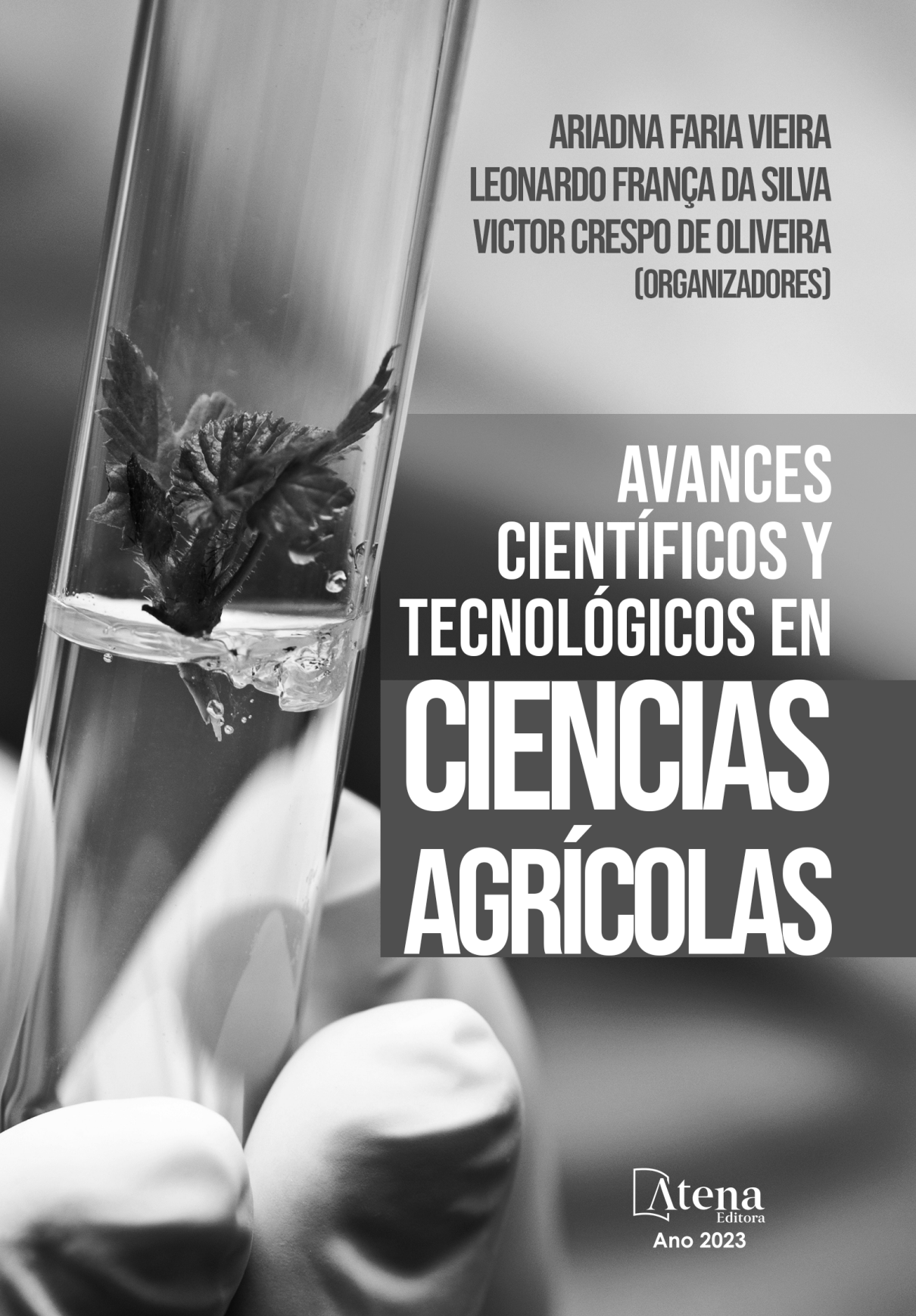




**ARIADNA FARIA VIEIRA
LEONARDO FRANÇA DA SILVA
VICTOR CRESPO DE OLIVEIRA
(ORGANIZADORES)**

**AVANCES
CIENTÍFICOS Y
TECNOLÓGICOS EN
CIENCIAS
AGRÍCOLAS**

Atena
Editora
Ano 2023

A black and white photograph of a hand holding a test tube. Inside the test tube, there is a small, dark, leafy plant growing out of a liquid. The background is blurred, showing more of the hand and the test tube.

**ARIADNA FARIA VIEIRA
LEONARDO FRANÇA DA SILVA
VICTOR CRESPO DE OLIVEIRA
(ORGANIZADORES)**

**AVANCES
CIENTÍFICOS Y
TECNOLÓGICOS EN
CIENCIAS
AGRÍCOLAS**

Atena
Editora
Ano 2023

Editora chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Editora executiva

Natalia Oliveira

Assistente editorial

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto gráfico

Camila Alves de Cremo

Ellen Andressa Kubisty

Luiza Alves Batista

Nataly Evilin Gayde

Thamires Camili Gayde

Imagens da capa

iStock

Edição de arte

Luiza Alves Batista

2023 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2023 Os autores

Copyright da edição © 2023 Atena

Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano

Profª Drª Amanda Vasconcelos Guimarães – Universidade Federal de Lavras

Prof. Dr. Arinaldo Pereira da Silva – Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
 Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
 Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
 Prof. Dr. Edevaldo de Castro Monteiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
 Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
 Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
 Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
 Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
 Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
 Prof. Dr. Jayme Augusto Peres – Universidade Estadual do Centro-Oeste
 Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
 Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
 Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
 Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
 Prof. Dr. Renato Jaqueto Goes – Universidade Federal de Goiás
 Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
 Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
 Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
 Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Avances científicos y tecnológicos en ciencias agrícolas

Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Yaiddy Paola Martinez
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores
Organizadores: Ariadna Vieira
 Leonardo França da Silva
 Víctor Crespo de Oliveira

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)	
A946	<p>Avances científicos y tecnológicos en ciencias agrícolas / Organizadores Ariadna Vieira, Leonardo França da Silva, Víctor Crespo de Oliveira. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2023.</p> <p>Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-65-258-1811-5 DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.115231010</p> <p>1. Ciencias agricolas. I. Vieira, Ariadna (Organizador). II. Silva, Leonardo França da (Organizador). III. Oliveira, Víctor Crespo de (Organizador). IV. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD 630</p>
Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166	

Atena Editora
 Ponta Grossa – Paraná – Brasil
 Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, *desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

A coleção “Avances científicos y tecnológicos en ciencias agrícolas” é uma obra que se destaca pela sua abordagem científica, abrangendo diversos trabalhos em seus capítulos. Este volume oferece uma visão ampla e interdisciplinar das Ciências Agrárias, apresentando trabalhos de pesquisa, estudos de caso e revisões de literatura.

O objetivo principal desta obra é atender às demandas transdisciplinares das Ciências Agrárias, promovendo a construção do conhecimento de maneira integrada e acessível. Buscamos reunir estudos provenientes de diferentes Instituições de Ensino, Pesquisa e Extensão, tanto no Brasil quanto no exterior, categorizando-os de forma clara e organizada.

Os conteúdos foram elaborados por especialistas de diversas áreas, abrangendo tópicos como Microbiologia, Fruticultura, Ciência do Solo, Fitopatologia, Entomologia, Engenharia Agrícola, Zootecnia, Medicina Veterinária e disciplinas afins. A variedade de temas abordados tem como propósito enriquecer o conhecimento de estudantes, acadêmicos e todos aqueles que têm interesse nas Ciências Agrárias.

Agradecemos profundamente a todos os autores envolvidos nas Instituições de Ensino, Pesquisa e Extensão, tanto no Brasil quanto no exterior, por compartilharem seus estudos e tornarem possível a criação deste livro virtual. Esperamos que esta obra promova a intercomunicação entre diversas áreas das Ciências Agrárias, contribuindo para o avanço da ciência e da pesquisa e atendendo às diversas demandas de conhecimento.

Reconhecemos a importância da divulgação científica e destacamos a Atena Editora como uma plataforma sólida e confiável para que os pesquisadores possam expor e disseminar seus resultados de forma eficaz. Estamos comprometidos em impulsionar o progresso nas Ciências Agrárias por meio desta coleção e das valiosas contribuições de seus autores.

Boa leitura!

Ariadna Vieira
Leonardo França da Silva
Víctor Crespo de Oliveira

CAPÍTULO 1 1

CONTROLE BIOLÓGICO E A IMPORTÂNCIA DE ENTENDER AS INTERAÇÕES
 PREDADOR-PRESA: O CASO DE JOANINHAS COCCIDÓFAGAS NO
 CONTROLE DE PRAGAS

Nataly De La Pava Suárez

Christian Sherley Araújo da Silva Torres

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.1152310101>

CAPÍTULO 2 11

PHYSICAL, CHEMICAL AND SHELF-LIFE CHARACTERISTICS OF CANINE
 BISCUITS CONTAINING NATURAL ANTIOXIDANTS

Jessyca Caroline Rocha Ribas

Livian Yumi Iwaoka

Paula Toshimi Matumoto-Pintro

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.1152310102>

CAPÍTULO 325

ELEMENTOS QUE INFLUENCIAM NA TOMADA DE DECISÃO SOBRE A
 EUTANÁSIA EM BOVINOS


Rodrigo Dalmina Rech

Isadora Comparsi Coelho

Julia Rasia

Carlos Augusto Rigon Rossi

Marcelo da Silva Cecim

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.1152310103>

CAPÍTULO 447

ESTUDIO DE LA CINÉTICA DE ADSORCIÓN DE COLORANTE SINTÉTICO EN
 AGUA MEDIANTE NANOARCILLAS ACTIVADAS CON ÁCIDO DÉBIL

Yubher Aderson Vargas Torre

David Oscco Perez

Ayde Quispe Guizado

Sofia Pastor Mina

David Choque Quispe

Carlos Alberto Ligarda Samanez


Yakov Felipe Carhuarupay-Molleda

Betsy Suri Ramos-Pacheco

Katia Choque-Quispe

Elibet Moscoso Moscoso

Diego E. Peralta-Guevara


 <https://doi.org/10.22533/at.ed.1152310104>

CAPÍTULO 559

ANOTAÇÃO DE SEQUÊNCIAS GÊNICAS DE ARROZ (*Oryza sativa* L.)
 IDENTIFICADOS NO GENOMA DA ESPÉCIE PELO BANCO DE DADOS
 GENÔMICOS Phytozome

Newton Chaves de Oliveira


Leonardo França da Silva
 Fabrício Custódio de Moura Gonçalves
 Anarlete Ursulino Alves
 Francisco de Assis Gomes Junior
 Victor Crespo de Oliveira
 Ariadna Faria Vieira

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.1152310105>

CAPÍTULO 683

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA ADICIÓN DE GEL DE ALOE (*Aloe barbadensis miller*) EN LAS CARACTERÍSTICAS DEL YOGURT


Baldiris Corrales Jose Alberto
 Martínez Medrano Ana Beatriz
 Guzmán Diaz Natalia Paola
 Navaja Galindo Laddys
 Supelano Rincón Mónica.

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.1152310106>

CAPÍTULO 793

POLIFENOLES Y ANTIOXIDANTES EXÓGENOS


Rafael Manuel de Jesús Mex-Álvarez
 Patricia Margarita Garma-Quen
 María Magali Guillen-Morales
 David Yanez-Nava
 José Luis Kantún-Haas
 María Isabel Novelo-Pérez
 Roger Enrique Chan-Martínez
 Edwin Román Chulin-Canul

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.1152310107>

CAPÍTULO 8 102

IMPACTO DE DIFERENTES SUBSTITUTOS DE AÇÚCAR NOS PARÂMETROS TECNOLÓGICOS DE BISCOITO TIPO COOKIE


Cláudia Moreira Santa Catharina Weis
 Juliana Steinbach
 Naimara Vieira do Prado
 Vânia de Cássia da Fonseca Burgardt
 Alessandra Machado-Lunkes

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.1152310108>

CAPÍTULO 9115

QUÉ DEBEN SABER LOS ESTUDIANTES DE LA NEMATOLOGÍA AGRÍCOLA

Ignacio Cid del Prado Vera

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.1152310109>

CAPÍTULO 10..... 128**FUNCIONES DEL SILICIO EN CULTIVOS AGRÍCOLAS Y BENEFICIOS QUE APORTA CONTRA ESTRESSES BIÓTICOS Y ABIÓTICOS**


Lira-Saldivar, Ricardo Hugo

Vera-Reyes, Ileana

Ramírez-Luna Fernando

Flores-Hernández

Eduardo Arón

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.11523101010>**CAPÍTULO 11 146****RELACIÓN ENTRE EL CONTENIDO DE N Y P EN GRANO Y FRACCIÓN DISPONIBLE EN EL SUELO**

Liliana Vega Jara

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.11523101011>**CAPÍTULO 12..... 156****TRABAJO COLABORATIVO EN LA MANO DE OBRA (BRAZO) EN LA PRODUCCIÓN DE MAÍZ DURO EN LA PROVINCIA DE LOJA**

Edison Miranda

Betty Jaramillo

Hjalmar Álvarez

Karen Álvarez

Carla Cabrera

Jordy Chimbo


Jimmy Erreyes

Janela Flores

Sheyddi Quiroga


Heidy Sarmiento

Janeth Valle

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.11523101012>**CAPÍTULO 13..... 163****TRANSICIÓN AGROECOLÓGICA, NARANJA ORGÁNICA CON BASES AGROECOLÓGICAS Y LUCHA CONTRA EL GLIFOSATO EN MÉXICO**

Manuel Ángel Gómez Cruz

Laura Gómez Tovar

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.11523101013>**CAPÍTULO 14..... 177****USO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS NO TRATAMENTO DE DESMITES E TENDINITES EM EQUINOS - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Beatriz Del Rey Bombem


Gabrielle Sousa Sales

Catarina Coradi Corbe

Ana Júlia Rossato

Gabriela Briganti Silva

Vitor Bruno Bianconi Rosa
 Ana Paula Millet Evangelista dos Santos
 Mariza Fordellone Rosa Cruz
 Flávia Debiagi

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.11523101014>

CAPÍTULO 15..... 185

VALORIZATION OF AGRI-FOOD BY-PRODUCTS TO PRODUCE HIGH ANIMAL PROTEIN QUALITY, *ARTEMIA* BIOMASS AT LAB SCALE

Andrés Salgado-Ismodes
 Italo Salgado-Leu
 Patricio De Los Ríos-Escalante

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.11523101015>

CAPÍTULO 16..... 195

UTILIZAÇÃO DO SISTEMA DE DUAS FASES AQUOSAS PARA EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE FITASES APLICADA À NUTRIÇÃO ANIMAL


Júlio Cézar dos Santos Nascimento
 Apolônio Gomes Ribeiro
 Dayane Albuquerque da Silva
 José Antônio Couto Teixeira
 Tatiana Souza Porto
 Ana Lúcia Figueiredo Porto

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.11523101016>

CAPÍTULO 17..... 212

COMPARAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE CRIADOS COM E SEM PROGRAMA DE LUZ

Juliana Silveira Bilenki
 Jefersson Caetano
 Bihanca Fontana
 Giovanna Severo Redante
 Luiza Helena Parizotto
 Ronaldo Schmidt Plaine
 Leonardo Porto Alves
 Eduardo Rebelato Sakis
 Bárbara Thaisi Zago

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.11523101017>

SOBRE OS ORGANIZADORES222

ÍNDICE REMISSIVO223

CONTROLE BIOLÓGICO E A IMPORTÂNCIA DE ENTENDER AS INTERAÇÕES PREDADOR-PRESA: O CASO DE JOANINHAS COCCIDÓFAGAS NO CONTROLE DE PRAGAS

Data de submissão: 10/08/2023

Data de aceite: 02/10/2023

Nataly De La Pava Suárez

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia Recife-PE
<https://lattes.cnpq.br/7833249244000103>
Orcid: 0000-0002-3360-4172

Christian Sherley Araújo da Silva Torres

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia Recife-PE
<https://lattes.cnpq.br/6987761145766931>
Orcid: 0000-0002-2364-5421

RESUMO: O controle biológico aumentativo com insetos predadores é uma das táticas do manejo integrado de pragas. As joaninhas coccidófagas (Coleoptera: Coccinellidae), destacam-se como importantes controladoras de cochonilhas-farinhentas (Hemiptera: Pseudococcidae). Dentre elas, a *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant é uma das espécies mais utilizadas comercialmente para controle de cochonilhas. A produção massal dos predadores padroniza as condições de criação, mas também gera pressão de seleção, o que pode afetar o seu desempenho em controlar a praga alvo após várias gerações em laboratório. Além

disso, as joaninhas coccidófagas produzem cera na fase imatura semelhante às suas presas, o que serve como camuflagem nas colônias da presa e favorece a predação. Assim, é crucial compreender os fatores que afetam interação presa-predador e possam alterar a eficácia das joaninhas no controle biológico.

PALAVRAS-CHAVE: Interação predador-presa, Pseudococcidae, camuflagem física, controle biológico.

BIOLOGICAL CONTROL AND THE IMPORTANCE OF UNDERSTANDING PREDATOR-PREY INTERACTIONS: THE CASE OF COCCIDOPHAGOUS LADY BEETLES IN PEST CONTROL

ABSTRACT: Augmentation biological control with insect predators is one method used in integrated pest management. The coccidophagous lady beetles (Coleoptera: Coccinellidae) are important predators of mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae). Among them, *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant is one of the most used commercially. Large-scale production of predators is done in standard rearing conditions, putting some selection pressure, which can alter the performance of the

predator to control the target pest after being reared for many generations in the laboratory. In addition, coccidophagous lady beetles larvae produce body wax similar to their mealybug prey, working as camouflage within prey colonies and improving predation. Thus, it is crucial to understand the factors that may affect predator-prey interactions and the efficacy of the lady beetles in biological control.

KEYWORDS: Predator-prey interaction; Pseudococcidae, camouflage, biological control.

1 | INTRODUÇÃO

1.1 Controle Biológico de Pragas

O controle biológico é uma técnica que envolve o uso de organismos vivos para reduzir ou suprimir as populações de pragas que causam danos aos seres humanos devido à sua alta densidade (VAN DRIESCHE et al., 2009). Esses organismos são conhecidos como inimigos naturais, pois geram mudanças diretas ou indiretas permanentes nas teias alimentares que cercam as pragas (DEBACH, 1964). Vários organismos são considerados inimigos naturais de insetos, a exemplo das aranhas, pássaros, tamanduás, anfíbios, répteis, entomopatógenos (vírus, bactérias, fungos, nematoides, etc), além dos próprios insetos entomófagos (BELLOWS; FISHER, 1999; ALVES; LOPES, 2008, PARRA, 2014). Dentre estes, os entomopatógenos e os insetos entomófagos (predadores e parasitoides), são os mais conhecidos e usados no controle biológico de insetos pragas. Nessa revisão de literatura iremos focar nos grupos dos insetos entomófagos predadores.

Dependendo de como esses organismos são usados no controle, eles podem ser categorizados em controle biológico aplicado e controle natural (por conservação). No caso do controle biológico clássico aplicado, um inimigo natural exótico é introduzido em um determinado local (país) para controlar outra espécie também exótica, que necessita de regulação de sua população em novas áreas (FISCHBEIN; CORLEY, 2022). Além disso, o controle biológico aplicado aumentativo tem como princípio básico aumentar as populações de inimigos naturais nativos em campo ou em cultivo protegido por meio da liberação dos mesmos, de forma inundativa ou inoculativa (BUENO et al., 2009; PARRA, 2014). Um exemplo dos organismos usados neste tipo de sistema, utilizado desde 1965 até a atualidade no controle de pragas a nível comercial, é a espécie *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot, liberado de forma massal em casas de vegetação para controle de moscas brancas e o ácaro rajado (VAN DRIESCHE et al., 2012).

Por último, no controle biológico natural por conservação, todas as ações são tomadas para proteger, manter e aumentar as populações de inimigos naturais já existentes nas áreas, sem a introdução de organismos exóticos (EILENBERG et al., 2001). Esse método tem por princípio utilizar espécies nativas de inimigos naturais que já ocorrem na área, através de ações de sua conservação no habitat, tais como a ecologia de paisagens com plantas atrativas ou de refúgio nas entrelinhas ou boradura, que fornecem alimento

alternativo e favorecem a permanência dos agentes de controle biológico na área na ausência da presa; bem como a redução ou modificação da utilização do controle químico, na tentativa de reduzir a exposição (no tempo e/ou no espaço) dos inimigos naturais aos compostos tóxicos (PARRA, 2014; FONTES et al., 2020). O controle biológico natural é muito importante no manejo de pragas em diversos sistemas de cultivo, sobretudo em sistemas de produção orgânica e/ou ecológica, onde existe uma restrição do uso de agrotóxicos. Dessa forma, a entomofauna benéfica nativa contribui para o equilíbrio natural das espécies e retardando os surtos de pragas (FONTES et al., 2020).

1.2 Insetos predadores

Os insetos predadores, requerem alimentar-se de outros insetos para completar seu desenvolvimento, e esses podem ser encontrados em 22 ordens de insetos (MONTGOMERY, 2011; BELLOWS; FISHER, 1999). Algumas espécies são predadores tanto na fase imatura como na fase adulta, a exemplo das libélulas, das tesourinhas, dos carabídeos, de percevejos da sub-família Asopinae (ex. *Podisus nigrispinus* DALLAS) etc, enquanto outras espécies são predadoras apenas na fase imatura, como as moscas Syrphidae, alguns espécies de crisopídeos (ex. *Cereocrysa* spp.), as formiga-leão (Myrmeleontidae), apresentado alteração na dieta na fase adulta, seja por alteração no aparelho bucal ou por mudança de preferência alimentar (BELLOWS; FISHER et al., 1999). Entre os grupos de predadores mais utilizados no controle biológico aplicado, destacam-se as famílias Coccinellidae (Coleoptera), Chrysopidae (Neuroptera), Pentatomidae: Asopinae e Anthocoridae (Heteroptera) (VAN DRIESCHE et al., 2009). Nessa revisão iremos focar nas joaninhas predadoras (Coleoptera: Coccinellidae).

2 | JOANINHAS (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)

Coccinellidade é uma família de insetos da ordem Coleoptera, conhecida como joaninhas, caracterizada pela aparência vistosa dos adultos e pelos hábitos predatórios da maioria das espécies (MAJERUS, 1994; GIORGI et al., 2009). Existem entre 6000 e 7000 espécies descritas, distribuídas em 360 gêneros e 42 tribos (VANDENBERG, 2002; NEDVĚD; KOVÁŘ, 2012; SOARES et al., 2023), das quais cerca de 2000 espécies são encontradas na região Neotropical (ALMEIDA; RIBEIRO-COSTA, 2009; SOARES et al., 2023). Embora a maioria das espécies (> 90%) de joaninhas seja entomófaga, nem todas possuem este tipo de alimentação, havendo espécies classificadas como micófagas e fitófagas (MAJERUS, 1994; GIORGI et al., 2009). A preferência alimentar das espécies desta família pode variar de acordo com a subfamília a que pertencem. Por exemplo, as espécies de Coccinellinae são predadoras predominantes de pulgões e psílídeos; Chilocorinae de pulgões e cochonilhas; Ortaliinae de cigarrinhas, psílídeos e formigas; Sticholotidinae de pulgões e cochonilhas; Scymninae de ácaros, pulgões e cochonilhas (GIORGI et al., 2009).

As joaninhas entomófagas são altamente vorazes e ativas na busca de suas

presas, tanto na fase larval quanto adulta, sendo, portanto, muito utilizadas para controlar populações de pulgões, moscas-brancas, psílídeos, tripses, ácaros, cochonilhas, ovos de alguns lepidópteros e lagartas neonatas (HODEK, 1973; GORDON, 1985; MAJERUS; KEARNS, 1989; HODEK et al., 2012; MANI et al., 2022). Várias empresas comercializam esses agentes biológicos no mundo, em especial no continente Europeu (e.g. Koppert Biological Systems and Biobest®) e Norte Americano (e.g. Ladybug Direct, Planet Natural). No Brasil a venda de joaninhas ainda não é uma realidade pelas empresas locais (e.g. Koppert do Brasil, Promip), dessa forma sua utilização por enquanto fica restrita ao controle biológico por conservação ou clássico, a exemplo de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant que foi importada do Chile para o controle da cochonilha-branca dos citros, *Planococcus citri* (Hemiptera: Pseudococcidae) (GRAVENA, 2003).

Com base em seus hábitos alimentares e eficácia no controle de outros artrópodes, as joaninhas têm sido amplamente utilizadas em programas de controle biológico, através da liberação inundativas em campo (MASON et al., 2023). Por essa razão, não é surpreendente que o primeiro caso de controle biológico bem-sucedido tenha envolvido a introdução da joaninha *R. cardinalis* (Mulsant) e vários outros programas clássicos de controle biológico tenham utilizado espécies de joaninhas. A partir dessas liberações bem-sucedidas, várias espécies de joaninhas foram adaptadas e criadas em massa como uma estratégia para controlar populações de insetos-praga, que normalmente invadem novas áreas (IPERTI, 1999; OBRZYCKI et al., 2009). Alguns exemplos dessas espécies são: *Cryptognatha nodiceps* (Marshall), *Hyperaspis pantherina* (Fürsch), *Rhyzobius lophanthae* (Blaisdell), *Chilocorus nigritus* (Fabricius) e *Chilocorus bipustulatus* (Linnaeus), para controle de cochonilhas. *Harmonia axyridis* (Pallas), *Coccinella septempunctata* (Linnaeus) e *Diomus pumilio* (Weise) para controle de Sternorrhyncha (OBRZYCKI; KRING, 1998; FIDELIS et al., 2023).

No entanto, os programas de criações massais de inimigos naturais e as introduções em campo podem fracassar se não se realiza uma correta identificação do organismo a multiplicar ou se desconhece a biologia e ecologia do mesmo (PARRA, 2014). Alguns fatores reportados que levam a falhas no controle são: predação intra-guilda, competição por nicho e recursos com espécies nativas, falta de hospedeiros alternativos, falta de sincronia nos ciclos biológicos do predador e a praga, entre outros (HAJEK et al., 2016). Isto demonstra que é necessário antes da produção e liberação de inimigos naturais, conhecer a biologia do hospedeiro ou presa, e os fatores que participam e modulam a interação dos mesmos no ambiente.

Além do controle biológico clássico com espécies exóticas de joaninhas, existem outros potenciais controladores nativos que fazem parte do controle biológico conservacionista, onde através de estratégias de manejo da paisagem e controle biológico aumentativo, promove-se o aumento e estabelecimento de populações de inimigos naturais nativos das áreas de infestação da praga. Um exemplo é a joaninha *Tenuisvalvae notata*

(Mulsant), nativa da América do Sul e um importante predador de cochonilhas-farinhas, devido à sua alta voracidade tanto na fase larval quanto na fase adulta (BARBOSA et al., 2014).

2.1 Joaninhas Coccidófagas

Todos os coccinelídeos que se alimentam de cochonilhas (Hemiptera: Sternorrhyncha) são classificados como coccidófagos (FISHER et al., 1999). Essas espécies, diferentemente daquelas afidófagas (predadores de pulgões), apresentam um tempo de desenvolvimento menor, que coincide com o tempo de desenvolvimento da presa (DIXON et al., 1997; MILONAS et al., 2015). Em relação à eficiência no controle, as espécies coccidófagas também são consideradas melhores do que outros predadores dessa família, pois são mais vorazes e se alimentam constantemente, sem grandes períodos de inatividade (DIXON; DIXON, 2000). Portanto, apesar de haver um maior número de espécies de joaninhas afidófagas descritas, historicamente as espécies coccidófagas são mais usadas na liberação contra pragas Sternorrhyncha em todo o mundo (FISHER et al., 1999; FISCHBEIN; CORLEY, 2022).

Entre as joaninhas com preferência alimentar por cochonilhas, destacam-se no Brasil as espécies *C. montrouzieri* e *T. notata*. A primeira é amplamente usada em programas de controle biológico clássico em todo o mundo (JIANG et al., 2009), e a segunda espécie tem distribuição desde o planalto da Colômbia até o norte do Paraguai, apresentando alto potencial para implementação de controle biológico por conservação em áreas de ocorrência natural (BARBOSA et al., 2014). Ambas se caracterizam por apresentarem uma cobertura de secreção cerosa branca durante as fases de larva e pupa, visualmente semelhante à cera produzida pelas presas que consomem. Segundo alguns autores, essa é uma estratégia de defesa contra seus próprios predadores e parasitoides associados às presas, além de ser uma estratégia de camuflagem para facilitar a entrada na colônia das presas de forma despercebida, como um “lobo em pele de cordeiro” (POPE, 1979; VÖLKL; VOHLAND, 1996; MAJERUS et al., 2007; PÉREZ-RODRÍGUEZ; MESSELINK, 2023). Interessantemente, estudos recentes demonstraram que não há relação na constituição química da cera destas joaninhas com a de suas presas (DE LA PAVA, 2023).

2.2 Interação Coccinellidae – Sternorrhyncha

A resposta dos coccinelídeos a esse tipo de presa é semelhante à de outros inimigos naturais. Eles seguem um padrão de procura ativa que envolve a localização inicial de habitats (plantas) onde a presa pode estar, seguida da busca de presas nessas plantas, ataque, captura, subjuga e consumo das presas (Hodek 1993; Souza et al., 2019). No entanto, algumas presas capturadas podem não ser adequadas para a sobrevivência e reprodução das espécies e até mesmo ser prejudiciais (HATTINGH; SAMWAYS, 1991; SOUZA et al., 2019). Por exemplo, a joaninha *T. notata* foi observada sobre colônias da cochonilha-do-carmim, *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) (Hemiptera: Dactylopiidae), em

plantas de palma forrageira, mas essa presa não permite que as larvas completem seu desenvolvimento devido ao ácido carmínico (BARBOSA et al., 2014). Assim, condições intrínsecas do predador (e.g. idade, fome, preferência alimentar, sexo) e ambientais (e.g. disponibilidade de recurso, temperatura, risco de morte etc.) irão interferir no consumo das presas e consequentemente no sucesso do controle biológico com joaninhas.

A interação predador-presa, pelo menos nos adultos de coccinelídeos, é mediada pela captação de sinais visuais e químicos associados às presas, com o objetivo de fazer uma escolha mais adequada para aumentar o sucesso reprodutivo desses indivíduos. No entanto, tem sido sugerido que a busca por presas em plantas parece ser aleatória em coccinelídeos até que haja contato com uma presa (FISHER et al., 1999). Atualmente, sabe-se que os coccinelídeos podem discriminar entre estímulos coloridos (MONDOR; WARREN, 2000), orientar-se em relação aos voláteis liberados por plantas infestadas com suas presas regulares, distinguir entre plantas com danos mecânicos e plantas infestadas por presas (YOON et al., 2010) e identificar as fases de desenvolvimento de suas presas na planta (YONEYA et al., 2009).

