mérida L.G., Zepka L.Q., Jacob-Lopes E. Why does the Photobioreactors Fail? *Journal of Bioprocessing & Biotechniques* 2015; 5:7. <https://doi.org/10.4172/2155-9821.1000239>.
- [56] Ramírez-Mérida L.G., Zepka L.Q., Jacob-Lopes E. Current Status, Future Developments and Recent Patents on Photobioreactor Technology. *Recent Patents Engineering* 2015; 9(2):80-90. <https://doi.org/10.2174/1872212109666150206235316>.
- [57] Cardozo K., Guaratini T., Barros M., Falcão V., Tonon A., Lopes N., Campos S., Torres M., Souza A., Colepicolo P., Pinto E. Metabolites from algae with economical impact. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology & Pharmacology* 2007; 146(1):60–78. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2006.05.007>.
- [58] Wan M., Zhang Z., Wang J., Huang J., Fan J., Yu A., Wang W., Li Y. Sequential Heterotrophy–Dilution–Photoinduction Cultivation of *Haematococcus pluvialis* for efficient production of astaxanthin. *Bioresource Technology* 2015; 198:557-563. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.09.031>.
- [59] Pasquet V., Chérouvrier J., Farhat F., Thiéry V., Piot J., Bérard J., Kaas R., Serive B., Patrice T., Cadoret J., Picot L. Study on the microalgal pigments extraction process: performance of microwave assisted extraction. *Process Biochemistry* 2011; 46:59–67. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.07.009>.
- [60] Chen C., Hsieh C., Lee D., Chang C., Chang J. Production, extraction and stabilization of lutein from microalga *Chlorella sorokiniana* MB-1. *Bioresource Technol* 2016; 200:500-505. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.10.071>.

- [61] Chagas A., Rios A., Jarenkow A., Marcílio N., Ayub M., Rech R. Production of carotenoids and lipids by *Dunaliella tertiolecta* using CO₂ from beer fermentation. *Biochemistry* 2015; 50(6):981-988. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2015.03.012>.
- [62] Nobre B., Villalobos F., Barragán B., Oliveira A., Batista A., Marques P., Mendes R., Sovová H., Palavra A., Gouveia L. A biorefinery from *Nannochloropsis* sp. microalga – Extraction of oils and pigments. Production of biohydrogen from the leftover biomass. *Bioresource Technology* 2013; 135:128-136. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.084>.
- [63] Streit N., Ramírez Mérida L., Zepka L., Jacob-Lopes E., Queiroz M. Producción de pigmentos por *Aphanothece microscopica Nägeli* a partir de residuos industriales lácteos. *Ingeniare* 2017; *Revista chilena de ingeniería* 25(2):350-358. <https://doi.org/10.4067/S0718-33052017000200350>.
- [64] Flassig R., Fachet M., Rihko-Struckmann L., Sundmacher K. Robust process design for the bioproduction of β -carotene in green microalgae. *Computer Aided Chemical Engineering* 2015; 37:2117-2122.
- [65] Rodrigues D., Flores É., Barin J., Mercadante A., Jacob-Lopes E., Zepka L. Production of carotenoids from microalgae cultivated using agroindustrial wastes. *Food Research International* 2014; 65(B):144–148. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.06.037>.

Autor

Luis Guillermo Ramírez Mérida*

Centro de Biotecnología Aplicada, Departamento de Biología, Universidad de Carabobo, Campus Bárbula. Naguanagua. Código postal 2005. Carabobo, Venezuela.

* Autor de correspondencia: lgramire@uc.edu.ve / luisguillermolgrm@gmail.com

CAPÍTULO 3

Efecto de *Trichoderma* spp. sobre el desarrollo de plántulas de *Capsicum annuum* L. (pimentón) y el biocontrol del hongo fitopatógeno *Sclerotium* sp.

Elisa Peña-Tovar, Domenico Pavone-Maniscalco

<http://dx.doi.org/10.4322/mp.2020.001.03>

Resumen

El cultivo de pimentón es un rubro altamente influenciado por plagas y enfermedades, siendo el *Sclerotium* spp de los patógenos más problemáticos. Este trabajo pretende aportar metodologías biológicas para controlar esta enfermedad a través del uso del hongo antagonista *Trichoderma* sp. y promover su desarrollo. Se realizaron ensayos *in vitro*, enfrentando al patógeno con las cepas de *Trichoderma* spp. por separado y ensayos de vivero. En los enfrentamientos *in vitro* se obtuvo un control del patógeno superior al 90 % con todas las cepas de *Trichoderma* estudiadas. Asimismo, promovieron mayor desarrollo radical y foliar en las plantas. De esta forma, los datos sugieren un efecto benéfico de las cepas de *Trichoderma* spp sobre el desarrollo del cultivo del pimentón. Estudios más profundos a nivel de campo podrían corroborar estos efectos, convirtiendo así a *Trichoderma* en una alternativa a ser incorporada en los programas de manejo integrado.

Palabras clave: Control biológico, *T. asperellum*, *T. harzianum*, *T. reesei*.

1. Introducción

La producción del pimentón (*Capsicum annuum* L.) es influenciada por factores bióticos y abióticos, siendo las plagas y enfermedades algunos de los más importantes, incluyendo: hongos como *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani*, *Verticillium dahliae*, *Colletotrichum*, *Leveillula taurica*, *Fusarium* spp., bacterias como *Xanthomonas* spp, virus, nemátodos e insectos [1]. En el Municipio Cocorote del Estado Yaracuy, Venezuela, se ha observado la presencia de una patología que afecta los rendimientos del pimentón. El agente causal de la sintomatología ha sido identificado como *Sclerotium* sp., siendo este género muy importante como enfermedad del pimentón [2]. Entre los tratamientos utilizados para controlar a este fitopatógeno está *Trichoderma* spp. [3] que además es capaz de ejercer efectos benéficos sobre la fisiología de plantas de *C. annuum* [4,5].

Las especies del género *Trichoderma* poseen varios mecanismos para ejercer su efecto benéfico sobre los cultivos, descritos por Benítez et al., [6]: (a) La competencia, ocurre entre dos organismos que requieren el mismo recurso y el uso por uno reduce la cantidad disponible para el otro. (b) El micoparasitismo, considerado uno de los principales mecanismos involucrados en el antagonismo de *Trichoderma* como agente biocontrolador, donde el antagonista desarrolla un crecimiento hacia el patógeno, cubriendo a este o formando estructuras similares a ganchos o apresorios en la superficie del hospedador que le permiten penetrar al interior del patógeno. (c) La

antibiosis, un mecanismo que se da a través de la producción de pequeñas moléculas tóxicas volátiles o no, produciendo un efecto adverso sobre el desarrollo del patógeno. (d) Promoción del crecimiento vegetal, el cual se manifiesta desde las primeras fases de la plántula, y que le confiere mayores ventajas a la hora del trasplante. También, se asocia a las raíces de la planta proporcionándole un mayor vigor y crecimiento [7] y a la resistencia sistémica inducida contra patógenos en plantas, ya que aplicadas a la rizósfera, producen protección contra patógenos del suelo o foliares [8].

De esta forma, la aplicación de *Trichoderma* en el cultivo de pimentón podría ser una herramienta no solo para el control de hongos fitopatógenos en el cultivo, sino como tratamiento integral para aumentar los rendimientos. Este trabajo propone a los productores de pimentón, un tratamiento con base en *Trichoderma* spp. que les permita controlar al hongo fitopatógeno y aumentar sus rendimientos.

2. Materiales y Métodos

2.1. Material biológico

Se utilizaron tres aislados de *Trichoderma* spp, *T. harzianum* (TV72), *T. asperellum* (TV190) y *T. reesei* (TV219) identificadas molecularmente [9] y preservadas en el Centro de Biotecnología Aplicada, Departamento de Biología, FACYT-UC, Venezuela. También se utilizó un aislado de *Sclerotium* sp obtenido a partir de plantas de pimentón enfermas del Fundo La Pardillera, Municipio Cocorote, Estado Yaracuy, Venezuela. Todos los aislados son mantenidos en el laboratorio por subcultivo alternado en medio agar papa dextrosa (PDA) y suelo estéril. Finalmente, se utilizaron semillas de pimentón tipo California sin tratamiento químico, obtenidos a partir de frutos del mercado local.

2.2. Cultivos duales *Trichoderma-Sclerotium*

En placas de petri con medio PDA, se procedió a sembrar un esclerocio de *Sclerotium* sp en un extremo de la misma a 1,5 cm del borde y un disco con micelio y esporas de cada cepa *Trichoderma* spp por separado en el lado opuesto por quintuplicado. Se realizaron registros fotográficos de cada placa diariamente con una hoja de papel milimetrado como fondo para determinar las áreas de las colonias de cada hongo con el Programa *ImageTool for windows* v 3.0 (The University of Texas Health Science Center). Las mediciones se realizaron diariamente por una semana y se expresaron como el área de la colonia del patógeno (cm²).

2.3. Ensayos de vivero con *C. annuum*

En vasos plásticos de 250 mL de capacidad se procedió a sembrar semillas de *C. annuum* en tierra abonada estéril. Previamente a la siembra, las semillas fueron sumergidas por dos horas en una suspensión de cada cepa de *Trichoderma* spp. (10⁷ esporas/mL) por separado. Posteriormente, se secaron al aire y se procedió a la siembra de las mismas. Una vez emergidas las plantas se realizaron reinoculaciones semanales de *Trichoderma* spp, aplicando 10 mL de una suspensión del hongo (10⁶ esporas/mL) en la base de la planta. Los grupos de plantas así sembradas fueron usadas en los ensayos de vivero de biocontrol, resistencia, crecimiento y tolerancia a la sequía.

2.4. Biocontrol de *Sclerotium* sp en condiciones de vivero

A plantas de *C. annuum* con crecimiento de 30-40 días después de la siembra (dds) se les colocó dos esclerocios de *Sclerotium* sp en la base del tallo, previamente

sumergidos en suspensiones de cada cepa de *Trichoderma* spp (10^6 esporas/mL) por separado. Se utilizaron 30 plantas por tratamiento y un control sin la aplicación de *Trichoderma* spp., donde los esclerocios fueron sumergidos en agua destilada. Diariamente se determinó el número de plantas infectadas.

2.5. Efecto de *Trichoderma* spp sobre el crecimiento de plantas de *C. annuum*

A las plantas de *C. annuum* se les determinó semanalmente la altura de la planta y número de hojas, y al final del ensayo la biomasa seca tanto radical como aérea. Las raíces fueron separadas del material edáfico a través de lavados con agua corriente. Para la medida de biomasa seca, cada planta fue colocada en estufa (60°C) por separado hasta peso constante. Los resultados se expresaron como altura (cm), biomasa seca aérea y radical (mg).

2.6. Análisis estadísticos

Los datos fueron analizados a través de un análisis de varianza (ANOVA) y de comparación de medias (Prueba de Tukey), para corroborar la presencia de diferencias significativas entre los tratamientos. Los datos que no cumplieron con los supuestos del ANOVA se les aplicaron una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Para ello se utilizó el programa Statistix v 7.0.

3. Resultados y Discusión

3.1. Cultivos duales *Trichoderma*-*Sclerotium*

El primer paso en la búsqueda de una cepa capaz de controlar a *Sclerotium* sp es el cultivo dual. Hay que destacar que un resultado de control positivo en esta prueba no es garantía de un control eficiente en campo, debido a que las condiciones ambientales no son las mismas. El desarrollo de ambos hongos sobre la placa establecerá una competencia por el espacio y recursos así como posibles efectos parasíticos y de antibiosis.

En la Tabla 1 se puede observar el crecimiento (área de la colonia) de *Sclerotium* sp en presencia de cepas de *Trichoderma* spp. En el control, el crecimiento de *Sclerotium* sp no está limitado por ningún factor más que los nutrientes del medio y el espacio disponible en la placa de petri. Antes de alcanzar los cuatro días de ensayo, las colonias de ambos hongos no han entrado en contacto, por lo que al analizar las áreas de las colonias de *Sclerotium* antes de alcanzar este tiempo, es posible verificar la acción de sustancias antagónicas volátiles o difusibles en el agar producidas por *Trichoderma* spp, si se observan disminuciones en el crecimiento del patógeno en comparación con el control sin *Trichoderma* spp.

A las 24 y 72 horas puede apreciarse que no se encontraron diferencias significativas para el área promedio de *Sclerotium* sp. Sin embargo, a partir de las 96 horas el crecimiento del patógeno se redujo en todos los tratamientos donde se confrontó con *Trichoderma* spp, siendo el área de la colonia en el control de 16,79 cm² y con TV72, TV190 y TV219 de 7,63; 7,47 y 9,05 cm², respectivamente; con diferencias significativas entre estos y el control ($p=0$). Una vez ocurrido el contacto entre las colonias, las disminuciones en el tamaño de *Sclerotium* sp, no pueden atribuirse en su totalidad a la producción de sustancias antagónicas volátiles o difundibles en el agar, debido a que otros parámetros físicos podrían estar involucrados.

Al final del ensayo (164 h) puede apreciarse que esta tendencia se mantiene, siendo las cepas TV72 y TV190, las que más inhibieron el crecimiento del patógeno. Para

corroborar relaciones micoparasíticas entre los aislados es necesario realizar determinaciones adicionales como actividades enzimáticas relacionadas con el micoparasitismo, observación de enrollamiento de hifas al microscopio, entre otras.

Área de la colonia de <i>Sclerotium</i> sp (cm ²)						
Cepa	24h	72h	96h	120h*	144h*	164h*
Sc Control	0,13±0,04 ^a	0,19±0,01 ^a	16,37±0,92 ^a	55,66±2,2 ^a	86,52±1,01 ^a	86,63±0,93 ^a
Sc - TV72	0,29±0,14 ^a	0,65±0,2 ^a	7,63±1,78 ^c	12,45±0,86 ^c	12,22±1,77 ^c	10,38±1,46 ^c
Sc - TV190	0,17±0,03 ^a	0,7±0,13 ^a	7,47±1,05 ^c	15,20±1,66 ^c	12,76±0,77 ^c	8,91±1,4 ^c
Sc - TV219	0,3±0,29 ^a	0,84±0,22 ^a	9,05±1,71 ^b	31,87±7,83 ^b	27,03±5,82 ^b	46,97±10,31 ^b

Tabla 1. Crecimiento de *Sclerotium* sp en placas con medio PDA enfrentado o no con *Trichoderma* spp. Los datos presentados son el promedio de cinco repeticiones y el error estándar. Los tratamientos con la misma letra no presentan diferencias significativas entre sí.

(*)Colonias del patógeno y *Trichoderma* en contacto.

Los mecanismos por los que las cepas del género *Trichoderma* spp desplazan al fitopatógeno no son excluyentes uno del otro sino que actúan sinérgicamente en el control de los patógenos [4]. Uno de los mecanismos más estudiados sobre el antagonismo de *Trichoderma* spp. es el micoparasitismo, durante el cual el antagonista se desarrolla a expensas del hongo patógeno [10]. Algunos autores señalan que tanto *T. harzianum* como *T. asperellum* presentan un sistema de producción de enzimas de tipo quitinolíticas (quitinasas y glucanasas), capaces de degradar los polisacáridos presentes en las paredes de los fitopatógenos logrando invadir sus tejidos y causando la estrangulación de sus estructuras reproductivas [11].

Los resultados de inhibición obtenidos concuerdan con lo reportado por Hoyos et al., [3], cuando lograron inhibir el crecimiento de los patógenos *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* a los 7 y 8 días de tratamiento al realizar pruebas *in vitro* con 7 cepas de *T. asperellum* y 1 de *T. longibrachiatum*. Malhotra et al., [12] señala que el poder antagónico de *T. harzianum* frente al patógeno se produce poco después de ponerse en contacto con el antagonista, atribuyéndose esto al proceso de enrollado, seguido de una considerable producción de enzimas hidrolíticas (parámetros no determinados en este trabajo), que llevan a un proceso micoparasítico. Aunado a esto, Michele-Aceves et al., [13] indican que mientras mayor sea la concentración enzimática producida por los antagonistas mayor será el resultado inhibitorio de las cepas. Si se logra evidenciar un sinergismo positivo entre la actividad gluconolítica y quitinolíticas mayor será el poder de *Trichoderma* en degradar las paredes de los patógenos.

La forma en que *Trichoderma* probablemente inhibe el crecimiento radial, aun estando a distancia del patógeno, está mediada por diversos mecanismos, destacándose la producción de compuestos inhibitorios al medio o volátiles, tal como lo sugieren Duran et al., [14].

T. asperellum ha sido reportado como un excelente antagonista de muchos hongos patógenos, reportándose la producción de enzimas de tipo quitinolíticas, 1,3-glucanasas, 1,6-glucanasas, celulasas y proteasas [15]. Este hongo también puede inducir resistencia sistémica contra patógenos foliares y colonizar endofíticamente la epidermis y la corteza exterior de las radículas o de tallos y hojas [7], quienes demostraron el poder antagónico de *T. asperellum* frente a patógenos como *R. solani*

y *Botrytis cinerea*, logrando inhibir su crecimiento en un 70% y 100% en tan solo 72 horas.

A pesar que *Trichoderma reesei* no ha sido reportado como un hongo antagonista de fitopatógenos, sino más bien un gran productor de enzimas celulasas para la industria [16], nuestros ensayos mostraron que es capaz de inhibir el crecimiento de *Sclerotium* sp durante las primeras 96 horas, disminuyendo el desarrollo del patógeno. Sin embargo, esta capacidad de inhibición no fue tan marcada como en TV72 y TV190.

3.2. Efecto de *Trichoderma* spp. sobre el crecimiento de plantas de *C. annuum*

Diversos factores son los que influyen en el crecimiento y desarrollo de las plantas, siendo *Trichoderma* spp capaz de promoverlo [5], especialmente los relacionados al incremento en el crecimiento tanto del tipo foliar como radical y mejorando sus rasgos fisiológicos [17].

Los resultados del crecimiento de plantas de pimentón con presencia o no de *Trichoderma* spp, se muestran en las Figuras 1, 2 y 3. En la Figura 1, puede apreciarse los resultados referentes a la altura de la planta luego de 5 semanas de estudio, siendo los tratamientos con las tres cepas de *Trichoderma* spp, los que mejores resultados arrojaron en comparación con el control. Así, los valores de crecimiento de las plantas de *C. annuum* fueron de 3,43; 3,67; 3,23 y 2,23 para TV72, TV190, TV219 y el control, respectivamente; con diferencias significativas entre TV72 y TV190 con el control ($P=0,0066$).

En la Figura 2, se muestran los resultados obtenidos de biomasa seca radical de *C. annuum*, cuando es crecida en presencia o no de *Trichoderma* spp, evidenciándose el efecto positivo del antagonista sobre las plantas, siendo la cepa con mayor efecto la TV190 con 14,66 mg; seguida de TV72 con 10,5 mg; TV219 con 9,85 mg y el control con 7 mg, existiendo diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0$). En el caso de la biomasa aérea (Figura 3), aunque el mayor valor se encontró usando la cepa TV190 (17,5 mg) en comparación con el control (12,1 mg), no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0,25$).