No caso das espécies coccidófagas, as interações são mediadas não apenas pela percepção de estímulos químicos, mas também pela produção de cera, especialmente nas fases mais vulneráveis do predador, como a larva e a pupa (POPE, 1979; HODEK, 1993). A cera é usada como estratégia de defesa contra a ação de outros predadores, como as formigas (VÖLKL; VOHLAND, 1996; PÉREZ-RODRÍGUEZ; MESSELINK, 2023), e auxilia no processo de forrageamento, evitando uma resposta negativa por parte da presa (AGARWALA; YASUDA, 2001). Além disso, devido à associação dos Sternorrhyncha com as formigas, devido ao recurso açucarado que eles oferecem, conhecido como “honeydew” (MAJERUS et al., 2007; HODEK; HONEK, 2009), os coccinelídeos apresentam interações competitivas com as formigas, que podem mostrar agressividade tanto em relação aos adultos quanto às larvas. Os adultos podem ser afugentados das colônias de presas, enquanto às larvas podem ser predadas. Assim, as interações de coccinelídeos no campo não se restringem apenas àquelas ligadas às suas próprias presas, mas também às outras espécies que porventura compõem a teia alimentar onde suas presas estão inseridas.

3 | CONCLUSÃO

O controle biológico desempenha um papel importante na regulação de populações de pragas em agroecossistemas. A introdução de inimigos naturais, como os coccinelídeos, é uma estratégia amplamente utilizada para controlar várias espécies de pragas agrícolas mundialmente. Devido a modificações ambientais e introdução de novas pragas, muitas espécies de inimigos naturais requerem liberações periódicas para aumentar efetivamente as suas populações e promover o controle de pragas em áreas alvo.

Para garantir a efetividade do controle biológico com coccinelídeos, é fundamental

conhecer a biologia e ecologia desses insetos e as possíveis interações na teia alimentar que serão inseridos. Fatores como o condicionamento pré-imaginal, a experiência individual, o valor nutricional das presas e as relações mutualísticas que as presas apresentam com outros organismos podem influenciar o comportamento predatório dos coccinelídeos e consequentemente o sucesso do programa de controle biológico. A interação predador-presa é frequentemente mediada por sinais químicos e físicos, como ceras e voláteis, produzidos pelas presas. No entanto, ainda há muito a ser descoberto sobre os fatores que modulam essas interações e como o comportamento e desenvolvimento dos coccinelídeos são afetados ao se alimentarem de diferentes presas.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L.M., RIBEIRO-COSTA, C.S. Coleópteros predadores (Coccinellidae). In: PANIZZ, A. R.; PARRA, J. R. P. (Org.). Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, p. 931-968, 2009.
- ALVES, S.B., LOPES, R.B. Controle Microbiano de Pragas na América Latina. **Avanços e desafios**. Piracicaba, FEALQ. p. 414, 2008.
- AGARWALA, B.K., YASUDA, H. Larval interactions in aphidophagous predators: effectiveness of wax cover as defence shield of *Scymnus* larvae against predation from syrphids. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 100, p. 101-107, 2001.
- BARBOSA, P.R.R. et al. Predatory behavior and life history of *Tenuisvalvae notata* (Coleoptera: Coccinellidae) under variable prey availability conditions. **Florida Entomologist**, v. 97, p. 1026-1034, 2014.
- BELLOWS, T.S., FISHER, T.W. Handbook of Biological Control. San Diego, **Academic Press**, p. 1046, 1999..
- BUENO, V.H.P. Controle biológico de pragas: Produção massal e Controle de qualidade. **Lavras, UFLA**, 2009, 429p.
- DEBACH, P. Sucesses, trends, and future possibilities. In: DeBach P, Schlinger EI (eds) Biological control of insect pests and weeds. **London, Chapman and Hall Ltd**, p. 673-927, 1964.
- DIXON, A.F.G., HEMPTINNE, J.L., KINDLMANN, P. Effectiveness of ladybirds as biological control agents: Patterns and processes. **Entomon**, v. 42, p. 71-83, 1997.
- DIXON, A.F.G., DIXON, A.E. Insect predator-prey dynamics: ladybird beetles and biological control. Cambridge: **University Press**, 206 p. 2000.
- EILENBERG, J.; HAJEK, A.; LOMER, C. Suggestions for unifying the terminology in biological control. **Biological Control**, Dordrecht, v. 46, p. 387-400, 2001.
- FIDELIS, E. G., QUERINO, R. B., ADAIME, R. The Amazon and Its Biodiversity: a Source of Unexplored Potential Natural Enemies for Biological Control (Predators and Parasitoids). **Neotropical Entomology**, v. 107, p. 1-20, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13744-023-00922-5>.

- FISCHBEIN, D., CORLEY, J. C. Population ecology and classical biological control of forest insect pests in a changing world. **Forest Ecology and Management**, v. 520, p. 120400, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2022.120400>.
- FISHER, T. W. et al. Handbook of biological control: principles and applications of biological control. **Elsevier**, p. 432-434, 1999.
- FONTES, E.M.G, VALADARES-INGLIS, M.C. GALLO, D. (IN MEMORIAM), O. NAKANO, S. SILVEIRA NETO, R.P.L. CARVALHO, G.C. BATISTA, E.B. FILHO, J.R. P. PARRA, R.A. ZUCCHI, S.B. ALVES, J.D. VENDRAMIM, L.C. MARCHINI & J.R.S. LOPES. 2002. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba, FEALQ, 920 p. Controle biológico de pragas da agricultura /, editoras técnicas. – Brasília, DF: Embrapa, p. 510, 2020.
- GIORGI, J.A., VANDENBERG, N.J., MCHUGH, J.V., FORRESTER, J.A, SLIPINSKI, S.A., MILLER, K.B., SHAPIRO, L.R., Whiting, M.F. The evolution of food preferences in Coccinellidae. **Biological Control**, v. 51, p. 215–231, 2009.
- GORDON, R.D. The Coccinellidae (Coleoptera) of America north of Mexico. **Journal of the New York Entomological Society**, v. 93, p.1-912, 1985.
- GRAVENA, S. Manejo ecológico da cochonilha-branca dos citros, com ênfase no controle biológico pela joaninha *Cryptolaemus montrouzieri*. **Laranja**, v. 24, p. 71-82, 2003.
- HAJEK, A.E., HURLEY, B.P., KENIS, M., GARNAS, J.R., BUSH, S.J., WINGFIELD, M.J., COCK, M.J. Exotic biological control agents: a solution or contribution to arthropod invasions? **Biological Invasions**, v.18, p. 953-969, 2016.
- HATTINGH, V., SAMWAYS, M.J. Determination of the most effective method for field establishment of biocontrol agents of the genus *Chilocorus* (Coleoptera: Coccinellidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 81, p.169-174, 1991.
- HODEK, I. Biology of *Coccinellidae*. Prague, **Academic of Sciences**, p. 2601973.
- HODEK, I. Habitat and food specificity in aphidophagous predators. **Biocontrol Science and Technology**, v. 3, p. 91-100, 1993.
- HODEK, I., HONEK, A. Scale insects, mealybugs, whiteflies and psyllids (Hemiptera, Sternorrhyncha) as prey of ladybirds. **Biological Control**, v. 51, p. 232-243, 2009.
- HODEK I., VAN EMDEN, H.F., HONEK, A. Ecology of Coccinellidae. Dordrecht, Wiley-Blackwell, p. 600, 2012.
- IPERTI, G. Biodiversity of predaceous coccinellidae in relation to bioindication and economic importance. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 74, p. 323-342, 1999.
- JIANG R.X., LI, S., GUO, Z.P., PANG, H. Research status of *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant and establishing its description criteria. **Journal of Environmental Entomology**, v. 31, p. 238–247, 2009
- MAJERUS, M.E.N., KEARNS, P.W.E. Ladybirds. 10, **Naturalists' Handbooks Series**. London, Richmond Publishing Co., p. 103, 1989.

MAJERUS, M.E.N. Ladybirds. London, **Harper Collins**, p. 367, 1994.

MAJERUS, M.E., Sloggett, J.J., Godeau, J.F., Hemptinne, J.L. Interactions between ants and aphidophagous and coccidophagous ladybirds. **Population Ecology**, v.49, p. 15-27, 2007.

MANI, M., KRISHNAMOORTHY, A., RAMANUJAM, B. Trends in the Biological Control of Horticultural Crop Pests in India. **Trends in Horticultural Entomology**, p. 243-281, 2002.

MASON, P.G., BARRATT, B.I., MC KAY, F., Klapwijk, J.N., SILVESTRI, L.C., HILL, M., HOELMER, K.A. Impact of Access and Benefit Sharing implementation on biological control genetic resources. **Biological Control**, p. 1-17, 2023.

MILONAS, P.G., PARTSINEVELOS, G., MARTINO, A.F. Patch assessment for oviposition by a predator: The effect of prey density and prey oviposition period. **Journal Insect Behavior**, v. 28, p. 535-543, 2015.

MONDOR, E.B., WARREN, J.L. Unconditioned and conditioned responses to colour in the predatory coccinellid, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). **European Journal of Entomology**. v. 97, p. 463-467, 2002.

MONTGOMERY, M.E. Understanding federal regulations as guidelines for classical biological control programs. Implementation and Status of Biological control of the hemlock Woolly adelgid, p. 25, 2011.

NEDVĚD, O., KOVÁŘ, I. Phylogeny and classification I. In I. Hodek, H.F. van Emden, A. Honěk (Eds.). Ecology and behavior of the ladybird beetles (Coccinellidae) República Checa: Honěk, **Blackwell Publishing**. p. 1-12, 2012.

OBRYCKI, J.J., KRING, T.J. Predaceous coccinellidae in biological control. **The Annual Review of Entomology**. v. 43, p. 295-321, 1998.

OBRYCKI, J.J., HARWOOD, J.D., KRING, T.J., O'NEIL, R.J. Aphidophagy by Coccinellidae: application of biological control in agroecosystems. **Biological Control**. v. 51, p. 244-254, 2009.

PARRA, J.R.P. Biological control in Brazil: an overview. **Scientia Agricola**, v. 71, p. 420-429, 2014.

PÉREZ-RODRÍGUEZ, J., MESSELINK, G.J. Artificial shelters enhance the establishment of the aphidophagous predator *Scymnus interruptus* on sweet pepper plants. **Biological Control**. v. 177, p.105-110, 2023.

POPE, R.D. Wax production by coccinellid larvae (Coleoptera). **Systematic Entomology** v. 4, p. 171-196, 1979.

SOARES, A.O., HAELEWATERS, D., AMEIXA, O.M., BORGES, I., BROWN, P., CARDOSO, M., LOSEY, J.E. A roadmap for ladybird conservation and recovery. **Conservation Biology**, v. 37, n.1, p. 13965, 2023.

SOUZA, B., DOS SANTOS-CIVIDANES, T.M., CIVIDANES, F.J., DE SOUSA, A.L.V. Predatory Insects. In B. Souza, L. Vázquez, R. Marucci (Eds.), Natural Enemies of Insect Pests in Neotropical Agroecosystems. **Springer**, Cham, p. 73, 2019.

VAN DRIESCHE, R., HODDLE, M., CENTER, T. Control of pests and weeds by natural enemies: an introduction to biological control. Carlton, **John Wiley & Sons**, p. 17-45, 2009.

VAN DRIESCHE, R., BELLOWS J.R., THOMAS S. Biological control. **Springer Science & Business Media**, p. 13-16, 2012.

VANDENBERG, N.J. Family 93. Coccinellidae Latreille 1807, p. 371-389 In R.H. Arnett Jr, M.C. Thomas, P.E. Skelley, J.H. Frank (Eds.), American Beetles. Polyphaga: Scarabaeoidea through Curculionoidea. Florida, **CRC Press LLC**, Boca Raton, p. 836, 2002.

VÖLKL, W., VOHLAND, K. Wax covers in larvae of two *Scymnus* species: do they enhance coccinellid larval survival?. **Oecologia**, v.107, p. 498-503, 1996.

YONEYA, K., KUGIMIYA, S., TAKABAYASHI, J. Can herbivore-induced plant volatiles inform predatory insect about the most suitable stage of its prey?. **Physiological Entomology**. v. 34, p. 379-386, 2009.

Yoon, C., Seo, D.K., Yang, J.O., Kang, S.H., Kim, G.H. Attraction of the predator, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae), to its prey, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae), feeding on Chinese cabbage. **Journal of Asia-Pacific Entomology**. v. 13, p. 255-260, 2010.

PHYSICAL, CHEMICAL AND SHELF-LIFE CHARACTERISTICS OF CANINE BISCUITS CONTAINING NATURAL ANTIOXIDANTS

Data de submissão: 15/08/2023

Data de aceite: 02/10/2023

Jessyca Caroline Rocha Ribas

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, J35, 87020-900, Maringá, PR, Brasil.
0000-0002-6046-2827

Livian Yumi Iwaoka

Graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, J35, 87020-900, Maringá, PR, Brasil.
0000-0001-7923-2522

Paula Toshimi Matumoto-Pintro

Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, PR, Brasil.
0000-0002-9182-5758

ABSTRACT: Snacks are foods that are increasingly being provided to dogs. The addition of natural antioxidants in this type of food improves its nutritional composition and brings benefits to animal health. The objective was to evaluate the effects of natural antioxidants (turmeric and marigold) on the physicochemical and technological characteristics and on the shelf life of canine biscuits made with three sources

of fat (canola, linseed and olive oil). The parameters analyzed were: antioxidant activity, lipid oxidation, color and texture in biscuits with up to 60 days of storage. The addition of turmeric to the biscuits increased the antioxidant activity and intensified the color of the biscuits, although it did not influence the oxidative stability. The addition of linseed oil contributed to a greater formation of malonaldehyde. Storage reduced the hardness of the biscuits and increased lipid oxidation. It is concluded that the addition of turmeric increases the antioxidant activity, influences the color but does not influence the oxidative stability and texture of dog biscuits.

KEYWORDS: ABTS, DPPH, linseed oil, marigold, turmeric.

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E VIDA DE PRATELEIRA DE BISCOITOS CANINOS COM ANTIOXIDANTES NATURAIS

RESUMO: Petiscos são alimentos cada vez mais oferecidos aos cães. A adição de antioxidantes naturais neste tipo de alimento melhora sua composição nutricional e traz benefícios à saúde animal. O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos de

antioxidantes naturais (cúrcuma e calêndula) nas características físico-químicas, tecnológicas e na vida de prateleira de biscoitos caninos elaborados com três fontes de gordura (canola, linhaça e azeite de oliva). Os parâmetros analisados foram: atividade antioxidante, oxidação lipídica, cor e textura em biscoitos com até 60 dias de armazenamento. A adição de cúrcuma aos biscoitos aumentou a atividade antioxidante e intensificou a cor dos biscoitos, porém não influenciou a estabilidade oxidativa. A adição de óleo de linhaça contribuiu para uma maior formação de malonaldeído. O armazenamento reduziu a dureza dos biscoitos e aumentou a oxidação lipídica. Conclui-se que a adição de cúrcuma aumenta a atividade antioxidante, influencia na cor, mas não influencia na estabilidade oxidativa e na textura de biscoitos para cães.

PALAVRAS-CHAVE: ABTS, calêndula, cúrcuma, DPPH, óleo de linhaça.

1 | INTRODUCTION

Snacks for companion animals are becoming popular at the same rate that pets are increasingly being considered family members (White et al., 2016; Morelli et al., 2020). These snacks are provided for the purpose of pleasing or rewarding, being classified specific food or chewable product (BRASIL, 2009). The variety of snacks available on the market is notorious, which can be presented in extruded, roasted, semi-moist or wet forms, with a wide range of textures, formats, and flavors. The most popular snack offered to pets are biscuits and chewable products (White et al., 2016). Biscuits for dogs are dry and hard, low-calorie foods, composed of cereals, salt, binders and flavor enhancers (Zahra et al., 2021), and ingredients with therapeutic purposes can be added like mental health promoters (Ricca, 2020; Margutti et al., 2022), oral health (Santos et al., 2021) and intestinal health (Baroncello et al., 2020) among other purposes.

In bakery products, when fats are mixed with flour that has not yet been hydrated, fat particles surround the flour particles, reducing the elasticity of the dough, which prevents the dough from shrinking after laminating the cookies. In addition, the fat has a lubricating action, preventing the products from sticking to the baking sheets and causing a sensation of melting in the mouth at the time of consumption (Giuffrè et al., 2022).

For the manufacture of biscuits, different sources of lipids can be used in the dough, such as animal fat or vegetable oils, which vary in relation to physical, chemical and nutritional characteristics. Vegetable oils when used as an alternative to solid fats produce biscuits with a healthier fatty acid profile (Tarancón et al., 2014). Canola oil, for example, is mainly composed of oleic acid (65%), linoleic acid (15%) and linolenic acid (4.5%). In linseed oil there is a predominance of linolenic acid (46.5%), oleic acid (25%) and linoleic acid (14%), while olive oil stands out for its oleic acid content (75%) (Alves et al., 2019).

However, it is important to consider the inclusion of fats in bakery products from a nutritional point of view, due to their tendency to oxidation and the consequent formation of free radicals (Giuffrè et al., 2022). Generally, polyunsaturated fatty acids present in vegetable oils are more prone to lipid oxidation than animal fat. Thus, one way to increase

the shelf life of biscuits and other high-fat pet foods is to use antioxidants such as synthetic butylhydroxytoluene (BHT), butylhydroxyanisole (BHA) and ethoxyquin (Campigotto et al., 2020). However, the use of synthetic antioxidants in foods has been related to deleterious effects to the human and animal organism. In this way, the search for the replacement of synthetic antioxidants for natural ones, such as turmeric and marigold, is increasing.

Turmeric (*Curcuma longa* L.) is an important spice with an intense yellow color and a strong flavor used in the cuisine of several countries. It has bioactive compounds known as curcuminoids, represented by curcumin (70%), demethoxy curcumin (20%) and bisdemethoxy curcumin (10%) (Ma, Du & Wang, 2017). Curcumin is a potent antioxidant and anti-inflammatory agent with hepatoprotective, anticarcinogenic and antimicrobial properties (Munekata et al., 2021).

Marigold (*Calendula officinalis*) is a plant belonging to the Asteraceae family. It has yellow or orange flowers that are used as food, dye, spice, tea, ointment, or cream in cosmetics. The species contains a variety of active biological constituents, such as carotenoids, flavonoids, saponins, sterols, phenolic acids, which have a wide range of pharmacological effects (AshwlayanVD & Verma, 2018). In this way, the inclusion of natural antioxidants in dog food aims to protect lipid oxidation during storage and their biological properties act to promote animal health (Campigotto, et al., 2020). The present work aims to evaluate the effects of different sources of fat and natural antioxidants on the physicochemical and technological characteristics and on the shelf life of canine biscuits.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 Materials

The ingredients for the manufacture of biscuits were purchased from the local market (Maringá, Paraná, Brazil). Folin-Ciocalteu, sodium carbonate, gallic acid, 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical (ABTS), potassium persulfate and 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl free radical (DPPH) are from Sigma Aldrich (Spruce Street, St Louis, USA). The other reagents used are analytical grade.

2.2 Characterization of turmeric and marigold

Turmeric and marigold extracts were prepared with 100% methyl alcohol in proportions of 1:10 (w/v). The supernatant was collected and used for analysis.

The antioxidant activity of turmeric and marigold were determined using the 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging methods described by Re et al., (1999) and the scavenging of the free radical 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH) (Li, et al., 2009). Results were expressed as a percentage.

The color was determined in turmeric and marigold using a colorimeter (Konica Minolta, CR400, China) using a CIELAB scale, measuring L* (100 ¼ white; 0 ¼ black), a*

(+red; -green) and b* (+yellow; -blue) at three distinct points.

2.3 Preparation and characterization of biscuits

The biscuits were prepared with formulations based on rice flour and chickpea flour. Based on the IC50 value of DPPH (concentration necessary of the antioxidant to reduce the DPPH radical by 50%), the addition of 0.5% of turmeric or marigold was defined in treatments T2 and T3 respectively. The treatments were tested:

1. T1CA: biscuit made with canola oil without antioxidants;
2. T1LI: biscuit made with extra virgin linseed oil without antioxidants;
3. T1AZ: biscuit made with extra virgin olive oil without antioxidants;
4. T2CA: biscuit made with canola oil and turmeric;
5. T2LI: biscuit made with extra virgin linseed oil and turmeric;
6. T2AZ: biscuit made with extra virgin olive oil and turmeric;
7. T3CA: biscuit made with canola oil and marigold;
8. T3LI: biscuit made with extra virgin linseed oil and marigold;
9. T3AZ: biscuit made with extra virgin olive oil and marigold.

Ingredients	Grams
Rice flour	400
Chickpea flour	220
Distilled water	200
Fat	100
Dehydrated whole egg	50
Sugar	27
Salt	2.5
Antioxidant (except T1)	0.5

Nutritional composition	
Moisture (%)	05.82 ± 0.05
Mineral matter (g 100g ⁻¹ DM)	02.81 ± 0.14
Carbohydrates (g 100g ⁻¹ DM)	64.57 ± 0.37
Crude protein (g 100g ⁻¹ DM)	11.47 ± 0.15
ethereal extract (g 100g ⁻¹ DM)	16.11 ± 0.17
Crude fiber (g 100g ⁻¹ DM)	05.05 ± 0.36

Table 01: Basic recipe to produce dog biscuits (1000 grams) and nutritional composition:

The process of preparing biscuits was carried out in the following steps: weighing the ingredients, mixing, molding, cutting, and baking in a conventional oven (Suggar FE1001BR, Brazil) at 200 °C for 12 minutes. After roasting, the biscuits were cooled to room temperature and packed in polypropylene plastic bags closed by pressing. The biscuits had a diameter of 4x4cm and a weight of around five grams. The samples were evaluated

in triplicate at intervals of 0, 15, 30 and 60 days of storage at room temperature. Table 01 shows the formulations of the biscuits and the nutritional composition.

The biscuits of each treatment were ground, and the extracts were prepared with 100% methyl alcohol in the proportions of 1:10 (m/v). To determine the antioxidant activity of biscuits, 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) scavenging method as previously described.

Thiobarbituric acid reactive substances (TBA) resulting from lipid oxidation were determined according to the method of Juncher et al. (2001). TBA values were expressed in mg of malonaldehyde per kilogram of sample (mg malonaldehyde / kg of sample).

Biscuits from each treatment were ground and homogenized, and the color of the snacks was performed in each treatment at three different points with the aid of a portable colorimeter (Minolta CR400) and the color evaluation was based on the CIELAB system. Texture analysis was performed on the biscuits using a Brookfield-CT III texturometer. The equipment was calibrated in the following settings: Compression; test speed: 5 mm/s; trigger load: 30 g; probe: TA7; repair: TA-JTPB. The hardness was measured in grams.

2.4 Statistical analysis

The results obtained were submitted to analysis of variance using the statistical program SISVAR 5.6 (UFLA, MG, Brasil). Means and standard deviation were calculated for each variable. Antioxidant concentrations (T1: 0%; T2: 0.5% turmeric; T3: 0.5% marigold) and storage time (0, 15, 30 and 60 days) were considered fixed factors in the factor model for the variables: antioxidant activity, lipid oxidation, color, and texture. When differences were statistically significant, Tukey's test was used with a 5% significance level. The experiment was repeated three times and analyzes were performed in triplicate.

3 | RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Characterization of turmeric and marigold

The results regarding the antioxidant activity and color of turmeric and marigold used as additives in canine biscuits are described in table 02. Turmeric showed higher antioxidant activity in relation to marigold both by scavenging the DPPH radical and ABTS.

	Tumeric	Marigold
Antioxidant activity		
DPPH (%)	94.03 ± 0.65 ^A	67.90 ± 2.60 ^B
ABTS (%)	66.39 ± 0.84 ^A	43.74 ± 0.64 ^B
Color		
L*	64.15 ± 0.26 ^B	77.13 ± 0.26 ^A
a*	13.26 ± 0.15 ^A	7.32 ± 0.16 ^B
b*	48.92 ± 0.16 ^B	52.99 ± 0.16 ^A

*Means with different uppercase letters in the same column have a significant difference (P<0.05).

**Results are expressed as mean ± standard deviation, in triplicate.

Table 02: Antioxidant activity and color of turmeric and marigold used in the preparation of canine biscuits.

The curcumin present in turmeric has an antioxidant function related to the number of hydroxyl groups in the structure of its aromatic ring. The number of these functional groups is directly proportional to the free radical scavenging activity of this polyphenolic compound (Ma, Du & Wang, 2017). Marigold has flavonoids and carotenoids which inhibit the production of various reactive oxygen species and free radicals due to its ability to inhibit oxidases, activate antioxidant enzymes, act as a chelator and by transferring electrons to free radicals (Jan, Andrabi & John, 2017).

From the color analysis, it is observed that turmeric has a lower luminosity value, greater intensity of red and lesser intensity of yellow in relation to marigold. The marigold is characterized by having a lesser shade of red and a greater shade of yellow. The characteristic coloring of these products mainly refers to the presence of carotenoids such as curcumin present in turmeric and lutein esters predominant in marigold (Rodrigues, Mercadante & Mariutti, 2018).

3.2 Characterization of biscuits

The antioxidant activity of dog biscuits made with different sources of fat and with the addition of turmeric or marigold over 60 days of storage is presented in Table 03.

The antioxidant effects of turmeric when used as a food additive are reported by several authors (Carvalho et al., 2020; El-Sayed et al., 2021; Roy et al., 2021; Yildiz et al., 2019). Biscuits made with the addition of turmeric (T2) showed scavenging activity of DPPH and ABTS radicals superior to the standard biscuits (T1) and with the addition of marigold (T3). Turmeric also has beneficial effects on the health of dogs due to its bioactive compound, the curcumin. Curcumin has anti-inflammatory effects and stimulates the activity of several antioxidant enzymes in the blood serum of dogs fed rations containing this compound (Campigotto et al., 2020). The incorporation of marigold as an antioxidant did not result in scavenging of DPPH and ABTS radicals at levels higher than biscuits without the addition of natural antioxidants. Marigold has bioactive compounds with antioxidant activity

(Table 01), although the content added to the biscuits may have been insufficient.

The antiradical activity of DPPH for biscuits made with turmeric reduced during the 60 days of storage, however, it remained constant for biscuits made with marigold except for the T3LI treatment. The antiradical activity of ABTS shows that the storage time did not influence the values obtained. The fat source used did not influence the antioxidant activity of the treatments. It is observed that the addition of turmeric influences the antioxidant activity by the DPPH and ABTS methods in biscuits. The lipid sources tested had no effect on this variable. Storage time can reduce antiradical activity for DPPH.

DPPH (%)				
	DAY 0	DAY 15	DAY 30	DAY 60
T1CA	10.46 ± 0.90 ^{BCa}	09.25 ± 2.71 ^{Ba}	09.63 ± 2.57 ^{Ba}	08.70 ± 1.22 ^{Ba}
T1LI	08.87 ± 2.35 ^{Ca}	08.84 ± 1.77 ^{Ba}	08.56 ± 1.37 ^{Ba}	08.80 ± 1.12 ^{Ba}
T1AZ	09.93 ± 1.00 ^{BCa}	08.87 ± 1.89 ^{Ba}	08.71 ± 1.72 ^{Ba}	09.17 ± 1.15 ^{Ba}
T2CA	18.18 ± 0.81 ^{Aa}	16.44 ± 1.49 ^{Aab}	15.01 ± 2.67 ^{Ab}	15.51 ± 1.43 ^{Aab}
T2LI	19.10 ± 1.56 ^{Aa}	16.57 ± 1.53 ^{Aab}	15.16 ± 1.62 ^{Ab}	14.52 ± 0.99 ^{Ab}
T2AZ	18.93 ± 0.82 ^{Aa}	15.08 ± 2.57 ^{Ab}	15.77 ± 1.85 ^{Aab}	16.36 ± 0.90 ^{Aab}
T3CA	09.86 ± 0.95 ^{BCa}	10.24 ± 1.73 ^{Ba}	09.89 ± 1.39 ^{Ba}	09.75 ± 1.06 ^{Ba}
T3LI	11.92 ± 1.77 ^{Ba}	10.57 ± 2.32 ^{Ba}	11.03 ± 1.30 ^{Ba}	08.02 ± 0.66 ^{Bb}
T3AZ	11.27 ± 2.09 ^{Ca}	10.68 ± 1.34 ^{Ba}	09.88 ± 1.75 ^{Ba}	08.81 ± 1.15 ^{Ba}
ABTS (%)				
	DAY 0	DAY 15	DAY 30	DAY 60
T1CA	04.11 ± 0.90 ^{BCa}	03.82 ± 0.28 ^{Ba}	04.07 ± 0.84 ^{Ba}	04.21 ± 0.49 ^{Ba}
T1LI	04.04 ± 0.67 ^{BCa}	03.92 ± 0.32 ^{Ba}	04.87 ± 0.77 ^{Ba}	04.03 ± 0.51 ^{Ba}
T1AZ	03.40 ± 0.42 ^{Ca}	04.44 ± 2.60 ^{Ba}	04.16 ± 0.81 ^{Ba}	03.78 ± 0.77 ^{Ba}
T2CA	09.47 ± 1.79 ^{Aa}	09.66 ± 1.93 ^{Aa}	11.43 ± 0.48 ^{Aa}	09.71 ± 1.44 ^{Aa}
T2LI	10.15 ± 2.69 ^{Aa}	09.11 ± 1.03 ^{Aa}	10.93 ± 1.04 ^{Aa}	10.35 ± 2.01 ^{Aa}
T2AZ	10.80 ± 1.16 ^{Aa}	09.68 ± 0.94 ^{Aa}	10.13 ± 0.76 ^{Aa}	10.54 ± 1.63 ^{Aa}
T3CA	05.45 ± 1.51 ^{Ba}	04.17 ± 1.13 ^{Ba}	05.28 ± 0.46 ^{Ba}	04.65 ± 0.53 ^{Ba}
T3LI	05.21 ± 0.76 ^{BCa}	04.58 ± 0.75 ^{Ba}	05.52 ± 0.41 ^{Ba}	04.78 ± 0.37 ^{Ba}
T3AZ	04.98 ± 0.95 ^{BCa}	04.00 ± 1.02 ^{Ba}	04.93 ± 1.19 ^{Ba}	04.66 ± 0.42 ^{Ba}

* T1 (biscuits made without the addition of natural antioxidants. T2 (biscuits made with the addition of 0.5% turmeric) and T3 (biscuits made with the addition of 0.5% of marigold) CA: canola oil; LI: linseed oil; AZ: olive oil. **Means with different uppercase letters in the same column have a significant difference (P<0.05). Means with different lowercase letters in the same row have a significant difference (P<0.05). ***Results are expressed as mean ± standard deviation in three true samples per treatment.

Table 03: Antioxidant activity of canine biscuits by the DPPH and ABTS methods with up to 60 days of storage

Lipid oxidation is one of the most common processes that occurs in food and is influenced by many factors such as exposure to air, light and temperature, unsaturated fatty acid content and manufacturing processes (Kozłowska et al., 2014). The oxidation

process results in the modification of the food's taste and odor, at the same time as the nutritional value, shelf life and food safety decrease due to the formation of primary and secondary compounds (Bialek et al., 2016). To verify and monitor the occurrence of this process, the method adopted in this work considered the analysis of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) based on the concentration of malonaldehyde (MDA). Figure 01 shows the behavior of lipid oxidation of canine biscuits over 60 days of storage.

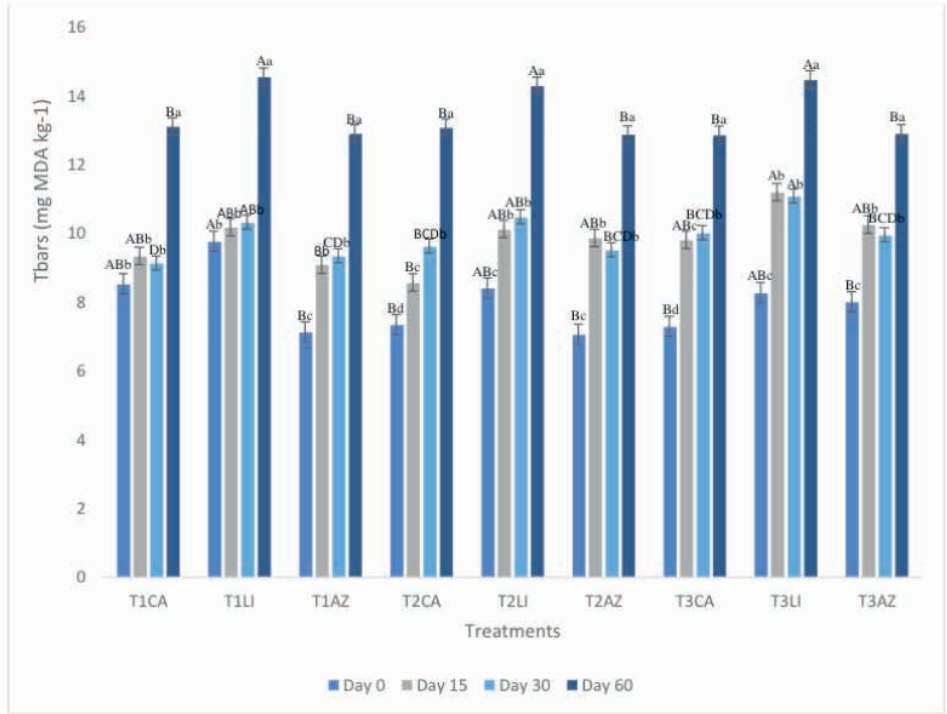


Figure 01: Comparative analysis of MDA levels (mg/kg) in canine biscuits samples prepared with up to 60 days of storage.

* T1 (biscuits made without the addition of natural antioxidants. T2 (biscuits made with the addition of 0.5% turmeric) and T3 (biscuits made with the addition of 0.5% of marigold) CA: canola oil; LI: linseed oil; AZ: olive oil. **Results are expressed as mean \pm standard error in three true samples per treatment. ***Means with different uppercase letters have a significant difference ($P < 0.05$) between treatments. Means with different lowercase letters have a significant difference ($P < 0.05$) between days of storage.

Biscuits made with linseed oil (T1LI, T2LI and T3LI) showed higher production of secondary products of lipid oxidation (malonaldehyde) when compared with biscuits made with canola oil and olive oil. This is due to the chemical composition of linseed oil, which has more than 50% of omega 3 (alpha-linolenic acid) in its composition. Omega 3 oxidizes 20 to 40 times faster than oleic acid (found in olive oil) and 2 to 4 times faster than linoleic acid (Odeh et al., 2021). Despite the consumption of omega 3 brings benefits to human and animal health. Flaxseed oil has a limited shelf life and low oxidative stability. Storage time negatively affected the oxidative stability of the biscuits. This difference was even greater

between 30 and 60 days of storage where there was an increase of more than 35% in the formation of secondary oxidation products. Other authors also report an increase in lipid oxidation of biscuits over storage time (Bialek et al., 2016).

Biscuits and crackers have low humidity, high lipid content and a large surface area, which facilitates the action of pro-oxidizing agents such as light and oxygen, leading to the degradation of fatty acids contained in the food over the shelf life (Gebreselassie & Clifford, 2016). The addition of turmeric or marigold as sources of natural antioxidants was not effective in reducing the formation of lipid oxidation products in dog biscuits. During the cooking, several physical and biochemical reactions take place, like water evaporation, protein denaturation, partial gelatinization of starch, Maillard reactions, and dough deformation (Chevallier et al., 2000). The high temperature to which the biscuits were subjected during baking can reduce the antioxidant capacity of turmeric and marigold and increase the oxidation processes of vegetable oils added to the mass. This way, the oxidative stability of the biscuits was not influenced by the added antioxidant, only the fat source and storage period.

Dogs use their sense of smell and taste to select foods to eat. Although color is for dogs a factor of little significance in food preference, it is one of the most attractive sensory factors for tutors at the time of purchase (Gomez Baquero et al., 2018). The biscuits showed differences in color, as shown in table 04. The luminosity of the biscuits was higher for those prepared without the addition of antioxidants, followed by biscuits with the addition of marigold and turmeric. With storage time, there was a tendency to reduce luminosity. The a^* scale indicates that the biscuits presented a green color while the b^* scale indicates that all of them presented a yellow color. The presence of canola oils, linseed and olive oil did not influence the color of the biscuits, although the addition of the antioxidant compound provided a difference between the treatments. The addition of turmeric provided stronger coloration in the a^* and b^* scales, followed by the addition of marigold.

COLOR				
L*				
	DAY 0	DAY 15	DAY 30	DAY 60
T1CA	84.07 ± 2.23 ^{Aa}	81.29 ± 0.95 ^{Aa}	81.75 ± 1.91 ^{ABa}	83.20 ± 3.06 ^{Aa}
T1LI	84.07 ± 2.20 ^{Aa}	79.67 ± 1.78 ^{ABCb}	82.68 ± 2.32 ^{ABa}	82.61 ± 3.03 ^{ABCab}
T1AZ	84.02 ± 1.57 ^{Aa}	80.46 ± 1.94 ^{ABa}	83.02 ± 2.25 ^{Aa}	82.73 ± 4.41 ^{ABa}
T2CA	81.24 ± 3.99 ^{Ca}	77.43 ± 2.09 ^{CDa}	79.81 ± 1.41 ^{Ca}	80.01 ± 3.19 ^{EFa}
T2LI	82.09 ± 2.09 ^{BCa}	75.97 ± 2.31 ^{Db}	79.87 ± 1.62 ^{Ca}	79.72 ± 3.61 ^{Fa}
T2AZ	81.28 ± 3.27 ^{Ca}	77.83 ± 2.39 ^{CDa}	80.77 ± 1.51 ^{BCa}	79.92 ± 3.01 ^{Fa}
T3CA	81.66 ± 2.83 ^{BCa}	79.30 ± 2.34 ^{ABCa}	81.72 ± 3.27 ^{ABa}	80.87 ± 1.86 ^{DEFa}
T3LI	82.71 ± 2.56 ^{ABCa}	77.42 ± 3.72 ^{CDb}	81.30 ± 1.93 ^{ABCab}	81.29 ± 3.26 ^{CDEab}
T3AZ	83.23 ± 1.34 ^{ABa}	78.15 ± 0.60 ^{BDCb}	79.75 ± 0.85 ^{Cb}	81.82 ± 2.52 ^{BDCa}
a*				
T1CA	-1.01 ± 0.26 ^{Bab}	-0.77 ± 0.30 ^{Cb}	-1.09 ± 0.17 ^{DBab}	-1.30 ± 0.44 ^{Ba}
T1LI	-1.40 ± 0.45 ^{Ba}	-0.18 ± 0.79 ^{Cb}	-1.27 ± 0.32 ^{CDa}	-1.39 ± 0.70 ^{Ba}
T1AZ	-1.08 ± 0.68 ^{Bbc}	-0.68 ± 0.26 ^{Cb}	-1.73 ± 0.16 ^{CDa}	-1.44 ± 0.41 ^{Bab}
T2CA	-6.74 ± 1.88 ^{Aa}	-4.58 ± 0.82 ^{BABb}	-6.07 ± 0.54 ^{ABab}	-6.12 ± 1.63 ^{ABab}
T2LI	-7.27 ± 0.91 ^{Aa}	-3.33 ± 1.34 ^{Bb}	-5.46 ± 0.57 ^{Ba}	-5.79 ± 2.66 ^{Aa}
T2AZ	-6.89 ± 1.55 ^{Aa}	-4.94 ± 1.49 ^{Ab}	-6.35 ± 0.16 ^{ABab}	-6.01 ± 1.79 ^{Ab}
T3CA	-1.21 ± 0.93 ^{Ba}	-1.28 ± 1.13 ^{Ca}	-1.89 ± 1.25 ^{Ca}	-1.56 ± 0.67 ^{Ba}
T3LI	-2.00 ± 1.11 ^{Ba}	-0.00 ± 1.69 ^{Cb}	-1.54 ± 0.32 ^{CDa}	-1.63 ± 0.72 ^{Ba}
T3AZ	-2.22 ± 0.23 ^{Ba}	-1.09 ± 0.40 ^{Cb}	-1.89 ± 0.41 ^{Ca}	-2.07 ± 0.55 ^{Ba}
b*				
T1CA	24.80 ± 1.46 ^{Ca}	26.86 ± 0.92 ^{Da}	26.31 ± 1.13 ^{Ca}	24.48 ± 2.59 ^{CDa}
T1LI	26.53 ± 1.79 ^{Cab}	28.86 ± 0.71 ^{Ca}	26.11 ± 2.54 ^{CDb}	26.58 ± 2.02 ^{Cab}
T1AZ	24.86 ± 1.04 ^{Cab}	26.33 ± 0.89 ^{Da}	24.52 ± 1.67 ^{DBab}	23.21 ± 1.79 ^{Db}
T2CA	53.81 ± 2.39 ^{Aa}	52.73 ± 1.48 ^{Aa}	54.60 ± 0.60 ^{Aa}	53.68 ± 1.38 ^{Aa}
T2LI	55.15 ± 3.36 ^{Aa}	51.72 ± 2.03 ^{Ab}	54.59 ± 0.57 ^{Aa}	53.88 ± 1.11 ^{Aab}
T2AZ	54.14 ± 0.61 ^{Aa}	52.51 ± 1.96 ^{Aa}	53.63 ± 1.76 ^{Aa}	53.17 ± 1.15 ^{Aa}
T3CA	33.78 ± 2.14 ^{Ba}	36.34 ± 1.08 ^{Ba}	35.20 ± 1.51 ^{Ba}	35.01 ± 2.64 ^{Ba}
T3LI	34.88 ± 2.06 ^{Bb}	37.53 ± 1.10 ^{Ba}	36.16 ± 2.03 ^{Bab}	35.39 ± 1.82 ^{Bab}
T3AZ	34.27 ± 2.24 ^{Bb}	37.11 ± 0.63 ^{Ba}	35.51 ± 1.23 ^{Bab}	33.87 ± 2.43 ^{Bb}

* T1 (biscuits made without the addition of natural antioxidants. T2 (biscuits made with the addition of 0.5% turmeric) and T3 (biscuits made with the addition of 0.5% of marigold) CA: canola oil; LI: linseed oil; AZ: olive oil. **Means with different uppercase letters in the same column have a significant difference (P<0.05). Means with different lowercase letters in the same row have a significant difference (P<0.05). ***Results are expressed as mean ± standard deviation in three true samples per treatment.

Table 04: Color stability of canine biscuits during storage.

The texture of canine biscuits was evaluated by the hardness parameter (g) and is shown in figure 02.

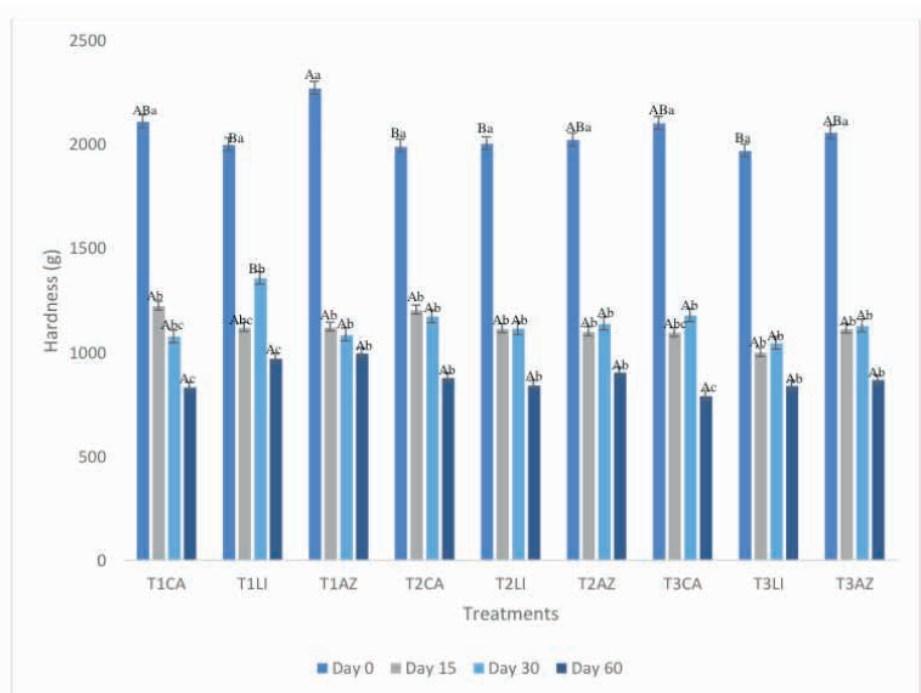


Figure 02: Comparative analysis of hardness levels (g) in canine biscuits samples made with 60 days of storage.

* T1 (biscuits made without the addition of natural antioxidants. T2 (biscuits made with the addition of 0.5% turmeric) and T3 (biscuits made with the addition of 0.5% of marigold) CA: canola oil; LI: linseed oil; AZ: olive oil. **Results are expressed as mean \pm standard error in three true samples per treatment. ***Means with different uppercase letters have a significant difference ($P < 0.05$) between treatments. Means with different lowercase letters have a significant difference ($P < 0.05$) between days of storage.

Generally speaking the proportion of ingredients contained in the mass can determine the mechanical properties of the biscuits and thus affect the final texture of the product. In all treatments. the same proportion of vegetable oil was added to the dough, this way, there was no difference in the hardness of the biscuits when compared to the source of oil used (canola oil, linseed oil or olive oil). Regarding storage time, the biscuits showed a reduction in hardness after 15 days of storage, which remained at 30 days. Between 30 and 60 days of storage, there was a reduction of hardness above 20%. Other authors have also reported reduced hardness in biscuits with increasing shelf life (Shafi et al., 2022; Bhat et al., 2018). Exposure to oxygen and air humidity can adversely affect the texture of biscuits, decrease in hardness over time. This way, the packaging of this product must be carried out to reduce the exposure of the food to these conditions.

4 | CONCLUSIONS

The addition of natural antioxidants can increase the antioxidant activity of canine biscuits; however, it was not able to maintain oxidative stability. The addition of linseed oil to biscuits resulted in greater formation of secondary oxidation products. Storage time influenced the hardness and oxidative stability of canine biscuits for all treatments.

REFERENCES

- ALVES, Anselmo Queiroz et al. **The fatty acid composition of vegetable oils and their potential use in wound care**. *Advances in skin & wound care*, v. 32, n. 8, p. 1-8, 2019.
- ASHWLAYANVD, Kumar A. et al. **Therapeutic potential of Calendula officinalis**. *Pharm Pharmacol Int J*, v. 6, n. 2, p. 149-155, 2018.
- BARONCELLO, Sheila et al. **Meat Pet Snacks By Containing Encapsulated Saccharomyces Boulardii**. *European Journal of Agriculture and Food Sciences*, v. 2, n. 4, 2020.
- BIALEK, Malgorzata et al. **Oxidative stability of lipid fraction of cookies enriched with chokeberry polyphenols extract**. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, v. 66, n. 2, p. 77, 2016.
- BHAT, Naseer Ahmad; HAMDANI, Afshan Mumtaz; MASOODI, F. A. **Development of functional cookies using saffron extract**. *Journal of food science and technology*, v. 55, p. 4918-4927, 2018.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. IN nº 30 de 05 de agosto de 2009. Brasília, DF, 2009. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-30-de-5-de-agosto-de-2009.pdf/view>>. Acesso em: 7 jul. 2023.
- CAMPIGOTTO, Gabriela et al. **Intake of snacks containing curcumin stimulates erythropoiesis and antioxidant response in dogs**. *Comparative Clinical Pathology*, v. 29, p. 855-863, 2020.
- DE CARVALHO, Francisco Allan L. et al. **Turmeric (Curcuma longa L.) extract on oxidative stability, physicochemical and sensory properties of fresh lamb sausage with fat replacement by tiger nut (Cyperus esculentus L.) oil**. *Food Research International*, v. 136, p. 109487, 2020.
- CHEVALLIER, S. et al. **Contribution of major ingredients during baking of biscuit dough systems**. *Journal of Cereal Science*, v. 31, n. 3, p. 241-252, 2000.
- EL-SAYED, Mahmoud Ibrahim; SHALABY, Thanaa I. **Production of processed cheese supplemented with curcumin nanoemulsion**. *Am. J. Food Nutr*, v. 9, n. 3, p. 96-105, 2021.
- GEBRESELASSIE, Etsehiwot; CLIFFORD, Hall. **Oxidative stability and shelf life of crackers, cookies, and biscuits**. In: *Oxidative stability and shelf life of foods containing oils and fats*. AOCS Press, 2016. p. 461-478.
- GIUFFRÈ, Angelo Maria et al. **Effects of shortening replacement with extra virgin olive oil on the physical-chemical-sensory properties of Italian Cantuccini biscuits**. *Foods*, v. 11, n. 3, p. 299, 2022.

GOMEZ BAQUERO, David et al. **Acceptability of dry dog food visual characteristics by consumer segments based on overall liking: A case study in Poland.** *Animals*, v. 8, n. 6, p. 79, 2018.

JAN, Nelofer; ANDRABI, Khurshid Iqbal; JOHN, Riffat. **Calendula officinalis-an important medicinal plant with potential biological properties.** In: *Proc. Indian Natl. Sci. Acad.* 2017. p. 769-787.

JUNCHER, Dorte et al. **Effect of pre-slaughter physiological conditions on the oxidative stability of colour and lipid during chill storage of pork.** *Meat science*, v. 58, n. 4, p. 347-357, 2001.

KOZŁOWSKA, Mariola et al. **Effects of spice extracts on lipid fraction oxidative stability of cookies investigated by DSC.** *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 118, p. 1697-1705, 2014.

LI, Wende et al. **Comparison of antioxidant capacity and phenolic compounds of berries, chokecherry and seabuckthorn.** *Central European Journal of Biology*, v. 4, p. 499-506, 2009.

MA, Qianyun; DU, Lin; WANG, Lijuan. **Tara gum/polyvinyl alcohol-based colorimetric NH₃ indicator films incorporating curcumin for intelligent packaging.** *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 244, p. 759-766, 2017.

MARGUTTTI, Barbara Franco et al. **Avaliação da redução da ansiedade em cães por meio da administração de biscoitos caninos produzidos com extrato de Passiflora sp: um estudo duplo-cego.** *Brazilian Journal of Development*, v. 8, n. 2, p. 15024-15041, 2022.

MORELLI, G. et al. **A survey of dog owners' attitudes toward treats.** *Journal of applied animal welfare science*, v. 23, n. 1, p. 1-9, 2020.

MUNEKATA, Paulo ES et al. **Health benefits, extraction and development of functional foods with curcuminoids.** *Journal of Functional Foods*, v. 79, p. 104392, 2021.

ODEH, Dyana et al. **Oxidative stability, microbial safety, and sensory properties of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) oil infused with spices and herbs.** *Antioxidants*, v. 10, n. 5, p. 785, 2021.

RE, Roberta et al. **Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay.** *Free radical biology and medicine*, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

RICCA, Maiara Luiza Marques. **Desenvolvimento de Biscoitos Veterinários contendo extrato de *Ginkgo biloba*.** *Brazilian Journal of Health Review*, v. 3, n. 3, p. 5715-5744, 2020.

RODRIGUES, Daniele Bobrowski; MERCADANTE, Adriana Zerlotti; MARIUTTI, Lilian Regina Barros. **Marigold carotenoids: Much more than lutein esters.** *Food research international*, v. 119, p. 653-664, 2019.

ROY, Swarup et al. **Curcumin and its uses in active and smart food packaging applications-A comprehensive review.** *Food Chemistry*, v. 375, p. 131885, 2022.

SANTOS, M. K. R. et al. **Development of baked biscuits containing propolis and pomegranate for oral health in dogs.** *Animal Feed Science and Technology*, v. 280, p. 115056, 2021.

SHAFI, Asima; AHMAD, Faizan; MOHAMMAD, Zahra H. **Effect of the addition of banana peel flour on the shelf life and antioxidant properties of cookies**. ACS Food Science & Technology, v. 2, n. 8, p. 1355-1363, 2022.

TARANCÓN, Paula et al. **Consumers' hedonic expectations and perception of the healthiness of biscuits made with olive oil or sunflower oil**. Food research international, v. 55, p. 197-206, 2014.

WHITE, G. A. et al. **"Who's been a good dog?"—Owner perceptions and motivations for treat giving**. Preventive veterinary medicine, v. 132, p. 14-19, 2016.

YILDIZ, E. L. İ. F. et al. **Changes in bioaccessibility, phenolic content and antioxidant capacity of novel crackers with turmeric (*Curcuma longa* L.) and mahaleb (*Prunus mahaleb* L.) powders**. Quality Assurance and Safety of Crops & Foods, v. 11, n. 2, p. 107-116, 2019.

ZAHRA, Naseem et al. **Development and Quality Evaluation of Nutritious and Healthy Biscuits for Dogs**. Lahore Garrison University Journal of Life Sciences, v. 5, n. 3, p. 164-170, 2021.

ELEMENTOS QUE INFLUENCIAM NA TOMADA DE DECISÃO SOBRE A EUTANÁSIA EM BOVINOS

Data de submissão: 19/09/2023

Data de aceite: 02/10/2023

Rodrigo Dalmina Rech

Programa de Residência em Área
profissional da Saúde - Medicina
Veterinária, Universidade Federal de
Santa Maria (UFSM).
Santa Maria - Rio Grande do Sul.
<https://lattes.cnpq.br/0726372617716690>

Isadora Comparsi Coelho

Programa de Residência em Área
profissional da Saúde - Medicina
Veterinária, Universidade Federal de
Santa Maria (UFSM).
Santa Maria - Rio Grande do Sul.
<http://lattes.cnpq.br/4562215586790532>

Julia Rasia

Departamento de Clínica de Grandes
Animais, Universidade Federal de Santa
Maria (UFSM).
Santa Maria - Rio Grande do Sul.
<http://lattes.cnpq.br/9248375359091940>

Carlos Augusto Rigon Rossi

Departamento de Clínica de Grandes
Animais, Universidade Federal de Santa
Maria (UFSM).
Santa Maria - Rio Grande do Sul.
<http://lattes.cnpq.br/2731865929384689>

Marcelo da Silva Cecim

Departamento de Clínica de Grandes
Animais, Universidade Federal de Santa

Maria (UFSM).

Santa Maria - Rio Grande do Sul.
<http://lattes.cnpq.br/8264125647244708>

RESUMO: Uniformizar os procedimentos e decisões clínicas a respeito da execução da eutanásia é um procedimento clínico necessário e de rotina. O objetivo deste estudo foi detectar quais os fatores que implicam na decisão de médicos veterinários, acadêmicos de medicina veterinária, produtores rurais e colaboradores da pecuária e outros técnicos do setor agro em optar pela eutanásia de bovinos. O estudo realizou-se no período de janeiro e fevereiro de 2022, abrangendo estados onde a bovinocultura se faz presente, mediante a aplicação de um questionário *on-line*, difundido por redes sociais ao público alvo. Os resultados foram compilados e posteriormente foi realizada a análise qualitativa e quantitativa dos dados aplicando estatística descritiva, por meio de planilha eletrônica Excel® e método de “Nuvem de Palavras”, através do programa *Word Cloud Explorer*. De um total de 234 participantes da pesquisa, 55,6% eram do sexo feminino e 44,4% do sexo masculino. Na questão sobre o que os entrevistados

levavam em consideração para optar pela eutanásia pode-se observar que veterinários e acadêmicos, na sua maioria, utilizaram a palavra “tratamento”. Por outro lado, outros técnicos do setor agro juntamente com produtores rurais e colaboradores fizeram uso, em sua maioria, da palavra “sofrimento”. Quando os médicos veterinários e acadêmicos de medicina veterinária foram confrontados se haviam ou não recebido instruções na graduação quanto ao conhecimento da ética médica e tomada de decisão em relação a eutanásia, 58,1% afirmaram que sim. Ao serem questionados sob sua percepção da prática da eutanásia animal, 37,2% dos entrevistados a considera necessária ao bem-estar animal, porém difícil de ser realizada. Fica evidenciado através desta pesquisa que a prática da eutanásia é necessária ao bem-estar animal, mas difícil de ser realizada. Os fatores que mais interferem no seu processo decisional são o tratamento e o sofrimento animal.

PALAVRAS-CHAVE: bovinocultura, ética, morte, médico veterinário, produtor rural.

ELEMENTS THAT INFLUENCE DECISION MAKING ABOUT EUTHANASIA IN CATTLES

ABSTRACT: Standardizing clinical procedures and decisions regarding euthanasia is a necessary and routine clinical practice. The aim of this study was to identify the factors that influence the decision-making process of veterinarians, veterinary students, cattle producers, and other agricultural professionals when opting for euthanasia in cattle. The study was conducted in January and February 2022, covering regions where cattle farming is present, through the application of an online questionnaire, distributed via social networks to the target audience. The results were compiled, followed by qualitative and quantitative data analysis using descriptive statistics, performed using Microsoft Excel® spreadsheet and the “Word Cloud” method, facilitated by the Word Cloud Explorer program. Out a total of 234 survey participants, 55.6% were female, and 44.4% were male. In response to the question regarding the factors considered when opting for euthanasia, it was observed that veterinarians and veterinary students mostly used the term “treatment”. On the other side, other agricultural professionals, cattle producers, and collaborators predominantly used the term “suffering”. When veterinarians and veterinary students were asked whether they had received instructions during their education studies regarding medical ethics and decision-making concerning euthanasia, 58.1% affirmed that they had. When questioned about their perception of the animal euthanasia, 37.2% of respondents considered it necessary for animal welfare but challenging to execute. This research underscores that euthanasia is necessary for animal welfare but poses significant challenges. The factors influencing the decision-making process are treatment and animal suffering.

KEYWORDS: cattle farming, death, ethic, rural producer, veterinarian.

1 | INTRODUÇÃO

O Brasil, por se tratar de um país que produz e exporta grandes quantidades de carne bovina, tem buscado valorizar o planejamento agropecuário, controle e gestão de fazendas voltadas à criação de gado de corte. Dessa forma, o produtor tenta maximizar o lucro obtido, seja por meio da redução de custos ou aumentando a escala de produção

(ARAÚJO et al., 2012). Do mesmo modo, a cadeia produtiva do leite no país tem passado por importantes transformações nos últimos tempos, onde houve o aumento do consumo e, por sua vez, da produção, acompanhados pela intensa modernização tecnológica do setor (ROCHA; CARVALHO, 2020). Por conta disso, em ambos os mercados cresceram também as exigências pertinentes ao bem-estar animal, onde o modelo de produção adotado em cada situação requer constantes atualizações (ROSA et al., 2021).

Na atualidade muito se tem discutido a respeito do bem-estar animal, onde se observa uma sociedade cada vez mais exigente em relação à procedência dos produtos de origem animal consumidos (ROSA et al., 2021). No Brasil existem legislações de âmbito federal, estadual e municipal referentes ao cumprimento de regras que o promovam, porém, deve-se atentar para o manejo humanitário, consciente, ético e respeitoso para que seja possível conquistar o mercado internacional e conceder uma vida digna aos animais de produção (DANIELI, 2019).

O médico veterinário é o profissional responsável que deve considerar se está ou não sendo promovido o bem-estar nos diferentes sistemas de produção e, em casos de não conformidade ao que compete às liberdades do animal, deve estipular a condição de sobrevida que este dispõe. No entanto, é comum a ocorrência de casos em que é optado pelo prolongamento desnecessário da vida, ocasionando dor e sofrimento psicológico ao paciente, através de medicamentos ou procedimentos que não a diminuem e nem exercem seu tratamento. Este processo é denominado de distanásia, sendo considerada de cunho antiético, pois não proverá qualidade de vida digna ao animal que já está debilitado (FELIX et al., 2013).

O termo eutanásia, derivado do grego *eu* (bom) e *thanatos* (morte), traduzido como “boa morte” ou “morte sem sofrimento”, está intimamente ligado ao bem-estar animal. Sua execução em momento oportuno é de extrema necessidade na criação de animais de produção, onde a tomada da decisão de procedê-la é multifatorial e complexa, sendo desafiador garantir que se realize no momento certo (MULLINS et al., 2017).

Nos sistemas de produção agroindustriais a eutanásia é uma prática que deve ser priorizada aos indivíduos que estão em constante sofrimento, uma vez que é inaceitável permitir que um animal padeça. Manter no plantel determinado ser que não esteja saudável e não apresente chances de melhora, mesmo com tratamento, é uma decisão errada. Além de se tornar uma fonte de infecção para os demais, pode permanecer em sofrimento desnecessário, o que acarreta em aumento dos custos de produção e gastos com mão-de-obra, vindo a diminuir o lucro da propriedade. Assim sendo, se faz de extrema necessidade um rápido diagnóstico para se decidir ou não pela eutanásia (ALVES et al., 2020).

Uniformizar os procedimentos e decisões clínicas a respeito da execução da eutanásia, sendo essa um procedimento clínico necessário e de rotina, cabe ao médico veterinário sua implantação na propriedade rural e instrução aos produtores. Sabe-se que os pacientes submetidos a esse procedimento são seres sencientes, logo, capazes de

sentir, interpretar e responder a estímulos dolorosos e ao sofrimento. Por conta disso, surge a necessidade de se estabelecer diretrizes e normas que garantam o bem-estar animal e estas façam jus à ética profissional (CFMV, 2012b).