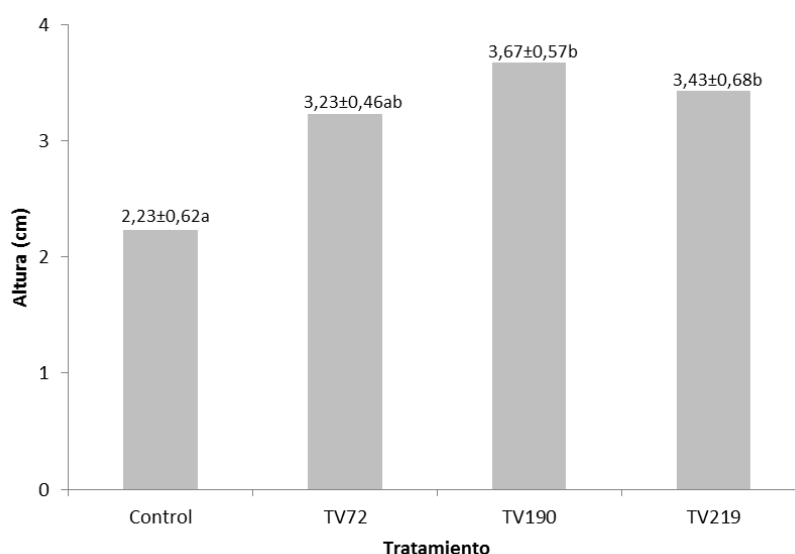


Figura 1. Efecto de *Trichoderma* spp sobre la altura de las plantas de *C. annuum*. Los tratamientos con la misma letra no son significativamente distintos entre sí. TV72: *T. harzianum*, TV190: *T. asperellum*, TV219: *T. reesei*.

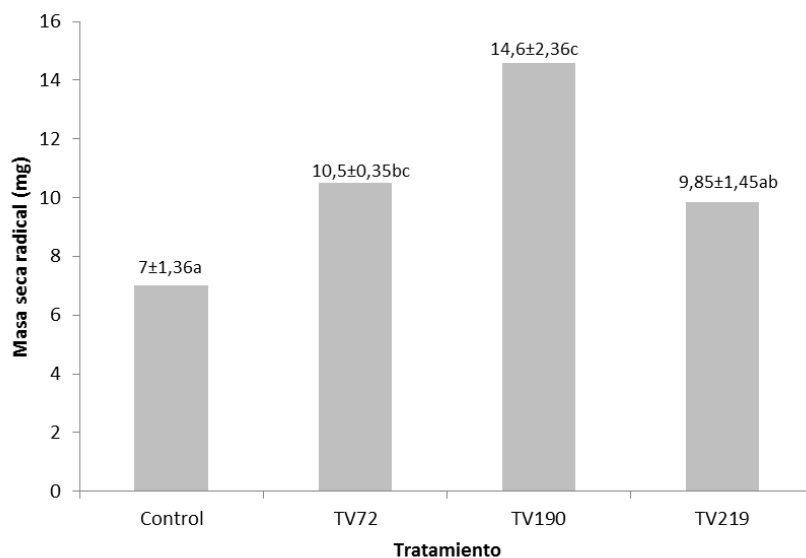


Figura 2. Efecto de *Trichoderma* spp en el peso de las raíces de las plantas de *C. annuum*. Los tratamientos con la misma letra no son significativamente distintos entre sí.

TV72: *T. harzianum*, TV190: *T. asperellum*, TV219: *T. reesei*.

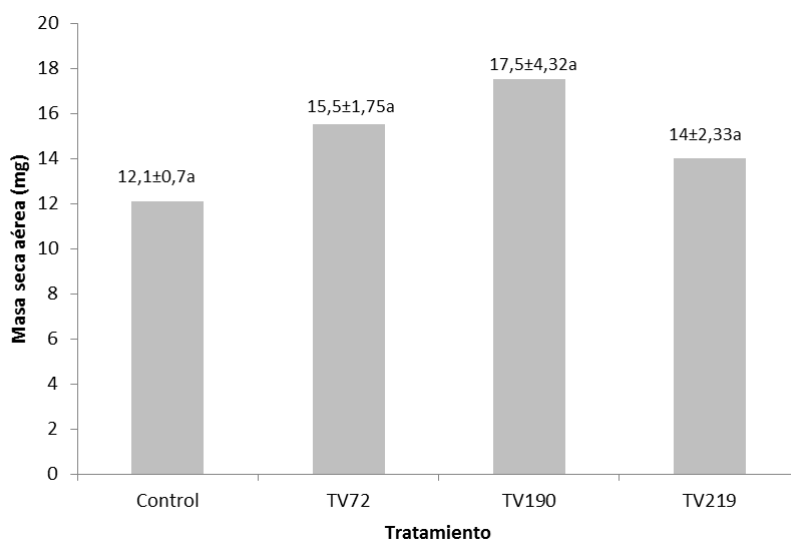


Figura 3. Efecto de *Trichoderma* spp en el peso de las hojas y tallos de las plantas de *C. annuum*. Los tratamientos con la misma letra no son significativamente distintos entre sí.

TV72: *T. harzianum*, TV190: *T. asperellum*, TV219: *T. reesei*.

Se ha demostrado que la aplicación de *T. harzianum* con compost orgánico logra incrementar en gran medida la masa foliar y la altura de plantas de pino [18], además de generar un mayor desarrollo en la parte radical de las plantas. Esto indica que *T. harzianum* puede estar modulando la respuesta en esta especie a la presencia de compost, lo que podría ser explicado por un aumento del desarrollo radicular que permite a las plantas aprovechar la disponibilidad de nutrientes. Otros autores señalan que *T. harzianum* es capaz de producir sideróforos que pudieran coadyuvar en el incremento de la altura y biomasa de las plantas [19].

Infante *et al.*, [20] probaron 11 aislados de *T. asperellum* sobre *Curvularia*, *Bipolaris* y *Fusarium*, los cuales presentaron una eficacia superior al 80% afectando al menos dos

de los fitopatógenos, mientras que los aislamientos T.1 y T.90 mostraron más del 90% de eficacia sobre los tres fitopatógenos. Estos resultados evidencian, que la selección de la cepa es un elemento importante para el manejo de enfermedades. Algunos compuestos producidos por *T. asperellum* han sido utilizados en diversos tipos de plantas con la finalidad de observar su desarrollo y el efecto controlador de enfermedades radicales. En plantas de olivo tratadas con un producto conocido como Bioten® compuesto por una mezcla de *T. asperellum* y *T. gamsii*, lograron obtener plantas con un mayor desarrollo radical en cuanto a la robustez de las mismas, logrando así reducir la enfermedad causada por *Verticillium dahliae* en un 30% [21]. Los efectos de este antagonista pueden reflejarse en distintas etapas de los cultivos y en diversas plantas de la familia Solanaceas, logrando un incremento tanto en el desarrollo foliar como radical de las plantas en un 84,5% con respecto a las plantas control [22]. Este incremento foliar posiblemente es debido a que *T. asperellum* se concentra en la parte radical de la planta logrando que las raíces vigorosas tomen más eficientemente los nutrientes y su translocación a partes aéreas de la planta. Casanova et al., [23] demostraron que una cepa de *T. asperellum* (T34) actúa como promotor del crecimiento al ser aplicado en semillas de pimentón, logrando incrementar la biomasa de las plantas en un 90% y aplicado en semillas de tomate incrementó en un 60% el desarrollo de las plántulas.

En este trabajo, la mayor masa seca radical y foliar la presentaron las plantas tratadas con los antagonistas *T. harzianum* y *T. asperellum*, evidenciando de esta forma el poder que poseen los mismos en desarrollar el crecimiento de las plantas.

3.3. Biocontrol de *Sclerotium* sp en condiciones de vivero

La capacidad biocontroladora del género *Trichoderma* spp ha venido estudiándose ampliamente en diversos cultivos agrícolas, comprobando la variedad de adaptación y desarrollo que presentan en las variadas condiciones en las que se desenvuelven. Durante los experimentos de este trabajo, todas las cepas presentaron capacidad biocontroladora (Tabla 2), donde puede apreciarse que con la cepa TV72 (*T. harzianum*) no se observó ninguna planta infectada y con TV190 (*T. asperellum*) solo se observó una planta infectada. Para las plantas tratadas con la cepa TV219 pertenecientes a *T. reesei* también se obtuvo un efecto controlador de la enfermedad pero en menor proporción con solo 4 plantas infectadas.

Tratamiento	Nº de plantas infectadas	% de infección
Control	11	36
TV72	0	0
TV190	1	3,33
TV219	4	13,33

Tabla 2. Efecto de *Trichoderma* spp en el biocontrol de *Sclerotium* sp en plántulas de pimentón.

Hoyos et al., [22] obtuvieron resultados similares al controlar *Sclerotium rolfsii* con diversas cepas de *T. asperellum*, encontrando una disminución de la enfermedad causada por este patógeno en plantas de frijol desde un 47% hasta un 100% de inhibición. Así, las condiciones de desarrollo de las plantas conferidas por el sustrato pueden influir en el desarrollo tanto del patógeno como del antagonista. Guigon et al., [24] señalan que la capacidad biocontroladora de *Trichoderma* spp está ligada al tamaño del inóculo del patógeno y a la rapidez de desarrollo que este tenga, ya que logra colonizar con mayor rapidez los tejidos de la planta. Estos autores lograron

inhibir en 70% la enfermedad causada por *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento en aquellas que la densidad del inóculo estaba por debajo de una concentración de $1,2 \times 10^6$ esp/mL y en donde el tratamiento con *Trichoderma* spp fue aplicado desde la etapa de semilla de las plantas.

El desarrollo y la eficiencia de *Trichoderma* spp depende también en gran medida del tipo de sustrato y las condiciones en las que se desarrolla, mientras mayor sea la colonización de este en las zonas radicular de la planta mayor será el efecto de biocontrol a nivel de campo. Es por ello que Trillas *et al.*, [25], señalan que la eficiencia de *T. asperellum* se incrementa al ser aplicado junto con un sistema de composta en los cultivos, que cuando son evaluados a nivel de campo se encontró un 70 y 80% de efectividad del antagonista.

También es importante señalar que mientras mayor sea la aplicación de los antagonistas al medio, mayor será la capacidad de controlar la enfermedad. Durante nuestros ensayos se realizó la aplicación de las cepas de los antagonistas semanalmente durante 5 semanas, logrando garantizar el desarrollo de los mismos en el sustrato. Correa *et al.*, [26], señalan que lograron inhibir el desarrollo de *Sclerotium rolfii* en plantas de soya entre 40% y 100%. De igual forma hay que tener presente el hecho de que la capacidad biocontroladora de los antagonistas del género *Trichoderma* spp puede variar con la cepa utilizada y con su adaptabilidad a las condiciones bióticas y abióticas, así como también presentar grados de selectividad contra diferentes hongos patógenos en cultivos agrícolas.

Un trabajo interesante realizado por Ros *et al.*, [27], evidenciaron que un compost fortificado con *T. asperellum* fue el más efectivo comparado con otras cepas de *Trichoderma*, contra *Phytophthora nicotianae* en plántulas de pimentón. El efecto del compost fortificado fue más alto que el del compost solo. Los autores sugieren que el efecto de biocontrol debería ser atribuido a las cepas de *Trichoderma* más a que la microbiota del compost, aunque algunos microorganismos pudieran ayudar en el efecto de biocontrol.

4. Conclusiones y Recomendaciones

Las cepas utilizadas durante los ensayos lograron suprimir el desarrollo del patógeno *Sclerotium sp in vitro* y en plántulas de pimentón en condiciones de vivero. Las cepas *T. asperellum* y *harzianum* fueron los mejores tratamientos para lograr el biocontrol de *Sclerotium sp*, inhibiendo la enfermedad hasta en un 100%. *T. asperellum* además de ser un buen antagonista, también logró promover los mayores incrementos en el crecimiento de las plántulas. A pesar de que *T. reesei* no ha sido reportado como un biocontrolador efectivo, sino como productor de enzimas celulasas, los hallazgos sugieren que si posee alguna capacidad de suprimir a *Sclerotium sp*. El estudio de un mayor número de cepas así como ensayos de campo determinando rendimientos, son necesarios para conocer la factibilidad del uso de *Trichoderma* spp como una herramienta dentro de los programas de manejo integrado de plagas y enfermedades.

5. Referencias

- [1] Parisi M., Alioto D., Tripodi P. Overview of biotic stresses in pepper (*Capsicum* spp.): Sources of genetic resistance, molecular breeding and genomics. International Journal of Molecular Science 2020; 21(7): 2587. <https://doi.org/10.3390/ijms21072587>.
- [2] Reyes R., Martínez B., Rivero G., Montejó G. Actividad in vivo de *Trichoderma harzianum* sobre *Sclerotium rolfii* en plántulas de tomate. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología 2002; 66: 45-48.

- [3] Hoyos L., Chaparro P., Abramsky M., Chet L., Orduz S. Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones *in vitro* y de invernadero. *Agronomía Colombiana* 2008; 26 (3): 451-458. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/11477/12123>.
- [4] Harman G. Myths and dogmas of Biocontrol, Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease* 2000; 84(4): 377-393. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.4.377>.
- [5] Capuz R. Control biológico de *Trichoderma asperellum* sobre *Sclerotium rolfsii* en condiciones de invernadero. *Revista online de la Universidad de Guayaquil* 2010; 109: 36. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092009000100003&lng=es&tlng=es.
- [6] Benítez T., Rincón A., Limón M., Codón A. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology* 2004; 7: 249-260. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1139-67092004000400003&lng=es.
- [7] López-Bucio J., Pelagio-Flores R., Herrera-Estrella A. *Trichoderma* as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. *Scientia Horticulturae* 2015; 19630: 109-123. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.08.043>.
- [8] Nawrocka J., Małolepsza U. Diversity in plant systemic resistance induced by *Trichoderma*. *Biological Control* 2013; 67(2): 149-156. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.07.005>.
- [9] Pavone D., Dorta B. Diversidad del hongo *Trichoderma* spp. en plantaciones de maíz de Venezuela. *Interciencia* 2015; 40(1): 23-31. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562015000100008&lng=es.
- [10] Carsolio C., Benhamou N., Haran S., Cortes C., Gutierrez A., Chet I., Herrera E. Role of *Trichoderma harzianum* endochitinase gene, ech42, in mycoparasitism. *Applied and Environmental Microbiology* 1999; 65: 929-935. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC91125/>.
- [11] Mendoza-Mendoza A., Zaid R., Lawry R., Hermosa R., Monte E., Horwitz B., Mukherjee P. Molecular dialogues between *Trichoderma* and roots: Role of the fungal secretome. *Fungal Biology Reviews* 2018; 32 (2): 62-85. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2017.12.001>.
- [12] Malhotra A., Agarwal T., Trivedi P. *In vitro* efficacy of various fungal and bacterial antagonists against *Rhizoctonia solani*, causal agent of damping off disease in *Capsicum annuum* L. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 2011; 2(3): 288-292.
- [13] Michel-Aceves A.; Otero-Sánchez M., Rebolledo-Domínguez O., Lezama-Gutiérrez R., Ochoa-Moreno M. Producción y efecto antagónico de quitinasas y glucanasas por *Trichoderma* spp, en la inhibición de *Fusarium subglutinans* y *Fusarium oxysporum in vitro*. *Revista Chapingo Serie Horticultura [Internet]*. 2005; 11(2):273-278. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=60911213>.

- [14] Durán E., Robles F., Martínez J., Brito M. *Trichoderma* sp un hongo combatiente de patógenos. Revista Técnico Ambiental Teorema Ambiental 2003; 42: 23-26.
- [15] Marcello C., Steindorff A., Silva S., Silva R., Mendes B., Ulhoa C. Expression analysis of the exo-b-1,3-glucanase from the mycoparasitic fungus *Trichoderma asperellum*. Microbiological Research 2010; 165: 75-81. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2008.08.002>.
- [16] Kumar Gupta V., Stecca Steindorff A., Graciano de Paula R., Silva-Rocha R., Mach-Aigner A., Mach R., Silva R. The post-genomic era of *Trichoderma reesei*: What's next? Trends in Biotechnology 2016; 34(12) 970-982. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2016.06.003>.
- [17] Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti E., Ruocco M., Wood S., Lorito M. *Trichoderma* secondary metabolites that affect plant metabolism. Nat Prod Commun. 2012; 7(11): 1545-50. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23285827/>.
- [18] Donoso E., Lobos G., Rojas N. Efecto de *Trichoderma harzianum* y compost sobre el crecimiento de plántulas de *Pinus radiata* en vivero. Bosque 2008; 29(1): 52-57. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002008000100006>.
- [19] Altomare C., Norvell W., Bjokman J., Harman G. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai. Applied Environmental Microbiology 1999; 65: 2926-2933. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10388685/>.
- [20] Infante D., González N., Reyes Y., Martínez B. Evaluación de la efectividad de doce cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels sobre tres fitopatógenos en condiciones de campo. Revista Protección Vegetal 2011; 26(3): 194-197.
- [21] Jiménez R., Trapero J., Boned J., Landa B., Navas J. Uso de Bioten para la protección biológica de plantones de olivo contra la verticilosis causada por el patotipo defoliante de *Verticillium dahliae*. Boletín de Sanidad Vegetal Plagas 2009; 35:595-615.
- [22] Hoyos L., Jaramillo S., Orduz S.. Evaluación de *Trichoderma asperellum* como biorregulador de *Spongopora subterranea* f. sp. subterránea. Revista Facultad de Agronomía Medellín 2008; 61(2): 4496-4502. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/refame/article/view/39913>.
- [23] Casanova E., Sánchez P., Segarra G., Borrero C., Aviles Trillas M. Beneficios del uso en la agricultura de agentes de control biológico *Trichoderma asperellum* cepa T34. Departamento de Biología Vegetal. Universidad de Barcelona. 2005; 14-20. Disponible en https://www.academia.edu/28119834/BENEFICIOS_DEL_USO_EN_LA_AGRICULTURA_DE_AGENTES_DE_CONTROL_BIOL%C3%93GICO._Trichoderma_asperellum_cepa_T34. Accesado 18 de mayo de 2020.
- [24] Guigon C., & González P. Selección de cepas nativas de *Trichoderma* spp. con actividad antagonica sobre *Phytophthora capsici* *leonina* y promotoras de crecimiento en el cultivo de chile (*Capsicum anuum* L.). Revista Mexicana de Fitopatología 2004; 22(1): 117-124. <https://www.redalyc.org/pdf/612/61222115.pdf>.
- [25] Trillas I., Casanova E., Cotxarrera L., Ordovas J., Borrero C., Avilés M. Composts from agricultural waste and the *Trichoderma asperellum* strain T-34 suppress

Rhizoctonia solani in cucumber seedlings. Biological Control 2006; 39:32-38. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2006.05.007>.

[26] Correa S., Mello M., Avila Z., Minare B., Padua R., Gomes D. Cepas de *Trichoderma* spp. para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* sacc. Fitosanidad 2007; 11(1): 3-9. <https://www.redalyc.org/pdf/2091/209116144001.pdf>.