É importante ressaltar que não há nenhuma fórmula específica para cada caso na escolha da eutanásia, sendo um aspecto variável, de acordo com o clínico responsável. No entanto, alguns fatores devem ser levados em consideração como animais portadores e disseminadores de zoonoses que se tornam uma ameaça para os demais e também ao ser humano; e quando o custo do tratamento não é viável, de acordo com o valor estimado do animal (PAIVA, 2016). Dessa maneira, em qualquer hipótese, o bem-estar e a segurança do indivíduo, bem como a segurança dos profissionais envolvidos devem ser prezadas (CFMV, 2012b).

2 | BEM-ESTAR ANIMAL (BEA)

O estopim das ações a favor do BEA ocorreu no ano de 1964, com a publicação do livro *Animal Machines* de Ruth Harrison, o qual ocasionou uma forte repercussão do assunto sobre a população. O livro retratava o descaso com os animais de produção que eram tratados como máquinas e não como seres vivos. Em resposta ao acontecido houve a criação do “Comitê Brambell” em 1965, liderado pelo médico veterinário britânico Rogers Brambell, o qual enfatizou a importância do entendimento da biologia dos animais, bem como suas necessidades e expressão de comportamentos específicos. O documento gerado a partir daí mais tarde deu origem ao que conhecemos como “As cinco liberdades” (BROOM, 2011a).

O conceito para definição de BEA mais aceito foi o criado por Broom (1986), sendo definido como “o estado de um indivíduo durante suas tentativas de se ajustar ao ambiente”. Por ser complexo e multifacetado, o BEA envolve diferentes dimensões, sendo elas científicas, éticas, econômicas, culturais, sociais, religiosas e políticas. Além disso, envolve diversas áreas do conhecimento por ser uma ciência multidisciplinar, com interface na etologia, fisiologia, psicologia, reprodução, saúde, dentre outras. Por conta disso, envolve questões morais e técnico-científicas, ao passo que é ascendente o interesse da população com relação à qualidade de vida dos animais (CEBALLOS; SANT’ANNA, 2018).

No meio científico o bem-estar animal é descrito como uma qualidade potencialmente mensurável de um animal vivo em uma determinada etapa de sua vida (BROOM, 2011b). Nesse contexto, deve-se entendê-lo como uma qualidade inerente a este, que se refere ao estado de adaptação do indivíduo ao ambiente que lhe é imposto. É através de características biológicas como produtividade, reprodução, taxa de mortalidade, alteração de comportamento, atividade adrenal, grau de imunossupressão e incidência ou severidade de ferimentos ou moléstias que o BEA pode ser mensurado cientificamente (SANTOS; NEVES; RIBEIRO, 2021).

As decisões tomadas a respeito da promoção do BEA são, na sua maioria, baseadas na ética profissional, como é o caso da prática da eutanásia, essa com finalidade de cessar o sofrimento de um organismo que já não dispõe de qualidade de vida digna. Ainda, a respeito disso têm-se o exemplo do manejo pré-abate, onde se busca manter o animal em menor estresse possível e promover o correto atordoamento, a fim de evitar seu padecimento (BROOM, 2011b).

2.1 AS CINCO LIBERDADES

Animais que enfrentam dificuldades para se adaptar a ambientes que não atendem às suas necessidades físicas, comportamentais e psicológicas acarretam em menor produtividade e lucratividade. As tentativas de adaptação contínua a um ambiente desafiador resultam em alto custo biológico para o organismo, comprometendo assim os índices produtivos. Por conta disso, a fim de reduzir as taxas de morbidade e mortalidade e melhorar a sanidade do rebanho é prezado pela redução dos conflitos entre os sistemas de produção e a demanda dos indivíduos (BRAGA et al., 2018).

Com o intuito de analisar o grau de BEA tem-se disposto da avaliação das cinco liberdades básicas, responsáveis pela sua promoção. Essas liberdades, ou ausência de agentes estressores, são tidas como o animal estar livre de fome e sede (liberdade nutricional); livre de qualquer tipo de dor ou doença (liberdade sanitária); livre de desconforto (liberdade ambiental); livre para expressar seu comportamento natural (liberdade comportamental); e livre de estresse, medo e ansiedade (liberdade psicológica). Se faz de extrema necessidade que o avaliador disponha do conhecimento destes conceitos e os aplique de forma adequada a fim de mensurar o quão está sendo efetiva a tentativa de preservar o BEA (AZEVEDO et al., 2020).

Porém, o uso destes 5 domínios jamais alcançará o seu ápice, visto que são almejados como garantia do BEA e encarados como metas do que o sistema de produção ou o criador deve fazer. É praticamente impossível que se consiga zerar todo ou qualquer tipo de agressão ao indivíduo, onde mesmo no seu habitat natural deve passar por situações de estresse para fugir de seus predadores. Assim sendo, a biologia e fisiologia tornam-se essenciais à sua sobrevivência (MELLOR, 2016).

2.2 INDICADORES DE AVALIAÇÃO DO BEA

Por definição, o BEA se apresenta como o estado do indivíduo frente às suas tentativas de se adaptar ao ambiente em que vive ou lhe é imposto. Com base nisso, maior será a dificuldade de se adaptar se aumentar o desafio imposto a estes e, por consequência, menor será o grau de bem-estar. O ser humano, com a finalidade de uma avaliação mais fidedigna referente ao grau de desafio que um certo sistema de produção impõe aos animais a si submetidos, buscou considerar o estado do animal de forma objetiva e separada de questões éticas. Para tanto foram desenvolvidas técnicas de diagnóstico

baseadas em respostas fisiológicas e de comportamento, associando-as à sua condição sanitária (BROOM; MOLENTO, 2004).

Como método diagnóstico, principalmente para validação de pesquisas, têm-se avaliado os parâmetros fisiológicos de um n amostral do rebanho a ser estudado. As frequências cardíaca e respiratória são variáveis de eleição ao que diz respeito ao Sistema Nervoso Autônomo (SNA), por serem de caráter objetivo e que geram respostas a curto prazo. Além deste, a mensuração de hormônios adrenocorticais demonstra a consequência de vários estímulos expressos pelo organismo, principalmente o cortisol. Este tem sido eleito como uma maneira de demonstrar a resposta às práticas de manejo executadas em um rebanho (BOND et al., 2012).

Se mostra muito importante, ainda, o conhecimento a respeito do comportamento animal, visto que também é um instrumento na mensuração do BEA, vindo a corroborar com os métodos objetivos. Os indícios de que um bovino esteja passando por situação estressante ou que cause dor podem ser evidenciados através da percepção de alterações de postura, do modo como locomove-se, o quão temperamental se demonstra frente a determinada situação (MELLOR; STAFFORD, 2004). Cada espécie apresenta comportamento específico, sendo este padronizado como natural quando expresso de forma livre na natureza, por trazer prazer ou pelo correto funcionamento fisiológico. De acordo com as condições das instalações estes seres expressam determinado comportamento que, ao ser diferente do normal para a espécie, indica a deficiência no sistema de criação na promoção do bem-estar animal (OLIVEIRA et al., 2021).

2.3 LEGISLAÇÃO

Com a finalidade de atender a demanda cada vez mais exigente do mercado ao que se refere ao bem-estar animal, os produtos que provém de animais têm sido originados de sistemas que garantem o mais alto grau de bem-estar, a fim de agregar valor a si próprios. Por conta da demanda social por esses produtos foram elaboradas leis específicas a respeito do bem-estar, dando origem a diferentes barreiras sanitárias entre os países. Assim, torna-se importante maiores pesquisas pertinentes ao diagnóstico do nível de bem-estar gerado em um sistema de produção, bem como subsidiar a elaboração de leis e o seu controle (BOND et al., 2012).

No Brasil, a legislação vigente pertinente ao BEA é a Instrução Normativa nº 56, de 6 de novembro de 2008. Esta estabelece os procedimentos gerais de Recomendações de Boas Práticas de Bem-Estar para Animais de Produção e de Interesse Econômico (REBEM), abrangendo os sistemas de produção e o transporte. Ela estabelece alguns princípios como garantia do bem-estar, que estão ancoradas às Cinco Liberdades, tais como proceder ao manejo cuidadoso e responsável nas várias etapas da vida do animal, desde o nascimento, criação e transporte. Ainda, possuir conhecimentos básicos de comportamento animal a fim de proceder ao adequado manejo; proporcionar dieta satisfatória, apropriada e segura,

adequada às diferentes fases da vida do animal; assegurar que as instalações sejam projetadas apropriadamente aos sistemas de produção das diferentes espécies, de forma a garantir a proteção, a possibilidade de descanso e o bem-estar animal. Quanto ao manejo de transporte, fazê-lo de forma adequada para reduzir o estresse e evitar contusões e o sofrimento desnecessário; e manter o ambiente de criação em condições higiênicas (BRASIL, 2008).

3 | COMPORTAMENTO ANIMAL

O comportamento animal pode ser denominado como adaptações do indivíduo ao meio em que está inserido. Não é apenas uma maneira deste se expressar, mas tem específicas funções, onde em cada situação haverá a demanda de um determinado comportamento. Conforme a literatura, é por meio dos sentidos, tais como a visão, audição, olfato, tato e paladar que eles interagem com o meio e expressam determinado comportamento. É necessária muita observação e experimentação para seu estudo eficaz, devendo ser praticado no seu contexto natural (SCOTT, 2004).

Os bovinos têm a característica de viverem em manadas em seu habitat natural, não sendo diferente nos sistemas de produção intensivos impostos pelo homem. A interação destes caracteriza o comportamento de caráter social onde, pelo menos, dois indivíduos de diferentes ou de uma mesma espécie interagem entre si. Essas interações podem ser agonísticas (comportamentos agressivos: egoísmo, competição) e não-agonísticas (comportamentos “amigáveis”: altruísmo, cooperação) (BROOM, 1991). É por intermédio da primeira que se origina a hierarquia dentro de um plantel, estabelecendo os níveis de dominância. A criação dentro da manada dessa “pirâmide social” é extremamente necessária para que haja uma melhor proteção contra predadores, maior eficiência alimentar, facilidade de acesso potencial de parceiros sexuais e defesa mais bem-sucedida de recém-nascidos (MIRANDA-DE LA LAMA; MATTIELLO, 2010).

Além do caráter social pode-se diferenciar entre os indivíduos seu temperamento, em resposta a estímulos recebidos, onde o grau de reatividade resulta da ação provocada pelo medo, nesse caso, em resposta à interação humana. Muitas vezes, esse grau de reatividade do animal ocorre em virtude das mudanças de ambiente, desencadeando uma série de alterações no sistema nervoso e endócrino. Estudos demonstram que os melhores índices de ganho de peso estão ligados a animais de temperamento mais calmo, visto que os mais agitados tendem a ingerir menor quantidade de alimento (GRIGNARD et al., 2001).

Acarência de comportamentos naturais é um indicador de que o BEA não está sendo alcançado. Quando o animal, ou um grupo deles, apresenta situações de agressividade e/ou estereotípias sinalizam um forte indício de que sofreram ou ainda sofrem algum tipo de frustração. Essas frustrações são um importante indicador do bem-estar, por serem designadas como uma atividade anormal não expressa pela espécie na natureza (MASON,

1991).

Ao que se refere ao comportamento de bovinos, estes têm por característica a adaptação sob diversas condições de alimentação, manejo e ambiente, acarretando na alteração do comportamento de ingestão, com objetivo de alcançar e manter determinado nível de consumo conforme suas exigências nutricionais. Por conta disso, é inevitável a geração de estresse nesta adaptação, onde esses fatores estressantes podem interferir na homeostase orgânica e no sistema imunológico, vindo a comprometer sua capacidade produtiva, provocando maior suscetibilidade a doenças (VAHL, 2020).

4 | EUTANÁSIA

Conforme a literatura, a prática da eutanásia consiste em dar fim a vida por meio de métodos que induzem a rápida inconsciência e morte do indivíduo, sem sofrimento, já que a própria origem grega do termo *eu* (boa) e *thanatos* (morte) indica que a ação deve ocorrer sem angústia nem sofrimento. Há vários métodos para sua prática, mas é ressaltado que os únicos aceitos são de caráter humanitário e que não causem dor, asfixia ou desconforto, sendo os mais aceitáveis aqueles que ocasionam paradas respiratória e cardíaca simultaneamente (AGOSTINHO; PALAZZO, 2009).

Nos sistemas produtivos sempre haverá a necessidade de eliminar animais doentes ou com presença de ferimentos, que acabam por não ter expectativa de vida digna para que se possa levar o tratamento a diante. Na maioria das vezes o método de insensibilização e eliminação é escolhido pelo próprio produtor, que nem sempre opta pelo mais apropriado ou possui os conhecimentos técnicos necessários para empregá-lo corretamente. Portanto, deve-se instruí-los na escolha de um método que acarrete em insensibilização imediata (súbita perda da consciência) e uma morte rápida (DALLA COSTA et al., 2019).

Ao que se refere a certas doenças, como por exemplo a tuberculose, muitas vezes o tratamento torna-se complexo, gerando desconforto ao paciente e alto custo ao proprietário. Além disso, tanto na produção animal quanto na medicina de pequenos animais estão presentes diversas moléstias de caráter zoonótico que culminam em eliminar os portadores a fim de não disseminá-las, tendo grande participação na saúde pública. É preciso que o médico veterinário responsável pelo caso exerça seu papel de minimizar o sofrimento com muita ética e tato em relação ao proprietário, visto que, muitas vezes, é uma situação delicada que envolve aspectos psicológicos, tanto do proprietário quanto do profissional (SANTOS; MONTANHA, 2017).

4.1 DEFINIÇÕES

Dentro do grande conceito da eutanásia desenvolveram-se várias definições a respeito de sua execução. Desse modo, designa-se como natural a morte sem interferência externa; a morte provocada acontece pela ação do ser humano, com o objetivo de cessar o

padecimento do indivíduo, findando a vida de forma direta ou indireta. Quando provocada, a eutanásia tem mais duas subdivisões: autônoma, quando o enfermo comete suicídio (no caso de humanos); e heterônoma, quando outra pessoa coopera para o término da vida (SILVA et al., 2020).

Dentre o amplo uso do termo eutanásia, a literatura traz outros conceitos pertinentes a esse tema, como é o caso da distanásia, palavra esta que designa o prolongamento exagerado da vida de um indivíduo moribundo, onde a atitude do profissional da saúde responsável, apesar de ter como objetivo salvar a vida deste, o submete a grande sofrimento por meio de terapias impostas, prolongando sua vida a qualquer custo. Por outro lado, a ortotanásia é o procedimento em que não existe mais fonte de cura para o paciente, deixando com que a morte chegue quando o organismo não possa mais sustentar a vida, sem a interferência de aparelhos ou métodos que possam adiar a morte. Outro termo muito utilizado para explicar a morte miserável dos excluídos é a mistanásia, caso esse muito comum de acontecer com animais de rua que não têm acesso a condições básicas de sobrevivência como alimentação e cuidados com a saúde, resultando em morte com sofrimento e prematuridade (SOUZA et al., 2019).

4.2 ASPECTOS PSICOLÓGICOS

Na medicina veterinária, muitas vezes, depara-se com situações complexas visto a íntima relação que se tem com o paciente e o proprietário, o que demanda de intenso profissionalismo, sensibilidade e preparo emocional. Conforme a literatura, o veterinário encontra-se em situação única de facilitar as ligações entre homens e animais. A prática da eutanásia, justificável com base no bem-estar animal, não é livre de efeitos colaterais onde, muitas vezes, ocorrem alguns danos psicológicos nas pessoas envolvidas. Apesar de ser inevitável em uma rotina hospitalar ou mesmo à campo, às vezes é comum situações em que o paciente é tratado com certa indiferença por profissionais mais experientes, um fenômeno conhecido como dessensibilização (PULZ et al., 2011).

A medicina veterinária é a única área da saúde onde o profissional pode recomendar e realizar a eutanásia de seus pacientes, sendo este processo um fator emocionalmente desgastante e estressante, o que pode predispor a síndromes psicológicas. É grande a cobrança entre os profissionais por salvar vidas, onde as extinguir pode se tornar um fardo insustentável. Deste modo, a depressão e o remorso de ter que sacrificar tantos animais, por vezes, faz com que o profissional recorra ao suicídio em uma tentativa frustrada de buscar alívio a suas dores e sofrimentos (MEEHAN; BRADLEY, 2007).

Muitos sentimentos são desenvolvidos, com o passar do tempo, ao atuar nesse meio. É comum as pessoas exprimirem tristeza, impotência, sensação de alívio por findar o sofrimento, compaixão, insegurança, frustração e responsabilidade. Ainda, podem surgir sinais físicos e psíquicos como ansiedade, irritabilidade, angústia, cansaço e dores musculares, estes relatados por profissionais e estudantes que praticam a eutanásia (PULZ

et al., 2011). Assim sendo, os impactos psicológicos deste procedimento não podem ser desconsiderados e medidas que os minimizem são necessárias (CFMV, 2012b).

4.3 LEGISLAÇÃO

A legislação que dispõe de procedimentos e métodos de eutanásia em animais é a Resolução nº 1.000, de 11 de maio de 2012, do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV). Esta considera a eutanásia um procedimento clínico, de responsabilidade do médico veterinário, necessária, empregada de forma científica e tecnicamente regulamentada, sempre seguindo os preceitos éticos cabíveis. Também considera que os animais submetidos à eutanásia são seres sencientes e que os métodos aplicados devem atender aos princípios de bem-estar animal (CFMV, 2012a).

Conforme o Artigo 3º desta legislação, a eutanásia pode ser indicada nas situações em que o bem-estar do animal estiver comprometido, sendo o quadro clínico irreversível, com o objetivo de eliminar a dor ou o sofrimento do indivíduo, o qual não pode ser controlado ou amenizado por meio de fármacos analgésicos, sedativos ou de outros tratamentos. Também é indicada em casos que o animal constitua ameaça à saúde pública ou mesmo risco à fauna nativa ou ao meio ambiente. É uma obrigatoriedade sua aplicação em animais utilizados em pesquisas científicas, que foram autorizadas pelo órgão competente (Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA). Há casos que o custo do tratamento não cobre o valor do paciente, geralmente isso acontece nos animais de produção, ou devido à carência financeira do proprietário, sendo estes casos indicativos de eutanásia (CFMV, 2012a).

Os princípios básicos que norteiam os métodos da eutanásia baseiam-se na ética profissional, expostos no Artigo 4º desta legislação, onde se exige respeito para com o paciente; se preconiza métodos que acarretem em inconsciência imediata seguida de morte, promovam segurança ao animal e profissionais envolvidos e seja irreversível. Busca-se ausência ou redução máxima de desconforto e dor, do medo e ansiedade, impactos ambientais, impactos emocional e psicológico nos operadores e observadores (CFMV, 2012a).

Alguns requisitos devem ser observados ao se escolher o método para a execução da eutanásia. Conforme o Artigo 10º desta mesma legislação, alguns dos fatores determinantes são a espécie animal envolvida, idade, estado fisiológico, além da disponibilidade de meios para contenção do indivíduo. Deve-se também prever a capacidade técnica do executor e número de animais a serem executados (CFMV, 2012a).

4.4 MÉTODOS PARA EUTANÁSIA EM BOVINOS

4.4.1 Químicos

Segundo a literatura, os mecanismos que garantem a efetividade da eutanásia devem gerar no organismo a depressão direta dos neurônios que possuem função vital,

a hipóxia e ruptura física da atividade no cérebro (COONEY, 2020). Para isso, alguns métodos foram desenvolvidos, estes divididos em químicos e físicos, sendo aceitos pela legislação aqueles usados exclusivamente com esta finalidade e que promovem a morte humanitária do paciente (GONZÁLEZ; VASCONCELOS; SANTOS, 2021).

Os métodos químicos para a prática da eutanásia são considerados os mais bem aceitos pela legislação, fazendo parte de si os medicamentos anestésicos injetáveis, que possuem por objetivo aumentar a segurança no procedimento e executando-o de forma mais humanitária. Conforme a literatura, são as substâncias de eleição para a maioria das espécies animais e mais utilizadas na rotina clínica, que acarretam em perda da consciência quase que imediata. Exemplos desse tipo de substância são o tiopental e pentobarbital, ambos pertencentes à classe dos barbitúricos, que causam depressão do sistema nervoso central, geram depressão central gradativa que vai se iniciar no córtex até atingir o centro cardiorrespiratório bulbar (CFMV, 2012b).

Outro medicamento amplamente utilizado para a eutanásia animal é a cetamina, por ser aplicado de forma injetável, ter ação dissociativa e que induz rápida alteração da consciência. Não é considerado um anestésico geral e deve ser associado à um miorelaxante, como é o caso da xilazina. Dessa forma, facilita a contenção do indivíduo e garante maior segurança para os envolvidos no procedimento. Além de ser administrado pela via intravenosa, pode também ser utilizado por via intramuscular, sendo um fármaco de pronta disponibilidade (GONZÁLEZ; VASCONCELOS; SANTOS, 2021).

Após a anestesia geral de um paciente, onde por si só, na maioria das vezes não ocasiona sua depreciação a ponto de causar a morte, opta-se pelo uso de um agente complementar, como o cloreto de potássio (KCl). Seu uso é de eleição por ser uma substância cardiotoxica que deve ser utilizada estritamente pela via intravenosa, com o indivíduo sob anestesia geral. O uso isolado ocasiona extrema dor antes do óbito por conta da excitação das fibras nervosas do tipo C. Com o animal sedado, causa fibrilação ventricular cardíaca e posterior morte em poucos minutos. É de fácil aquisição por não ser um medicamento de uso controlado e pode ser manipulado associado a água, tornando-o uma solução hipersaturada (LEARY et al., 2020).

4.4.2 Físicos

Ao serem corretamente aplicados, os métodos físicos de eutanásia produzem resultado satisfatório ocasionando menor indício de medo e ansiedade pelo paciente, são rápidos, indolores e práticos ao se comparar a outros meios utilizados. Ressalta-se que o operador do devido método deve ser previamente treinado para sua correta execução, de modo a prevenir possíveis acidentes que por ventura possam ocorrer. Todavia, aos olhos do público em geral, esses meios de morte induzida podem parecer um tanto negativos, sendo associados ao sofrimento e violência ao animal. Mesmo assim, ainda são métodos

aceitos, alguns com restrições, pela rapidez e eficiência, para determinadas espécies animais, como é o caso dos bovinos (CFMV, 2012b).

Os métodos mecânicos, pertencentes ao grande grupo dos métodos físicos de eutanásia, correspondem ao atordoamento do animal, ou seja, ocasionam a perda de sua consciência devido trauma físico sobre a cabeça ou medula cervical, não provocando sua morte imediata. Para que esta ocorra, se faz necessária a associação de algum outro método complementar, seja ele químico (KCI) ou físico (exanguinação ou decapitação) (CFMV, 2012b).

A literatura cita como opções para o atordoamento desta espécie animal o uso de pistola de ar comprimido ou dardo cativo. A primeira provoca concussão cerebral, enquanto que a segunda ocasiona trauma direto no encéfalo com lesão. Um exemplo prático de atordoamento por pistola de ar comprimido está nos abates de bovinos, sendo aplicada na frente do animal e seguida por sangria deste. Suas vantagens são a facilidade e rapidez de aplicação, justificando seu uso em estabelecimentos de abate e centros de pesquisa. Em contrapartida pode se tornar alvo de críticas negativas quando mau manuseado, gerando dor e sofrimento ao animal mal atordoado (CFMV, 2012b).

O uso de armas de fogo para eutanásia animal é permitido pela legislação, porém, sob restrições, visto que para seu manuseio o operador deve dispor de qualificação e devido treinamento para seu uso. Quando aplicado de forma correta garante a morte imediata e ausência de sofrimento do animal. É ressaltada sua execução distante de observadores, a fim de evitar possíveis acidentes, sendo o projétil disferido na frente do paciente a fim de produzir lesão encefálica irreversível e posterior morte. Esse método produz perda da massa encefálica, o que é um aspecto negativo quando se busca a coleta desse material para diagnóstico de algumas enfermidades, como é o caso da raiva bovina ou encefalopatias (CFMV, 2012b).

5 | OBJETIVO DO ESTUDO

Há certa resistência por parte dos profissionais, colaboradores e produtores rurais, pelo uso da eutanásia em bovinos. A maioria não se sente confiante em optar pelo procedimento a campo, visto não terem passado por um treinamento formal ou algum tipo de orientação quanto ao momento de se optar pela eutanásia. Por conta disso, o objetivo deste estudo foi detectar quais são os fatores que implicam na decisão de médicos veterinários, acadêmicos de medicina veterinária, produtores rurais e colaboradores da pecuária e outros técnicos do setor agro em optar pela eutanásia de bovinos.

6 | MATERIAIS E MÉTODOS

6.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O estudo realizou-se nos meses de janeiro e fevereiro de 2022, mediante a aplicação de um questionário a Médicos Veterinários (MV), Acadêmicos de Medicina Veterinária (AcMV), Produtores Rurais e Colaboradores da Pecuária (PRC) e outros Técnicos do setor Agro (TA), todos ligados ao setor de bovinocultura, referente ao processo decisional para a prática da eutanásia em bovinos. O questionário foi executado de forma *on-line*, por meio da plataforma *Google Forms*, com abrangência nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso, Amazonas, Rio Grande do Norte, Rondônia, Mato Grosso do Sul e Pernambuco. O público alvo respondeu as questões de forma voluntária, sendo a divulgação da pesquisa e disponibilização do *link* executados por meio das redes sociais.

6.2 COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Maria (CEP/UFSM), em 11 de janeiro de 2022, sob o parecer 54811522.9.0000.5346 (CAAE).

6.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram compilados e posteriormente foi realizada a análise qualitativa e quantitativa dos dados aplicando estatística descritiva por meio de planilha eletrônica do Excel®. Para a questão descritiva da pesquisa e que abordava a opinião individual dos entrevistados, utilizou-se do método de “Nuvem de Palavras”, através do programa *Word Cloud Explorer* (HEIMERL et al., 2014). O primeiro passo antes do uso do programa foi o pré-processamento dos textos, que consistiu na retirada de todas as palavras consideradas desnecessárias, como preposições, artigos, adjetivos, advérbios, alguns verbos e substantivos. Em seguida, as palavras restantes das frases foram copiadas para o programa que as distribuiu em tamanhos e intensidade de acordo com a frequência de aparecimento no texto. Com isso, pode-se obter uma direção para a discussão dos resultados encontrados (FREITAS et al., 2018).

7 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

De um total de 234 participantes da pesquisa, 55,6% eram do sexo feminino e 44,4% do sexo masculino. Do total, 48,3% eram MV; 26,5% AcMV; 15,8% PRC; e 9,4% TA. Quando os MV e AcMV foram confrontados se haviam ou não recebido instruções na graduação quanto ao conhecimento da ética médica e tomada de decisão em relação a eutanásia, 58,1% dos entrevistados afirmaram que sim, conforme Figura 1. Quanto a

prática da eutanásia na rotina de trabalho, 67,1% dos entrevistados pratica ou já executou a eutanásia e 32,9% nunca a executou.

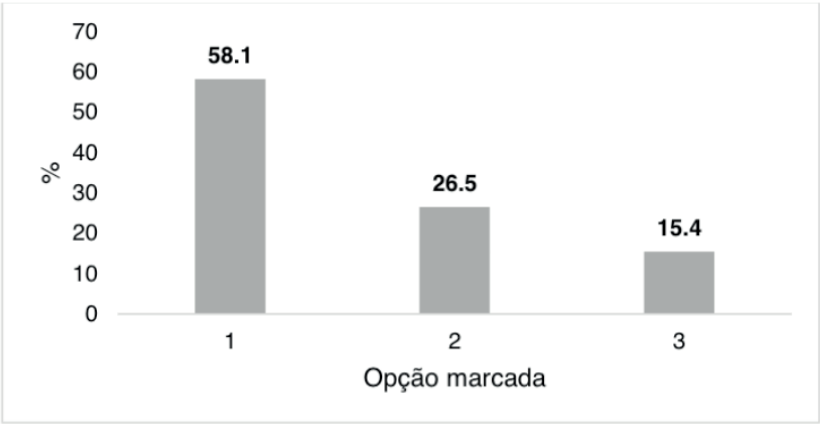


Figura 1 - Porcentagem de respostas à pergunta “Recebeu instruções na graduação quanto ao conhecimento da ética médica e tomada de decisão em relação a eutanásia (veterinários e acadêmicos)?” (1) sim; (2) não; (3) não se aplica.

Segundo estudos, o conhecimento a respeito da eutanásia animal que é repassado nas academias de medicina veterinária brasileiras tem sido insuficiente e pouco abordado (FIGUEIREDO; ARAUJO, 2001). Embora exista uma legislação que rege sobre o assunto, o país carece de normas nacionais específicas para a bovinocultura onde, muitas vezes, se apela para protocolos americanos a fim de sanar essa carência. Indicações da Associação Americana de Médicos Veterinários são de se utilizar armas com dardo cativo, armas de fogo e uso de barbitúricos, porém, no Brasil isso é limitado devido as leis para posse de armas de fogo e venda de certos fármacos ao público em geral (FIGUEIREDO; ARAUJO, 2001).

Em um estudo, os autores abordam a deficiência nas diretrizes referentes a eutanásia, bem como de equipamentos específicos para a indústria do leite no país, o que veio a limitar os médicos veterinários na implementação desta prática e de protocolos a serem instituídos nas fazendas. Em resposta a um questionamento, certo participante da pesquisa respondeu que a desvantagem do setor é que não há protocolos específicos e, por conta disso, se faz a eutanásia de forma errônea onde, muitas vezes, os meios para executá-la acabam causando sofrimento ao animal no momento de sua morte (MERENDA et al., 2022).

Quando indagados quanto ao nível de conhecimento do tema eutanásia, os resultados foram dispostos em escala de 1 (baixo) a 5 (alto) (Figura 2). A maioria das respostas foi para a opção 3 (conhecimento médio), com 39,7% dos entrevistados. A segunda opção mais votada foi a 4 (conhecimento médio-alto), com 24,4% dos votos, seguida pela opção 2 (conhecimento médio-baixo), com 16,2% das marcações; opção 1 (conhecimento baixo)

com 15% dos votos; e opção 5 (alto conhecimento) com 4,7% dos votos.