[27] Ros M., Raut I., Santísima-Trinidad A., Pascual J. Relationship of microbial communities and suppressiveness of *Trichoderma* fortified composts for pepper seedlings infected by *Phytophthora nicotianae*. PLoS ONE 2017; 12(3): e0174069. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174069>.

Autores

Elisa Peña-Tovar, Domenico Pavone-Maniscalco*.

Centro de Biotecnología Aplicada. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias y Tecnología. Universidad de Carabobo. Campus de Bárbula. Naguanagua. Código postal 2005. Carabobo, Venezuela.

*Autor de correspondencia: dfpavone@yahoo.it

CAPÍTULO 4

Principales bacterias transmitidas por alimentos, preservación y control

Luis Daniel Martínez Angulo

<https://doi.org/10.4322/mp.2020.001.04>

Resumen

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) representan un problema de salud pública a escala mundial. Son transmitidas por el consumo de agua o alimentos contaminados con microorganismos vivos o sus toxinas. Una de las principales estrategias para combatir las infecciones y toxiinfecciones que caracterizan a las ETAs, es la eliminación o reducción del patógeno en el alimento mediante técnicas de preservación. Entre los métodos más comunes de preservación se encuentra la pasteurización, la congelación, refrigeración, adición de sales, azúcares entre otros. Aunque estas técnicas han sido empleadas por años, pueden ocasionar alteraciones en el sabor, aroma y color de algunos tipos de alimentos. Por tal motivo, han surgido métodos de preservación alternativos, como la biopreservación, que consiste en la utilización de sustancias naturales con el fin de mantener la calidad de los alimentos controlando microorganismos deteriorantes y patógenos. Es por ello que esta revisión tiene como objetivo recopilar información sobre las ETAs y algunas de las bacterias patógenas asociadas a esta enfermedad, los focos de contaminación y la manera de eliminar o preservar los alimentos de dichos patógenos.

Palabras clave: Contaminación de alimentos, ETA, patógenos, preservación, refrigeración.

1. Introducción

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) representan un problema de salud pública a escala mundial. Son transmitidas por el consumo de agua o alimentos contaminados con microorganismos vivos o sus toxinas [1]. Tales microorganismos pueden causar diarreas graves, vómitos, meningitis y hasta la muerte. Entre los principales microorganismos asociados con las ETAs se encuentra: *Salmonella* sp, *Campylobacter* sp, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio cholerae* y *Staphylococcus aureus* [2].

La inocuidad de los alimentos junto con las ETAs constituye un problema de salud pública cada vez más importante. Se estima que las enfermedades gastrointestinales, transmitidas por el consumo de alimentos contaminados provocan la muerte de aproximadamente 2,2 millones de personas al año, [3]. De igual modo, ante un mundo globalizado y en creciente expansión, cada día las importaciones y exportaciones de alimento se incrementan, lo que conlleva a la propagación de patógenos a través de las fronteras, de manera que las enfermedades de transmisión alimentaria constituyen una amenaza para la seguridad pública a nivel mundial. A pesar de las deficiencias en

la transmisión y reportes de datos y a las limitaciones de estas estimaciones iniciales, se evidencia una alta carga mundial de ETA [4-9].

Aunque los gobiernos y diversas organizaciones de todo el mundo realizan esfuerzos por aumentar la salubridad de los alimentos, la existencia de enfermedades de transmisión alimentaria sigue siendo un problema de salud significativo; tanto en los países desarrollados como en los países en desarrollo [3,6]. Por tal motivo, se deben promover e incrementar el número de investigaciones relacionadas con la preservación de los alimentos y el desarrollo de fármacos contra los organismos patógenos presentes en ellos [2,4,5].

El grupo más susceptible a las ETAs son los niños, debido a su inmadurez anatomofuncional alcanzan concentraciones más elevadas de sustancias tóxicas que afectan gravemente su desarrollo, por lo que se ven obligados a someterse a diversos tratamientos, muchas veces de altos costos, que le permitan recuperar su salud. Otro grupo susceptible a las ETAs, son los adultos mayores. De manera que al contraer una ETA, tienen mayor probabilidad de ser hospitalizados o incluso fallecer consecuencia de la infección [3,7,8].

Una de las principales estrategias para combatir las infecciones y toxiinfecciones que caracterizan a las ETAs, es la eliminación o reducción del patógeno en el alimento mediante técnicas de preservación. Entre los métodos más comunes de preservación se encuentra la pasteurización, la congelación, refrigeración, adición de sales, azúcares entre otros. Aunque estas técnicas han sido empleadas por años, pueden ocasionar alteraciones en el sabor, aroma y color de algunos tipos de alimentos [9,10]. Sin embargo, la creciente demanda de productos “similares a los frescos” con calidad sanitaria, organoléptica y nutricional ha impulsado el desarrollo de tecnologías alternativas con el objetivo de suplir a las tradicionales o térmicas y garantizar de esta forma lo que el consumidor solicita [10]. Se han desarrollado investigaciones para evaluar el potencial antimicrobiano sobre agentes patógenos de alimentos a partir de metabolitos de plantas, hongos, bacterias y microalgas [11-13].

Estudios como los antes referidos han permitido el desarrollo de una técnica conocida como biopreservación, que consiste en la utilización de sustancias naturales con el fin de preservar la calidad de los alimentos controlando microorganismos deteriorantes y patógenos. La aplicación de sustancias antimicrobianas como una alternativa para la preservación de alimentos permitirá la disminución de los riesgos a la salud provocada por patógenos alimentarios así como la reducción de pérdidas económicas asociadas con alimentos contaminados. De igual modo permitiría remplazar compuestos sintéticos utilizados en la preservación de alimentos, que en muchos casos han evidenciado su efecto nocivo a la salud del consumidor [15,16]. De esta manera la identificación y utilización de antimicrobianos naturales y su caracterización respecto a la seguridad, especificidad y eficacia representan un objetivo clave para las investigaciones relacionadas con la industria alimentaria y farmacéutica [16]. Este artículo tiene como objetivo ofrecer el estado del arte sobre tópicos relacionados con bacterias patógenas de alimentos y su preservación.

2. Bacterias patógenas asociadas a alimentos

La contaminación de alimentos puede ocurrir en cualquiera de las etapas de la cadena productiva, desde la recolección de la materia prima, pasando por la recolección y transporte, hasta el momento de su consumo [17]. Los cuadros de ETA como enfermedad pueden ser de tres tipo: infecciones, intoxicaciones y toxiinfecciones

alimentarias; como se observa en la Figura 1. La infección alimentaria, ocurre por la ingestión de un alimento contaminado por agentes patógenos viables, de manera que la enfermedad se genera por la invasión y multiplicación del patógeno [18]. En el caso de la intoxicación alimentaria ocurre por la ingestión de alimentos contaminados con toxinas preformadas de origen bacteriano o fúngico. En este caso no es necesaria la presencia del patógeno viable para generar el cuadro de la enfermedad [1,4,8]. Por último, las toxiinfecciones alimentarias son una combinación de las anteriores, donde el patógeno contaminante del alimento, produce las toxinas en el intestino tras la ingesta [4,8].

Una cantidad importante de ETAs son producidas por bacterias, que causan diversos daños y síntomas que van desde un leve malestar, hasta la muerte del paciente. El origen alimentario varía en relación a la bacteria siendo los alimentos contaminados más frecuentes enlatados, productos cárnicos, jugos, salsas, alimentos crudos, frutas y verduras [2,3] En la tabla 1 pueden observarse algunos ejemplos de bacterias patógenas asociadas a los alimentos y los síntomas.

Bacteria	Síntoma	Alimentos asociados	Ref
<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Aeromonas</i> spp.	Peritonitis, endocarditis, pneumonía, infección del tracto urinario	Productos cárnicos en general	[18]
<i>Arcobacter butzleri</i> , y otras <i>Arcobacter</i> spp.	Septicemia, bacteriemia	Productos cárnicos en general	[1]
<i>Campylobacter jejuni</i> (O:19, O:4, O:1), y otras <i>Campylobacter</i> spp.	Artritis, pancreatitis, meningitis, Guillain- Barré, dolores abdominales, diarreas, dolor de cabeza, fiebre,	Leche cruda, hígado de res, almejas crudas, productos cárnicos, contaminación cruzada.	[19,22]
<i>Clostridium</i> spp	Vértigo, visión doble, dificultad para deglutir, hablar y respirar, parálisis respiratoria, muerte, dolores abdominales, diarrea	Conservas caseras poco ácidas, pescado envasado al vacío, huevos de pescado fermentados.	[30]
<i>Escherichia coli</i> (O157:H7, otros cepas productores de Shigatoxina	Colitis hemorrágica, diarrea acuosa seguida por diarrea sanguinolenta, dolor abdominal severo.	Alimentos diversos no tratados higiénicamente, ensaladas, leche, quesos frescos.	[31]
<i>Listeria monocytogenes</i>	Náusea, vómito, meningitis, meningoencefalitis, septicemia, abortos	Leche, quesos, hortalizas productos cárnicos, embutidos.	[47-49]
<i>Salmonella Typhimurium</i> (DT104, DTU302), <i>Salmonella</i> <i>Enteritidis</i> (PT4, PT8, PT13, PT14b)	Fiebre tifoidea, dolor de cabeza, dolores abdominales y corpóreos, diarrea o constipación	Leche, quesos, vegetales mariscos, cárnicos, huevos, contaminación cruzada, refrigeración insuficiente.	[60,61]
<i>Shigella</i> sp.	Dolores abdominales, diarrea, fiebre, vómito, sangrado	Ensaladas, atún, pollo, hortalizas, leche derivados lácteos.	[29,31]
<i>Staphylococcus aureus</i>	Náuseas, vómito, dolores abdominales, diarreas	Jamón, productos de carne de res y ave, pasteles rellenos de crema, mezclas de alimentos, refrigeración, contaminación o manipulación deficientes.	[65,70]
<i>Vibrio cholerae</i>	Diarrea acuosa y profusa, vómitos, deshidratación, sed, dolores abdominales.	Pescados y mariscos crudos, alimentos lavados o preparados con aguas contaminadas.	[1,31]
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Fiebre, dolores abdominales, diarrea, vómito.	Productos cárnicos, ostras, pescado, leche	[1,20,31]

Tabla 1: Principales Bacterias involucradas en enfermedades alimentarias.



Figura 1. Tipos de ETA y principales bacterias involucradas.

Muchos de los microorganismos involucrados en las ETAs, son previamente conocidos y se ha documentado su trayectoria en este tipo de enfermedades. Mientras que los denominados patógenos emergentes, son cepas microbianas que no han sido previamente descritas en la contaminación de alimentos y que se han adaptado al estrés de estos entornos, ocupando nuevos nichos, por lo que las ETAs producidas por ellos, han sido erróneamente asociadas a otros microorganismos [18]. Algunos de estos patógenos emergentes son: *Campylobacter Jejuni*, *Salmonella sp*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* entre otros. Estos microorganismos son capaces de causar envenenamiento por consumo de toxinas, como es el caso del botulismo, así como diarreas, colitis hemorrágica, listeriosis, salmonelosis, gastroenteritis entre otra gama de enfermedades que en algunos casos pueden desencadenar la muerte del paciente en cuestión de horas [19-21].

2.1. *Campylobacter sp*

El género *Campylobacter* corresponde a la familia *campylobacteriaceae*, son Gram-negativas con forma de espirilo, microaerófilos obligados, con temperatura óptima de crecimiento de 42 °C. *Campylobacter jejuni* tiene la capacidad de sobrevivir a la congelación y refrigeración, representando un riesgo a la salud pública en el área de alimentos [20]. Dado su dificultad para ser cultivado en el pasado, las epidemias producidas por esta bacterias fueron reportadas como agente desconocido o erróneamente atribuida a otros microorganismos especialmente *Salmonella sp*. La enfermedad alimentaria producida por el género *Campylobacter* lleva el nombre de campylobacteriosis [18,20]. En la Tabla 2 se puede observar algunos brotes de campylobacteriosis a nivel mundial.

Campylobacter spp puede aislarse de diferentes animales, siendo las aves de corral especialmente sensibles a la infección por dicha bacteria. De manera que su transmisión ocurre principalmente por la manipulación y consumo de productos cárnicos y leche contaminada [20,28]. Los huevos, a pesar de estar involucrado con aves, no se consideran una fuente importante de contaminación. La campylobacteriosis es frecuente en los meses de verano y tiene un periodo de incubación de 3-5 días. Entre sus síntomas destaca la diarrea, fiebre y dolores abdominales. Aunque esta enfermedad no posee una alta tasa de mortalidad puede resultar en complicaciones secundarias como artritis, pancreatitis, meningitis,

endocarditis y el síndrome de Guillain- Barré [19]. *Campylobacter jejuni* O:19 y otros serotipos (O:4, O:1), son los agentes etiológicos más comunes de este síndrome. Además se ha descrito la resistencia de la bacteria al antibiótico ciprofloxacina y tetraciclina, evidenciándose la capacidad adaptativa de este microorganismo ante condiciones adversas [18,20].

Año	Lugar	Infectados	Alimentos asociados	Ref.
2019	Perú	7	No reportado	[21]
2001-2016	Australia	2084	Leches y productos cárnicos	[19]
2005-2015	Dinamarca	1823	Productos carnicos, agua, lechuga	[23]
1997–2008	Estados Unidos	9135	Leches, queso, productos carnicos.	[24]
2019	Noruega	2000	agua contaminada para el consumo.	[25]

Tabla 2: Diversos brotes de campylobacteriosis en el mundo.

2.2. *Clostridium* sp

Bacteria Gram-positiva perteneciente a la familia *Clostridiaceae* sus características son variadas de acuerdo a la especie. Entre sus características generales incluye anaeróbicos obligados y aerotolerantes, con la capacidad de formar esporas en ausencia de oxígeno, posee diversas morfologías que van desde cocobacilos hasta filamentos largos. Bajo condiciones de estrés es capaz de formar endoesporas resistente al agua en ebullición y al aire. Su distribución es ubicua en la naturaleza encontrándose principalmente en el suelo. Sin embargo, su principal reservorio es el tracto intestinal animal y humano [29-31]. En la Tabla 3 se pueden observar algunos brotes causados por *Clostridium* sp.

Año	Lugar	Infectados	Alimentos asociados	Ref.
2012	Eslovenia	104	no reportado	[33]
2009-2010	Costa Rica	84	no reportado	[34]

Tabla 3: Diversos brotes de *Clostridium* en el mundo

Dos especies correspondientes al género *Clostridium* son de interés alimentario. En primer lugar *C. botulinum* cuya importancia radica en la capacidad de producir una potente neurotoxina, sumado a la capacidad de producir esporas resistentes a altas temperaturas que pueden permanecer en alimentos mal o mínimamente procesados. De la neurotoxina botulínica existen siete tipos, basadas en la especificidad del antígeno. El ser humano solo se ve afectada por los tipos A, B, E y F. Esta bacteria produce la enfermedad del botulismo, la cual aparece tras el consumo de la toxina liberada por la bacteria durante su crecimiento. Esta enfermedad genera parálisis de los músculos incluido el sistema respiratorio [29-31].

Aunque la incidencia de la enfermedad es baja, es de gran importancia pues posee una alta mortalidad si no se trata al paciente inmediatamente. El tiempo de aparición de esta enfermedad es de 18-36 h tras la ingesta del alimento contaminado con la toxina. Sin embargo, se han reportado casos en el que los síntomas aparecen incluso a las 4 h [31]. Entre sus síntomas destacan visión doble o nublada, dificultad para tragar y debilidad muscular. Si la enfermedad prosigue sin tratamiento, desencadena en parálisis de brazos, piernas tronco y vías respiratorias. Los alimentos focos de contaminación varían de acuerdo a la preservación del alimento y a la correcta cocción, los más comunes son alimentos vegetales enlatados como maíz, pimientos, judías verdes, sopas, espárragos champiñones, aceitunas, entre otros [29-31]. De igual forma, productos cárnicos como atún, pollo, jamones y pescados [29].

La segunda especie de interés alimentario del género *Clostridium* es *C. perfringens*, a diferencia del anterior no posee motilidad, es aerotolerante y no produce la toxina botulínica. Aunque, produce otro tipo de toxinas que pueden también afectar al ser humano. La temperatura de crecimiento es amplia para la célula vegetativa, pudiendo desarrollarse en ambientes que van desde los 6-50 °C, siendo su temperatura óptima de crecimiento de 43-47 °C. Crece a una concentración de cloruro de sodio de entre 5 a 8%, pudiendo variar este intervalo de acuerdo a la cepa. El pH de crecimiento que puede resistir es de 5 a 9, siendo el óptimo de 7 [29-31]. *Clostridium* es una especie encontrada con mayor frecuencia en muestras clínicas humanas, excluyendo las heces, convirtiéndola en la segunda bacteria más común causante de ETAs en Estados Unidos [5-7].

Las enfermedades causadas por *C. perfringens* pueden tomar dos formas. La primera en forma de gastroenteritis severa, que puede causar daños a la pared intestinal raramente fatal. Sus síntomas son diarrea muy líquida y dolor abdominal moderados. La segunda es en forma de enteritis necróticas, aunque es menos frecuente que la primera, suele ser fatal. Sus síntomas son: dolor abdominal con distensión, diarrea, vómitos y necrosis de la pared intestinal [29,30]. Los alimentos que sirven de vehículo para contaminación con esta bacteria son alimentos mal cocinados, especialmente productos cárnicos y vegetales [34].

2.3. *Escherichia coli*

Bacteria Gram-negativa, en forma de bacilo, perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*. Es un organismo comensal, presente en intestino tanto de animales y humanos. No crece a temperaturas mayores a 50 °C, puede resistir pH ácido de entre 4-4,5 [29]. Se ha reportado resistencia a antibióticos en la cepa *E. coli* O157:H7, especialmente estreptomycin, sulfisoxazole y tetraciclinas [34]. En la Tabla 4 se pueden observar algunos brotes causados por *E.coli*.

La importancia de *Escherichia coli* verocitotoxigénicos (VTEC) como agentes causales de toxiinfecciones alimentarias está aumentando en el mundo en general y en Europa en particular. Entre los VTEC, el serotipo más frecuentemente implicado es el O157. El periodo de incubación es de entre 2- 10 días, tras lo cual aparecen los síntomas. Estos pueden ser: diarrea, dolor abdominal, vómitos, colitis hemorrágica, uremia hemolítica, trombocitopenia. El principal foco de contaminación de los alimentos con este organismo es el contacto con material fecal, resultado de una mala manipulación, transporte y preparación. De manera que, es un organismo indicador de la contaminación por materia fecal en alimentos y la posible presencia de patógenos entéricos [18,20,43]. Se ha reportado la contaminación por *E.coli* en productos cárnicos, leche, queso y otros derivados lácteos, embutidos [29,44].

Año	Lugar	Infectados	alimentos asociados	Ref
2013	Korea del Sur	33	huevos y sopa	[36]
2011	Alemania	3816	Coles	[37]
2011	Japón	181	Carne avícola	[38]
2010-2011	Inglaterra	251	Carne avícola y papas	[39]
2010	China	112	Comercios de desayuno	[40]
2011	Francia	42	Cárnicos y vegetal	[41,42]

Tabla 4: Diversos brotes de *E. coli* en el mundo.