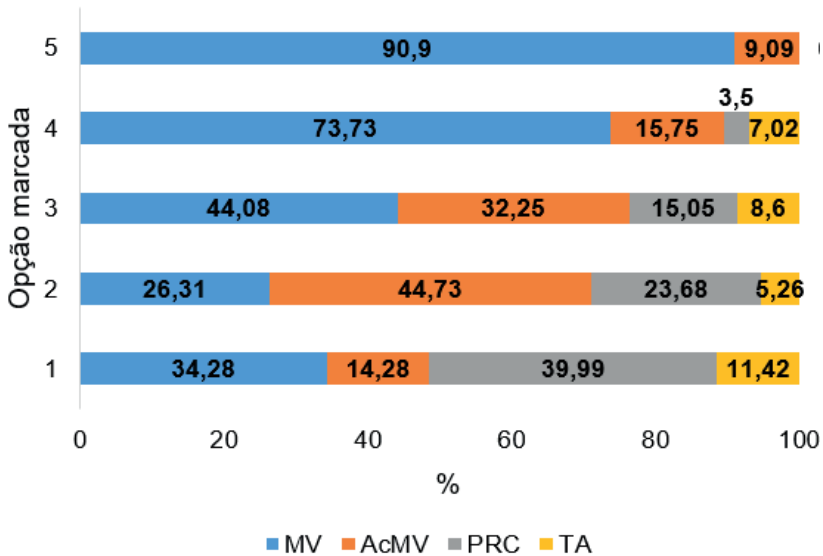


Figura 2 - Porcentagem de respostas à pergunta “Em uma escala de 1 (baixo) a 5 (alto), quanto você considera ser seu nível de conhecimento a respeito da eutanásia animal?” MV - médicos veterinários; AcMV - acadêmicos de medicina veterinária; PRC - produtores rurais e colaboradores; TA - outros técnicos do setor agro.

Em um estudo realizado no Brasil que teve por objetivo entender as perspectivas e atitudes sobre eutanásia dentro da cadeia de bovinos leiteiros, os autores puderam evidenciar que esse termo não é comumente utilizado no país (MERENDA et al., 2022). A maioria das pessoas pertencentes à cadeia leiteira entende essa prática como um procedimento que faz uso exclusivamente de anestésicos. O relato de um veterinário trouxe à tona essa ideia dizendo que ao se referir aos produtores, para o melhor entendimento, usam o termo abate, porém erroneamente, já que o animal não irá passar por um abatedouro, mas sim eutanasiado. Aborda, ainda, seus métodos de eutanásia no campo onde, na maioria das vezes, considera impossível usar protocolos hospitalares (MERENDA et al., 2022).

Ao serem questionados sob sua percepção da prática da eutanásia animal, 37,2% dos entrevistados a considera necessária ao bem-estar animal, porém difícil de ser realizada; destes 49,42% eram MV; 22,99% AcMV; 18,39% PRC; e 9,19% TA. Na mesma questão, 31,6% afirmaram ser algo necessário somente em casos extremos de sofrimento animal; deste total 35,13% eram MV; 32,43% AcMV; 25,67% PRC; e 6,75% TA. Ainda, 31,2% afirmaram ser algo necessário ao bem-estar animal, destes 60,27% eram MV; 24,66% AcMV; 8,22% PRC; e 6,85% TA.

Pode-se perceber que a maior parte dos entrevistados optou pela alternativa de que considera a eutanásia necessária ao bem-estar animal, porém difícil de ser realizada.

Isso muitas vezes é devido ao fato de que a medicina veterinária é a única área da saúde onde o profissional pode recomendar e realizar a eutanásia de seus pacientes, sendo este processo um fator emocionalmente desgastante e estressante, o que pode predispor a síndromes psicológicas. É grande a cobrança entre os profissionais por salvar vidas, onde as extinguir pode se tornar um fardo insustentável (MEEHAN; BRADLEY, 2007).

Almeida (2014), em seu estudo buscou avaliar o ponto de vista de graduandos de medicina veterinária da Universidade Federal Fluminense relacionado à eutanásia animal. Para a execução da pesquisa aplicou um questionário a 91 alunos do curso, nos anos compreendidos entre 2010 e 2013, com adesão voluntária. A autora concluiu que a maioria dos participantes tinha conhecimento sobre o tema, estava ciente do papel que os profissionais da área desempenhavam, porém desconheciam os métodos a serem utilizados para cada espécie animal e quando assumir que a vida de seu paciente deveria ser abreviada.

Na questão “Você concorda que o processo decisional que leva ou não à eutanásia (árvore decisional) deveria fazer parte do currículo das escolas de medicina veterinária?”, 86,7% dos entrevistados concordaram plenamente (Figura 3). Quando questionados quanto ao saber a diferença entre eutanásia e distanásia, 35% assentiram, enquanto que 65% não sabiam a diferença.

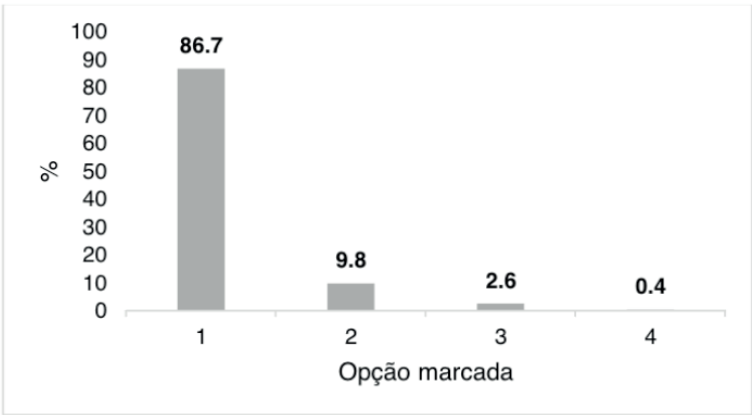


Figura 3 - Porcentagem de respostas à pergunta “Você concorda que o processo decisional que leva ou não à eutanásia (árvore decisional) deveria fazer parte do currículo das escolas de medicina veterinária?” (1) Concordo plenamente; (2) concordo parcialmente; (3) indiferente; (4) discordo plenamente.

É sabido da importância para o animal, o proprietário, o veterinário e os graduandos quanto ao treinamento para a tomada de decisão para executar a eutanásia. É no período de graduação que os alunos têm a oportunidade para desenvolver essa habilidade a fim de minimizar o sofrimento de um organismo que padece (MAGALHÃES-SANT’ANA, 2014).

Conforme estudos, são limitadas as orientações disponíveis aos estudantes sobre

a tomada de decisão pela eutanásia. Os autores citam que certa escola de veterinária na Nova Zelândia e várias da Austrália devem ensinar de acordo com os padrões contidos na *The American Veterinary Medical Association Council on Education*, *Royal College of Veterinary Surgeons* e *Australasian Veterinary Boards Council Inc.* Com isso, pretendem garantir que os futuros profissionais sejam suficientemente competentes para a prática da profissão. Ainda, já no primeiro ano de graduação incluem disciplinas ligadas à gestão de pessoas e tomada de decisão perante uma situação indicativa de eutanásia (MAIN et al., 2005).

Na questão “sabe-se que bovinos adultos “caídos” por 48 horas ou mais têm apenas 8% de chances de retornar a uma vida normal”, 56,8% afirmam que “todo animal caído por 48 horas que o veterinário acredita que pode responder ao tratamento deve ser tratado, reavaliado em 12 horas e retomado o processo decisional”; 28,6% afirmam que “todo animal caído por 48 horas, em que o veterinário acredita que pode responder o tratamento deve ser tratado, reavaliado em 48 horas e retomado o processo decisional”; 9,4% afirmam que “todo animal caído por 48 horas deve ser tratado enquanto houver esperança”; 2,6% afirmam que “todo animal caído por 48 horas deve ser mantido vivo até parar de se alimentar”; 2,1% afirmam que “todos os animais caídos por 48 horas devem ser eutanasiados”.

Na questão “que fatores você levaria em consideração em optar ou não por uma eutanásia em um bovino”, as palavras mais citadas pelos AcMV (Figura 4A), em ordem de frequência, foram tratamento, sofrimento, vida, bem-estar, condições. As respostas, da mesma forma, de MV (Figura 4B) foram tratamento, sofrimento, vida, prognóstico, proprietário; dos TA (Figura 4C) sofrimento, chances, vida, doença, economicamente; e PRC (Figura 4D) sofrimento, enfermidade, recuperação, tratamento, vida.

Ambas as questões dizem respeito aos quesitos que os entrevistados levavam em consideração para optar pela eutanásia. Nesta última pode-se observar que veterinários e acadêmicos, na sua maioria, utilizaram a palavra “tratamento” em primeiro lugar a ser levada em consideração no momento da decisão, que está relacionada ao seu custo, resposta pelo paciente, mão de obra para efetivá-lo, entre outros fatores. Por outro lado, outros técnicos do setor agro juntamente com produtores rurais e colaboradores da pecuária fizeram uso, em sua maioria, da palavra “sofrimento”, que remete o grau de padecimento do indivíduo frente a uma enfermidade.

Conforme a legislação vigente, a Resolução nº 1.000, de 11 de maio de 2012, do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV), em seu Artigo 3º, a eutanásia pode ser indicada nas situações em que o bem-estar do animal estiver comprometido. Se o quadro clínico for irreversível, com o objetivo de eliminar a dor ou o sofrimento, o qual não pode ser controlado ou amenizado por meio de fármacos analgésicos, sedativos ou de outros tratamentos, é um dever do profissional amenizar o padecimento do paciente (CFMV, 2012a).

8 | CONCLUSÃO

Fica evidenciado através desta pesquisa que a prática da eutanásia é necessária ao bem-estar animal, mas difícil de ser realizada. Vários são os fatores que interferem no seu processo decisional, mas é demonstrado que a possibilidade de tratamento e o sofrimento do indivíduo são os fatores que mais têm peso no momento de se decidir ou não pela eutanásia. Além disso, se faz necessário o treinamento de pessoas para reconhecerem casos de sofrimento animal sem perspectiva de melhora e abreviarem seu padecimento de forma digna e humanitária.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Programa de Residência em Área Profissional da Saúde - Medicina Veterinária, à Clínica de Ruminantes do HVU/UFSM, bem como ao Sistema Único de Saúde.

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

Rodrigo Rech: investigação, análise dos dados, escrita e revisão. **Isadora Coelho:** divulgação do questionário e revisão. **Júlia Rasia:** divulgação do questionário. **Carlos Rossi:** escrita e revisão. **Marcelo Cecim:** metodologia, supervisão, revisão e administração do projeto.

REFERÊNCIAS

AGOSTINHO, J. J.; PALAZZO, E. L. Aplicações clínicas e éticas da eutanásia em pequenos animais. **Nucleus Animalium**, Ituverava, v. 1, n. 1, p. 1-13, 2009.

ALMEIDA, J. F. Eutanásia animal sob o ponto de vista de graduandos em medicina veterinária da Universidade Federal Fluminense - UFF. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 18, p. 1658-1665, 2014.

ALVES, L. K. S., *et al.* Eutanásia de suínos em granjas brasileiras: onde estamos errando? In: SIMPÓSIO DE SUSTENTABILIDADE E CIÊNCIA ANIMAL, 1., 2020, Uberlândia/MG. **Anais...** Uberlândia/MG: Universidade Federal de Uberlândia, Universidade Federal Fluminense, Universidade de São Paulo. 2020. p. 82-84.

ARAÚJO, H. S. *et al.* Aspectos econômicos da produção de bovinos de corte. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 42, n. 1, p. 82-89, jan./mar., 2012.

AZEVEDO, H. H. F. *et al.* Bem-estar e suas perspectivas na produção animal. **Pubvet**, v. 14, n. 1, a481, p. 1-5, jan. 2020.

BOND, G. B. *et al.* Métodos de diagnóstico e pontos críticos de bem-estar de bovinos leiteiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 7, p. 1286-1293, jul. 2012.

BRAGA, J. S. *et al.* O modelo dos “Cinco Domínios” do bem-estar animal aplicado em sistemas intensivos de produção de bovinos, suínos e aves. **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 19, n. 2, p. 204-226, 2018.

BRASIL. [Instrução Normativa (2008)]. **Instrução Normativa nº 56, de 6 de novembro de 2008**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [2008].

BROOM, D. M. Bienestar animal: conceptos, metodos de estudio e indicadores. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, Medellín, v. 24, n. 3, p. 306-321, jul./set. 2011a.

BROOM, D. M. Bem-estar animal. In: YAMAMOTO, M. E.; VOLPATO, G. L. **Comportamento Animal**: Editora da UFRN, 2011b. p. 457-482.

BROOM, D. M. Animal welfare: concepts and measurements. **Journal of Animal Science**, v. 69, n. 1, p. 4167-4175, 1991.

BROOM, D. M. Indicators of poor welfare. **British Veterinary Journal**, London, v. 142, n. 6, p. 524-526, nov./dec. 1986.

BROOM, D. M.; MOLENTO, C. F. M. Bem-estar animal: conceito e questões relacionadas - revisão. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 9, n. 1, p. 1-11, 2004.

CEBALLOS, M. C.; SANT'ANNA, A. C. Evolução da ciência do bem-estar animal: aspectos conceituais e metodológicos. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 16, n. 1, p. 1-24, 2018.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. [Resolução (2012)]. **Resolução nº 1000, de 11 de maio de 2012**. Brasília: CFMV, [2012a].

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. **Guia brasileiro de boas práticas de eutanásia em animais**: Conceitos e procedimentos recomendados. Brasília: ASCOM/CFMV, 2012b.

COONEY, K. Historical perspective of euthanasia in veterinary medicine. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 50, n. 3, p. 489-502, 2020.

DALLA COSTA, F. A. *et al.* On-farm pig dispatch methods and stockpeople attitudes on their use. **Livestock Science**, v. 221, n.1, p. 1-5, jan. 2019.

DANIELI, B. **Compost Barns: dinâmica de utilização da cama e bem-estar animal**. 2019. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Produção Animal) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Chapecó, SC, 2019.

FELIX, Z. C. *et al.* Eutanásia, distanásia e ortotanásia: revisão integrativa da literatura. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 18, n. 9, p. 2733-2746, 2013.

FIGUEIREDO, A. C. C.; ARAUJO, F. A. A. Eutanásia animal em centros de controle de zoonoses. *Revista Conselho Federal de Medicina Veterinária*, v. 2, n. 23, p. 12-17, 2001.

FREITAS, R. *et al.* Utilizando as técnicas de “Nuvem de Palavras” e clusterização aplicadas as entrevistas dos atletas olímpicos da cidade de São Carlos. *Journal of Olympic Studies*, v. 2, n. 2, p. 423-434, 2018.

GONZÁLEZ, T. F. F.; VASCONCELOS, T. C.; SANTOS, I. B. Eutanásia: morte humanitária. *Pubvet*, v. 15, n. 4, p. 1-11, 2021.

GRIGNARD, L. *et al.* Do beef cattle react consistently to different handling situations? *Applied Animal Behaviour Science*, v. 71, n. 1, p. 263-276, 2001.

HEIMERL, F. *et al.* Word Cloud Explorer: text analytics based on word clouds. *In: 47th HAWAII INTERNATIONAL CONFERENCE ON SYSTEM SCIENCE*, 1., 2014, Waikoloa, HI. *Annals...* Waikoloa: IEEE, 2014. v.1. 5194p. p.1833-1842. doi: 10.1109/HICSS.2014.231.

LEARY, S. *et al.* Part III-Methods of Euthanasia by Species and Environment. *In: AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition*. Schaumburg: American Veterinary Medical Association, 2020. *E-book*. 121 p. ISBN 978-1-882691-09-8.

MAGALHÃES-SANT'ANA, M. Ethics teaching in European veterinary schools: a qualitative case study. *Veterinary Record*, v. 175, n. 23, p. 592-592, 2014.

MAIN, D. C. J. *et al.* Teaching animal welfare science, ethics, and law to veterinary students in the United Kingdom. *Journal of Veterinary Medical Education*, v. 32, n. 4, p. 505-508, 2005.

MASON, G. Stereotypies: a critical review. *Animal Behavior*, v. 41, n. 1, p. 1015-1037, 1991.

MEEHAN, M. P.; BRADLEY, L. Identifying and evaluating job stress within the Australian small animal veterinary profession. *Australian Veterinary Practitioner*, v. 37, n. 2, p. 70-83, 2007.

MELLOR, D. Updating animal welfare thinking: moving beyond the “Five Freedoms” towards “a Life Worth Living”. *Animals*, v. 6, n. 3, p. 21, 2016.

MELLOR, D. J.; STAFFORD, K. J. Physiological and behavioural assessment of pain in ruminants: principles and caveats. *Fourth World Congress*, v. 32, supl. 1, p. 267-271, 2004.

MERENDA, V. R. *et al.* Dairy cattle euthanasia - focus groups exploring perspectives of brazilians working in the dairy cattle industry. *Animals*, v. 12, n. 4, p. 409, 2022.

MIRANDA-DE LA LAMA, G. C.; MATTIELLO, S. The importance of social behaviour for goat welfare in livestock farming. *Small Ruminant Research*, v. 90, n. 1, p. 1-10, 2010.

MULLINS, C. R. *et al.* Determination of swine euthanasia criteria and analysis of barriers to euthanasia in the United States using expert opinion. *Animal Welfare*, Netherlands, v. 26, n. 1, p. 449-459, 2017.

OLIVEIRA, A. F. M. *et al.* Estudos do comportamento animal. *In: Considerações do comportamento e bem-estar animal: búfalos e peixes*. Edição 2021. Edifes: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, 2021. *E-book*. 77 p. ISBN 978-65-86361-94-0.

PAIVA, J. N. **Considerações sobre a eutanásia na Medicina Veterinária**. 2016. 29 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

PULZ, R. S. *et al.* A eutanásia no exercício da medicina veterinária: aspectos psicológicos. **Veterinária em Foco**, Canoas, v. 9, n. 1, p. 88-94, 2011.

ROCHA, D. T.; CARVALHO, G. R. Oferta e demanda de leite no Brasil de 1990 a 2019. *In: ANUÁRIO LEITE 2020*. Embrapa. 1. ed. Juiz de Fora, MG: Embrapa Gado de Leite, 2020.

ROSA, I. M. M. F. *et al.* O impacto do bem-estar animal para o agronegócio aplicado à bovinocultura no Brasil. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.7, n. 6, p. 56531-56546. jun. 2021.

SANTOS, B.; NEVES, A. Z.; RIBEIRO, L. F. Importância do bem-estar animal na bovinocultura de leite. **Revista GeTeC**, v. 10, n. 26, p. 126-133, 2021.

SANTOS, L. A. C.; MONTANHA, F. P. Eutanásia: morte humanitária. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. v. 9, n. 1, p. 1-17, 2017.

SHAW, J. R.; LAGONI, L. End-of-life communication in veterinary medicine: delivering bad news and euthanasia decision making. **Veterinary clinics: small animal practice**, v. 37, n. 1, p. 95-108, 2007.

SCOTT, G. Essential animal behavior: an introduction. *In: SCOTT, G. Essential animal behavior*. 1 ed. Blackwell Publishing, 2005. v. 1. cap. 1. p. 1-17.

SILVA, A. A. A. *et al.* Percepção de profissionais da saúde sobre eutanásia. **Revista Bioética**, v. 28, n.1, p. 111-118, 2020.

SOUZA, M. V. *et al.* Levantamento de dados e causas de eutanásia em cães e gatos: avaliação ética-moral. **PUBVET**, v. 13, n. 11, p. 1-13, nov. 2019.

VAHL, J. **Efeito do desafio com lipopolissacarídeo sobre o comportamento e desempenho de bovinos**. 2020. 53 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2020.

ESTUDIO DE LA CINÉTICA DE ADSORCIÓN DE COLORANTE SINTÉTICO EN AGUA MEDIANTE NANOARCILLAS ACTIVADAS CON ÁCIDO DÉBIL

Data de aceite: 02/10/2023

Yubher Aderson Vargas Torre

<https://orcid.org/0009-0005-6166-3881>
Universidad Nacional José María
Arguedas

David Oasco Perez

<https://orcid.org/0009-0009-8073-244X>
Universidad Nacional José María
Arguedas

Ayde Quispe Guizado

<https://orcid.org/0000-0001-5682-5376>
Universidad Nacional José María
Arguedas

Sofia Pastor Mina

<https://orcid.org/0009-0003-5604-7270>
Universidad Nacional José María
Arguedas

David Choque Quispe

<https://orcid.org/0000-0003-4002-7526>
Universidad Nacional José María
Arguedas

Carlos Alberto Ligarda Samanez

<https://orcid.org/0000-0001-7519-8355>
Universidad Nacional José María
Arguedas

Yakov Felipe Carhurarupay-Molleda

<https://orcid.org/0000-0001-6467-677X>
Universidad Nacional José María
Arguedas

Betsy Suri Ramos-Pacheco

<https://orcid.org/0000-0002-0286-0632>
Universidad Nacional José María
Arguedas

Katia Choque-Quispe

<https://orcid.org/0000-0003-0789-293X>
Universidad Nacional José María
Arguedas

Elibet Moscoso Moscoso

<https://orcid.org/0000-0002-0546-4504>
Universidad Nacional José María
Arguedas

Diego E. Peralta-Guevara

<https://orcid.org/0000-0003-2988-0809>
Universidad Nacional José María
Arguedas

RESUMEN: Los colorantes sintéticos en los efluentes afectan en gran medida a los seres vivos y al ecosistema acuático. En esta investigación se evaluó la cinética de adsorción de colorante sintético Azul de Metileno (AM) mediante nanoarcillas activadas con ácido débil en medio acuoso. La activación se realizó con NaCl a 1M y H_3PO_4 al 10%, para posteriormente realizar tratamientos de cinética de adsorción en pH (5 y 8) y, con arcilla Activada (AA) y arcilla

natural (AN); para los tiempos 0, 30, 50, 70, 90, 130, 180, 230, 330 y 430 min; tomando lecturas de absorbancia mediante un Espectrofotómetro a 664 nm. Los resultados del estudio cinético se ajustaron a los datos experimentales a los modelos pseudo de primer orden y segundo orden; donde, este último presenta un mejor ajuste a la cinética de adsorción del azul de metileno con AA y AN con $R^2=0.99$. A su vez se pudo determinar la capacidad de adsorción en equilibrio que oscilan entre 2.473 a 4.868 mg/g; se observa una adsorción rápida en los primeros 30 a 50 min, donde el pH óptimo fue en pH 5; así mismo; la AA posee un grado de cristalinidad de 97.24% con 2.85 nm de tamaño de cristales. La AA con ácido fosfórico y cloruro de sodio posee una mayor capacidad de adsorción a comparación de la arcilla Natural; este recurso es económico y amigable con medio ambiente, que se puede aprovechar en el tratamiento de aguas.

PALABRAS CLAVE: Arcilla, adsorción, azul de metileno, cinética.

ABSTRACT: Synthetic dyes in effluents greatly affect living beings and the aquatic ecosystem. In this research, the adsorption kinetics of synthetic dye Methylene Blue (MB) was evaluated by weak acid activated nanoclays in aqueous medium. The activation was carried out with NaCl at 1M and H₃PO₄ at 10%, to subsequently perform adsorption kinetics treatments at pH (5 and 8) and with activated clay (AA) and natural clay (AN); for times 0, 30, 50, 70, 90, 130, 180, 230, 330 and 430 min; taking absorbance readings by means of a spectrophotometer at 664 nm. The results of the kinetic study were adjusted to the experimental data to the pseudo first order and second order models; where, the latter presents a better adjustment to the adsorption kinetics of methylene blue with AA and AN with $R^2=0.99$. At the same time, it was possible to determine the adsorption capacity in equilibrium that oscillates between 2.473 to 4.868 mg/g; a fast adsorption is observed in the first 30 to 50 min, where the optimum pH was at pH 5; likewise, AA has a degree of crystallinity of 97.24% with 2.85 nm of crystal size. AA with phosphoric acid and sodium chloride has a higher adsorption capacity compared to natural clay; this resource is economical and environmentally friendly, which can be used in water treatment.

KEYWORDS: Clay, adsorption, methylene blue, kinetics.

1 | INTRODUCCIÓN

El desarrollo tecnológico, industrial y el crecimiento de las poblaciones ha ocasionado que los contaminantes de los residuos líquidos se incrementan a diario, en volumen, carga, concentración y diversidad; donde la presencia sobre los cuerpos receptores, acrecientan en el grado de contaminación y efectos nocivos sobre la vida acuática (Xiao et al., 2021; Qin et al., 2023). Las industria textil, cosmética, pintura y papel son las principales emisoras de grandes volúmenes de aguas residuales coloreadas contenido con amplia variedad de tintes sintéticos, compuestos orgánicos recalcitrantes y otros compuestos químicos, incluidos los ácidos, bases, sales, agentes humectantes, colorantes, acabados auxiliares, compuestos tóxicos e inhibitorios, surfactantes, entre otros (Kong et al., 2019). Además, la creciente necesidad de producción textil genera efluentes que se conviertan en una de las principales fuentes puntuales de contaminación de las aguas superficiales, como

consecuencia se produce cambio de color, oxígeno disuelto, conductividad, pH y salinidad (Quintero, 2012). Muchos de los procesos textiles tienen un manejo de manera discontinuo, por la que, las concentraciones de los materiales residuales pueden variar a largo de un periodo de tiempo.

Los colorantes sintéticos de las aguas residuales textiles afectan la estética, transparencia del agua e interfieren en la transmisión de la luz a los medios acuáticos, que impiden la demanda química de oxígeno y procesos de fotosíntesis (Vilaseca, 2015), lo que puede conllevar a la destrucción de la comunidad acuática en el ecosistema (Abdel-Fadeel et al., 2022). Además, de generar colores no deseados, algunos de estos tintes pueden degradarse y originar toxicidad acuática, debido a que los tintes son cancerígenos y mutágenos (Sonawane et al., 2009; Ahmed et al., 2021)

Por los efectos peligroso de los colorantes, se emplean varios tratamientos físico-químicos para su eliminación, como ozonización, coagulación/floculación, oxidación avanzada, la filtración por membrana (Zinadini et al., 2014) y la extracción líquido-líquido, sin embargo, demanda muchos recursos y generan lodos residuales (Modirshahla et al., 2011; Kandisa et al., 2016). En la actualidad, la adsorción es un método prometedor y eficiente para remover las aguas residuales coloreadas, ya que se caracteriza por su alta eficiencia, simplicidad de construcción, ausencia de formación de lodos, bajo costo, facilidad de uso y flexibilidad (Kiranşan et al., 2014). Por la que, utilizan como materia las arcillas como adsorbentes, debido a su estructura tiene una alta capacidad de adsorción, puesto a que tienen una alta área superficial y una superficie con sitios activos para la adsorción (Zhou et al., 2019).

Las arcillas poseen una gran superficie específica y una buena capacidad de intercambio catiónico, que es conocida por su capacidad de acumulación de tintes tóxicos y peligrosos solubles en agua en la superficie. La superficie de la arcilla se puede activar para aumentar las interacciones mediante modificación químicamente con ácido y/o base, o mediante la funcionalización con aditivos seleccionados (Kiranşan et al., 2014). Por la que (Abdel-Fadeel et al., 2022), demostró que nanoarcilla de holista puede eliminar la mayoría de los tintes dentro 30 min, con una capacidad de adsorción de 12,5 mg/g para colorante Acid Red y 13,9 mg/g para colorante Brilliant Green, se ajustaron mejor modelo cinético de pseudo-segundo orden. De igual manera (Vanaamudan & Sudhakar, 2015) determinó que la quitosano-nanoarcilla modificada orgánicamente (cloisita 30B) se comporta como un excelente adsorbente para reactivos colorantes azul-21 y rojo-141; los datos de cinética de adsorción ajustados bien con el modelo cinético de pseudo-segundo orden. Del mismo modo, (Kiranşan et al., 2014) evaluó la eficacia del nanomaterial de montmorillonita (MMT) modificado con bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) para la adsorción de Acid orange 7 (AO7), predijo que la eficiencia máxima de decoloración sería del 87,19 % a una concentración de AO7 de 49 mg/L, una dosis de adsorbente de 0,8 g/L, un tiempo de reacción de 27 min y un pH inicial de 6; y los resultados del estudio de isothermas se ajustan

al modelo de Freundlich ($R^2 > 0,9$).

Por ello, el presente estudio pretende realizar el estudio cinético del colorante sintético a través de arcillas activadas, en medio acuoso, con el fin de remediar aguas contaminadas y proponer la aproximación de un material amigable al ambiente para futuras investigación que puedan aplicarlo a espacio contaminados con colorantes sintéticos.

2 I MATERIALES Y MÉTODOS/METODOLOGÍA

2.1 Colección de muestra y preparación del adsorbente

La arcilla, fue recolectada de la provincia de Huanta en el departamento de Ayacucho con coordenadas geográficas 12°56'23" S y 74°14'51" W con una altitud de 2627 ms.n.m. Posteriormente, se realizó el molido en un molino planetario PM100, y luego se tamizaron a 4 micras y seguidamente se eliminó la materia orgánica con H_3PO_4 , a una concentración del 10% en una proporción de 1g de arcilla/4 ml de ácido fosfórico. Luego se agitó a 300 rpm a 60 °C por 6 horas y se enjuago en una centrifuga, utilizando agua ultrapura, a 9000 rpm, a una temperatura de 22° C por 30 minutos; este proceso se repitió hasta obtener un pH neutro. Finalmente, la arcilla se secó en una estufa a 75 °C por 24 h, obteniéndose 16 g del adsorbente (Choque et al., 2022).

2.2 Activación de la arcilla

Se preparo una solución de NaCl a 1 M, en donde se le agrego arcilla una proporción de 1g/ 5 ml de NaCl y para luego, ponerlo al Sonicador Ultrasonic Prosessor modelo VCX 750 a 10 Hz por 10 min, por triplicado el proceso. Seguidamente se puso a agitar la solución, a 200 rpm a 22°C por 30 minutos. Para ser enjuago a través de una centrifuga, utilizando agua ultrapura, a 9000 rpm, a una temperatura de 22° C, por 30 minutos; este proceso se repitió hasta obtener una conductividad menor a 10 μ S/cm. Por último, se llevó a secar en una estufa a 75 °C por 24 h y obteniéndose 15.13 g de arcilla activada; la cual fue almacenada en un tubo de tapa rosca.

2.3 Análisis difractométrico XRD de la arcilla activada

El análisis de difracción de rayos X, para la arcilla, se realizó utilizando un difractómetro Bruker, modelo D8-Focus (Karlsruhe, Alemania), (Cu $K\alpha_1 = 1.54 \text{ \AA}$) a 40 kV y 40 mA, y un detector PSD Lynxeye (Choque et al., 2022).

2.4 Procedimiento de adsorción

Se realizó cuatro tratamientos (T1, T2, T3 y T4) con pH (5 y 8) y Acilla (Natural y Activada), bajo condiciones de temperatura del ambiente. Primeramente, se ajustó el pH con NaOH (0,1 N) y HCl (0.1 N) en vasos precipitados de 250 ml.