2.4. *Listeria monocytogenes*

L. monocytogenes es un bacilo Gram-positivo, anaerobio facultativo, capaz de resistir a la refrigeración y temperaturas de hasta 45 °C. De igual modo, es capaz de tolerar un amplio rango de pH que va de 6 a 9. Así como altas concentraciones de NaCl (por encima de 10%) [29,45]. Este microorganismo posee la capacidad de crear *biofilm*, que le brinda resistencia contra diversos tratamientos antimicrobianos. Los principales reservorios de este microorganismo son el suelo, el forraje, el agua, silos de grano y el tracto gastrointestinal de aves, peces y mamíferos, incluyendo al hombre. En este último, la infección se adquiere mediante el consumo de alimentos contaminados. Entre los alimentos que pueden servir como fuente de contaminación son: carnes, pescado, vegetales crudos, lácteos no pasteurizados, helados, embutidos y otros productos refrigerados [29, 46-49]. En la Tabla 5 se pueden observar algunos brotes causados por *L. monocytogenes* en distintas partes del mundo.

Año	Lugar	infectados	alimentos asociados	Ref
1990-2019	Estados Unidos	768	Leche, ensaladas, quesos, vegetales, productos cárnicos, helados, camarones	[45]
1999-2006	Unión Europea	8378	Productos carnicos, frutas, vegetales	[45]
2003-2018	Australia	310	Melones, alimentos procesados, pollos	[45]
1996-2002	Japon	92	Cerdo, pollo, bovino, leche queso	[50]
1964-2010	China	147	Leche, carne, pescados, huevo, leches	[51]
2017-2018	Sur Africa	820	No reportado	[51]

Tabla 5: Diversos brotes de *L. monocytogenes* en el mundo.

Este microorganismo es un patógeno facultativo, intracelular y oportunista. Produce la listeriosis, una ETA que afecta tanto a países industrializados como en vías de

desarrollo. Esta enfermedad se puede agrupar en dos categorías basadas en sus manifestaciones clínicas: listeriosis invasiva y listeriosis no invasiva. En primer lugar la listeriosis invasiva, ocurre cuando la célula bacteriana atraviesa la pared intestinal y alcanza sistemas y órganos, como el sistema nervioso y el útero de la mujer, produciendo meningitis, septicemia, romboencefalitis entre otras dolencias. Por otro lado, está la listeriosis no invasiva, la bacteria no atraviesa la pared del intestino, limitándose a causar gastroenteritis, diarrea, fiebre, cefalea y mialgias. Siendo el tiempo de padecimiento de esta enfermedad corto comparado con la listeriosis invasiva [29, 47,52].

La listeriosis suele afectar principalmente a niños, ancianos, mujeres embarazadas y pacientes inmunosuprimidos. A pesar de su baja morbilidad comparada con otras ETAs, la listeriosis posee una elevada tasa de mortalidad que varía entre un 20 y un 30%. Lo que convierte a *L. monocytogenes* en un organismo prioritario en los planes de análisis de peligro y puntos de control críticos (HACCP) llevados a cabo en la industria de alimentos, al igual que en los planes de prevención de enfermedades de instituciones sanitarias [45,47]. Aunque solo 3 de los 13 serotipos de *L. monocytogenes* están asociados en mayor frecuencia a la listeriosis humana, para efectos de salud pública todos los serotipos de *L. monocytogenes* son calificados como patógenos [47]. Algunos trabajos muestran el uso de sustancias con potencial de uso como biopreservante de alimentos contra *L. monocytogenes*, con ventajas de no producir cambios organolépticos en el alimento [53-55]. Aunque, esta bacteria todavía es sensible al efecto de un amplio rango de antibióticos, se ha observado la resistencia a la primera generación de quinolonas, fosfomicina y cefalosporinas. De manera que el antibiótico comúnmente utilizado para combatir la listeriosis son los β -lactámicos con o sin ácido clavulónico [45].

2.5. *Salmonella* spp

Bacteria perteneciente al género *Enterobacteriaceae*. Son bacilos Gram-negativos, anaerobios facultativos, no formadores de esporas, poseen flagelos lo que les provee de movilidad. Se desarrolla en un rango de temperatura que va de 5 a 46 C°, siendo la temperatura óptima de crecimiento 37°C. Respecto al pH su crecimiento se ubica entre 3,8 a 9,5. No fermenta la lactosa ni producen desaminasas. La serotipificación de este organismo se logra mediante la detección de antígenos H y O. Este microorganismo no solo representa una amenaza a la salud, sino que también es causante de graves pérdidas económicas valoradas entre 2,3 y 11,3 billones de USD [34,51,57,58].

En humanos, pueden ocasionar dos modelos de infección, en primer lugar una infección generalizada que afecta el sistema retículo-endotelial con la aparición de fiebre. El segundo modelo es una infección localizada en el tubo digestivo consecuencia de la toxiinfección por el consumo de la bacteria [51,57-59]. Esta bacteria infecta al ser humano por la vía oral-rectal, resultado del consumo de agua y alimentos contaminados por materia fecal, por lo que resulta en un patógeno de interés alimentario. La distribución de la infección alimentaria causada por el género *Salmonella* es a escala mundial, siendo uno de los principales vehículos de infección el consumo de huevos contaminados por estos microorganismos, pues el tracto intestinal de las aves es el principal reservorio [60,61].

De igual modo la *Salmonella* está asociada con enfermedades diarreicas, las cuales continúan siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en lactantes, niños y ancianos [56]. En el caso de Latinoamérica se estima que la probabilidad de que un niño muera por una enfermedad diarreica antes de los 7 años puede ser de hasta un 50%, por lo que el control de esta bacteria es determinante para mantener los niveles de salud pública en un país. Requiriendo de un gran celo y

cuidado en el diseño de las medidas proyectadas para controlar la diseminación de los microorganismos causantes de las intoxicaciones alimentarias en los diferentes aspectos del control microbiológico de la producción de alimentos [59]. La Tabla 6 muestra algunos brotes causados por *Salmonella* spp en diferentes partes del mundo.

Año	Lugar	Infectados	alimentos asociados	Ref
1973-2011	Estados Unidos	3684	Productos cárnicos de origen vacuno	[60]
2014-2017	España	25	Posibles huevos contaminados	[61]
2014-2017	Portugal	6	No reportado	[61]
2017	Francia	10	No reportado	[61]
2017	Reino Unido	296	Posibles alimentos avícolas (carne y huevos)	[61]

Tabla 6: Diversos brotes de *Salmonella* en el mundo.

2.6. *Staphylococcus aureus*

Microorganismo Gram-positivo, con un tamaño que oscila entre 0,5 a 1,5 μm . Sus células tienen forma de cocos y se dividen formando agrupaciones similares a racimos de uva. Posee un cromosoma circular con un tamaño de entre 2,8 a 2,9 Mbp con un contenido de C+G de aproximadamente 33% [63,64]. Este organismo es capaz de afectar a la mayoría de los mamíferos y se ha reportado resistencia contra diversos antibióticos como es el caso de la penicilina [63]. *S. aureus* es una de las principales bacterias implicadas en ETA, esto se debe a la capacidad del patógeno de producir toxinas, de manera que las infecciones ocurren por la ingesta de alimentos contaminados por las toxinas del microorganismo, las cuales a pesar de ser de naturaleza proteica, presentan termorresistencia [64]. Existe una amplia variedad de alimentos capaces de albergar a *S. aureus* siendo más susceptibles aquellos que tienen contacto con la piel del animal, como es el caso de la leche, huevos, productos cárnicos [65,61]. Los síntomas aparecen después de 2-4 h tras el consumo [20,63]. En la Tabla 7 se pueden observar algunos brotes causados por *S. aureus* en diferentes partes del mundo.

Año	Lugar	Infectados	Alimentos asociados	Ref
2014	Australia	12	Sushi, pollo, agua, yogurt, café, frutos secos y jugos.	[69]
2011	Italia	26	Posible ensalada	[68]
2017	Estados Unidos	50	Comida de hostelería	[70]
2000	Japón	13,420	Productos lácteos	[66]
2004	Brasil	4000	No reportado	[67]

Tabla 7: Diversos brotes de *S.aureus* en el mundo.

3. Focos de contaminación en alimentos por patógenos

Los focos de contaminación de los alimentos varían de acuerdo a la localización del productor, la topología, el clima, la tierra, la cercanía e interacción con recintos para animales que favorecen el desarrollo de microorganismos saprófitos que pueden colonizar los alimentos, manipulación y traslado por parte del operador, el contacto con materia fecal proveniente de animales o humanos ya sea directo o indirecto mediante la contaminación de cuerpos de agua empleados en la irrigación. Dado el mínimo procesamiento de los alimentos frescos, y la carencia de pasos adicionales para reducir o

eliminar microorganismos, lo hace especialmente sensible a la contaminación por estos patógenos [29,33,44,45].

3.1. Aguas de irrigación

El proceso de irrigación es la aplicación de agua a los suelos durante la agricultura. Es un requerimiento crítico para el adecuado crecimiento de los cultivos en las granjas, especialmente en las temporadas secas. De manera que satisfacer esta necesidad es un recurso clave para la producción, y no siempre se garantiza la calidad de las mismas debido a su contaminación por el proceso de industrialización, urbanismos, niveles de polución entre otros [44]. Existen diversas fuentes de agua para la irrigación, pudiéndose encontrar el agua residual tratada, aguas de superficie, aguas subterráneas o proveniente de la lluvia. En el caso de las aguas de superficie incluye lagos, estanques, ríos y presas. Aunque globalmente son los más usados para la agricultura, el hecho de estar expuestos al aire lo hace especialmente susceptible a la contaminación por microorganismos, comparado con otras fuentes de agua [44,45,52].

Además son susceptibles a la contaminación por la polución de origen doméstico e industrial. Pudiendo verse contaminada con metales pesados, carcinogénicos entre otros [44]. Esta fuente de agua se ve especialmente afectada por microorganismos de origen fecal por lo que su uso en la agricultura requiere de tratamientos que garanticen su inocuidad [44,52].

Otra fuente de agua para irrigación, son las aguas subterráneas, consideradas una fuente rentable en la agricultura. Al estar bajo tierra, generalmente posee menos contaminación que los cuerpos acuíferos superficiales. Sin embargo, se ha reportado que esta fuente de agua puede contaminarse por bacterias patógenas como *E.coli*, *Staphylococcus* sp y *Clostridium* resultado de una mala disposición de materiales en tierra así como tanques sépticos que percolan y contaminan las aguas profundas. A pesar de esto, la contaminación en general es mínima y suele ser adecuada para el uso agrícola. Su mayor limitación es que en largos periodos de sequía, existe una alta probabilidad de que se reduzca la disponibilidad de agua en el sistema acuífero, reduciendo la cantidad de agua que se puede emplear para la agricultura [17,52].

3.2. Suelo

El suelo destinado a la agricultura es foco de patógenos puesto que es su hábitat natural o son introducidos al emplear abonos a base de estiércol o vegetales contaminado [44,71-74]. Dado la exposición del suelo a cualquier partícula, y la variedad de nutrientes que posee, es especialmente sensible a la proliferación de microorganismos patógenos. Diversos factores como la acidez, la alcalinidad, la temperatura, humedad y cantidad de materia orgánica, puede provocar variaciones en la incidencia, existencia o persistencia del patógeno. A pesar de ello este es un foco difícil de controlar [74].

3.3. Abono a base de estiércol

La aplicación de estiércol animal antes del cultivo de plantas, es una técnica frecuente en la mayoría de los países con el fin de aumentar la fertilidad de los suelos y los rendimientos en las cosechas. Sin embargo, esta práctica puede incrementar la transferencia de patógenos como *L.monocytogenes*, *Salmonella* y *E.coli* al cultivo cuando el compost carece del tratamiento adecuado, observándose una alta correlación entre la presencia de este tipo de materia orgánica y la incidencia de patógenos entéricos cuando el producto crece en el suelo. Se han empleado diferentes estrategias para reducir o eliminar la presencia de estos patógenos en el

compost, tales como: la aireación, calentamientos a temperatura de 64-67 °C durante 43 h, estabilización alcalina, secado por calor entre otros. Variando la eficiencia del método en relación al microorganismo presente [44,52,75].

3.4. Intrusión animal

La introducción intencional o sin intención de animales domésticos o salvajes puede ser una fuente contaminación en las granjas, pues ayudan a dispersar patógenos sobre la producción mediante las heces fecales que liberan durante su tránsito por el lugar de producción. Estos animales pueden causar ciertas zoonosis que también afectan al ser humano. Algunos de los patógenos asociados a la intrusión animal son: *Campylobacter* spp, *E. coli* O157:H7, *Yersinia pseudotuberculosis* y *Cryptosporidium* sp [44,72,75].

3.5. Contaminación durante la colecta del alimento

La contaminación de alimentos frescos por patógenos puede ocurrir durante la colecta del producto, resultado de que este entra en contacto con equipos, traslado en container, herramientas y cuchillos, las manos del operador o guantes que facilitan la dispersión del patógeno sobre el producto [29,46]. Durante esta etapa de la producción, el operador juega un papel clave para la propagación de enfermedades, cuando no cumple las debidas normas higiénicas. Se estima que el 20% de las enfermedades alimentarias son el resultado de una manipulación deficiente por parte del operador. Incluso con el uso de guantes, existe la posibilidad de transmitir el patógeno hacia los alimentos. Por lo que, se deben promover y garantizar el cumplimiento de las normas de bioseguridad durante la manipulación y colecta de los alimentos [73-75].

3.6. Contaminación después de la colecta

Tras la colecta de los alimentos, puede ocurrir contaminación de los mismos durante el transporte, almacenamiento y procesamiento. Durante el transporte de los alimentos, es especialmente necesario controlar la temperatura del recinto [73]. Esto no solo prolonga la vida útil del alimento evitando su deterioro, sino que ayuda a evitar la proliferación de microorganismos patógenos. Sin embargo, es importante garantizar la calidad de los sistemas de ventilación, de agua ya sea fría o hielo, para evitar que estos sean focos de transmisión [33,47,50].

Dado que los alimentos frescos, suelen estar mínimamente procesados, las etapas de lavados, cortados, secados y almacenamiento favorece la contaminación durante cualquiera de estas etapas. La contaminación del alimento, también puede ser cruzada por la combinación de diferentes alimentos de origen distinto, como el picado de verduras con cuchillos empleados en los cárnicos. Así mismo, los equipos de trabajo pueden ser fuente de contaminación. Los sitios de distribución de alimentos tal como: restaurantes, centros de comida rápida, locales comerciales o cualquier lugar que sirva de distribuidor en la red alimentaria puede verse contaminado por la manipulación deficiente de los operadores al no cumplir las normas higiénicas [52, 74,75].

4. Métodos de preservación de alimentos

La preservación de los alimentos es una de partes más importantes de la salud humana. Su principal objetivo es prolongar las propiedades del alimento desde su colecta o preparación hasta que llega al consumidor. Así como evitar la proliferación de microorganismos que por la acción de sus enzimas puedan deteriorar el alimento o

sean patógenos para el ser humano. Mediante la aplicación de tratamientos tradicionales como: secado, adición de ácidos, congelación, fermentación, salado, ahumado, adición de componentes químicos entre otros [9,10]. Sin embargo, la aplicación de estos métodos trae consigo la alteración de las propiedades organolépticas del alimento: pérdida de su sabor natural, desnaturalización de proteínas, pérdida de la estructura del alimento, formación de nuevos componentes no deseado, pérdida de color entre otros [9]. Sumado a esto, la creciente demanda por parte de los consumidores por alimentos frescos ha impulsado el interés de nuevos tratamientos que logren preservar los alimentos sin que se vea alterado las propiedades organolépticas de los mismos, y de esta manera sustituir de manera progresiva los tradicionales [9,56,57]. En la tabla 7 se observan algunos ejemplos de métodos de preservación tradicionales.

Tipo de método	Método	Alimento	Tiempo de anaquel
Tratamiento térmico	Pasteurización.	Jugos envasados, leche, bebidas fermentadas, alimentos ácidos	3-7 semanas
	Esterilización.	Leche, productos cárnicos, enlatados, maíz, zanahorias y otros vegetales,	meses-años
	Cocción.	Leche, huevos, frutas vegetales, pescado, pollo y otros alimentos cárnicos.	días- semanas
Disminución de la temperatura.	Refrigeración.	Leche, quesos, carnes, pescado, verduras, hortalizas, frutos, dulces	5 días-semanas(varia en relación al alimento)
	Congelación.	Frutas, derivados lácteos, verduras, granos, productos carnicos, mariscos, pescados.	1 semana-12 meses.
Reducción de la actividad del agua	Secado	Vegetales, frutas, verduras, carnes	12 meses
	Adición de solutos	Frutas, carnes, vegetales	semanas-meses
	lío-filización	Carnes, frutas, verduras, salsas, champiñones	meses-años
Uso de microorganismos.	Fermentación	Quesos, yogurt, bebidas alcohólicas	meses-años

Tabla 7. Ejemplos de métodos de preservación de alimentos tradicionales comúnmente usado en la industria.

4.1. Métodos de tradicionales de preservación de alimentos

4.1.2. Tratamiento térmico

Es uno de los métodos más comúnmente utilizados en la preservación tradicional de los alimentos. Consiste en el calentamiento a determinadas temperaturas, que logren la eliminación o inactivación de los microorganismos y sus enzimas mediante la desnaturalización de proteínas o disolviendo lípidos que constituyen a la célula. Sin embargo, también pueden ocurrir reacciones no deseada como cambios de color y destrucción de nutrientes, lo que modifica las propiedades naturales del alimento [10,76].

Entre los métodos más comunes, se tiene la pasteurización y la esterilización. La esterilización es un proceso en el que se emplean temperaturas elevadas de entre 120 a 150°C a una presión específica, en la que el producto final está libre de células vegetativas y esporas. Este método agrega seguridad y estabilidad al alimento por largos periodos de tiempo [77,78]. Mientras que la pasteurización usada frecuentemente en jugos, leches, bebidas fermentadas, y otros alimentos similares, es

un proceso térmico intermedio en el que se alcanzan temperaturas promedios de 75°C cuyo objetivo es reducir la población microbiana para prolongar la vida útil del alimento [79]. Debe ser acompañado por otros métodos de preservación para garantizar su eficiencia. Su tiempo de efectividad es de bajo a mediano plazo dependiendo del tipo de alimento sobre el cual se aplica [9,10].

4.1.3. Enfriamiento

Este método consiste en la disminución de la temperatura del alimento y el mantenerlo bajo esas condiciones durante su almacenamiento. Es muy utilizado en la industria alimentaria puesto que los cambios que genera en las propiedades organolépticas del alimento son muy bajas comparado con otros métodos [75]. Dado que la temperatura es una medida física relacionada con la energía del sistema, a bajas temperaturas la energía molecular es baja, en consecuencia disminuyen las reacciones involucradas en el sistema. En el caso del enfriamiento a temperaturas bajas, en la que el agua aún permanece en estado líquido, existen microorganismos que pueden desarrollarse a temperaturas bajas, proliferando incluso con la aplicación de este método [81]. De esta manera, el enfriamiento puede no reducir el crecimiento microbiano, más bien previene el desarrollo de los microorganismos que no resisten las bajas temperaturas, por lo que sirve de medio selectivo. En consecuencia, para garantizar la eficiencia del mismo, debe ser acompañado por otros métodos de preservación [10,81].

A parte del enfriamiento, se puede emplear la congelación. Método que a diferencia del anteriormente descrito, se disminuye la temperatura a niveles que favorecen la congelación del agua, evitando que esta se encuentre disponible. De esta forma, se reduce de manera drástica la movilidad molecular evitando que se lleven a cabo la mayoría de las reacciones químicas. Es un método muy efectivo aunque debe ser acompañado de otros métodos de preservación dada la capacidad de algunos microorganismos para entrar en fase de latencia, y resistir hasta la aparición de condiciones más favorables [9,80].

4.1.4. Reducción de la actividad del agua

Conocer el contenido de agua en los alimentos, no es suficiente para comprender las reacciones químicas que puedan ocurrir en el sistema, dado que las moléculas de agua pueden unirse a otras moléculas y por ello no estar disponible para las reacciones enzimáticas, microbiológicas o productos fisicoquímicos. Es por ello que se requiere del uso de un término más preciso denominado actividad del agua, el cual indica la cantidad de agua disponible para que una reacción química pueda ocurrir. La disminución de la disponibilidad del agua se traduce en una disminución de las reacciones químicas en los alimentos, incluyendo el metabolismo de microorganismo y por tanto su desarrollo en el alimento. La reducción de la disponibilidad del agua puede resumirse en dos grandes grupos de metodologías: la deshidratación y la deshidratación térmica osmótica [80-82].

La deshidratación osmótica, es especialmente utilizada en carnes, frutas y vegetales. En este proceso se reduce el agua disponible mediante la inmersión del alimento en una solución concentrada. Entre los solutos frecuentemente utilizados, destaca las sales como cloruro de sodio, nitrato de potasio, nitritos y otros nitratos para la preservación de carnes y quesos. El salado es un proceso de miles de años que genera un producto estable en el tiempo, sino que también dichas sales sirven como preservativos protegiendo el alimento de la mayoría de microorganismo. Otros solutos empleado para preservar las frutas consiste en la adición de azúcares para provocar la deshidratación del alimento [9,10,82].

Este método tiene algunas desventajas, siendo la principal desventaja que modifica las propiedades organolépticas del producto tal como: color, aroma, textura, aumento de la salinidad, disminución de la acidez entre otras características que difieren al producto fresco. Otra limitación es el manejo de los almibares, su composición, concentración, reciclado, solutos empleados afectan el costo del almíbar lo cual limita su uso. De igual manera a lo descrito para la adición de sales puede alterar las propiedades organolépticas del alimento [10].

Otra manera de disminuir la actividad del agua, diferente a la adición de solutos, es el secado. Este método ha sido utilizado a través de los siglos, primero mediante la exposición al sol y ahora haciendo uso de sofisticados equipos automatizados. El secado reduce la actividad del agua preservando al alimento del crecimiento de microorganismos y el deterioro por reacciones químicas. Esto se logra principalmente calentando el alimento directamente o mediante cambios de presión y temperatura con el fin de evaporar el agua presente en la muestra. La técnica de secado no puede ser utilizado para todos los alimentos. A pesar de ser un método altamente efectivo, posee efectos secundarios no deseado en el alimento, como pardeamiento, pérdida de color aroma, textura, pérdida de vitaminas y proteínas entre otros aspectos que modifican las propiedades nativas del alimento [80-82].

4.1.5. Modificación del pH

El termino pH se emplea para referirse a la concentración de iones hidrógeno en un determinado compuesto. Este parámetro ejerce un papel controlador en las principales reacciones químicas, bioquímicas y microbiológicas que ocurren en los alimentos. En consecuencia, su modificación puede evitar la proliferación y deterioro de los alimentos. El modo de acción de la variación del pH puede ser a nivel de desnaturalización de enzimas y otras proteínas, aumento de la permeabilidad en la membrana hacia los protones y la disminución del pH citoplasmático. Todo esto afecta el metabolismo del microorganismo y evita su crecimiento [10].

La disminución del pH favorece la eficiencia de otros métodos de esterilización, por lo que su uso combinado aumenta la eficiencia de la preservación. En el caso de la preservación por calentamiento, pH bajos requieren de una menor temperatura para lograr la esterilización. De igual modo, aumenta la eficacia de algunos preservativos químicos en la eliminación de microorganismos, respecto a su utilización sin el ácido. Otra ventaja de la acidificación, es que a los consumidores les agrada el sabor ácido en los alimentos [80,83]. Para modificar el pH se puede agregar acidulantes como el ácido acético, cítrico, ascórbico y láctico o mediante la acción de microorganismos que liberan ácidos al medio durante su metabolismo [10,84]. El desarrollo de estos microorganismos es controlado por la propia acción de estas sustancias ácidas, especialmente ácido láctico o ácido ascético [10].

4.2. Métodos de preservación alternativos

Los métodos tradicionales de preservación de alimentos, frecuentemente modifican las características organolépticas del alimento, provocan la pérdida de nutrientes e incluso la estructura de los mismos. En consecuencia, cada día aumenta la demanda de alimentos que sean de fácil consumo y tengan alta calidad nutricional, aroma y sabor lo más similar posible a los alimentos frescos o mínimamente procesados [76]. En respuesta a este movimiento, en los años recientes la industria alimentaria ha incrementado su interés en diseñar nuevos métodos que aunque preserven el producto, conserven la calidad, tengan bajo impacto ambiental y tengan sobre el producto un valor agregado. Las nuevas metodologías abarcan desde métodos físicos

hasta químicos, siendo el uso de compuestos microbianos de origen natural una estrategia que ha cobrado fuerza en los últimos años [15].

5. Consideraciones finales y expectativas futuras

Las ETAs continúan siendo un grave problema a nivel mundial, afectando no solo a los países en vía de desarrollo sino también a los países desarrollados. Sumado al hecho de que muchos patógenos alimentarios, están adquiriendo resistencia a los antibióticos que sirven para el tratamiento de pacientes afectados, así como muchos procesos de preservación y manipulación inadecuados empleados en la industria de alimentos, hace con que la tecnología e inocuidad alimentaria sea fundamental para prevenir brotes de ETAs. Se debe promover la investigación de nuevos métodos de preservación de alimentos que eviten la entrada o eliminen al patógeno de la cadena alimentaria antes que llegue al consumidor. Estas estrategias deben satisfacer la creciente demanda de alimentos frescos, naturales e higiénicos. La aplicación de la ciencia y tecnología de alimentos, persigue proporcionar herramientas adaptadas a la necesidad real de mantener servicios adecuados en todos los niveles productivos de la cadena de alimentación. La búsqueda de elementos naturales que puedan ser empleados como preservante es muy beneficioso para la industria de alimentos ya que presenta ventajas como ser biodegradable, menos tóxico que otras sustancias coadyuvantes, no desequilibrar la biodiversidad de los agroecosistemas, no alterar las características organolépticas del producto, todo esto tendría gran impacto en la economía ya que, al contar con un buen control de los microorganismos, se prolongaría el tiempo de vida útil del alimento en anaquel, protegiéndolo de la putrefacción, pérdida de color, sabor y valor nutritivo. Por esto, los alimentos producidos tendrían una mejor calidad y lo que se vería reflejado en las ventas del producto. Además, podría generar brechas de gran interés para la industria farmacéutica porque a partir de un producto con capacidad para inhibir microorganismos se pueden originar nuevos antibióticos para el control de patógenos.

6. Referencias

- [1] Kopper G., Calderon G., Gutierrez G. Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico. Estudios de caso en Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua. Roma: FAO 2009; 195 p.
- [2] Organización Mundial de la Salud (OMS). 2015. Estimaciones de la OMS sobre la carga mundial de Enfermedades de Transmisión Alimentaria. Recuperado de: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/200047/1/WHO_FOS_15.02_spa.pdf.
- [3] Torrens H.R., Argilagos G.B., Cabrera M.S., Valdés J.B., Sáez S.M., Viera G.G. Las enfermedades transmitidas por alimentos, un problema sanitario que hereda e incrementa el nuevo milenio. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria 2015; 16(8):1-27.
- [4] Joint FAO/WHO Codex Alimentarius Commission, & World Health Organization. Codex Alimentarius. Higiene de los alimentos: textos básicos; 2001.
- [5] Organización Mundial de la Salud (OMS). 2015. Inocuidad de los alimentos. Recuperado de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/es/>.
- [6] World Health Organization. WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015. World Health Organization; 2015.

- [7] Soto Varela Z., Pérez Lavalle L., Estrada Alvarado D. Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada en Colombia. *Revista Salud Uninorte* 2016; 32(1):105-122. <http://dx.doi.org/10.14482/sun.32.1.8598>.
- [8] Joint, FAO. Caracterización de peligros de patógenos en los alimentos y el agua: directrices; 2003.
- [9] Barba F.J. de Souza Sant'Ana A., Orlie V., Koubaa M. Innovative technologies for food preservation: Inactivation of spoilage and pathogenic microorganisms. Academic Press; 2017.
- [10] Rahman M.S. Handbook of food preservation. CRC press; 2007.
- [11] Ramírez Mérida L.G., Moron de Salim, A., Reyes D., Rivero A., Sánchez L.A., Sánchez L.K. Antimicrobial effect of ethanol extract of leaf neem (*Azadirachta indica* A. Juss) on *Listeria monocytogenes*. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 2016; 66(1):60-65.
- [12] Shin T.Y., Bae S.M., Woo S.D. Screening and characterization of antimicrobial substances originated from entomopathogenic fungi. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 2016; 19(4):1053-1059. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2016.09.008>.
- [13] Padrão J., Pinheiro A., Vicente A., Dourado F., Silva J., Rodrigues L., Gonçalves S., Lanceros-Méndez S., Sencadas V. Bacterial cellulose-lactoferrin as an antimicrobial edible packaging. *Food Hydrocolloids* 2016; 58:126-140. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.02.019>.
- [14] Pina-Pérez M.C., Rivas A., Martínez A., Rodrigo D. Antimicrobial potential of macro and microalgae against pathogenic and spoilage microorganisms in food. *Food chemistry* 2017; 235:34-44. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.033>.
- [15] Guedes A., Barbosa C.R., Amaro H.M., Pereira C.I., Xavier Malcata F. Microalgal and cyanobacterial cell extracts for use as natural antibacterial additives against food pathogens. *International Journal of Food Science & Technology* 2011; 46(4):862-870. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02567.x>.
- [16] Pisoschi A.M., Pop A., Georgescu C., Turcuş V., Olah N.K., Mathe E. An overview of natural antimicrobials role in food. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2018; 143:922-935. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.11.095>.
- [17] Iwu C.D., Okoh, A.I. Preharvest Transmission Routes of Fresh Produce Associated Bacterial Pathogens with Outbreak Potentials: A Review. *International journal of environmental research and public health* 2019; 16(22):4407. <https://doi.org/10.3390/ijerph16224407>.
- [18] Mor-Mur M., Yuste J. Emerging bacterial pathogens in meat and poultry: an overview. *Food and Bioprocess Technology* 2010; 3(1):24.
- [19] Moffatt C.R., Fearnley E., Bell R., Wright R., Gregory J., Sloan-Gardner T., Kirk M., Stafford R. Characteristics of *Campylobacter* Gastroenteritis Outbreaks in Australia, 2001 to 2016. *Foodborne Pathogens and Disease* 2020; 17(5):308-315. <http://dx.doi.org/10.1089/fpd.2019.2731>.
- [20] Dhama K., Rajagunalan S., Chakraborty S., Verma A.K., Kumar A., Tiwari R., Kapoor S. Food-borne pathogens of animal origin-diagnosis, prevention, control and

their zoonotic significance: a review. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 2013; 16(20):1076-85. [http://dx.doi.org/10.3923/pjbs.2013.1076.108516\(20\):1076](http://dx.doi.org/10.3923/pjbs.2013.1076.108516(20):1076).

[21] Rodríguez-Morales A., Failoc-Rojas V., Díaz-Velen C. Gastrointestinal, respiratory and/or arboviral infections? What is the cause of the Guillain-Barré syndrome epidemics in Perú? *Current status – 2019. Travel Medicine and Infectious Disease* 2019; 30:114-116. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tmaid.2019.06.015>.

[22] Skarp C.P.A., Hänninen M.L., Rautelin H.I.K. Campylobacteriosis: the role of poultry meat. *Clinical Microbiology and Infection* 2016; 22(2):103-109. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2015.11.019>.

[23] Kuhn, K., Nielsen, E., Mølbak, K, Ethelberg, S. Epidemiology of campylobacteriosis in Denmark 2000–2015. *Zoonoses and Public Health* 2018; 65(1): 59-66. <http://dx.doi.org/10.1111/zph.12367>.

[24] Taylor E.V., Herman K.M., Ailes E.C., Fitzgerald C., Yoder J.S., Mahon B.E., Tauxe R.V. Common source outbreaks of *Campylobacter* infection in the USA, 1997–2008. *Epidemiology & Infection* 2013; 141(5):987-996. <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268812001744>.

[25] Paruch L., Paruch A.M., Sørheim R. DNA-based faecal source tracking of contaminated drinking water causing a large *Campylobacter* outbreak in Norway 2019. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2020; 224:113420. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.113420>.

[26] Hanif Mughal, M. Campylobacteriosis: A Global Threat. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research* 2018; 11(5):8804-8088. <https://doi.org/10.26717/BJSTR.2018.11.002165>.

[27] Crim S.M., Griffin P.M., Tauxe R., Marder E.P., Gilliss D., Cronquist A.B., Cartter M., Tobin-D'Angelo M., Blythe D., Smith K., Lathrop S., Zansky S., Cieslak P.R., Dunn J., Holt K.G., Wolpert B., Henao O. Preliminary incidence and trends of infection with pathogens transmitted commonly through food—Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 US sites, 2006–2014. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report* 2015; 64(18):495.

[28] Park C.J., Li J., Zhang X., Gao F., Benton C. Andam C. Genomic epidemiology and evolution of diverse lineages of clinical *Campylobacter jejuni* co-circulating in New Hampshire, USA, 2017. *Journal of Clinical Microbiology* 2020; 58(6):e02070-19. <https://doi.org/10.1128/JCM.02070-19>.

[29] Food and Drug Administration (FDA). Bad bug book. US Food and Drug Administration: Silver Spring, MD, USA; 2005.

[30] Hailegebreal G. A review on *Clostridium perfringens* food poisoning. *Global Research Journal of Public Health and Epidemiology* 2017; 4(3):104-109.

[31] Bintsis T. Foodborne pathogens. *AIMS microbiology* 2017; 3(3):529-563. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2017.3.529>.

[32] Rasetti-Escargueil C., Lemichez E., Popoff M. Public Health Risk Associated with Botulism as Foodborne Zoonoses. *Toxins* 2020; 17:1-24. <https://doi.org/10.3390/toxins12010017>.

- [33] Fafangel, M., Učakar, V., Vudrag, M., Berce, I., Kraigher, A. (2015). A Five Site *Clostridium Perfringens* Food-Borne Outbreak: A Retrospective. Slovenian Journal of Public Health, 54(1), 51-57. <https://doi.org/10.1515/sjph-2015-0007>.
- [34] Wong-McClure, R. A., Guevara-Rodríguez, M., Abarca-Gómez, L., Solano-Chinchilla, A., Marchena-Picado, M., O'Shea, M., & Badilla-Vargas, X. *Clostridium difficile* outbreak in Costa Rica: control actions and associated factors. Revista Panamericana de Salud Pública, 2012.32: 413-418.
- [35] World Health Organization. Foodborne disease outbreaks: guidelines for investigation and control. World Health Organization; 2008. 162 p.
- [36] Park J., Oh S., Oh K., Shin J., Jang E., Jun B., Youn S., Cho S. Diarrheal outbreak caused by atypical enteropathogenic *Escherichia coli* O157:H45 in South Korea. Foodborne Pathogens and Disease 2014; 11:775–781. <https://doi.org/10.1089/fpd.2014.1754>.
- [37] Frank C., Werber D., Cramer J., Askar M., Faber M., an der Heiden M., Bernard H., Fruth A., Prager R., Spode A., Wadl M., Zoufaly A., Jordan S., Kemper M., Follin P., Muller L., King L., Rosner B., Buchholz U., Stark K., Krause G. Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany. The New England Journal of Medicine 2011; 365:1771–1780. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1106483>.
- [38] Watahiki M., Isobe J., Kimata K., Shima T., Kanatani J., Shimizu M., Nagata A., Kawakami K., Yamada M., Izumiya H., Iyoda S., Morita-Ishihara T., Mitobe J., Terajima J., Ohnishi M., Sata T. Characterization of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O111 and O157 strains isolated from outbreak patients in Japan. J Clin Microbiol 2014; 52:2757–2763. <https://doi.org/10.1128/JCM.00420-14>.
- [39] Launders N., Locking M., Hanson M., Willshaw G., Charlett A., Salmon R., Cowden J., Adak G. A large Great Britainwide outbreak of STEC O157 phage type 8 linked to handling of raw leeks and potatoes. Epidemiology and Infection 2016; 144:171–181. <https://doi.org/10.1017/S0950268815001016>.
- [40] Hao R., Qiu S., Wang Y., Yang G., Su W., Song L., Zhang J., Chen J., Jia L., Wang L., Song H. Quinolone-resistant *Escherichia coli* O127a:K63 serotype with an extended-spectrum-beta-lactamase phenotype from a food poisoning outbreak in China. Journal of Clinical Microbiology 2012;50:2450–2451. <https://doi.org/10.1128/JCM.00276-12>.
- [41] King L., Nogareda F, Weill F., Mariani-Kurkdjian P., Loukiadis E., Gault G., Jourdan-DaSilva N., Bingen E., Mace M., Thevenot D., Ong N, Castor C., Noel H., Van Cauteren D., Charron M, Vaillant V., Aldabe B., Goulet V., Delmas G., Couturier E., Le Strat Y., Combe C., Delmas Y., Terrier F., Vendrely B., Rolland P., de Valk H. Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 associated with organic fenugreek sprouts, France, June 2011. Clinical Infectious Diseases 2012; 54:1588–1594. <https://doi.org/10.1093/cid/cis255>.
- [42] King LA, Loukiadis E, Mariani-Kurkdjian P, Haeghebaert S, Weill FX, Baliere C, Ganet S, Gouali M, Vaillant V, Pihier N, Callon H, Novo R, Gaillot O, Thevenot-Sergentet D, Bingen E, Chaud P, de Valk H. Foodborne transmission of sorbitolfermenting *Escherichia coli* O157:[H7] via ground beef: an outbreak in northern France, 2011. Clinical Infectious Diseases 2014; 54:1588–1594. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12736>.