El colorante utilizado para la solución fue el Azul de Metileno (319.85 g/mol) a 2310

ppm, y se agregó 50 µl en 100 ml de agua destilada. Seguidamente se agregó arcilla a 100 ppm, a la solución del tinte en base al tratamiento requerido y luego se agitó en agitador magnético a 60 rpm durante los tiempos (0, 30, 50, 70, 90, 130, 180, 230, 330 y 430 min) para obtener la adsorción. Posteriormente se filtró la solución y se midió la absorbancia del agua filtrada, a una longitud de onda de 664 nm con un espectrofotómetro UV-Vis, modelo iris HI801 de la marca Hanna (Choque et al., 2023; Nipa et al., 2023).

La adsorción experimental del AM en el tiempo (q_t) se determinó a través de la Ecuación (1)

$$q_t = \frac{V(C_0 - C_t)}{m} \quad (1)$$

Donde, C_t , es la concentración del AM en el tiempo t (mg/L); C_0 , es la concentración inicial del AM en $t = 0.0$ min (mg/L); V es el volumen de la solución (L); m , es la masa de la arcilla (mg).

2.5 Estudios cinéticos

La cinética describe la velocidad en el que el adsorbato se adhiere al absorbente en un tiempo de contacto y se tiene que tener conocimiento las leyes de adsorción a través de los modelos cinéticos.

Los datos experimentales $q_{t_{exp}}$ se ajustaron a los modelos cinéticos, pseudo primer orden y pseudo segundo orden y se evaluaron el coeficiente de correlación ajustada, así como los residuales de cada modelo.

Modelo de pseudo primer orden

La siguiente ecuación expresa el modelo cinético pseudo primer orden (2) (Albis et al., 2019; Choque et al., 2023).

$$\ln(q_e - q_t) = \ln(q_e) - k_1 t \quad (2)$$

Donde, q_e (mg/g): es la capacidad de colorante adsorbido en el equilibrio; q_t (mg/g): capacidad de colorante adsorbido en el tiempo t ; k_1 : constante de velocidad de adsorción (min^{-1}); t (min): tiempo de contacto.

Modelo de pseudo segundo orden

La ecuación (3) expresa en su forma integral linealizada del modelo cinético pseudo segundo orden (Choque et al., 2023; Nipa et al., 2023) .

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (3)$$

Donde, k_2 (g/mg.min): es la constante cinética del modelo de pseudo segundo orden; t (min): tiempo de contacto.

2.6 Ajuste de los datos obtenidos

Se considero los errores de los datos experimentales a través, de la minimización de la suma de errores al cuadrado (SEE) ecuación (4), evaluados a través de los métodos Quasi-Newton (QN) (Choque et al., 2023; Moroi et al., 2016).

$$SEE = \sum_{i=1}^N (q_{e_{mod}} - q_{e_{exp}})_i^2 \quad (4)$$

Donde N: es el número de mediciones experimentales y $q_{e_{exp}}$: es la capacidad de adsorción en equilibrio $q_{e_{mod}}$ experimental y : es la capacidad de adsorción en equilibrio del modelo.

Los datos se procesaron en los programas office Excel y STATICA. 64. VERSION 10.0.

3 | RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis difractométrico XRD y grado de cristalinidad de la arcilla

La figura 1 muestra los patrones XRD de la AA, evidenciando las intensidades presentadas por la emisión de rayos x, con un ángulo 2θ (o 2 theta), entre las direcciones del has emitido y recibido (Johnston et al., 2022). Se determinó mediante la intensidad emitida que la arcilla activada está compuesta por cuarzo $2\theta \approx 28.03$, mineral que se encuentra con mayor intensidad en la arcilla; siendo similar a los resultado obtenido por (Bernard et al., 2020), que analizó patrones de difracción de rayos X y la intensidad es notoria en arcilla Opalinusy. De igual manera, se encuentra magnetita $2\theta \approx 7.90$, caolinita $2\theta \approx 20.89$, Calcita $2\theta \approx 36.22$ y illita $2\theta \approx 41.65$ (Bernard et al., 2020; Johnston et al., 2022; Torres et al., 2013; Vaičiukynienė et al., 2020), todas estos minerales con intensidades menores.

De la misma manera se puede identificar la predominancia del pico con mayor intensidad en 2θ entre 20° y 40° (Figura 1), y esto puede ser debido a la estructura amorfa de la arcilla (Obregón et al., 2020). En cambio, se presentaron picos de menor intensidad a 2θ entre 0 y 80° , esta característica puede estar atribuida a arcilla modificada en medio básico y la adición de H_3PO_4 en la activación, debido a que los carbonatos y los óxidos son destruidos y eliminados (Choque et al., 2022); por ende permiten a la arcilla mejorar sus sitios de adsorción.

La AA presenta un grado de cristalinidad del 97.24 % y como resultado presenta un rigidez alta, asimismo, se relacionó que un alto grado de picos nítidos e intensos refleja un alto grado de cristalinidad de la arcilla (Johnston et al., 2022); por ejemplo en el caso del cuarzo. Por su parte, el tamaño de los cristales presentes en la AA es de 2.85 nm aproximadamente.

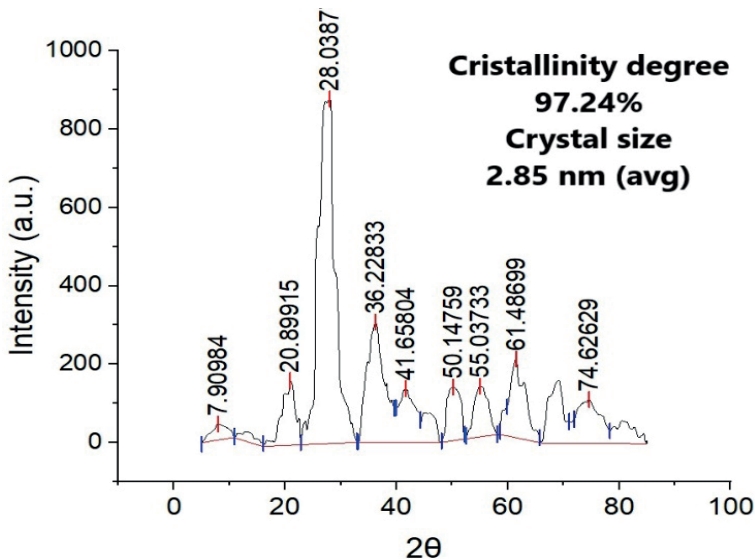


Figura 1. Difractograma de rayos X de la arcilla activada (AA)

3.2 Cinética de adsorción

El estudio cinético consiste en la rapidez con el que el adsorbato se adhiere a la superficie del absorbente a la cual se le denomina el proceso de adsorción (Bejarano et al., 2020; Choque et al., 2023). En la Tabla 1 se muestran los parámetros de los modelos pseudo primer orden (PPO) y pseudo de segundo orden (PSO).

Se observó que los coeficientes de determinación (R^2) del modelo PPO, oscilan entre los rangos de 0.79 a 0.98 y con valores de $R^2 > 0.70$ sugieren buen ajuste de un modelo a datos experimentales; por lo que los resultados encontrados indican que el modelo PPO se ajusta adecuadamente a los datos experimentales de la cinética. En el modelo cinético PSO se encuentra en 0.73, y 0.99 los valores de R^2 , indicando buen ajuste a los datos obtenidos. Por ende, el modelo que más se ajusta a la cinética de adsorción del AM con AA y AN es el modelo de pseudo segundo orden tal como se evidencian en trabajos similares (Bejarano et al., 2020; Ullah et al., 2022). Mismos comportamientos obtuvieron por Loutfi et al., (2023), que realizaron la cinética de adsorción con arcillas naturales y el modelo PPO presento una menor adaptación a los datos experimentales $R^2=0.74$, un mejor ajuste en PSO con $R^2=0.99$.

Los modelos de PPO y PSO se ajustaron a través del método Quasi-Newton, y se reportó que el parámetro de constante de velocidad de adsorción K_1 , tiene comportamiento similar en los T_1 y T_2 con 0.035 min^{-1} . En cambio, en T_4 ligera diferencia con 0.033 min^{-1} y en T_3 presentó mayor velocidad de adsorción con 0.052 min^{-1} . Por otra parte, la constante de velocidad de PSO K_2 , tiene diferentes valores en el pH 5 con 0.016 y 0.035 g/mg.min en

AA y AN, respectivamente. Sin embargo, el comportamiento es constante en pH 8 tanto AA y AN; estos tiempos mostrados en los tratamientos realizados, indican que el tiempo necesario para obtener la capacidad de adsorción en equilibrio son cortos (Otavo, 2019).

La capacidad de AM adsorbido en el equilibrio q_e en PPO, reporta una mayor adsorción en el tratamiento T_1 a pH 5 y con AA, llegando a su capacidad en 4.64 mg/g; seguidamente en los tratamientos a pH 8 con AA y AN, exhiben valores constantes de 3.20 y 3.72 mg/g, respectivamente. Sin embargo, presentó una menor capacidad de adsorción en el T_2 , con 2.849 mg/g. En PSO reportó una mayor capacidad de adsorción del AM con AA de 4.868 mg/g y viceversa con AN (2.473 mg/g) en pH 5. Además, los T_3 y T_4 tiene una capacidad de adsorción constante de 3.71 mg/g con AA y 3.847 mg/g con AN; similares resultados se obtuvieron Cuesta & Nieto, (2022), donde el modelo PSO presento una capacidad de adsorción de 2.78 mg/g y una velocidad de adsorción de 4.75g/mg.min. con arcilla roja y el colorante (Azul Marino Básico 2RN). En ambos modelos la arcilla activada presento una mayor capacidad de adsorción en equilibrio esto puede estar atribuida a que la adición de NaCl y H_3SO_4 , que aumentan la capacidad en los sitios de adsorción en la arcilla y a su vez mejorando el comportamiento tixotrópico (Choque et al., 2022).

La distribución de las residuales de modelo PPO tiende a ser tendenciosos en los tratamientos T_2 , T_3 y T_4 y una distribución ligeramente tendenciosa en T_1 , siendo similar la distribución en todos los tratamientos de PSO. Este parámetro de ajuste permite evidenciar los errores a través de la diferencia entre los valores experimentales y los valores que predice el modelo.

Pseudo Primer Orden						
Tratamiento	pH	Tipo de arcilla	qe (mg/g)	K ₁ (min ⁻¹)	R ²	Residuales
T ₁	5	AA	4.644	0.035	0.79	LT
T ₂		AN	2.849	0.035	0.87	T
T ₃	8	AA	3.208	0.052	0.98	T
T ₄		AN	3.726	0.033	0.84	T
Pseudo Segundo Orden						
Tratamiento	pH	Tipo de arcilla	qe (mg/g)	k ² (g/mg.min)	R ²	Residuales
T ₁	5	AA	4.868	0.016	0.88	LT
T ₂		AN	2.473	0.035	0.73	LT
T ₃	8	AA	3.710	0.027	0.99	LT
T ₄		AN	3.847	0.025		LT

Donde T: Tendencioso; LT: ligeramente tendencioso

Tabla 1: Adsorción de azul de metilo

Con se muestra en la figura 2, el modelo PPO y PSO a pH 5 con AA, el proceso de adsorción se desarrolló rápidamente en los tiempos 15 a 20 min, seguidamente con

comportamiento lento hasta llegar a la capacidad de adsorción de 4.644 y 4.868 mg/g y, alcanzar el equilibrio en 180 y 340 min con PPO y PSO, respectivamente. El rápido inicio de adsorción puede estar influenciada al mayor número de sitios libres en la superficie del adsorbente (Loutfi et al., 2023); además, puede estar atribuida a la capacidad de intercambio catiónico de la arcilla (Choque et al., 2022); dado que esta característica permite a la arcilla adsorber cationes del colorante azul de metileno (AM), dado que el tinte posee carga catiónica.

Por otra parte, en la AN a pH 5 se muestra que el tiempo de adsorción ocurre durante los 30 y 40 min en PPO y PSO, respectivamente (Figura 2); para luego tener un incremento moderado, esto puede estar influenciado por la disponibilidad de suficientes sitios para la adsorción en la arcilla y a su vez, por la repulsión de carga de las moléculas de tinte libres (Loutfi et al., 2023; Rehman et al., 2021). Posteriormente presenta un comportamiento constante, hasta llegar a su capacidad de adsorción en los dos modelos. De igual manera, en pH 8 con AA, el tiempo de adsorción rápida aumenta al 40 y 50 min en PSO y PPO, respectivamente, a comparación de los tratamientos a pH 5. Asu vez, en PSO el tiempo para alcanzar el equilibrio 3.71 mg/g, tiende a aumentar de 40-400 min, donde el aumento del tiempo de contacto puede llevar a una mejor capacidad de adsorción. Similar efecto encontró Rehman et al., (2021), que el tiempo de contacto (10-380 min) condujo a una mejor capacidad de adsorción de 81,54 a 107,18 mg/g. Y, por último, se muestrea que la adsorción rápida se realiza en los primeros 30 y 50 min y llegando la capacidad de adsorción en equilibrio en los 400 y 230 min en PSO y PPO, respectivamente.

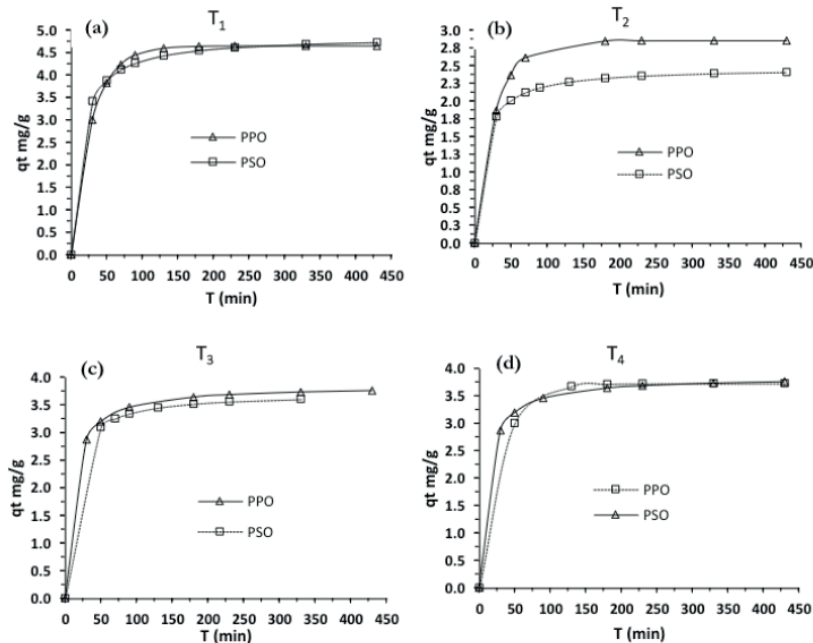


Figura 2. Curvas de los modelos cinéticos pseudo primer PPO y pseudo segundo orden PSO; (a) T₁ a pH 5 con AA; (b) T₂ a pH 5 con AN; (c) T₃ a pH 8 con AA; d) T₄ a pH 8 con AN.

4 | CONCLUSIONES

Los datos experimentales obtenidos se ajustaron mejor al modelo cinético pseudo segundo orden, bajo las condiciones de un pH 5 y con AA. Por otro lado, los resultados experimentales mostraron que la arcilla activada con ácido fosfórico y cloruro de sodio posee una mayor capacidad de adsorción a comparación de la arcilla natural. La caracterización de la AA mediante XRD, presenta un grado de cristalinidad de 97.24 % con un tamaño de cristal de 2. 85 nm, siendo el mineral de cuarzo con mayor intensidad. Por su parte, la arcilla es un recurso natural económico y amigable con medio ambiente, que se puede aprovechar en el tratamiento de aguas residuales, contaminadas con colorantes catiónicos como el Azul de metileno. Si embargo se deben de realizar más estudios para comprobar la eficiencia, viabilidad y uso en escalas mayores de las arcillas en la eliminación de los colorantes sintéticos.

AGRADECIMIENTO

El presente trabajo fue financiado por la vicepresidencia de investigación de la Universidad Nacional José María Arguedas (UNAJMA-UNAJMA). Se agradece al laboratorio de Investigación en Materiales para el Tratamiento de Aguas y Alimentos (LIMTA-UNAJMA), al Laboratorio de Investigación de Nanotecnología en Alimentos (LINA- UNAJMA) y al Centro de Investigación de Estudiantes de Ingeniería Ambiental (CINEIA- UNAJMA), al grupo de Investigación en Desarrollo de Materiales Avanzados para el Tratamiento de Aguas Alimentos (G-LIMTA-UNAJMA), Grupo de Investigación en Nutraceuticos y Biomateriales (GIMBIO-UNAJMA)

REFERENCIAS

- Abdel-Fadeel, M. A., Aljohani, N. S., Al-Mhyawi, S. R., Halawani, R. F., Aljuhani, E. H., & Salam, M. A. (2022). A simple method for removal of toxic dyes such as Brilliant Green and Acid Red from the aquatic environment using Halloysite nanoclay. *Journal of Saudi Chemical Society*, 26(3), 101475. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2022.101475>
- Ahmed, R., Rahman Rafia, R., & Abul Hossain, M. (2021). Kinetics and Thermodynamics of Acid Red 1 Adsorption on Used Black Tea Leaves from Aqueous Solution. *International Journal of Sciences*, 10(06), 7–15. <https://doi.org/10.18483/ijsci.2469>
- Albis, A., Llanos, H., Galeano, J., & García, D. (2019). Adsorción de azul de metileno utilizando cáscara de yuca (*Manihot esculenta*) modificada químicamente con ácido oxálico. *Revista ION*, 31(2), 99–110. <https://doi.org/10.18273/revion.v31n2-2018007>
- Bejarano, M., Estrella, A., Márquez, O., Ríos, A., & Rodríguez, M. (2020). Estudio de la adsorción de los colorantes Drimaren Amarillo CL-2R y Basic Azul Marino 2 RN en arcillas activadas. *NOVASINERGIA*, 3(2), 93–107. <https://doi.org/https://doi.org/10.37135/ns.01.06.08>

- Bernard, E., Jenni, A., Fisch, M., Grolimund, D., & Mäder, U. (2020). Micro-X-ray diffraction and chemical mapping of aged interfaces between cement pastes and Opalinus Clay. *Applied Geochemistry*, 115, 104538. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2020.104538>
- Choque, D., Ligarda, C. A., Choque, Y., Solano, A. M., Ramos, B. S., Zamalloa, M. M., Álvarez, G. J., Zamalloa, A., Choque, K., & Alzamora, H. (2023). Multimetal removal in aqueous medium using a potato starch/nopal mucilage copolymer: A study of adsorption kinetics and isotherms. *Results in Engineering*, 18(2023), 101164. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2023.101164>
- Choque, D., Ligarda, C. A., Ramos, B. S., Solano, A. M., Quispe, J., Choque, Y., Peralta, D. E., Mart, E. L., Correa, O., Masco, M. L., Lechugal, W. J., & Amanca, F. M. (2022). Formulation of Novel Composite (Activated Nanoclay / Hydrocolloid of Nostoc sphaericum) and Its Application in the Removal of Heavy Metals from Wastewater. *Polymers*, 14(2803).
- Cuesta, E. E. C., & Nieto, A. S. N. (2022). Evaluación de la Capacidad de Adsorción de Arcillas Naturales Mediante Cinética e Isotermas de Adsorción en la Remoción de Colorantes [Universidad Nacional de Chimborazo]. <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/9876>
- Johnston, C. J., Pepper, R. A., Martens, W. N., & Couperthwaite, S. (2022). Relationship between thermal dehydroxylation and aluminium extraction from a low-grade kaolinite: Role of clay chemistry and crystallinity. *Hydrometallurgy*, 214, 105967. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2022.105967>
- Kiranşan, M., Soltani, R. D. C., Hassani, A., Karaca, S., & Khataee, A. (2014). Preparation of cetyltrimethylammonium bromide modified montmorillonite nanomaterial for adsorption of a textile dye. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 45(5), 2565–2577. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2014.06.007>
- Kong, Y., Zhuang, Y., Han, Z., Yu, J., Shi, B., Han, K., & Hao, H. (2019). Dye removal by eco-friendly physically cross-linked double network polymer hydrogel beads and their functionalized composites. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 78, 81–91. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.07.006>
- Loutfi, M., Mariouch, R., Mariouch, I., Belfaquir, M., & ElYoubi, M. S. (2023). Adsorption of methylene blue dye from aqueous solutions onto natural clay: Equilibrium and kinetic studies. *Materials Today: Proceedings*, 72, 3638–3643. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.08.412>
- Modirshahla, N., Hassani, A., Behnajady, M. A., & Rahbarfam, R. (2011). Effect of operational parameters on decolorization of Acid Yellow 23 from wastewater by UV irradiation using ZnO and ZnO/SnO₂ photocatalysts. *Desalination*, 271(1–3), 187–192. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2010.12.027>
- Moroi, G. N., Avram, E., & Bulgariu, L. (2016). Adsorption of Heavy Metal Ions onto Surface-Functionalised Polymer Beads. I. Modelling of Equilibrium Isotherms by Using Non-Linear and Linear Regression Analysis. *Water, Air, and Soil Pollution*, 227(8), 1–18. <https://doi.org/10.1007/s11270-016-2953-5>
- Nipa, S. T., Shefa, N. R., Parvin, S., Khatun, M. A., Alam, M. J., Chowdhury, S., Khan, M. A. R., Shawon, S. M. A. Z., Biswas, B. K., & Rahman, M. W. (2023). Adsorption of methylene blue on papaya bark fiber: Equilibrium, isotherm and kinetic perspectives. *Results in Engineering*, 17(October 2022), 100857. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2022.100857>
- Obregón, D., Ilse, I. D., & Sun, R. (2020). REMOCIÓN DE MERCURIO EMPLEANDO CARBÓN ACTIVADO PREPARADO A PARTIR DE AGUAJE (*Mauritia flexuosa*). *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 86(1), 70–87. <https://doi.org/10.37761/rsqp.v86i1.274>

Otavo, R. A. (2019). Estudio De La Remoción De La Tartrazina En Medio Acuoso Empleando Como Medio Adsorbente Una Arcilla Tipo Bentonita. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/76518>

Quintero, L. (2012). Evaluación del tratamiento biológico para la remoción del color índigo del agua residual industrial textil, por un consorcio microbiano, en lecho fluidizado. Universidad Nacional de Colombia.

Rehman, M. U., Manan, A., Uzair, M., Khan, A. S., Ullah, A., Ahmad, A. S., Wazir, A. H., Qazi, I., & Khan, M. A. (2021). Physicochemical characterization of Pakistani clay for adsorption of methylene blue: Kinetic, isotherm and thermodynamic study. *Materials Chemistry and Physics*, 269, 124722. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2021.124722>

Torres, J. A., Carriazo, J. G., & Sanabria, N. R. (2013). Síntesis y caracterización de bentonita modificada con especies de TiO₂ y mineral ilmenita Synthesis and characterization of modified-bentonite with obtained from ilmenite Abstract Síntese e caracterização de bentonita modificada com espécies de TiO₂. *Revista Colombiana de Química*, 42(45), 44–50.

Ullah, N., Ali, Z., Ullah, S., Khan, A. S., Adalat, B., Nasrullah, A., Alsaadi, M., & Ahmad, Z. (2022). Synthesis of activated carbon-surfactant modified montmorillonite clay-alginate composite membrane for methylene blue adsorption. *Chemosphere*, 309, 136623. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136623>

Vaičiukynienė, D., Nizevičienė, D., Kantautas, A., Bocullo, V., & Kiele, A. (2020). Alkali Activated Paste and Concrete Based on of Biomass Bottom Ash with Phosphogypsum. *Applied Sciences*, 10(5190), 1–13. <https://doi.org/10.3390/app10155190>

Vanaamudan, A., & Sudhakar, P. P. (2015). Equilibrium, kinetics and thermodynamic study on adsorption of reactive blue-21 and reactive red-141 by chitosan-organically modified nanoclay (Cloisite 30B) nano-bio composite. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 55, 145–151. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2015.03.025>

Vilaseca, V. M. (2015). Eliminación del color de las aguas residuales procedentes de la tintura con colorantes reactivos. Universidad Politécnica de Catalunya.

Xiao, H., Shahab, A., Xi, B., Chang, Q., You, S., Li, J., Sun, X., Huang, H., & Li, X. (2021). Heavy metal pollution, ecological risk, spatial distribution, and source identification in sediments of the Lijiang River, China. *Environmental Pollution*, 269(xxxx), 116189. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116189>

Zhou, Y., Lu, J., Zhou, Y., & Liu, Y. (2019). Recent advances for dyes removal using novel adsorbents: A review. *Environmental Pollution*, 252, 352–365. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.072>

Zinadini, S., Zinatizadeh, A. A., Rahimi, M., Vatanpour, V., Zangeneh, H., & Beygzadeh, M. (2014). Novel high flux antifouling nanofiltration membranes for dye removal containing carboxymethyl chitosan coated Fe₃O₄ nanoparticles. *Desalination*, 349, 145–154. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2014.07.007>

ANOTAÇÃO DE SEQUÊNCIAS GÊNICAS DE ARROZ (*Oryza sativa* L.) IDENTIFICADOS NO GENOMA DA ESPÉCIE PELO BANCO DE DADOS GENÔMICOS Phytozome

Data de aceite: 02/10/2023

Newton Chaves de Oliveira

Universidade Estadual do Piauí
Uruçuí- Piauí (Brasil)
<https://orcid.org/0009-0005-6266-8369>

Leonardo França da Silva

Universidade de Federal Viçosa
Viçosa – Minas Gerais (Brasil)
<https://orcid.org/0000-0002-9710-8100>

Fabício Custódio de Moura Gonçalves

Universidade Estadual do Piauí
Uruçuí- Piauí (Brasil)
<https://orcid.org/0000-0003-4319-635X>

Anarlete Ursulino Alves

Universidade Estadual do Piauí
Uruçuí- Piauí (Brasil)
<https://orcid.org/0000-0003-1208-5841>

Francisco de Assis Gomes Junior

Universidade Estadual do Piauí
Uruçuí- Piauí (Brasil)
<https://orcid.org/0000-0002-0854-821X>

Victor Crespo de Oliveira

Universidade de Federal Viçosa
Viçosa – Minas Gerais (Brasil)
<https://orcid.org/0000-0003-2719-9972>

Ariadna Faria Vieira

Universidade Estadual do Piauí
Uruçuí- Piauí (Brasil)
<https://orcid.org/0000-0002-1185-4269>

RESUMO: O arroz (*Oryza sativa* L.) é o segundo cereal mais cultivado no mundo, sendo base alimentar de aproximadamente 3 bilhões de pessoas, contudo, nos próximos anos, à redução da área arável e de fatores bióticos e abióticos afetaram a produção da cultura. Uma das alternativas para manter a estabilidade produtiva da cultura é a identificação de genes relacionados à caracteres de interesse de melhoramento para o arroz. Essa identificação é feita utilizando ferramentas biotecnológicas, como os marcadores moleculares SNPs (*Single Nucleotides Polymorphisms*), que são definidos como marcadores de DNA que possibilita a identificação de genes interesse para a agricultura. Diante disso, o objetivo do trabalho foi identificar genes de interesse em oito marcadores SNPs identificados como polimórficos para a cultura de arroz através de análises *in silico*, utilizando o banco de dados genômicos *Phytozome*. Esses genes foram descritos com base na sua função, além de serem identificados a sequência genômica, sequência CDS (*Coding DNA Sequence*), sequência do peptídeo e sequência do transcrito. Como resultados, foi possível identificar seis SNPs dentro de genes, localizados em seis cromossomos distintos. Diversas

funções foram identificadas nos genes, como proteínas hipotéticas, proteínas relacionadas a calmodulina, proteínas G, domínio de ligação ARK e expressão de proteínas. Em arroz, uma das funções mais importantes estão relacionadas a expressão das proteínas quinases localizada no gene (LOC_Os04g45920, SNP S04_27195948) que, por sua vez, reconhece o estresse hídrico em arroz, representando fontes potenciais a serem incorporados em novas cultivares, através da identificação desses genes em materiais como variedades tradicionais. Sendo assim podem ser de interesse de melhoramento para a cultura do arroz ou para outras culturas.

PALAVRAS-CHAVE: genômica, banco genômico; marcadores moleculares

ABSTRACT: Rice (*Oryza sativa* L.) is the second most cultivated cereal in the world, being the food base of approximately 3 billion people, however, in the coming years, the reduction of the arable area and of biotic and abiotic factors affected the production of the crop. One of the alternatives to maintain the productive stability of the crop is the identification of genes related to traits of interest for rice improvement. This identification is carried out using biotechnological tools, such as molecular markers SNPs (Single Nucleotides Polymorphisms), which are defined as DNA markers that enable the identification of genes of interest to agriculture. Therefore, the objective of this work was to identify genes of interest in eight SNPs markers identified as polymorphic for the rice crop through in silico analysis, using the Phytozome genomic database. These genes were sensed based on their function, in addition to identifying the genomic sequence, CDS sequence (Coding DNA Sequence), peptide sequence and transcript sequence. As a result, it was possible to identify six SNPs within genes, located on six different chromosomes. Several functions were identified in the genes, such as hypothetical proteins, calmodulin related proteins, G proteins, ARK binding domain and protein expression. In rice, one of the most important functions is related to the expression of protein kinases located in the gene (LOC_Os04g45920, SNP S04_27195948) which, in turn, recognizes water stress in rice, representing sources of potency to be incorporated into new cultivars, through identification of these genes in materials such as traditional varieties. Therefore, it may be of interest to improve rice or other crops.

KEYWORDS: genomics, genomic bank; molecular markers

1 | INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é o segundo cereal mais cultivado no mundo e representa a base alimentar para cerca de três bilhões de pessoas. O Brasil é o maior produtor da cultura fora do continente asiático, com produção em 2020 de 11.074.245 toneladas, em uma área de 1.680.100 hectares com produtividade média de 6.591 kg/ha (SILVA, 2020). O Rio Grande do Sul é o principal estado produtor de arroz, no qual é responsável por cerca de 70% da produção brasileira conforme dados da safra de 2018/2019 (SOSBAI, 2018).

Mesmo sendo um cereal com grande produção e produtividade mundial, a demanda por alimentos irá aumentar de forma significativa nos próximos anos devido à redução das áreas agricultáveis e pelos fatores bióticos e abióticos. Neste contexto, é preciso adotar estratégias para minimizar os problemas na produtividade do arroz, principalmente

relacionado a genética e o melhoramento da cultura (CHAVES; OLIVEIRA, 2004).

Os programas de melhoramento priorizam, dentre vários objetivos, a identificação de genes em progênies de linhagens, cultivares ou em variedades tradicionais para obtenção de genótipos que contenham um espectro, de por exemplo, fatores bióticos ou abióticos. Dessa maneira, um dos primeiros passos é a identificação de genes para estudos genéticos e genômicos posteriores utilizando marcadores moleculares. (RAO, 2004).

Os marcadores moleculares podem ser definidos como fragmentos de DNA que permitem a identificação de locos ou regiões genômicas, os quais podem conter genes diferencialmente expressos ou que podem distinguir indivíduos ou genótipos geneticamente divergentes. São ilimitados e fáceis de serem identificados no genoma e isso tem contribuído para a grande utilização nos programas de melhoramento (FALEIRO, 2007). Uma classe que é bem difundida no melhoramento para a cultura de arroz são os marcadores SNPs (*Single Nucleotides Polymorphisms*) ou polimorfismos de um único nucleotídeo (LIU; ZHANG, 2006).

Os SNPs são marcadores bialélicos e são caracterizados pela mudança em uma única base de DNA. São abundantes no genoma, com ampla distribuição no genoma, e podem ser encontrados em regiões que codificam proteínas, íntrons e em regiões flangeadoras de genes. São utilizados para vários estudos, entre eles a identificação de genes com algum potencial agrônomo. São amplamente utilizados em estudos genômicos de arroz, sendo um importante marcador para a cultura (SINGH *et al.*, 2014).

Dessa maneira, o trabalho teve como objetivo identificar genes por marcadores SNPs na cultura do arroz (*O. sativa*.) em um banco de dados genômicos. Posteriormente a identificação, os genes foram descritos e anotados conforme as suas funções biológicas. Esse estudo permitirá que outros trabalhos poderão ser desenvolvidos para outras culturas, levando o entendimento da genética e melhoramento de plantas nos processos atuais para o desenvolvimento de cultivares e variedades de plantas de importância agrônomo.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de execução do projeto

Empregou-se análises *in silico*, utilizando dados de marcadores de Polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs). Esses marcadores foram identificados em possíveis genes no genoma do arroz, utilizando o banco de dados genômicos do Phytozome disponível em <<https://phytozome-next.jgi.doe.gov>>.

2.2 Marcadores SNPs e análises *in silico*

Foram utilizados oito marcadores SNPs obtidos na literatura identificados como polimórficos para a cultura do arroz (Tabela 1) com o objetivo de identificá-los em genes de interesse para a cultura do arroz.

SNP	Cromossomo	Posição
S01_23885433	1	23885433
S03_3311741	3	3311741
S04_27195948	4	27195948
S05_28201815	5	28201815
S05_29213630	5	29213620
S08_22353023	8	22353023
S09_18281732	9	18281732
S10_15699535	10	15699535

Tabela 1- Marcadores SNPs encontrados em arroz (*O. sativa*)

Em um primeiro momento, esses SNPs foram identificados no genoma do arroz no banco de dados do *Phytozome*. Para tanto algumas etapas principais serão necessárias, tais como:

- 1) No banco de dados foi selecionado a ferramenta *JBrowser* para o genoma de *O. sativa* v7.0.
- 2) Com o genoma disponível, foram localizados os cromossomos onde os SNPs foram identificados e a posição de cada um deles nos cromossomos.
- 3) Os genes identificados para cada marcador SNP foi descrito com base na sua sequência genômica, sequência do transcrito, sequência CDS (*Coding DNA Sequence*), sequência do peptídeo e outras informações tais como a identificação do gene, nome do transcrito.

Os genes identificados no *JBrowser* foram anotados quanto a sua função putativa no site do RGAP- *Rice Genome Annotation Project* acessado em (<http://rice.plantbiology.msu.edu>).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

De todos os marcadores single nucleotide polymorphisms avaliados, seis foram identificados em genes na cultura do arroz, exceto os SNPS S05_28201815 e S08_22353023, cujo polimorfismos não foram identificados em nenhum segmento gênico. Tais resultados evidenciam a importância do uso de marcadores moleculares SNPs na identificação de genes de importância agrônômica para a cultura do arroz. (Tabela 1). Diversas informações dos genes foram indicadas, como: SG: Sequência genômica; ST: Sequência do Transcrito; SCDS: Sequência CDS; SP: Sequência do Peptídeo; FG: Função do gene.

SNP	CROMOSSOMO	POSIÇÃO	GENE	TRANSCRITO
S01_23885433	1	23885433	LOC_Os01g42130	LOC_Os01g42130.1
S03_3311741	3	3311741	LOC_Os03g06570	LOC_Os03g06570.1
S04_27195948	4	27195948	LOC_Os04g45920	LOC_Os04g45920.1
S05_28201815	5	28201815	-	-
S05_29213630	5	29213620	LOC_Os05g50910	LOC_Os05g50910.1
S08_22353023	8	22353023	-	-
S09_18281732	9	18281732	LOC_Os09g30070	LOC_Os09g30070.1
S10_15699535	10	15699535	LOC_Os10g30210	LOC_Os10g30210.1

Tabela 2. Marcador SNPs identificados em genes na cultura do arroz (*Oryza sativa* L.)

O marcador S01_23885433, localizado no cromossomo um e na posição 23885433 (Tabela 3), foi identificado no gene LOC_Os01g49070 (Figura 1). Este gene está associado a *hypothetical protein* (proteína hipotética).

LOC_Os01g42130 (S01_23885433)	
SG	ATGGCCGGCGGCCTCCTCAGCAAAGCGTCCAGCGCCGTGGCCGCCTGCGCGCGC- CGCGTGTGCGCGGCCACCCGCCGCCTCCTCCGCGCGCGCCTGCTCCGCCGGGGC- GGCGGCGGCGGTGGTGGCGAGACCGGGAAGCCCGACGGCGGTGGCGGCGGTGG- TGGCGAAGGGCTGTGGCGGCGGGCGATACTGATGGGGGAGCGGTGCGAGCCGCT- CAGCTTCCCGGGCGCCATCCCTACGACAGCCGCGGGCGGCTCTCGCAGCCGC- GCCGCGCCAAGGCGAAGCCGGCGGCGGCCACCGCCGCGTGTCTGCCGCTCGT- CGGACGCCGTCGACGAGGCCGTGCGGCGGCGCAACAACAGCAAGGCCGCCAGATA- CGTG
ST	ATGGCCGGCGGCCTCCTCAGCAAAGCGTCCAGCGCCGTGGCCGCCTGCGCGCGCC- GCGTGTGCGCGGCCACCCGCCGCCTCCTCCGCGCGCGCCTGCTCCGCCGGGGCG- GCGGCGGCGGTGGTGGCGAGACCGGGAAGCCCGACGGCGGTGGCGGCGGTGGT- GGCGAAGGGCTGTGGCGGCGGGCGATACTGATGGGGGAGCGGTGCGAGCCGCTCA- GCTTCCCGGGCGCCATCCACTACGACAGCCGCGGGCGGCGGCTCTCGCAGCCGC- GCCGCGCCAAGGCGAAGCCGGCGGCGGCCACCGCCGCGTGTCTGCCGCTCGT- CGGACGCCGTCGACGAGGCCGTGCGGCGGCGCAACAACAGCAAGGCCGCCAGATA- CGTGGCGGTGTCGCTGCTCCGAGACTAGACATCGCGCGCGTGGCGCGC
SCDS	ATGGCCGGCGGCCTCCTCAGCAAAGCGTCCAGCGCCGTGGCCGCCTGCGCGCGCC- GCGTGTGCGCGGCCACCCGCCGCCTCCTCCGCGCGCGCCTGCTCCGCCGGGGCG- GCGGCGGCGGTGGTGGCGAGACCGGGAAGCCCGACGGCGGTGGCGGCGGTGGT- GGCGAAGGGCTGTGGCGGCGGGCGATACTGATGGGGGAGCGGTGCGAGCCGCTCA- GCTTCCCGGGCGCCATCCACTACGACAGCCGCGGGCGGCGGCTCTCGCAGCCGC- GCCGCGCCAAGGCGAAGCCGGCGGCGGCCACCGCCGCGTGTCTGCCGCTCGT- CGGACGCCGTCGACGAGGCCGTGCGGCGGCGCAACAACAGCAAGGCCGCCAGATA- CGTGGCGGTGTCGCTGCTCCGAGACTAG
SP	MAGGLLSKASSAVAACARRVSRATRRLLRALLRRGGGGGGGGGETGKPDGGGGGGGE- GLWRRAILMGERCEPLSFPGAIHYSRGRRLSQPRRAKAKPAAATAALLCRSSDAVDE- AVAAANNKAARYVAVSLLRD*
FG	expressed protein

Tabela 3. Informações genômicas do gene LOC_Os01g42130, identificado pelo marcador SNP S01_23885433

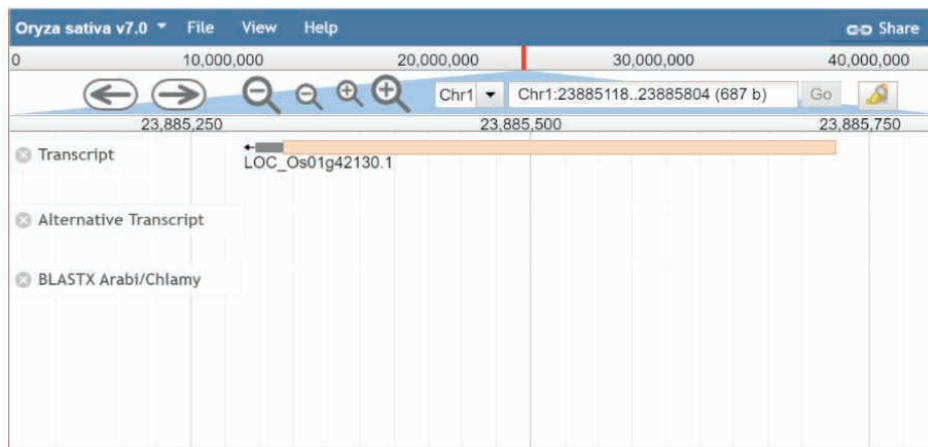


Figura 1. Identificação da posição do gene LOC_Os01g42130 no banco de dados genômicos

Mesmo com função generalizada (proteína expressa), esse gene foi identificado em dois QTLs (*Quantitative Trait Locus* ou Locus de características quantitativas) previamente relacionados a tolerância à seca em arroz (r_{fw1b}, b_{rt1d}), sendo que o QTL b_{rt1d} está associado a espessura da raiz basal de arroz (YAMBAO *et al.*, 1992) e o r_{fw1b} está associado ao peso seco da raiz (LI *et al.*, 2005).

O estresse hídrico afeta diversos processos bioquímicos, fisiológicos e morfológicos nas plantas, sendo que as respostas das plantas a esses processos dependem do estágio de desenvolvimento da planta por exemplo em arroz, os estádios mais afetados são os reprodutivos, como o período de floração e enchimento de grãos, e na dependência e duração da severidade do estresse (VIDAL *et al.*, 2005). Nas plantas, sob a condição de déficit hídrico, ocorre o fechamento dos estômatos que reduz os níveis de transpiração e o suprimento de CO₂, além de diminuir o crescimento das células e aumentar a fotorrespiração (SHINOZAKI; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 2007). No mais, esses efeitos provocam a perda de vigor, diminuição de altura e consequentemente perda de produtividade na cultura (JIN *et al.*, 2013).

O marcador S03_3311741, localizado no cromossomo três e na posição 3311741 (Tabela 4) foi identificado no gene LOC_Os03g06570 (Figura 2), sendo a função associada relacionada a Calmodulina (IQ *calmodulin-binding motif*).

SG	<p>ATGTTCTTAGCAGTTTGTCCAAAAGCTTCACGTGGCTCTCTTCTTAATTCTTAT- TCAGCTCGCCACACTGTTGACTGAAAAATTGGAGCAGGCACTGCAGG GTG- GTTGTCTGAATTTGATCTTTGTATCTGTTTAGGTAGTAGCCATGGATGACAA- ATTGTTCTGTTGTGATATGGTTTGAGATTTTGTGAAATTTTGGTGAATTTTCAG TGATCGGTTAGGAGGGAGGAGGA ATGGGGAAGGCCGGGGAGATGGCTGAGGA- GCTTCTTGGCCGGCGGCAAGAAGGGTGGCAAGAAGGGCGAGGCAATGGCGGC- GGCTTTGCCCGGAGAGGCGGCGCAAGGAGAAGCGGTGGAGCTTCAGGCGACCG- GTGCACGGCGAGAAGGCGGCGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGT- GTGGTGGGCGAGGCCGAGGCGGGGTTTGATCTGTCCGCGTCGGAGTCGGAGT- TCGACCAGAAGAGACACGCCATGGCGGTGCGGTTGGCGACCGCGGCCGCCGC- CGACGCCGCCGTGGCCGCGGCGCACGCCGCGGCCGCCGCCGTCCGCCTCTCC- TCCCGCAAGGCGCACCAGCTGCCGGCGAGCGCCGTCGAGGAGGCGGCGGCTG- TCAGGATTACGGCCACTTCAGAGGCTACCTGGTAATAACGACAAAAATTCCTC- TCCTACGTGTTCTGTCGGATCGATCACGACGTGTTCTGTCGCGTGACAATGCAG GCAAGAACAGCGCTGTGCGCGCTGAGGGGCGATCGTGAAGTTGCAAGCTCTGGTGCAGGGC- CAGCTCGTGAGGAAGCAGGCGACCGCCACGCTCCGCTGCATGCAGGCTCTCCTCGCGGC- GCAGTCGCGAGTCTGCCGCGCAGGCGAGCGGGTGCAGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG- CGCCGCCAGGCCACGGCCGCCGTGCGCGCCGAGCACCCGAGGCAACCGCGATCCTAC GTAAGTTTTTACC GGAAAAATTTAATCTGATGATATGAACAGACGCCCTGACGGGGAT- GGGGGTGGAGCAGGAGATGGACAGGTGCTGCGAGGAGAACGCCAAGATCGTGGA- GGTGGACAGCGCGCGCGGCGAGCCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG- CACGGGCGGTGGTGC CGCGCGCGCTCGGCGATGACGGAGGTGATGAGCCCGAG- GGCGTACAGCGGCCACTTCGAGGACATGGCGTTGCGCCGCGACGGCGCACAGCA- GCCCGCATCACGCGTCCGGCTCGTGGAGCTGCTGTGCTGCCCGAGCTACATGGC- CAACCGGAGTCTGCCCGGCCAACGGCGCGGTCCGAGCGCGCGGCGGCGGCGGCGG- GCACCGACGCGCTGGAGCGGCGAGCCGAGCCGCCGAAGAGCGGCGGCGGCGGCGG- CGGCGGCGGCGCAAGATGCAGCGGTGCTGCTGCTGCGCACGCCGCGGCGGCGGCGGCGG- CGGCGCGCGAGTCCCATGGCCGGTGATCAAGCTGGACAGCTCGAGCGCGCTGCG- TCAAGGACAGCGAGTGC GGGTGACGAGCTCCGTTCTACCGCGCGGCGGCGGCGGCGG- CAGCCGAGCGGTCGCTAGTCGGATTCGAGGTGAGTTACGACTTCCGAGACATC- GTCCATGTTTTTTCTAACGAAGATGAAAAATAAGTTAATGTATGTAATAAAAAAAGT- TATTAGGATGATTATTGAGCTTTAACTATTACAAACTTAAAAATAGATTATTATTA- TATATTAAAGCAACTATATATATAATTTTTTAAAAAAACGTAGAGTATGAAAAATAGAG- GTAAATTCTACTACTCTGTCTAAAAAAATAAACTCTAGCTATGAATATAGACATGTATG- TGTGTAGATTCTGATGATGATTGATTTTTTTTTCTTTGGACGAGGGGGTATATCT- TAGTGTAAAAACATAAGGAAAAAATTATCACTCGCACTTGTCTTTGATGATCCAG GTGCGCAGGGGTTTGTACTGA GCTACAAGAATAAAAAATGCCATTGCCGACGCAACC- GGGAGCTTCGCCAATCGCCATGGATTGAATGTTCTGTCAGTTTGCTCGACGTGTGATG- GATTACAGGATCATGAACTGTACATTCTGTGTAGGTTATTCTGTGTTGTGGTGACTGTA- ACATACCAGGAATACATACTGCTAAGTGAAAGCGAAATGTAATAAGCAATCCACTGCA- ATTTCTTCCAAATCCAGTGTTTGTTC</p>
ST	<p>ATGTTCTTAGCAGTTTGTCCAAAAGCTTCACGTGGCTCTCTTCTTAATTCT- TATTAGCTCGCCACACTGTTGACTGAAAAATTGGAGCAGGCACTGCAGG TGATCGGTTAGGAGGGAGGAGGA ATGGGGAAGGCCGGGGAGATGGCTGAG- GAGCTTCTTGGCCGGCGGCAAGAAGGGTGGCAAGAAGGGCGAGGCAATGGCGG- CGGCTTTGCCCGGAGAGGCGGCGGAAGGAGAAGCGGTGAGCTTCAGGCGACG- GGTGCACGGCGAGAAGGCGGCGGCGGAGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGT- GGTGGTGGGCGAGGCCGAGGCGGGGTTTGATCTGTCCGCGTCGGAGTCGGAGT- TCGACCAGAAGAGACACGCCATGGCGGTGCGGTTGGCGACCGCGGCCGCCGC- CGACGCCCGCGTGGCGGCGGCGCACGCCGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCTCTCC- TCCCGCAAGGCGCACCAGCTGCCGGCGAGCGCCGTCGAGGAGGCGGCGGCT- GTCAGGATTCAGGCCACCTTCAGAGGCTACCTGGCAAGAACAGCGCTGTGCGC- GCTGAGGGGCGATCGTGAAGTTGCAAGCTCTGGTGCAGCCAGCTCGTGAGGAAG- CAGGCGACCGCCACGCTCCGCTGCATGCAGGCTCTCCTCGGCGCATGCGAGC- TGCGCGCGCAGGCGCAGCGGGTGC GCGCGCTGCACGAACACCACCGGACGC- CGCCAGGCCACGGCCGCTCGCCGCCAGCACCCGAGGCACCGCCGATCCTAC GTGCGCAGGGGTTTGTACTGAGCTACAAGAATAAAAAATGCCATTGCCGACGAACC- GGGAGTTCGCCCAATCGCCATGGATTGAATGTTCTGTCAGTTTGTGCGAGTGTGATG- GATTACAGGATCATGAACTGTACATTCTGTGTAGGTTATTCTGTGTTGTGGTGACTGTA- ACATACCAGGAATACATACTGCTAAGTGAAAGCGAAATGTAATAAGCAATCCACTGCA- ATTTCTTCCAAATCCAGTGTTTGTTC</p>

celulares, modulando a atividade de muitas proteínas alvo (YANG; POOVAIAH, 2003).

Conforme estudos de Chinpongpanich *et al.* (2012), as CAM podem estar relacionadas as funções de regulações de estresses abióticos, que, para a cultura de arroz, é importante na relação para a tolerância à seca nas plantas.

O marcador SNP S04_27195948, localizado no cromossomo quatro e na posição 27195948 (Figura 3), foi identificado no gene LOC_Os04g45920 (Tabela 5) e está associado ao domínio de proteína quinase, que por sua vez é importante para regulação de sinais e desde alterações químicas (DROILLARD *et al.*, 2000).

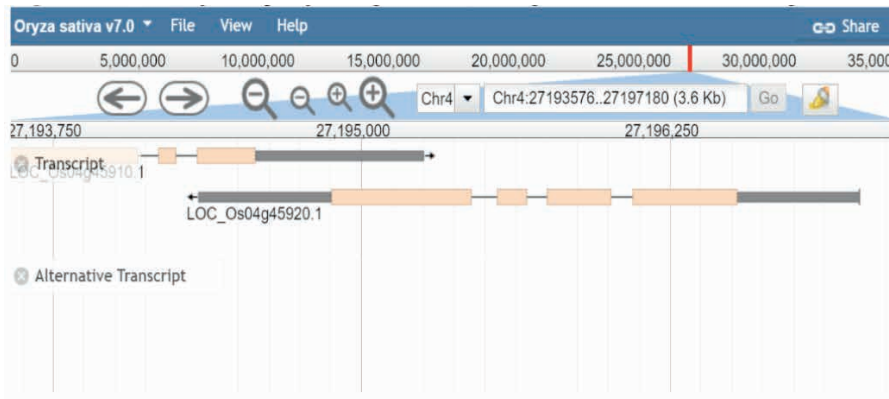


Figura 3. Identificação da posição do gene LOC_Os04g45920 no banco de dados genômicos

SG

GCTTCGAGCAAAAGCAAGAAGGATAAAGAGGTTGGCAGGGGAGGTGACTGAGA-
 ACTGACTGGTTGAGCACTTTGATTCTTCGGAGCCGGTCAGCCGGATCACGGTAG-
 GCAGTACACAGTTCATGGTCCATGACTGTTGTATCAAACGATTCGGCCATTTGGAG-
 GCATGTCTCCTCTTGAGCATCTGCTGCCATTGAGTTTCTTGTGATCGGCAGCTGTC-
 TACTGTTGGATTTCTCTCCATCTGGCAGAAATCTGGCTTCTTGGATGTTTCTTC-
 TCTGATCGATTGGTTCTTCCTTCCACTGTGTTCTCTTTGCTCTTGGCCTTCTCCTG-
 GTTGGATTTTAATCACGTAGAAGTACAGACAAGTCATTGTGCGAGCAACAGAAAGAAA-
 TAGAAAATGTCTCTGTTTTAATCACCAATGCGTGATCTTTTTCTCTGCAACCTCTGA-
 GTTCTTGAGTACCTGAAATTGTGGTAGCAGCCGGGCTTCTTCCTCCAAGAAATG-
 GGCTGCATGTGCCTCTTCAGGACAAGCGCAGGAGCAAGAGACGGCCGGAGGT-
 GGCGGGCGCCGGCGCCGGCACCCGGCTCCGCCCTCCCCGAGTGCCGCTGCCGC-
 CGTTTTCCACCGATGCGTGCTCGAACGTGTCCGTGCCAGCCGCCGCGCCGAGCA-
 CGTGCACGTCGGTCGTGGGCGAGCACGAGGCCGTCCGGCTGAGTCTGCTGGCGGT-
 GAGCACCCCGGAGCCGTACGAGGCGAGGCGAGGCGCCCCCGCGAGCTCGCTC-
 TCCGCGAGCTCCGCGGCGCCACGGGCGACTTCAGCCCGCTGCTCATGGTCGGC-
 CGGGGCGGCTTCGGGTGCGTCTACCGCGGCGTCTCCGCCCTCCCCGGCGAGC-
 GCGCCCGACGGCACCCCGCTCGCCGTCAAGAGGCTCAACCCCGACAGCCGACG
 GCACGCACACATGACGACACGCTCCCGGTTGATCTCGACCGCTTCCGCCATT-
 TGTGACGACTCCATTGTATCGTGCTCGTGCAAG GGGACAAGGAGTGGCTCGCC-
 GAGGTGCAGCTGCTGGGCGTCGTGGAGCACCCCAACCTCGTCAACCTCCTCG-
 GCTACTGCGCGGCGGAGCGAGCGAGGCCGCGAGCTGCTGAGTCTGCTGGCGGT-
 GTTCGTGCCGAATAAGACGCTGGACGACCACCTGTTGACCGATCCACCCCG-
 TCCTCCCGTGGGGCGTACGGCTGCAGATCGCGCTGGGCGCTGCCGAGGGGT-
 TACTGTACCTCCACGAGGGCCTGGAGTTTCAGGTAATCCACATCTTCTCCGAAAA-
 ACTGCGCGTCTTCATCAGAAAAACACACCATTTCACCTGATTTTCTTGTGTCAG
 ATCATATACCGTGATTTCAAGGCTGCAAATGTGCTGCTGGATGATGAGTTCAGACCCA-
 AACTGTACAGATTTTCGATTAGCAAGGGAAGGGCCATCAGAAGGTGAGACACATGTCTC-
 CACAGCG GTATGTGCAAAACATCACAGTTCAGAAAATGTGTCAACTCAACACGGATCA-
 TATACCTTCTGAATTCTTCAGAAATGAATCCGTTTTGGCTTTGGTGGATCAGGTGATGG-
 GGACGTACGGCTACGCGGACCCGGACTACGTCCGGACGGGGCACCTCACGACCAA-
 GAGCGACGTGTGGAGCTTCGGCGTTGTGCTGTACGAGATCCTCGCCGGCCGGCGGT-
 CGATCGACAAGAGTCGGCCCAAGGACGAGCAGAAGCTCCTCGAGTGGGTGCGGCG-
 GCACCCCGCCGGGAGCCCGCGGTTCCGGCCGATCATGGACGGGAGGCTGCAGGG-
 GAGGTACTCCGTGAGAGCGGCCAGGGAGGTGCGCGAGCTCGCCGCCGGCTGCCTC-
 GCGAAGCAGCGCAAGGACCGCCCCGCGATGGCGGAGGTGGTTCGAGCGGCTGAGGC-
 GGGCGACGCGGCGAGCTGAGCTGGACGGCGAAGTGTATGATGATGCCGGGAGGA-
 GAGCTCGAGCTCGCCGGCGGCGGCGGCGGCGTGGAGGACGACGTGGCCGTGGCCGC-
 GGCGGGCGGCGAGGCGGCGGATGCTCCACCTTGCTGCGCTCGGGGAGAACGCGAGC-
 GCGAGCGCTCACGCGAGGAGAAGGCTCATGCTCATGAGGGCGGCTGCTGCTGCCAC-
 TGCCGCGACGTGACCTGTTCACTTCTTGTGCGGAGTTGACAATACAATGCAGGATT-
 GACTTCTGAAGGATTTTTTTTTTTGTGCTGAGATGATATTTTTTTGTACGGGTTTTGAGAA-
 AAACAAATTACAGGACTTTGTGACTACAACCTGTACAGCATGGTTAATCCAAATAATACA-
 ATTTTCAGTAGAGACATTGTGACAACAAATTGAACAAATGTGGTTCTTTTGTGTAACGAC-
 CAAATCGAACAGCACACTAATAACTTCGTGAAACTGAAAGCTGAAGGAATCACATACAC-
 GCAGGAGCAGGCATGGAACGAATTCAGTTATCTGCAATTGAAATGCTGACCCAATTTT-
 GCTGTTTTCCCATTCGGTAGCACTTGATGTTTACTCCGTACGGGCCAATCTCAACGCGGT-
 TATCTTCCCCTCCATAAAGAAGCAGAGCGGTGAGAGTGCAACCTCAAACCTCAGGGCT-
 GACACCAATCAGAGTGTGATACCGATTTCAGAACACCGTGCCACTCAAACCTGAATA-
 GTCAATAGCTGTGTCTCTGA

ST	<p>GCTTCGAGCAAAAGCAAGAAGGATAAAGAGGTTGGCAGGGGAGGTGACTGAGA- ACTGACTGGTTGAGCACTTTGATTCTTCGGAGCCGGTCAGCCGGATCACGGTAG- GCAGTACACAGTTTCATGGTCCATGACTGTTGTATCAAACGATTTCGGCCATTTGGAG- GCATGTCTCCTCTTGAGCATCTGCTGCCATTGAGTTTCTTGCTGATCGGCCAGCTGC- TACTGTTGGATTTCTCTTCCATCTGGCAGAAATCTGGCTTTGCTGGATTTTCTTC- TCTGATCGATTGGTTCTTCTTCCACTGTGTTCTCTTTGCTCTTGGCCTTCTCCTG- GTTGGATTTTAATCACGTAGAAGTACAGACAAGTCATTGTGCGAGCAACAGAAAGAAA- TAGAAAATGTCTCGGTTTAAATCACCAATGCGTGATCTTTTCTCTGCAACCTCTGA- GTTCTTGAAGTACCTGAAATTGTGGTAGCAGCCGGGCTTCTTCTCCAAGAAATG- GGCTGCATGTGCCTCTTCCAGGACAAGCGCAGGAGCAAGAGACGGCCGGAGGT- GGCGGCGCCGGCGCCGGCACCGGCTCCGCCCTCCCCGAGTGCCGCTGCCGC- CGTTTCCACCGATGCGTGCTCGAACGTGTCGGTGCCAGCCGCCGCGCCGAGCA- CGTGACGTCGTCGTGGGCGAGCACGAGGCCGTGGGCGAGCTCCTCGGCGGT- GAGCACCCCGGAGCCGTACGAGGCGAGGCGAGGCGCCCCCGCGAGCTCGCTC- TCCGCGAGCTCCGCGGCGCCACGGGCGACTTCAGCCCGCTGCTCATGGTCGGC- CGGGGCGGCTTTCGGATTGAGTCAAGGGAAGGGCCATCCCGCTCCCGGCCGAGC- CGCCCCACGGCACCCCCGTGCGCGTCAAGAGGCTCAACCCCGACAGCCGCCAG GGGCACAAGGAGTGGCTCGCCGAGGTGCAGCTGCTGGGCGTCGTGGAGCACCC- CAACCTCGTCAACCTCCTCGGCTACTGCGCGGCGCAGACGGAGCGAGGCCCG- CAGCGGCTGCTGGGTACGAGTTCTGTGCCGAATAAGACGCTGGACGCCACAC- TGTTTCGACCGATCCCACCCCGTCTCCCGTGGGGCGTCAGGCTGCAGATCGC- GCTGGGCGCTGCCGAGGGGTTACTGTACCTCCACGAGGGCCTGGAGTTTCAG ATCATATACCGTGATTTCAAGGCTGCAAATGTGCTGCTGGATGATGAGTTCAGACCCA- AACTATCGAGTTTTCGGATTGAGTCAAGGGAAGGGCCATCAGAGGTCAGACACATGTCTC- CACAGCGGTGATGGGGACGTACGGCTACGCGGCACCGGACTACGTCCGGACGGGG- CACCTCACGACCAAGAGCGACGTGTGGAGCTTCGGCGTTGTGCTGTACGAGATCCT- CGCCGGCCGGCGGTGATCGACAAGAGTTCGGCCCAAGGACGAGCAGAAGCTCCTC- GAGTGGGTGCGGCGGCACCCCGCCGGGAGCCCGCGGTTTCGGCCGGATCATGGACG- GGAGGCTGCAGGGGAGGTACTCCGTGAGAGCGGCCAGGGAGGTGCGCGAGCTCGC- CGCCGGCTGCCTCGCGAAGCACGGCAAGGACCGCCCCGCGATGGCGGAGGTGGTC- GAGCGGCTGAGGCGGGGCGACGCGGCACGCCGAGCTGGACGGCGAAGTGTATGATGA- TGCCGGGGGAGGAGAGCTCGAGCTCGCCGCGCGCGCGGCCGTGGAGGACGACGT- GGCCGTGGCCGCGGCGGCGGCGAGGCGGCGGATGCTCCACCTTGCTGCGCTCGG- GGAGAACGCGAGCGCGAGCGCTCACGCGAGGAGAAGGCTCATGCTCATGAGGGCG- GCTGCTGCTGCCACTGCCGCGACGTGACCTGTTCACTTCTTGTGCGAGTTGACAAT- CACAATGCAGGATTGACTTCTGAAGGATTTTTTTTTGTGCTGAGATGATATTTTTTGT- TACGGGTTTTGAGAAAAACAAATTACAGGACTTTGTGACTACAACCTTGACAGCATGGT- TAATCCAAATAATACAATTTTCAGTAGAGACATTGTGACAACAAATTGAACAATGTGGT- TCTTTTGTGTAAACGACCAAAATCGAACAGCACACTAATAACTTCGTGAAACTGAAAGC- TGAAGGAATCACATACACGAGGAGCAGGCATGGAACGAATTCAGTTATCTGCAATTG- GAAATGCTGACCCAATTTTGTGTTTCCCATTCCGGTAGCACTTGATGTTTACTCCGTAC- GGGCCAATCTCAACGCGGTTATCTTCCCCTCCATAAAGAAGCAGAGCGGTGAGAGTG- CAACCTCAAACCTCAGGGCTGACACCAATCAGAGTGCTGGATACCGATTTCAGAACACC- GTGCCACTCAAACCTGAATAGTCAATAGCTGTGTCTCTGAA</p>
----	---