- [43] Yang S., Lin C., Aljuffali I.A., Fang J.Y. Current pathogenic *Escherichia coli* foodborne outbreak cases and therapy development. Archives of Microbiology 2017; 199:811–825. <https://doi.org/10.1007/s00203-017-1393-y>.
- [44] Iwu C.D., Okoh A.I. Preharvest Transmission Routes of Fresh Produce Associated Bacterial Pathogens with Outbreak Potentials: A Review. International journal of environmental research and public health, 2019.16(22): 4407. <https://doi.org/10.3390/ijerph16224407>.
- [45] Kaptchouang Tchatchouang, C.D., Fri J., De Santi M., Brandi G., Schiavano G.F., Amagliani G., Ateba C.N. Listeriosis Outbreak in South Africa: A Comparative Analysis with Previously Reported Cases Worldwide. Microorganisms 2020; 8(1):135. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010135>.
- [46] Artola B.S., Herrejón E.P. Infecciones por *Listeria*. Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado 2010; 10(50):3368-3372.
- [47] Muñoz, A. I., Vargas, M., Otero, L., Díaz, G., & Guzmán, V. Presencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo, procedentes de plazas de mercado y delicatessen de supermercados de cadena, Bogotá, DC, 2002-2008. Biomédica 2011; 31(3): 428-439.
- [48] Ramírez L., Morón de Salim A., Alfieri A. & Gamboa O. Detección de *Listeria monocytogenes* en queso blanco criollo, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Archivos Latinoamericanos de Nutrición 2010; 60(3):254-260. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222010000300007&lng=es.
- [49] Ramírez L., Morón de Salim A., Alfieri A. & Gamboa O. Frecuencia de *Listeria monocytogenes* en muestras de tomates (*Lycopersicum esculentum*) y cilantro (*Coriandrum sativum*) frescos en tres supermercados de Valencia. Venezuela. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 2009; 59(3) 318-324. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222009000300013&lng=es&nrm=iso.
- [50] Okutami A., Okoda Y., Yamamoto, S., Igimi S., Overview of *Listeria monocytogenes* contamination in Japan. International Journal of Food Microbiology 2004; 93:131–140. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.11.014>.
- [51] Feng Y., Wu S., Varma J.K., Klena J.D., Angulo F.J., Ran L. Systematic review of human listeriosis in China, 1964–2010. Tropical Medicine & International Health 2013; 18:1248–1256. <https://doi.org/10.1111/tmi.12173>.
- [52] Carstens C., Salazar J.K., Darkoh C. Multistate Outbreaks of Foodborne Illness in the United States Associated with Fresh Produce From 2010-2017. Frontiers in Microbiology 2019; 10:2667. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02667>.
- [53] Ramírez L, Moron de Salim A, Catinella R, Castillo L. Efecto bacteriostático y/o bactericida del extracto de gel de Aloe vera sobre cultivos de *Listeria monocytogenes*. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 2012; 62(1):73-78. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222013000200009&lng=es.
- [54] Moron de Salim A., Ramírez L. Efecto bacteriostático y o bactericida del xilitol sobre cultivos de *L. monocytogenes*. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 2013;

63(2):173-179. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222013000200009&lng=es.

[55] Ramírez-Mérida L., Moron de Salim A., Reyes D., Rivero A., Sánchez L., Sánchez L. Antimicrobial effect of ethanol extract of leaf neem (*Azadirachta indica* A. Juss) on *Listeria monocytogenes*. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 2016; 66(1):60-65. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222016000100007&lng=es.

[56] Jiménez, R. J., Muñoz, C. A., Doblas, A., Delgadob, A. R., & Torre-Cisnerosa, J. Fiebre tifoidea y otras infecciones por salmonellas. Medicine 2010; 10(52): 3497-501. [https://doi.org/10.1016/S0304-5412\(10\)70069-X](https://doi.org/10.1016/S0304-5412(10)70069-X).

[57] Barreto M., Castillo-Ruiz M., Retamal P. *Salmonella* enterica: una revisión de la trilogía agente, hospedero y ambiente, y su trascendencia en Chile. Revista chilena de infectología 2016; 33(5):547-557. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182016000500010>.

[58] McEntire J., Acheson D., Siemens A., Eilert S., Robach M. The public health value of reducing *Salmonella* levels in raw meat and poultry. Food Protection Trends 2014; 34(6):386-392.

[59] Acero D.P.R., Rueda R.Y.R., Medina J.C.V. Transmisión de *Salmonella enterica* a través de huevos de gallina y su importancia en salud pública. Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud 2011; 43(2):167-177. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-08072011000200008&lng=en&tlng=es.

[60] Laufer A.S., Grass J., Holt K., Whichard J.M., Griffin P.M., Gould L.H. Outbreaks of *Salmonella* infections attributed to beef—United States, 1973–2011. Epidemiology & Infection 2015; 143(9): 2003-2013. <https://doi.org/10.1017/S0950268814003112>.

[61] European Food Safety Authority, & European Centre for Disease Prevention and Control. Multi-country outbreak of *Salmonella Enteritidis* phage type 8, MLVA profile 2-9-7-3-2 and 2-9-6-3-2 infections. EFSA Supporting Publications 2017; 14(3):1188E.

[62] Pires S.M., Vieira A.R., Perez E., Wong D.L.F., Hald T. Attributing human foodborne illness to food sources and water in Latin America and the Caribbean using data from outbreak investigations. International Journal of Food Microbiology 2012; 152(3):129-138. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.04.018>.

[63] Zendejas-Manzo G.S., Avalos-Flores H., Soto-Padilla M.Y. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. Revista Biomédica 2014; 25(3):129-143.

[64] Fletcher S., Boonwaat L., Moore T., Chavada R., Conaty S. Investigating an outbreak of staphylococcal food poisoning among travellers across two Australian states. Western Pacific surveillance and response journal: WPSAR 2015; 6(2):17. <https://doi.org/10.5365/WPSAR.2015.6.1.011>.

[65] Yan X., Wang B., Tao X., Hu Q., Cui Z., Zhang J., Lin Y., You Y., Shi X., Grundmann H. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning in Shenzhen. China. Appl. Environ. Microbiol 2012; 78:6637–6642. <https://doi.org/10.1128/AEM.01165-12>.

- [66] Asao T., Kumeda Y., Kawai T., Shibata T., Oda H., Haruki K., Kozaki S. An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk. *Epidemiology and Infection* 2003; 130(1):33. <https://doi.org/10.1017/s0950268802007951>.
- [67] Do Carmo L.S., Cummings C., Linardi V.R., Dias R.S., De Souza J.M., De Sena M.J., Dos Santos D.A., Shupp J.W., Pereira R.K., Jett M. A case study of a massive staphylococcal food poisoning incident. *Foodborne Pathogens and Disease* 2004; (4):241-246. <https://doi.org/10.1089/fpd.2004.1.241>.
- [68] Gallina S., Bianchi D.M., Bellio A., Nogarol C., Macori G., Zaccaria T., Decastelli L. Staphylococcal poisoning foodborne outbreak: Epidemiological investigation and strain genotyping. *Journal of food protection* 2013; 76(12):2093-2098. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-190>.
- [69] Pillsbury A., Chiew M., Bates J., Sheppeard V. An outbreak of staphylococcal food poisoning in a commercially catered buffet. *Communicable Diseases Intelligence* 2013; 37(2):E144-E148.
- [70] Marquez L., Koy T.H., Baker C.R., Graf J., Whaley E.M., Campbell J.R. Foodborne illness outbreak due to *Staphylococcus aureus* among hospital staff following Hurricane Harvey. *Infection Control & Hospital Epidemiology* 2019; 40(1):115-117. <https://doi.org/10.1017/ice.2018.272>.
- [71] Patel J., Sharma M., Millner P., Singh M. Inactivation of *E. coli* O157:H7 attached to spinach harvester blade using bacteriophage. *Foodborne Protection Diseases* 2011; 8:541-546. <https://doi.org/10.1089/fpd.2010.0734>.
- [72] Pachepsky Y., Shelton D.R., McLain J.E., Patel J., Mandrell R.E. Irrigation waters as a source of pathogenic microorganisms in produce: a review. In *Advances in agronomy Academic Press* 2011; p. 75-141. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386473-4.00007-5>.
- [73] Machado-Moreira B., Richards K., Brennan F., Abram F., Burgess C.M. Microbial Contamination of Fresh Produce: What, Where, and How?. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2019; 18(6):1727-1750.
- [74] Maffei D., Batalha E., Landgraf M., Schaffner D.W., Franco B. Microbiology of organic and conventionally grown fresh produce. *Brazilian Journal of Microbiology* 2016; 47:99-105. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.006>.
- [75] Torrens H., Argilagos G., Cabrera M., Valdés J., Sáez S., Viera G. Las enfermedades transmitidas por alimentos, un problema sanitario que hereda e incrementa el nuevo milenio. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria* 2015; 16(8):1-27.
- [76] Amit S.K., Uddin M.M., Rahman R., Islam S.R., Khan M.S. A review on mechanisms and commercial aspects of food preservation and processing. *Agriculture & Food Security* 2017; 6(1):51. <https://doi.org/10.1186/s40066-017-0130-8>.
- [77] Li M., Li Y., He J.K., Zhao W. Thermal and Non-thermal Sterilization Technologies in Food Processing [J]. *Academic Periodical of Farm Products Processing* 2013; 16:73.

- [78] Ramesh M.N. Optimum sterilization of foods by thermal processing—a review, *Food Science and Technology Today* 1995; 9(4):217.
- [79] Osorio O., Villareal Y., España D.F.M., Ceron A.F. Efecto de pasteurización sobre características sensoriales y contenido de vitamina C en jugos de frutas. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA* 2013; 11(2):66-75. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612013000200008&lng=en&nrm=iso.
- [80] Piqueras M. Actualización en higiene alimentaria, manipulación, toxiinfecciones alimentarias y etiquetado de alimentos. *Ciencias*; 2016. 50 p.
- [81] Barreiro J.A., Sandoval A.J. Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas. *Equinoccio*; 2006. 362 p.
- [82] Duea W. *The Complete Guide to Food Preservation: Step-by-step Instructions on how to Freeze, Dry, Can, and Preserve Food*. Atlantic Publishing Company; 2011. 384 p.
- [83] NPCS Board. *Modern Technology on Food Preservation*. Asia Pacific Business Press Inc.; 2012. 528 p.
- [84] Sivasankar. *Food Processing And Preservation*. PHI Learning Pvt.Ltd.; 2002. 375 p.

Autor

Luis Daniel Martínez Angulo*

Centro de Biotecnología Aplicada, Departamento de Biología, Universidad de Carabobo, Campus Bárbula. Naguanagua. Código postal 2005. Carabobo, Venezuela.

* Autor de correspondencia: ldma.facyt@gmail.com

CAPÍTULO 5

Características nutraceuticas, herramientas de cultivo y estudio genotóxico de *Spirulina*

Andressa Ribas Barreto, Maria Angélica Oliveira Linton

<https://doi.org/10.4322/mp.2020.001.05>

Resumen

La *Spirulina* como producto o suplemento alimenticio ha permanecido en la dieta de muchas sociedades por siglos. En los últimos años se ha evidenciado un auge en el consumo de microalgas como alimento en países occidentales, lo que trajo la necesidad de garantizar productos libres de elementos tóxicos. El cultivo de *Spirulina* puede ser muy variado, siendo los sistemas abiertos los más utilizados para producción de biomasa. Diversos medios de cultivo se han propuesto para el mantenimiento y desarrollo de *Spirulina*, buscando aumentar la producción y rendimientos tanto en biomasa como en bioproductos, y disminuir los costos. Así, medios de cultivo con adición de fertilizantes inorgánicos del tipo NPK pueden servir como una fuente alternativa importante, ya que tienen altas concentraciones de los nutrientes requeridos por la microalga para generar biomasa. *Spirulina* posee una composición química que la acredita como un alimento altamente nutritivo, esto por la alta proporción de proteínas, aminoácidos esenciales y otros compuestos de importancia alimentaria. Además, *Spirulina* contiene compuestos bioactivos que le proporcionan características para ser catalogada como un alimento funcional. Productos con estas condiciones, deben tomar en consideración efectos colaterales por sustancias tóxicas. Pruebas simples, específicas y económicas, como la prueba de *Allium cepa*, se presenta como una metodología que garantiza la evaluación genotóxica y la actividad antiproliferativa de la biomasa de *Spirulina* con fines de alimentación.

Palabras clave: Alimento funcional, *Allium cepa*, biomasa, microalgas.

1. Introducción

En las últimas décadas, el cultivo industrial de microalgas ha aumentado debido al potencial estos microorganismos poseen para desarrollar aplicaciones comerciales. Actualmente, las microalgas se usan en muchas actividades y para diversos propósitos, tales como producción de: biopigmentos y antioxidantes, marcadores fluorescentes, enzimas, medicamentos, exopolisacáridos (utilizados como agentes gelificantes, emulsionantes, floclulantes y humectantes) y diferentes nutrientes, como vitaminas, proteínas, minerales, lípidos, carbohidratos y compuestos químicos de interés cosmético / farmacéuticos [1].

El consumo de microalgas como fuente de alimento humano se remonta al siglo XIV en el Imperio Precolombino. Sin embargo, su experiencia comercial tiene algunas décadas, desde principios de la década de 1950, cuando debido al aumento incipiente

de la población mundial, aparecieron fuentes alternativas de proteínas con el objetivo de equilibrar la posible escasez de alimentos [2].

Luego, las microalgas aparecieron como una buena fuente de proteínas y continuaron como tales, pero también con creciente interés debido a los ingredientes bioactivos que se encuentran en estos microorganismos, lo que les da un gran potencial como fuente de alimento y moléculas funcionales [3]. Las evaluaciones nutricionales han demostrado que la biomasa de microalgas es beneficiosa como suplemento dietético o sustituto de las fuentes convencionales de proteínas [4].

En las últimas tres décadas, aumentó el número de investigaciones y empresas relacionadas con producción de productos y derivados microalgales. Algunas de estas empresas han estado en el mercado durante muchos años y han producido con éxito la biomasa de estos organismos comercializándolos en forma de cápsulas, tabletas y polvo [5].

La biomasa de microalgas se clasifica como "suplemento dietético" según el Centro de Seguridad Alimentaria y Nutrición Aplicada de la FDA (*Food and Drug Administration*) de los Estados Unidos de Norteamérica. En Brasil, las microalgas se han incluido en la lista de nuevos ingredientes aprobados por los Comités Asesores Técnico-Científicos sobre Alimentos Funcionales y Nuevos Alimentos (CTCAF), Anvisa (Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria), siempre que el producto final para el cual sea agregado la microalga, esté debidamente registrado [6].

Para reducir posibles acciones tóxicas, se han desarrollado diferentes métodos de detección, incluida la detección rápida. Varios estudios han demostrado que las pruebas en plantas son adecuadas para detectar el potencial genotóxico de diferentes contaminantes. *Allium cepa* es una de las especies más utilizadas para el estudio de toxicidad general, de citotoxicidad y genotoxicidad. También proporciona resultados comparables a otros sistemas de prueba, utilizando muchos organismos diferentes, tanto eucariotas como procariotas [7]. La utilidad de la prueba de *A. cepa* para productos alimenticios ya se ha demostrado con éxito [8]. El cultivo de microalgas para fines alimentarios debe tener una calidad nutricional y toxicológica adecuada a las reglamentaciones nacionales e internacionales que garanticen la seguridad del consumidor para el consumo del producto. Esta revisión persigue mostrar características generales del potencial de la *Spirulina* a nivel de la industria de alimentos, sistemas de producción y la prueba de *A. cepa* como alternativa para evaluaciones tóxicas y antiproliferativa en la biomasa con fin comercial.

2. Proceso de producción de biomasa microalgal

Las microalgas tienen un gran potencial en la generación de productos de interés biotecnológico e industrial. Entre estos, la producción de biocombustibles y energía es de gran repercusión debido a su naturaleza como fuente renovable. Asimismo, la producción de biomasa y subproductos destinados a alimentos, suplementos alimenticios, nutraceuticos, productos químicos y farmacéuticos ha hecho que muchos inversores vean a la industria de las microalgas como un gran potencial de inversión [9].

Los sistemas de cultivo utilizados para mantener el crecimiento de microalgas son de dos tipos: sistemas abiertos o cerrados. Entre los diferentes tipos de diseño de sistemas abiertos, los más populares por lo relativamente fácil de construir, más económicos y simples en relación al sistema cerrado son el tanque de canalización (*raceway*) y el tanque circular, mientras que los sistemas cerrados incluyen el fotobiorreactor, que puede ser de tipo tubular, de placa plana e híbrido [10]. La

comprensión de los aspectos hidrodinámicos y la tecnología de los fotobiorreactores escalables son aspectos que deben tenerse en cuenta para obtener buenos rendimientos [11].

En el sistema abierto, la superficie es iluminada con el sol, por lo que el cultivo de microalgas es impactado con la intensidad de iluminación. Esto en la práctica hace con que en los países donde se proporcione un clima tropical se mejoren los rendimientos de producción en relación a los que poseen periodos estacionales [12]. La profundidad de estos tanques de cultivo debe estar entre 35 y 40 cm para garantizar el paso de la luz al fondo del reactor. Sin embargo, el uso de sistemas abiertos para el secuestro de CO₂ no es ventajoso debido al corto tiempo de residencia del gas en el cultivo, lo que ofrece poco tiempo para la fijación de CO₂ proveniente de los gases de combustión por parte de las microalgas. Una de las desventajas de los sistemas abiertos es la pérdida de agua por evaporación y posibles problemas de contaminación [13].

Por otro lado, los sistemas cerrados proporcionan mejores rendimientos de biomasa, con algunas ventajas, como la reducción de la contaminación lo que genera un cultivo axénico, permitiendo el control de parámetros como son temperatura, pH, luz, concentración de CO₂, así como evita la pérdida de CO₂, evaporación del agua, proporcionando altos rendimientos de bioproductos. Los sistemas cerrados que se utilizan actualmente son fotobiorreactores tubulares verticales u horizontales e híbridos [14]. Los fotobiorreactores tubulares y de placa plana son los más utilizados para el cultivo de microalgas a escala piloto y de laboratorio. Estos fotobiorreactores se basan en el principio de tener una gran relación superficie/volumen (S/V), uso óptimo de CO₂ y una mezcla adecuada. Los fotobiorreactores tubulares (*airlift* o columna de burbujas) parecen ser los más adecuados para el secuestro de CO₂, debido a la mezcla homogénea, mayor transferencia de gas, menos estrés hidrodinámico, fácil de construir y altamente productivos. Los fotobiorreactores de placa plana son costosos de construir, por lo que no son factibles para uso industrial. Los fotobiorreactores híbridos son la combinación de al menos dos tipos diferentes de fotobiorreactores, por lo que las desventajas de uno se cubren con las ventajas del otro y viceversa. Se han estudiado muchas configuraciones que muestran resultados convenientes [15-17].

Hay un proceso complejo de transferencia de CO₂ en los fotobiorreactores. En el proceso de aireación de gas en el fotobiorreactor, su rendimiento de transferencia de masa y la velocidad de la reacción bioquímica dependen de factores como el tipo y la configuración del fotobiorreactor, el rango diferente de las condiciones de operación, la influencia de las propiedades fisicoquímicas en la hidrodinámica debido a la alta viscosidad, el medio de cultivo, el comportamiento reológico, el método de medición utilizado, el tamaño de las burbujas, el tiempo de retención de gases, la concentración de CO₂, el área de contacto y la relación gas-líquido [13].

El desarrollo de fotobiorreactores es uno de los principales pasos que deben entenderse para obtener una producción eficiente de biomasa de microalgas y bioproductos. Se deben tener en cuenta algunas consideraciones al configurar el sistema durante su instalación para la producción de bioproductos y el cultivo de ciertas microalgas. Los fotobiorreactores cerrados son esenciales para producir compuestos con alto valor agregado.

La rápida tasa de crecimiento junto con una alta productividad, significa que la producción de biomasa de microalgas tiene un futuro prometedor. Se han llevado a cabo varias investigaciones sobre el uso de microalgas para obtener productos con aplicabilidad industrial [18-20]. El proceso de producción de biomasa de microalgas se puede dividir en dos fases: procesamiento ascendente (USP) y procesamiento descendente (DSP). USP corresponde a los pasos anteriores del sistema de cultivo

que involucra cuatro áreas: (i) la cepa de microalgas, (ii) suministro de carbono, (iii) fuente de nutrientes (nitrógeno / fósforo) y (iv) fuente de iluminación. El DSP incluye todos los procesos involucrados directamente desde el reactor o sistema de cultivo. Implican técnicas de cosecha y biorefinería para obtener diferentes tipos de productos a partir de biomasa, que pueden comercializarse [21].

3. Sistemas de cultivos de microalgas

El cultivo exitoso de microorganismos fotosintéticos depende de varios factores como la iluminación, la temperatura, la transferencia de gases, el pH, la agitación y la disponibilidad de nutrientes, estos se suministran adecuadamente a través de los recipientes de reacción [22].

El cultivo fotosintético de microalgas depende esencialmente del suministro de energía luminosa a las células. Los fenómenos de foto limitación y foto inhibición son frecuentes en cultivos con poca iluminación, lo que causa pérdidas significativas del rendimiento cinético en los biorreactores [23]. Además de los aspectos cuantitativos, debe considerarse la naturaleza cualitativa de la luz incidente en los sistemas. Se puede utilizar iluminación natural o artificial dependiendo de las características requeridas en los sistemas de cultivo. Aspectos como la ubicación, las variaciones estacionales, las variaciones sobre el fotoperíodo son los principales problemas de los sistemas con luz natural [24].

La composición de la biomasa microalgal se compone básicamente de carbono, nitrógeno y fósforo, en proporciones aproximadas de 50, 8 y 1%, respectivamente [25]. En consecuencia, la disponibilidad de estos nutrientes es esencial para la multiplicación celular en biorreactores. A nivel del cultivo fotosintético, el dióxido de carbono es la principal fuente de carbono utilizado en los cultivos [26]. Después del carbono, el nitrógeno es el segundo elemento limitante de los cultivos de microalgas. El nitrato es la fuente habitual, aunque la urea, el amoníaco y las fuentes orgánicas son asimiladas por innumerables especies [27]. Finalmente, el fósforo es el tercer elemento de mayor demanda en estos sistemas. El fósforo reactivo es fácilmente asimilable, aunque el fósforo hidrolizable con ácido y el fósforo orgánico se usan de manera eficiente [28].

4. Cultivo de microalgas y fertilizantes agrícolas

Durante las últimas décadas, se han realizado varios estudios para desarrollar formulaciones de medios para el cultivo de diferentes especies de microalgas. Así, las variaciones en las proporciones de las sales [29,30] y la sustitución de sales inorgánicas de pureza analítica por fertilizantes agrícolas como nutrientes [31-34] son dispositivos que tienen como objetivo mejorar el rendimiento de la biomasa y los productos de microalgas, así como reducir los costos en el proceso.

Cultivos de *Spirulina platensis* utilizando superfosfato simple (P_2O_5CaS), cloruro de potasio (KCl), nitrato de sodio ($NaNO_3$), cloruro de sodio (NaCl), sulfato de magnesio ($MgSO_4$), cloruro de calcio ($CaCl_2$) y bicarbonato de sodio ($NaHCO_3$) mostró la misma producción de biomasa y clorofila en comparación con el medio Zarrouk, utilizado tradicionalmente para este género. Desde el punto de vista de la escala, el medio alternativo era muy económico en relación con el medio Zarrouk [35].

Bajo diferentes condiciones de cultivo y diferentes concentraciones de bicarbonato y nitrato de sodio, el crecimiento y la productividad de la biomasa de *Arthrospira platensis* aumentó con las concentraciones más altas de bicarbonato de sodio

utilizadas (16 g L^{-1}) lo que indica que el bicarbonato de sodio es el factor con mayor influencia en la producción de biomasa [29].

Las modificaciones realizadas en el medio Zarrouk con la eliminación de cinco micronutrientes (boro, manganeso, cobre, zinc y molibdeno) y con la sustitución de nitrato de sodio por nitrato de potasio, mostraron un alto rendimiento para el crecimiento de *Spirulina platensis*, aumentando la tasa de crecimiento biomasa y clorofila-a. Este medio Zarrouk modificado puede usarse como una variante de bajo costo para el cultivo de cepas de *Spirulina platensis* [30].

Ramírez-López et al. [36] desarrollaron un nuevo medio para el cultivo de *Chlorella vulgaris* con el fin de aumentar la concentración de biomasa y lípidos. La composición del medio mostró una disminución en las concentraciones de nitrógeno de hasta un 50% en comparación con los medios de cultivo convencionales (BBM, medio basal de Bold y HAMGM, medio de crecimiento mínimo altamente asimilable). El nuevo medio formulado en este trabajo demostró ser una alternativa prometedora para el cultivo de microalgas a gran escala, lo que resultó en un aumento en la concentración de biomasa y lípidos en un 40% y 85%, respectivamente. Las variaciones y modificaciones de nutrientes en el medio de cultivo se reflejan en las características bioquímicas de las células de microalgas. Por lo tanto, Chia et al. [37], al evaluar tres medios de cultivo comerciales (LC Oligo, Chu 10 y WC) en crecimiento, contenido de biomasa y composición bioquímica de *Chlorella vulgaris*, encontraron una mayor densidad celular en el medio LC Oligo, siendo menor en el medio Chu 10, mientras que las concentraciones y los rendimientos de carbohidratos, lípidos y proteínas fueron mayores en el medio Chu 10 y LC Oligo.

La limitación de nutrientes es un factor eficiente para aumentar el contenido de lípidos en la biomasa de microalgas. Bajo condiciones de nitrógeno (2.5 mg L^{-1}) y fósforo (0.1 mg L^{-1}), las cepas de *Scenedesmus* sp acumulan 30 y 53% de los lípidos respectivamente en su biomasa [38]. Las altas concentraciones de nitrógeno, fósforo y potasio que tienen los fertilizantes inorgánicos, hacen que se puedan utilizar como una fuente alternativa en la formulación de medios para el cultivo de microalgas, con el objetivo de mejorar el rendimiento [33].

5. *Spirulina*, características generales

Las especies de *Spirulina* son organismos procariotas fotosintéticos con morfología filamentosa que pertenecen al filo Cyanobacteria. Las especies más utilizadas en la industria alimentaria son *S. maxima*, *S. platensis* y *S. fusiformis* [39]. El género *Spirulina* tiene un valor comercial excepcional en la industria alimentaria y está clasificado como un organismo con alto valor nutricional debido al alto contenido de proteínas que presenta [40]. El valor nutricional de la *Spirulina* ya era conocido por los aztecas, quienes recolectaron estas microalgas del lago Texcoco, cerca de la Ciudad de México; asimismo, en África, cerca del lago Chad, donde los miembros de la población de Kanembou recolectan *Spirulina* y la procesan para su consumo y venta en el mercado local [2].

Spirulina es rica en vitaminas, minerales, β -caroteno, ácidos grasos esenciales y antioxidantes; se ha utilizado como suplemento alimenticio para humanos y animales en la última década [41]. Además, presenta aplicaciones terapéuticas extremadamente diversas como la actividad antitumoral, la reducción de la hiperlipidemia, el efecto antidiabético, el efecto antihipertensivo, el modulador del sistema inmune, entre otros [42].

Hay un creciente interés en la *Spirulina* para fines alimentarios. Muchos países lo usan como alimento para animales y suplemento alimenticio vendido en forma de cápsulas y tabletas, además de ser utilizado en la industria cosmética y alimentaria, ya que es una fuente de ficocianina, utilizado como tinte natural [43].

Spirulina con un 60-70% de contenido proteico en peso seco, es considerado un alimento altamente proteico, superior a cualquier otra fuente alimentaria Tabla 1. Las proteínas presentes son de alta calidad con presencia balanceada de aminoácidos esenciales lo que trae ventajas al consumidor en términos de mejoras profilácticas para mantener un buen estado de salud [44]. Algunos autores describen un comportamiento, del perfil de aminoácidos, en varias microalgas con altas proporciones de leucina y ácido glutámico, y bajas tasas de cisteína, metionina y triptófano [45-47]. El consumo diario para suplir las necesidades nutricionales mediante biomasa de *Spirulina* es de 25 g d⁻¹ [48].

Producto	Proteínas	Carbohidratos	Lipídios
Carne	43	1	34
Leite	26	38	28
Arroz	8	77	2
Soja	37	30	20
<i>S. platensis</i>	51	14	7

Tabla 1. Composición general de diferentes fuentes de alimentos (% de materia seca) Modificado de Ramírez [49].

La pared celular está conformada por polisacáridos digeribles, por lo que *Spirulina* presenta alta digestibilidad. Los polisacáridos extracelulares pueden presentar gran potencial para utilizarse en la industria de alimentos, farmacéutica y cosmética como estabilizante, espesantes, emulsificantes [50]. Presenta un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados esenciales para mantener un buen estado de salud entre los que se destacan el ácido γ -linolénico, α -linolénico y el ácido araquidónico. Algunos estudios han demostrado el potencial de estos carbohidratos y lípidos para generar biocombustible para el desarrollo de tecnologías limpias y sustentables [51].

Los pigmentos presentes en *Spirulina* son de importancia comercial a diferentes niveles industriales. El β -caroteno es abundante en *Spirulina*, siendo bien conocido por la actividad pro-vitamina A y sus efectos sobre la visión y el sistema inmunológico. Además, la actividad antioxidante de los carotenoides se asocia con la prevención del cáncer, la arteriosclerosis, las enfermedades degenerativas y el envejecimiento [52].

Además de los carotenoides y clorofilas, otros pigmentos accesorios, como ficobiliproteínas, ficoeritrina y ficocianina son sintetizados por *Spirulina*. Estos pigmentos se han utilizado como marcadores de fluorescencia no radiactivos cuando se unen de forma covalente a anticuerpos, proteínas A, biotina, lecitina y hormonas. Además de esta aplicación, las ficobiliproteínas tienen una importante actividad antioxidante y antiinflamatoria. Debido a la estabilidad de las moléculas, la ficocianina se usa en la formulación de cosméticos como perfumes y maquillaje de ojos [53].

Spirulina también posee cantidades importantes de vitaminas del complejo B, E, biotina, ácido fólico, inositol, estas estructuras tienen sus aplicaciones consolidadas a nivel del sistema inmunitario, a través de la actividad antioxidante, la formación de células y la coagulación de la sangre.

6. Composición química como fuente de alimentos funcionales o nutraceuticos

Un alimento funcional o nutraceutico está formado por elementos que, además de proporcionar nutrientes, tienen un beneficio para una o más funciones del organismo humano, mejorando su estado de salud y reduciendo el riesgo de futuras enfermedades. Dichos productos pueden variar desde nutrientes aislados, suplementos dietéticos en forma de cápsulas; hasta productos de diseño beneficioso, productos a base de hierbas y alimentos procesados como cereales, sopas y bebidas. A nivel de clasificación química, los compuestos con actividad biológica se pueden clasificar en grupos como probióticos y prebióticos, compuestos fenólicos, alimentos sulfurados y nitrogenados, pigmentos y vitaminas, fibras y ácidos grasos poliinsaturados [54].

Algunas proteínas, péptidos y aminoácidos tienen funciones biológicas asociadas con los beneficios nutricionales y la salud humana. De esta manera, como la mayoría de las especies de microalgas, *Spirulina* tiene contenidos superiores al 50% de proteína en peso seco, estos biopolímeros pueden usarse como nutraceuticos o incluirse en formulaciones alimentarias funcionales. Además de las propiedades hipolipidémicas e hipoglicémicas, la ingesta de proteínas unicelulares se asocia con niveles reducidos de colesterol y triglicéridos. Finalmente, algunas proteínas están asociadas con la estimulación de la producción de la hormona colecistoquinina, que regula la supresión del apetito y, por lo tanto, se han considerado en la formulación de alimentos funcionales contra la obesidad. A nivel enzimático, se han identificado algunas metaloenzimas como la superóxido dismutasa en células microalgales, cuya actividad está asociada con la protección contra el daño oxidativo en las células [55].

Además del colesterol, algunas especies de microalgas producen esteroides no convencionales tales como brasicasterol, campesterol, estigmasterol y sitosterol. Debido a los altos niveles de esteroides, estas especies se han utilizado en la formulación de dietas para el crecimiento de juveniles, especialmente las ostras. De manera controvertida, aunque se reconoce que los niveles altos de colesterol están asociados con riesgos para el sistema cardiovascular, los esteroides de las microalgas marinas parecen mostrar actividad hipocolesterolémica en humanos [56].

El contenido y la composición de los lípidos en las microalgas varían entre las especies y las condiciones del hábitat. Los compuestos lipídicos más estudiados en las microalgas son los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga como los ácidos eicosapentaenoicos (EPA, 20: 5 ω -3), docosahexaenoico (DHA, 22: 6 ω -3), araquidónico (ARA, 20: 4 ω -6) y gamma-linolénico (GLA, 18: 3 ω -6). La importancia de estos compuestos se basa en la incapacidad del ser humano para sintetizar algunos ácidos grasos, por lo que se denominan ácidos grasos esenciales [54].

Los carotenoides son otra clase importante de pigmentos que se encuentran abundantemente en las microalgas. Son bien conocidos por su actividad pro-vitamina A y β -caroteno y su efecto beneficioso sobre la visión y el sistema inmunológico. La actividad antioxidante de los carotenoides se asocia con la prevención de cualquier tipo de cáncer, envejecimiento y enfermedades degenerativas [57].

7. Estudio genotóxico utilizando la prueba *Allium cepa*

El sistema de prueba *Allium cepa* tiene como objetivo identificar posibles efectos tóxicos, evaluando la genotoxicidad, la citotoxicidad y la actividad mutagénica, sirviendo como bioindicador. La prueba de *A. cepa* está validada por el Programa Internacional de Seguridad Química (IPCS, OMS) y por el Programa Ambiental de las

Naciones Unidas (PNUMA), y se considera una prueba eficiente para el análisis y el monitoreo *in situ* de la genotoxicidad de las sustancias ambientales [58].

La prueba *Allium cepa* ha sido utilizada por muchos investigadores principalmente como un bioindicador de contaminación medioambiental [59], para extractos crudos de cianobacterias [60], así como para evaluar el potencial genotóxico de plantas medicinales [61, 62], microalgas [63], aditivos y preservantes de alimentos [64, 65].

La prueba de *Allium cepa* es importante ya que es un excelente modelo *in vivo*, donde las raíces crecen en contacto directo con la sustancia de interés que permite predecir el posible daño al ADN celular. Por lo tanto, los datos se pueden extrapolar para toda la biodiversidad animal y vegetal. El análisis de las alteraciones cromosómicas puede ser igual a la prueba de mutagenicidad principalmente para la detección de alteraciones estructurales; sin embargo, también es posible observar alteraciones cromosómicas numéricas.

La prueba *Allium cepa* es uno de los pocos métodos directos que mide el daño en sistemas que están expuestos a mutágenos o carcinógenos potenciales, y permite la evaluación de los efectos de estos daños a través de la observación de alteraciones cromosómicas. Para esta tarea, es necesario que la muestra permanezca en división mitótica constante, buscando identificar los efectos tóxicos y las alteraciones durante un ciclo celular; y la prueba *Allium cepa* ha sido ampliamente utilizada para este propósito. Es ventajoso utilizar el sistema de prueba *Allium cepa*, ya que su componente principal es una planta vascular, convirtiéndolo en un excelente modelo genético para evaluar contaminantes ambientales, detectar mutágenos en diferentes entornos y evaluar desde mutaciones puntuales hasta alteraciones cromosómicas [66].

La prueba *Allium cepa* ha demostrado ser importante para la evaluación de la genotoxicidad celular en vista al sistema de enzima oxidasa capaz de metabolizar hidrocarburos policíclicos que poseen las células *Allium cepa*. Aunque se ha demostrado que otros sistemas de prueba son sensibles para esta detección, los resultados de la prueba *Allium cepa* deben considerarse como bioindicadores. Los estudios sobre sensibilidad y correlación entre los sistemas de prueba son fundamentales para una evaluación más precisa de los riesgos ambientales y para extrapolar los datos a otros grupos de organismos albos. Existe una alta sensibilidad y una buena correlación con las pruebas de mamíferos y la misma sensibilidad que los sistemas de prueba de algas y linfocitos humanos en comparación con *Allium cepa* [67].

La cebolla es un bioindicador eficiente para observar la aparición de citotoxicidad y genotoxicidad, y sus cromosomas son fáciles de analizar según los tamaños, el número y las morfologías. La prueba de *Allium cepa* es un método directo que se puede usar para medir el daño a los sistemas que están expuestos a mutágenos o carcinógenos potenciales, y que permite evaluar los efectos mediante la observación de cambios cromosómicos. Para eso, es necesario que el organismo en estudio permanezca en división mitótica constante, lo que permite identificar los efectos tóxicos y las alteraciones a lo largo del ciclo celular [7].

Para la preparación de la prueba, los bulbos de *Allium cepa* se deben colocar en contacto a nivel de la raíz con un recipiente que contenga agua destilada, esto a temperatura ambiente ($\pm 26^{\circ}\text{C}$) durante 72 h, aireados constantemente y con fotoperíodo claro/oscurito de 12 h, hasta que se obtengan raíces con aproximadamente 1,0 cm de longitud. Se recomienda realizar este procedimiento por quintuplicado. Luego, las raíces se recogen y se fijan en etanol: ácido acético (3:1) durante 24 h y posteriormente se almacenan en etanol al 70% en refrigeración hasta la preparación

de las láminas portaobjetos. La preparación y evaluación de las raíces en láminas portaobjetos, se realiza tomando en consideración un promedio de dos portaobjetos por bulbo y para su análisis 1,000 células por bulbo, al realizar por quintuplicado la evaluación de cada tratamiento, se totalizarán 5000 células para cada condición. Las raíces se hidrolizan en HCl 1 N cada 5 minutos, posteriormente se lavan en agua destilada y se colorean con orceína acética al 2% [68]. La región meristemática se rompe con la ayuda de un pequeño palo de vidrio y se coloca encima un cubreobjetos para luego observar microscópicamente a 40X. Al final se realiza el cálculo del índice mitótico (IM) con base en el porcentaje de células en división además de las aberraciones celulares evaluadas. Al momento de esta evaluación, es interesante evaluar controles tanto positivos como negativos. En el caso de control negativo, se emplea agua destilada, ya para el control positivo se puede utilizar glifosato, ya que este ha demostrado su capacidad como inductor de alteraciones en las células meristemáticas de *Allium cepa* [69].

8. Consideraciones finales

El uso de *Spirulina* como alimento y suplemento alimenticio representa una realidad que ha aumentado en los últimos años en el mercado comercial. A medida que aumenta la demanda del producto, nuevas estrategias de producción, tanto en el diseño y operaciones en el sistema de cultivo, como en la composición del medio, son fundamentales para generar mayores rendimientos de producción de biomasa a relativamente bajos costos que permitan ser competitivos en el mercado. Este tipo de productos busca generar alternativas nutritivas que además proporcionen efectos nutraceuticos, esto aprovechando la cantidad de compuestos bioactivos que presentan. Sin embargo, la evaluación toxicológica es fundamental para garantizar un producto adecuado para consumo. El proporcionar pruebas económicas y efectivas como las presentadas por la prueba *Allium cepa*, genera alternativas viables para realizar evaluaciones genotóxicas y estudios antiproliferativos en la biomasa de *Spirulina* destinada a consumo.

9. Referencias

- [1] Stephens E., Ross I., Hankamer B. Expanding the microalgal industry – continuing controversy or compelling case? *Current Opinion in Chemical Biology* 2013; 17: 444-452. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.03.030>.
- [2] FAO – Food and Aquaculture Organization of The United Nations. A review on culture, production and use of *Spirulina* as food for humans and feeds for domestic animals and fish. Roma: FAO Fisheries and Aquaculture circular 2008; 1034(33).
- [3] Silva Vaz B., Moreira J., Morais M., Costa J. Microalgae as a new source of bioactive compounds in food supplements. *Current Opinion in Food Science* 2016; (7):73-77. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.12.006>.
- [4] Becker E. Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology Advances* 2007; (25):207-210. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.11.002>.
- [5] Ganta R., Svircev Z. Microalgae and cyanobacteria: food for thought. *Journal of Phycology* 2008; (44):260–268. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2008.00469.x>.
- [6] ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). VII Lista dos novos ingredientes aprovados – Comissões Tecnocientíficas de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. Disponível em:

http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/novos_ingredientes.htm. Acesso em: 04 mar. 2020.

[7] Tedesco S., Laughinghouse D. Bioindicator of Genotoxicity: The *Allium cepa* Test. In: Srivastava J. (ed.). Environmental Contamination. InTech; 2012, p. 137-157. Rijeka, Croatia.

[8] Kumar L., Panneerselvam N. Cytogenetic studies of food preservative in *Allium cepa* root meristem cells. Facta Universitatis. Series: Medicine and Biology 2007; 14(2): 60–63.

[9] Priyadarshani I., Rath B. Commercial and industrial applications of microalgae – A review. Journal of Algal Biomass Utilization 2012; 3(4):89–100.

[10] Ramírez-Mérida L., Zepka L., Jacob-Lopes E. Fotobiorreactor: herramienta para cultivo de cianobacterias. Ciencia y Tecnología 2013; 6(2):9-19.

[11] Ramírez-Mérida L., Zepka L., Jacob-Lopes E. Current Status, Future Developments and Recent Patents on Photobioreactor Technology. Recent Patents on Engineering 2015; 9(2):80-90. <https://doi.org/10.2174/1872212109666150206235316>.

[12] Martínez L., Ramírez Mérida L. Estado actual de las empresas productoras de microalgas destinadas a alimentos y suplementos alimenticios en América Latina. Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos 2017; 8(2):130-147.

[13] Carvalho A.P., Meireles L.A., Malcata F.X. Microalgal reactors: a review of enclosed system designs and performances. Biotechnology Progress 2006; 22:1490–1506. <https://doi.org/10.1021/bp060065r>.

[14] Singh R.M., Sharma S. Development of suitable photobioreactor for algae production – A review. Renewable & Sustainable Energy Reviews 2012; 16(4):2347–2353. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.01.026>.

[15] Deprá M.C., Mérida L.G.R., de Menezes C.R., Zepka L.Q., Jacob-Lopes E. A new hybrid photobioreactor design for microalgae culture. Chemical Engineering Research and Design 2019; 144:1-10. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2019.01.023>.

[16] Gao F., Yang Z.H., Li C., Zeng G.M., Ma D.H., Zhou L. A novel algal biofilm membrane photobioreactor for attached microalgae growth and nutrients removal from secondary effluent. Bioresource Technology 2015; 179:8–12. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.11.10>.

[17] Genin S.N., Aitchison J.S., Allen D.G. Novel waveguide reactor design for enhancing algal biofilm growth. Algal Research 2015; 12:529–538. <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2015.10.013>.

[18] Zhu L. Biorefinery as a promising approach to promote microalgae industry: An innovative framework. Renewable and Sustainable Energy Reviews 2015; 41:1376–1384. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.09.040>.

[19] Zhu L.D., Hiltunen E. Application of livestock waste compost to cultivate microalgae for bioproducts production: A feasible framework. Renewable and Sustainable Energy Reviews 2016; 54:1285-1290. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.10.093>.

- [20] Chen J., Wang Y., Benemann J.R., Zhang X., Hu H., Qin S. Microalgal industry in China: challenges and prospects. *Journal of Applied Phycology* 2016; 28(2):715-725. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0720-4>.
- [21] Jacob-Lopes E., Ramírez Mérida L.G., Queiroz M.I., Zepka L.Q. Microalgal Biorefineries. In: Jacob-Lopes E., Zepka L.Q. (ed) *Biomass Production Uses*. InTech; 2015, p.81-106. Rijeka, Croatia. <https://doi.org/10.5772/59969>.
- [22] Ramírez-Mérida L., Zepka Q.L., Jacob-Lopes E. Fotobiorreactor: herramienta para cultivo de cianobacterias. *Ciencia y Tecnología* 2013; 6(2):9-19.
- [23] Brindley C., Jiménez-Ruiz N., Acien F.G., Fernández-Sevilla J.M. Light regime optimization in photobioreactors using a dynamic photosynthesis model. *Algal Research* 2016; 16: 399-408. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.03.033>.
- [24] George B., Pancha I., Desai C., Chokshi K., Paliwal C., Ghosh T., Mishra S. Effects of different media composition, light intensity and photoperiod on morphology and physiology of freshwater microalgae *Ankistrodesmus falcatus* – A potential strain for bio-fuel production. *Bioresource Technology* 2014; 171: 367-374. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.08.086>.
- [25] Alassali A., Cybulska I., Brudecki G.P., Farzanah R., Hedegaard M. Methods for Upstream Extraction and Chemical Characterization of Secondary Metabolites from Algae Biomass. *Advanced Techniques in Biology & Medicine* 2016; 4(1):163. <http://dx.doi.org/10.4172/2379-1764.1000163>.
- [26] Könst P., Mireles I.H., van der Stel R., van Os P., Goetheer E. Integrated system for capturing CO₂ as feedstock for algae production. *Energy Procedia* 2017; 114:7126-7132. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.03.1856>.
- [27] Shilova I.N., Mills M.M., Robidart J.C., Turk-Kubo K.A., Björkman K.M., Kolber Z., Rapp I., van Dijken G.L., Church M.J., Arrigo K.R., Achterberg E.P., Zehr J.P. Differential effects of nitrate, ammonium, and urea as N sources for microbial communities in the North Pacific Ocean. *Limnology and Oceanography* 2017; 62:6. <https://doi.org/10.1002/lno.10590>.
- [28] Abdel-Raouf N., Al-Homaidan A.A., Ibraheem I.B.M. Microalgae and wastewater treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences* 2012; 19(3):257–275. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.04.005>.
- [29] Castro G.F.P.S., Rizzo R.F., Passos T.S., Santos B., Dias D., Domingues J., Araújo K. Biomass production by *Arthrospira platensis* under different culture conditions. *Food Science and Technology* 2015; 35(1):18-24. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.6421>.
- [30] Rajasekaran C., Ajeesh C.P.M., Balaji S., Shalini M., Siva R., Das R., Fulzele D.P., Kalaivani T. Effect of Modified Zarrouk's Medium on Growth of Different *Spirulina* Strains. *Walailak Journal of Science and Technology (WJST)* 2015; 13(1):67-75.
- [31] Simental J.A., Sánchez-Saavedra M.P. The effect of agricultural fertilizer on growth rate of benthic diatoms. *Aquacultural Engineering* 2003; 27:265-272. [https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(02\)00087-0](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(02)00087-0).
- [32] Ashraf M., Javaid M., Rashid T., Ayub M., Zafar A., Ali S., Naeem M. Replacement of Expensive Pure Nutritive Media with Low Cost Commercial Fertilizers for Mass

Culture of Freshwater Algae, *Chlorella vulgaris*. International Journal of Agriculture & Biology 2011; 13:484–490.

[33] El Nabris K.J.A. Development of Cheap and Simple Culture Medium for the Microalgae *Nannochloropsis* sp. Based on Agricultural Grade Fertilizers Available in the Local Market of Gaza Strip (Palestine). Journal of Al Azhar University-Gaza (Natural Sciences) 2012; 14:61-76.

[34] Sipaúba-Tavares L.H., Segali D.L.A.M., Berchielli-Morais F.A., Scardoeli-Truzzi B. Development of low-cost culture media for *Ankistrodesmus gracilis* based on inorganic fertilizer and macrophyte. Acta Limnologica Brasiliensia 2017; 29:e5. <https://doi.org/10.1590/s2179-975x3916>.

[35] Raoof B., Kaushik B.D., Prasanna R. Formulation of a low-cost medium for mass production of *Spirulina*. Biomass Bioenergy 2006; 30:537-542. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2005.09.006>.

[36] Ramírez-López C., Chairez I., Fernández-Linares L. A novel culture medium designed for the simultaneous enhancement of biomass and lipid production by *Chlorella vulgaris* UTEX 26. Bioresource Technology 2016; 212:207–216. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.051>.

[37] Chia M., Lombardi A.T., Melão M.G. Growth and biochemical composition of *Chlorella vulgaris* in different growth media. Anais da Academia Brasileira de Ciências 2013; 85(4):1427-1438. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201393312>.

[38] Xin L., Hong-Ying H., Ke G., Ying-Xue S. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. Bioresource Technology 2010; 101(14):5494-5500. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.02.016>.

[39] Marles R.J., Barrett M.L., Barnes J., Chavez M., Gardiner P., Ko R., Mahady G., Dog T., Sarma N., Giancaspro G., Sharaf M., Griffiths J. United States pharmacopeia safety evaluation of *Spirulina*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 2011; 51(7):593-604. <https://doi.org/10.1080/10408391003721719>.

[40] Soni R.A., Sudhakar K., Rana R.S. *Spirulina* – From growth to nutritional product: A review. Trends in Food Science & Technology 2017; 69(A):157-171. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.09.010>.

[41] Capelli B., Cysewski G.R. Potential Health Benefits of *Spirulina* Microalgae: A Review of the Existing Literature. Cyanotech Corporation: Kailua-Kona, HI, USA, 2010. <https://doi.org/10.1007/BF03223332>.

[42] Fernández-Rojas B., Hernández-Juárez J., Pedraza-Chaverri J. Nutraceutical properties of phycocyanin. Journal of Functional Foods 2014; 11:375-392. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.10.011>.

[43] Kamble S.P., Gaikar R.B., Padalia R.B., Shinde K.D. Extration and purification of C-phycocyanin from dry *Spirulina* powder and evaluating its antioxidant, anticoagulation and prevention of DNA damage activity. Journal of Applied Pharmaceutical Science 2013; 3(8):149-153. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2013.3826>.

- [44] Arsenault J.E., Brown K.H., Effects of protein or amino-acid supplementation on the physical growth of young children in low-income countries. *Nutrition Reviews* 2017; 75:699–717. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nux027>.
- [45] Akgül R., Kızılkaya B., Akgül F., Erduğan H. Amino acid composition and crude protein values of some Cyanobacteria from Çanakkale (Turkey). *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 2015; 28:1757-1761.
- [46] Radhakrishnan S., Bhavan P.S., Seenivasan C., Muralisankar T. Nutritional profile of *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris* and *Azolla pinnata* to novel protein source for aquaculture feed formulation. *Austin Journal of Aquaculture and Marine Biology* 2017; 2.
- [47] Lim A.S., Jeong H.J., Kim S.J., Ok J.H. Amino acids profiles of six dinoflagellate species belonging to diverse families: possible use as animal feeds in aquaculture. *Algae* 2018; 33:279-290. <https://doi.org/10.4490/algae.2018.33.9.10>.
- [48] Belay A., Ota Y., Miyakawa K., Shimamatsu H. Current knowledge on potential health benefits of *Spirulina*. *Journal of Applied Phycology* 1993; 5(2):235-41. <https://doi.org/10.1007/BF00004024>.
- [49] Ramírez L.G. Produção de biomassa de *Euglena* sp. utilizando fertilizantes inorgânicos tipo NPK como cultivos alternativos. Tesis Doctoral. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2019.
- [50] Braga V., Mastrantonio D., Costa J., Morais M. Cultivation strategy to stimulate high carbohydrate content in *Spirulina* biomass. *Bioresource Technology* 2018; 269:221-226. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.08.105>.
- [51] Markou G., Angelidaki I., Georgakakis, D. Microalgal carbohydrates: an overview of the factors influencing carbohydrates production, and of main bioconversion technologies for production of biofuels. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2012; 96(3):631–645. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4398-0>.
- [52] Zuluaga M., Gueguen V., Pavon-Djavid G., Letourneur D. Carotenoids from microalgae to block oxidative stress. *Bioimpacts* 2017; 7(1):1–3. <https://doi.org/10.15171/bi.2017.01>.
- [53] Park W.S., Kim H.J., Li M., Lim D.H., Kim J., Kwak S.S., Kang C.M., Ferruzzi M.G., Ahn M.J. Two Classes of Pigments, Carotenoids and C-Phycocyanin, in *Spirulina* Powder and Their Antioxidant Activities. *Molecules* 2018; 23:2065. <https://doi.org/10.3390/molecules23082065>.
- [54] Raposo M.F.J., Morais R.M.S.C., Morais A.M.M.B. Health applications of bioactive compounds from marine microalgae. *Life Sciences* 2013; 93:479-486. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2013.08.002>.
- [55] Andrade L., Andrade C., Dias M., Nascimento C., Mendes M. *Chlorella* and *Spirulina* Microalgae as Sources of Functional Foods, Nutraceuticals, and Food Supplements; an Overview. *MOJ Food Processing & Technology* 2018; 6(2):00144. <https://doi.org/10.15406/mojfpt.2018.06.00144>.
- [56] Buono S., Langellotti A., Martello A., Rinna F., Fogliano V. Functional ingredients from microalgae. *Food & Function* 2014; 5:1669-1685. <https://doi.org/10.1039/c4fo00125g>.

- [57] Rodrigues D.B., Menezes C.R., Mercadante A.Z., Jacob-Lopes E., Zepka L.Q. Bioactive pigments from microalgae *Phormidium autumnale*. Food Research International 2015; 77:273-279. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.027>.
- [58] Baldoni M.B. Genotoxicidade, atividade proliferativa e análise fitoquímica dos extratos aquosos e do óleo de *Origanum majorana* L. Dissertação (mestrado). Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, RS; 2017.
- [59] Artico L., Kommling G., Migita N., Menezes A. Toxicological Effects of Surface Water Exposed to Coal Contamination on the Test System *Allium cepa*. Water Air Soil Pollut 2018; 229:248. <https://doi.org/10.1007/s11270-018-3904-0>.
- [60] Laughinghouse IV, H.D. Efeitos citotóxicos e genotóxicos de extratos aquosos de cepas de *Microcystis aeruginosa* (Chroococcales, Cyanobacteria), Tesis Doctoral. Santa Maria: Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, Santa Cruz do Sul, RS; 2007.
- [61] Hister C., Pasqualli M., Trapp K., Stefanello R., Boligon A., Campos M., Tedesco S. Atividade antiproliferativa e determinação dos compostos fenólicos de extratos aquosos de amoreira-preta (*Rubus* sp.) pelo sistema teste in vivo de *Allium cepa* L. Revista Brasileira de Biociências 2017; 15(1):43-48.
- [62] Lessa L.R., Silva, M.C.C., Cariello F. Fundamentos e aplicações do *Allium cepa* como bioindicador de mutagenicidade e citotoxicidade de plantas medicinais, 2017 10(3). <https://doi.org/10.22280/revintervol10ed3.294>.
- [63] Staykova T., Ivanova E., Panayotova G., Cvetkova I., Dzhoglov S., Dzhambazov B. General toxicity and genotoxicity of *Nodularia moravica* (Cyanoprokaryota, Nostocales). Biotechnology & Biotechnological Equipment 2010; 24(1):397-400. <http://dx.doi.org/10.1080/13102818.2010.10817871>.
- [64] Nunes R., Sales I., Silva S., Sousa J., Peron A. Antiproliferative and genotoxic effects of nature identical and artificial synthetic food additives of aroma and flavor. Brazilian Journal of Biology 2017; 77(1):150-154. <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.12115>.
- [65] Pandey H., Kumar V., Roy B. Assessment of genotoxicity of some common food preservatives using *Allium cepa* L. as a test plant. Toxicology Reports 2014; 1:300–308. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxrep.2014.06.002>.
- [66] Artico L., Kömmling G., Menezes A., Mazzocato A., Ferreira J. Análise de alterações cromossômicas no Sistema *Allium cepa* causadas pela exposição de sementes a extratos brutos de *Eragrostis plana*: a principal invasora do Bioma Pampa. In: XXVI Congresso Brasileiro de Zootecnia ZOOTEC 2016; 11-13 Maio 2016; Santa Maria. RS; 2016.
- [67] Fiskesjö G. The Allium-test as a standard in environmental monitoring, Hereditas 1985; 102:99-112. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x>.
- [68] Fachinetto J.M., Tedesco S.B. Atividade antiproliferativa e mutagênica dos extratos aquosos de *Baccharis trimera* (Less.) A. P. de Candolle e *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. (Asteraceae) sobre o sistema teste de *Allium cepa*. Revista Brasileira de

Plantas Mediciniais 2009; 11:360-367. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722009000400002>.

[69] Salazar S.A., Quintero C.J. Cytotoxic evaluation of glyphosate, using *Allium cepa* L. as bioindicator. Science of the Total Environment 2020; 700:134452.

Autores

Andressa Ribas Barreto*, Maria Angélica Oliveira Linton

Programa de Pós-graduação em Agrobiologia, Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Av. Roraima 1000, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

* Autor de correspondencia: ribas.arb@gmail.com