SCDS	ATGGGCTGCATGTGCCTCTTCCAGGACAAGCGCAGGAGCAAGAGACGGCCGGAG- GTGGCGGGCGCCGGCGCCGGCACCGGCTCCGCCCTCCCCGAGTGCCGCTGCCGC- CGTTTCCACCGATGCGTGCTCGAACGTGTCCGTGCCAGCCGCCGCGCCGAGCA- CGTGCACGTGCTGTGGGCGAGCACGAGGCCGTCCGCGAGCTCCTCGGCGGT- GAGACCCCCGAGCCGTACGAGGCGAGGCAGGGCGCCCCCGCGAGCTCGCTC- TCCGCGAGCTCCGCGGCGCCACGGGCGACTTCAGCCCGCTGCTCATGGTCGGC- CGGGGCGGCTTCGGGTGCGTCTACCGCGGCGTCTCCGCTCCCCGGCGAGC- CGCCCCAGGCACCCCGTCTCCCGTGGGGCGTCAGAGGCTCAACCCGACAGCCGCCAG GGGCACAAGGAGTGGCTCGCCGAGGTGCAGCTGCTGGGCGTCTGGAGCACCC- CAACCTCGTCAACCTCCTCGGCTACTGCGCGGCGCAGACGGAGCGAGGCCCGCA- GCGGCTGCTGGTGTACGAGTTCTGTGCCGAATAAGACGCTGGACGACCACCTGTT- GACCGATCCCACCCCGTCTCCCGTGGGGCGTCAGGCTGCAGATCGCGCTGGG- GCTGCCGAGGGGTTACTGTACCTCCACGAGGGCCTGGAGTTTCAGATCATATACC- GTGATTTCAAGGCTGCAAATGTGCTGCTGGATGATGAGTTCAGACCCAACTGTCA- GATTTCCGATTAGCAAGGGAAGGGCCATCAGAAGGTCAGACACATGTCTCCACAGCG GTGATGGGACGTACCGCTACGCGGACCCGACTCGTCCGGACGGGACCTCAC- GACCAAGAGCGACGTGTGGAGCTTCGGCGTTGTGCTGTACGAGATCCTCGCCGCC- GGCGGTGATCGACAAGAGTCCGGCCCAAGGACGAGCAGAAGCTCCTCGAGTGGGT- GCGGCGGCACCCCGCCGGGAGCCCGCGTTCCGGCCGGATCATGGACGGGAGGCTG- CAGGGGAGGTACTCCGTGAGAGCGGCCAGGGAGGTCCGCCGCTCGCCCGCGGT- GCCTCGCAAGCACGGCAAGGACCGCCCCGCGATGGCGGAGGTGGTCGAGCGGCT- GAGGCGGGGCGACGCGGCACGCGGAGCTGGACGGCGAAGTGTATGATGATGCCGGG- GAGGAGAGCTCGAGCTCGCCGGCGGCGGCGGCCGTGGAGGACGACGTGGCCGTG- GCCGCGGCGGCGGCGAGGCGGCGGATGCTCCACCTTGTCTGCTCGGGGAGAACG- CGAGCGCGAGCGCTCACGCGAGGAGAAGGCTCATGCTCATGAGGGCGGCTGCTGCT- GCCACTGCCGCGACGTGA
SP	MGCMCLFQDKRRSKRRPEVAAPAPAPAPPSPSAAAAVSTDACSNVSVPAAPSTCT- SSWASTRPSASSAVSTPEPYEARQGAPRELALRELRGATGDFSPLLMVGRGGFGC- VYRGLRLPGEPPHGTTPAVKRLNPDSRQ GHKEWLAEVQLLGVEHPNLVNLGYCA- AQTERGPQRLLVYEFVPNKTLDDHLFDRSHVLPWGVRLQIALGAAEGLLYLHEGLEFQ IYRDFKAANVLLDDEFPRPKLSDFGLAREGPSEGQTHVSTA VMGTYGYAAPDYVRTGHLT- TKSDVVSFGVVLVYELAGRRSIDKSRPKDEQKLEWVRRHPAGSPRFRGRIMDGRLLQGRYS- VRAAREVAELAAGCLAKHGKDRPAMAEVVERLRRRTRHAELDGEVYDDAGESSSSPAA- AAVEDDVAVAAAAARRRMLHLAALGENASASAHARRRLMLMRAAAAAATAA*
FG	protein kinase domain containing protein, expressed

Tabela 5. Informações genômicas do gene LOC_Os04g45920, identificado pelo marcador SNP S04_271995948

As proteínas quinases são encontradas em eucariotos e possuem as funções no controle intracelular, transdução e regulação de sinais. O mecanismo de regulação de sinais inclui desde alterações químicas até o controle transcricional. Na literatura, as famílias MAPKs (MAP quinases) são ativadas por estresses abióticos em plantas. Na planta modelo genômica, a *Arabidopsis*, as quinases (AtMAPK6) mostraram ser ativadas por hiperosmolaridade, sal, frio e seca (DROILLARD *et al.*, 2000).

As plantas desenvolvem vias de sinalização complexas que traduzem estímulos bióticos ou abióticos em respostas celulares apropriados para se adaptar aos desafios ambientais em constante mudança. Essas vias de sinalização geralmente requerem a ativação de proteínas quinases para coordenar vários processos celulares por meio da fosforilação de vários substratos (XIE *et al.*, 2014).

O marcador SNP S05_28201815, localizado no cromossomo cinco e na posição 28201815 não foi identificado em nenhum gene no banco de dados para a cultura de arroz, bem como o SNP S08_22353023, que está localizado no cromossomo três e na posição

22353023 e não foi identificado em região gênica no genoma de arroz.

O marcador SNP S05_29213630 foi localizado no cromossomo cinco (Figura 4) e na posição 22353023, identificado no gene LOC_Os05g50910 (Tabela 6). Esse gene está provavelmente associado em arroz a proteínas G. que, por sua vez, apresenta importante função que constituem papel crucial na sobrevivência celular podendo regular a expressão de genes envolvidos na sobrevivência, proliferação, diferenciação e outros processos celulares.

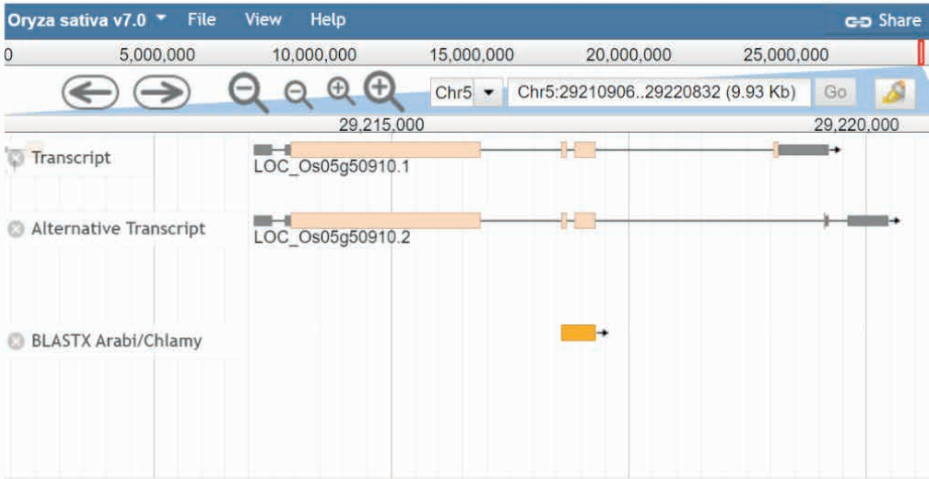


Figura 4. Identificação da posição do gene LOC_Os04g45920 no banco de dados genômicos

LOC_Os05g50910 (S05_29213630)

SG	<p>ACTCGTCTTCTTCCCTCTCGCCGCCGCGAGCGCGGCCGCCACTCCATCCACCACAATGGCGAACCCACGTCGCCACCGCCTCCTCCTCGC- CGCGTAGCCCTATCGCGGAGCGCGCTGCCGGTGGCTTCTCCGCATCCCCGCGCCGTAGAGTCTCCGCCGCCCGCGGTGTGCTCCGCAACAT- GGCGTCGAGGTACCCGCCCGCTGCGCGCTGCCCGCTTCCGTAGCATTCAGAACTTCGCTGTCTGATCTACATTTGGCGTCTCCCATTT- CGTGTCTGGGTGCTACGAATTTTCAGAGGACTCATTGGAAAGTTTTCGCCGACGGGTTCGATTCGGCGAAGGGGGGGGGGGGGGAA- AGCTCGTGGTGGGAGCGCCATGGGGAGCGAGGCGAAGGAGATGAAGTACAGGAGAAGGGTTCAGGAGCCCTTCGATTCAGCG- GCAATGCGCGCGGACCCGAGTGGCGTGTGATTGGGGCGCGCTCAAGGAGAACCCTGGAGCTGCTCGGGAAGCTCGACGAGCTG- CGGGACCACATCACCAGGTCTCGAGAGTACCGAGCCAGCGCGGGAGCGCCACCGCATGAGGCGCGCGACGCGCTCGCTGCGCCCC- GCACCGCGAGCGCGCGCGCTGCGCGCTGGCGGAGCACTACCGCTACGCTACACAGGGAAGCTGCGGTCTGGCTTTTCCGCAAGTC- CGAATGACACAGCTGCATCGGTCTATGCATAGAGATAGGTATGAGAGGCGAGCCGAGTGGCGCGTTCGCGCAATGGCGGAGAGGCAAGTGGGA- ACAGTGGGGAGTCCAGTCGTCAGGTTAAACAAAGTTTGGGTGGTACCAACATCAGGATGAAGGAAATCTAGTTTCCATAAGCTGCAAGCA- CAAGAGAGATGGCAGAGACAAGGATCTTGCGACGAATATTTCTGTCTCTACTTCTAGTTATGACAGAAAGAGAGTGGGATCAA- ACAGGAGAGTCAGTTACTATCATGATCTGTAGAAAGTCCAGACTTGCAAAATCCCAAAGGTCATATGTCAAGAGAGTCATACAGCTCAA- GTAGAACTTCAGCATTTAATACAGGCAATCTACAGGCCCGAGTTATAGAGGACAATGTGTCGATCCATTTCCAGTCGCTCAAAGATGTAG- TGGTGGAGATCGCAACAGCAAGGAATGTAGCTTAATATCATGGCAGATTCGTTGATGCTAATGTATGGGATGAAGATCGGACGTGCATAT- GAGCAGAACACGCAAGATCATGAAAGAGGATTTGGAGAAGAACTGTACAGTAGTACATGAGCAAGGAACTCAAAGAGTCGAAGTGGCTTT- TGTGATGATGGAAGCATGGGTAACTATGACCAAGCTGACCGGTGATAATGATGATACCCAGCAGCTTGAAGATGGAGACGCTGAGCAAAAAGTAT- GAAGAAAAAATCAACCAAGATGACAAACAACTTCAATCAGAATTCATTACTGAGCGATATAGCAATGCAAGCAAGAAATATAACAGTGTCTAT- CAGTTGAAACTATAGTACGATATGCAAAACAGATGACTAGATGATTGTATAGTGAATGCTCTCCCAAAATCTGAACATGCCATATGTC- CATCGAAGCTGTGAGTCTACGTTAATGAGCGCAAAATCTAGTTCTCGTGTCTTCTGAGGCTGAACAGCAAGTTCAGTCTCGAGCTAC- TAGAACAAGGGGATCAAAGTTTTTGTCTGGTTTTTGAAGAAGGTTTGAAGGACATTTCTTTGTTCAATCAATCAGTGGACAGTGTCAAGGTTT- CAATCAATGGCCATTCAATCTCCGAAGTGTCTCTACGGAAGGCCGAGAAGTGTGCTGACGTTGGCCCTGTTTCATATGGTAAAGTCACTT- TCTCCCTCATAAATTTGGAAATTTGTAGGACTGATGTTCTTAGCGTTTGATATCTACCGTTGGGCACTTGTTGATTTCTTTAGCATCTTTT- TATCATTTTGCTTTGAAATCAAGAGACGCAACATACAGGCAAAAGAGATGGTGTATTCTTCAAGAAAGTCTATCTTAAACAGTAGGAATTAAGA- TGACTTATCTGCACGCGGTGATTAATGACTGTGTAATTCATTTGATATTAACCACTGTATGACCTGTTCTGTGATTAATTTCTCAGC- CAATCAACCACTCTCCGAGTTGATCTACTAGAACATTTGTACAGTGTAGATATCCAGATGCTGTTCTGCTCGAGAGTTTTTTTTTTTTTT- TGGCTGTGTTGCTGCCATTCCTTAACTGTAGCTCAAAAATTTCTGCAATGGCCAGTGTGAGATTAACATCTGTTAATTTATATACCGGTCT- TACTTTGTCTCGGCATTAGTAACATGTGCAACATTAGTTTTGTCTGTATTGTTAATCGTAATGGTACAGTGTGAACATAATTTATTTTCCACA- CATCTGCATGCTTGGCAGATCGCAAGCTCCATAATTCATAGGTCTGCCCTTTTACCAGCTACAGTTTAAATTAATCTGATTAGTATACAAAGACGA- GGAAAGTCAAAAGTATGACAGCAAAAATTACTTGGGAATATCATCTACCTAATGACTTTTCAAGCAACTTTGTTGGATCTTCAACCACTTA- AATTCACAGGCAATGGGAATTTCCGTGTAAAGTAACTCCGTAATCTCTAATTTGTGATGATGACTACCCGCGTGGATTTTGGGGTGT- CATGGACAATGAGTGTAGTGGCATCTCCGCTGAAGATGATTATTTCTCTGAGTCTCTTCTGAGCAATTTGGGTGAGACGCTCATGACAGA- GCTTTGTTTTGACGCCATTATAAAGGAATTTAATTTCAATGCCGAAAAATTTGCGCGGTGGGAACACAGGAATTTGTCATAGGTAGAGA- ACTTCATCAAGAAAGACTTTGAATGTCTGCGAGGAAGAGTCTCCCAAGGATCTGGAAATCATATCTGTTGAGATCAATGGAAATGTGATT- GATGAACAACTGGCAAAAATTTAGCAAGGCTTGGCAAGCTTGTCTCTACGTAAGTTTCTCTTACGCTAGTTGCAACAAACACCATGTGAA- TAGCATTTCCAGTATTTTGGTGCAGTAGTGTCCATTCAITTTCTGCACAATTTTCAACCTTTTGGCCTCCTTACACTAGTCAITTTAAAGAAACA- ACTTAATGAACAGAGTCTGACTAATTTTGAAGTTGGGAGTTGAGTGTGATGATCAACAGAAATAGAAGAGCCAGGAGAAGTTTCAGATCATG- GCTTAAGATGATTAATTTGTAAGGCAATGAACACATGCCAACTGGTGAACCAACTCTGTCACACATAACCAATAGAGAAGAAAGCCGCA- GCTTACTCAACTGAAAAAGCACTGAGAAAGTCAAAATTTTAAATAAATAAGATGTTGTGCGAGGAGACAGCAAGTCTAGGCTGTGACAGGATC- TAGCAGCAATATCTTTCAAGTTAAACAACTTAGTCAATAGCTCTAGTGTAGTACAGGTTACAGCATCTTCTGACAAAGCTAAAGACAACCA- GATCTTATGTTGCGAGATTAAACAAAAAATCAGGATCAACAAACATGAATACAGGCAATTCAGTCAATTCGAGTGGTGTCTCATGTT- GCACCTGTGTTCTTGTGTGCCACGTTTTGAAATCATGGCTCCAAATGCACCGTATCATCTATGCAAGAAATTAGTAAATTTGTTGTTGTAATG- GAGTATATCAITTTCAAAGTAAGGCCTGGTTTGTCTCAACTTTTCTTCAAACTTCAACTTTTCCATCACATCAAACTTCCCTACACACATAA- ACTTCCAACCTTTCCGTCACATTTTCCAATTTCAATCAAACTTCCAATTTTGGCGTGAACTAAACACACCCTAAATATAAAACCCAATAACAAG- CAGGCCAACGAGTACATGATTTTTCCTTTTCACTTCAACTCTAATCAGAAATACGAAAGGCTCTGTAGCTTGTGCTCTCTCGGCATCTCGGACA- TCTAGGCCAGCTAGTGCATCTTCATATAACAGGCCAGAGGAATTTAGGGGTGTTTGGATAGTCCCTGTGATCTGGATATTTGACATAAT- TAGAAGTATTAACGTAAGACTATTGACAAAAACCAATCCATAACCTGGACTAATTCGCGAGACGACTCTATTGAACCTAATTAATCCATGATTA- TAGCCTATGTGATGCTACAGTAACATGTGCTAATTAGGATTAATGAGACTTAAAAATTTATCACAGGAATAGTGTCTCATTTATGTAATTAGTTT- TGTAATAGTCTATGTTTAACTCCAAATTAATGTCCAAACATCCGATTTGACAGGGAGTAAAGTTTAGTCTTTGGATGCCAAACACCACTTAGC- TATAGAACACTAGACAGTACATGATCAATACTTTGACGTTGCGTGATAGTATACAACTTTTCCAACCTGTGTGGTCTGATTTCTTTAATTA- GATTTCCGGTTTGTGTTGATCAATAGTTGGTGTATGTCCTATCCAAGCTTCAATGAGCAATTTACGGGATCGGATCTTTTGGCCCTC- CAAAGAAATAGAGCGCTCTATGCATAACCTTGTCTTTAGCTATTTTCAATCTGCTGTGGTTGTTTCAAGTATTTTCAATGTTTGTAGTCTATTGATA- CGTAGAAGTAAATCATGATGATATTGTGCAAGCTCATCATATCGTTCCTTTGGATGAAATACGAGAAATTTGTTAGTACTGTTTCTTCTATT- CATAATGATTACTCCGCTGTCAACGTTGAGCTCAGTAACTAAATTTATCAGCAACTACGTTTGTATCAGATTTCTTAAACACAGGCACTAAACA- ATTTCAAATTTAATGATCAGAGTTGAGAAGTTAAACAGTGGATTTGGCATGCACGTCCTGGAAGAGAAAAGTAGTCTCTGGCTCTGATGA- TGTCTCCCTTGTCTTGGCAAAACCTCAITTTCCACGTAAGAGCTGTCAAGGGAGTTAAATGGGATTGGGCATGGAAGAAGCCTTTGATTTGACT- CTTTGAAGCTGTAGTGTGACGACAGCAATACACGAGTACCTAAGACGACCTGTTTATATATATTTAACCACTTACTCTCAAGGTTGACAA- ATTGTGCTACAAATTCATTAATCTTTGTTGAAGCAITTTTAGTATATATGACCTAAGCATGGAACAGCTCAAGTTCCTCATGTTGTGGGATA- TGTGTTTCTGTGCCCTGCATATGTTGTTGATACAGAGCAATAGAGTATAGACAATATCTGGGTGTGATCGTTGTGGGCTGTGAATATGCT- GCTATACCGAGTGCTTTTATACATATATACACATGATGTAAGTTGTAATATTTAATCTTAAACCACTTTTGTGATGGGCGAGATGTGAATGTTT- GATGATTTGGGCTGTAGGTTTCAITTTACAAAGGATTAATGATTTGTTTTTATATCTGAAACTCATGTTTGTGAGTACCAATGTGCGCAATGTATAT- GCTTCATCAATCATGGAAGAACATGATGACGTATACAGTGCATGGTTCGAAATATTTAATACAGTACTCTGTTGTGATTCGATTTTATTAATAT- GCTTTTTTAAATCGATAAATGATTTTCTTGTGCAACAGTGTGTTGGCATGAAACACTTGGGGGCTGGAATCAACATCTGTATACATTTGAAG- GATCGTTAGTAGATTTTTTTTTAAGAACAACCTTCTACTATGTCATGGAAGGCCAAAGTACCTTGATATTTATTTTGGGATGGGAGGAG- TAATATGGAATTCGATATATATGCATATGCACAGCTGCTATCTGCCAGAACAACTTCAATCTTCAAGTGGGCTGTGAGGCATTTTTC- GTACAGTACCATCGATCTGTCATGTGTGCTGTTGGCTGTGCGCATTCGACGTTGACCTGTATTTTCTCAGCTTTTTCAGCAGCCGCCAC- TGATCCCTCTAGTCTGTACGAACATAACGAACAGTTTATATCGCTGCATTTGTGTACTGTACAAAACAAGCAAGTGGTGATCCCA</p>
----	---

ST	<p>ACTCGTCTTCTTCCCTCTCGCCGCCGCGAGCGCGCGGCCCACTCCATCCACCACAATGGCGAACCCACGTCGCCACCGCCTCCTCCTCGCCGCGTAGCCCTACCGGAGCCGCTGCCGGTGGCTTCTCCGATCCCCGCGCGGTAGAGTCTCCGCGCGCCGCGTGTGCTCCGCAACATTGGGTGAGGGATTTTCGATTTCGGCGAAGGGGGGGGGGGGGAAGCTCTCGCTGGGAGGCCATGACCGGAGCGAGCAAGGA-GATGAAGTACAGAGAGAAGGGCTAGGATTCAGAGCCCTTCGATTACGGGCAATGCGCGCGGACCGGAGTGGCGTGTGATTGGGGCG-CGCTCAAGGAGAACCCCGTGGAGCTGCTCGGAAGCTCGACGAGCTGCGGGACCAGTACCAGGCTCTCGAGATACCGGACCGCGGAGCGCCACCCTGATGAGCGCGCGACGGCTCGCTGCGCCCTCGCACGCCGAGCGCCGCCGCTAGGCCGCTGGGCGCGAGCAC-TACCGCTCACGCTACACGGGAAGGTACGGGTCTGGCTTCCGCACAGTCCGAATGACCAGTGCATCGGTCATGCATAGAGATAGGTATGA-GAGGACGGGTATGGGGGCTTCCGCAATGGCGGAGGAGGAGTGGGAGAATTCGCCGTATTCGGGGGAGGACCATGAGCGACGCTCCG-ATTTCTGTGCTCTTCTACTTCTAGTTATGACAGAAATAGACAAGAGTGTGGATCAAAACAGGAGCAGTCACTTATCATCATGTCTGTAGAAG-GTCCAGACTTGCATTAATCCCAAGGATATACTATGTCAAGGAGATGCATACAGTCAAGTGAAGAACTCAGCATTTAATACAGGCAATCTACAG-GTCCACGTTGTATGAGGACAATGTGTCGATCCATTTCAGCTCGCTAAAGATTGTATGGTGGAGATCGCACAAGCAAGGAATAGGCTA-AATATCATGGCAGATTCTGTGTATGCTAATGTAGGATGAAAGATCGGACGTCACATATGAGCAGAACAGCAAGATCATAAAGAAGGATTG-GAGAAGAACTGTACAGCATGACATGACGCAAAAGCTCAAAGAAAGTACAAGTGGCTTTGTGATGTGAAGAGCATGGGTAACTATGACAGCA-GTACGGCTGATAATGATGACACAGCAGCTTGAAGATGGAGAGCTGAGCAAAAAGTATGAAGAAAAATCAAAAGATGACCAACATTTCA-AATCAGAAATTCATTACTGAGCGATATAGCAAAATGACCAAGCAAGAAAGATAAATACAGTGTCAATCAAGTTGAACATATGCTACGATGACAAACAAGA-TGACTAGATGATTGTATGATGAATGGCTCTGCCCAATCTGAACTGCCATAATGCCATCGGAAGCTTGAGTCAATGATTGAATGAGCGCA-AATTTAGTTCTCGTGTCTTCTGTGAGGCTGAACATAGCAAGTTCAGTCTCGACGTACTAAGAACGGGGATCAAAGTTTTCGTGTTTGTG-TGAAGAAAGGTTTGAAGGACATTCTCTTGTTCATCAATCAGTGGACAGTGAAGTTTCAATCAAGGCCATTCATCTCCCAAGCTGTC-TACGGAAGGCCGAGAAGAAGTCTGGTCCAGTTGGCCCTGGTTTCATATTGGTATGACTACCGCGCTGGATTTGGGGTGTCTGGGACATGAG-TGTAGTGGCATCATCCCTCCATTATAAAGGAATTAATTAATCAATGCCGAAAAATTTGCGCGGTGGGAACACAGGAGATTATGTCAATGGTA-GAGAATCTCATCAGAAAGACTTTAAATGGTTCGAGCAAGAGGCTTCCACGAGATTCGGAAGTATTCATTCTGTGATGATCAAGAAATGT-GATTGATGAAACAACCTGGCAAAAAATACGAAAGCTTGGAAAGCTTGTCTCTACAGTTGAGAGAAATAAAGCGTGGATTGGCATGCACGTCCC-TGAAGAGAAAAGTTAGCTCTCTGGCTCTGATGATGTTCCCTTGTCTTGAACAACTCATTTCCACGATAAGGCTGACAGGAGTTAAATG-GATTTGTGGCATGGAAGAAGCCCTTAGATTGTACTCTTGAAGCTTGAAGTGTGACGACCAAGATACACGAGTACGATACAGACGCTGTTTT-TATATATATTCCACTTCTACTCATTCAGTTGACAATTTGCTGCAAAATTCATTAATTCATTGAAGCATTTCTAGGTATGATCACTGAAGCAT-GCGAACAGCTCTAAGTTCCTCATGTGTCTGGGTATGTTGTTTCTGTCCCTGCATATGTTGTTGATACAGAGCAATAGATATAGACAATATC-TGGGTGTGTATGTTGGGCTGTAAATATGTCTGATACCAAGTGCCTTTTACATATATATACACAGATGATGTAAAGTTGTAATATTAATCTTA-ACCACCTTGTGCTAGGTGGCAGATGTGAATGTTGATGATTGGGCTGAGGTTTCATTACAAGT</p>
SCDS	<p>ATGGGGAGCGAGGCGAAGGAGATGAAGTACAGGAGAAGGGCTAGGGTTCCAGAGCCCTTCGATTACGGGCAATCGCGCGGACCGGAGT-GGGCTGTCTGGATTGGGCGCGCTCAAGGAGAACCCCGTGGAGCTGTCTCGGAAGCTCGACGAGCTCGCGGACCCACATCACCAGTCCGTG-CGAGATCACCGACCGCCGCGGAGCGACCGCATGAGCCGCGACGGCTCGCTGCGCCCTCGCACGCGGACCGCCGCGCTAG-GGCCGTGGGCGGAGCACTACCGCTCACGCTACACGGGAAGGTACGGGTCTGGCTTCCGCACAGTCCGAATGACCAAGCTGCATCGGTCTA-TGCATAGATAGGTTAGAGGGCAGCGGAGTGGCGGCTCCGGCAATGGCCGAGAGAGCAGTGGGAGAATCTGGGTATCTGGGGGA-ATCACCATCAGAGCACTCGAGGTGTGCACAGTGCCTTCATGGCCAGAGAGCTGTATGACGAGGAGGACATTCOCATGACGAGGTACTT-TGCAGGCCAGCAGGGGTCTCACTGTTCGATAGTGTCCCATCAGTCTCATCGGAGCTGACCCGAGGCTGTGCTGCTGTACTCT-CATTTCTCGGTGTGCAAGAGGAGGACAGAGTTTTTTCAGGAAGAAGGAGAGAGTTTCTGTGCTGTGAGAGGAGGAGCTCCCTTGTG-TATGCAATCTCTGTGAACCAAGCTGTCTGACGTGCCTCTGGGAAATGCACAGCTCGGAAGCAGATTCAAGTTCCGTTGCGTGTGCTGCGGA-GATCGTTAGTTTCAAGCTTGAAGAAAGTGAATAATCATCCTTTGGTTGCGCCGACATCTTTCCCTGCGCCGAGTGGGAGTTCCAGTGTG-TCAGGTTAAACAAAGTTTTGGGTGTGTACCAACATCAGGATGAAGGAAATTCAGTTTCCATAAGCTGCAAGCACAAGAGAGATGGCAGCAAG-AACAAGATCTTGACAGCAATATCTGTGTCTTCTACTTCTAGTTATGACAGAATAGACAAGAGTGTGGATCAAAACAGGAGCAGTCACTTACT-CAGTATCTGTAGAAGTCCAGACTTGCAAAATCCCAAGGATATACTATGTCAGGAGATGCATACAGTCAAGTAGAATTTAATAA-CAGGCAATCTACAGGCCCGAGTTATAGAGGACAAATGTGTGATCCATTTCAGTGTCTTAAAGATTGTAGTGGTGAGATCGCACAAGCA-AGGAATGTAGCCTAAATATCATGTCAGTCTTGTGTGATGCTAATGTAGGATGAAGATCGGACGTGACATATGAGCAGAAAGATCA-TAAAGAAGGATTTGAGAGAAGAACTGTGACGATAGACATGAGCAAAAGCTCAAAGAAAGTACAAGTGGCTTTGTGATGTGGAAGCATGG-TAAACATAGACAAGCTGACCGCTGATAATGTATGATACAGCAGCCTTGAAGATGGAGAGTGAAGCAAAAAATGACAAACAAC-AAGTACAACAACATTTCAATCAGAATTCATTACTGAGCGATATAGCAAAATGCAGCAAGAAGATAAACAAGTGTCAAGTTGAACTATAGC-TACGATATGCAAAACAGATGACCTAGATGATTGTATGATGAATGTCTTCCCAATCTCGAACATGCCATAATGCCATCGAAGCTTTAGTCA-TAGTTAATGAGCGCACAAATCTAGTTTCTCGTGTCTTCTGAGGCTGAACATAGACGAAGTTCAGTCTGCACTATAAGAACGGGATTCAA-AGTTTTTGTCTGGTTTTTGAAGAAAGGTTTTGAAGGACATTTCTTGTTCATCAATCAGTGGACAGTGTCTAAGGTTTCAATCAATGGCCATCA-ATCTCGAAGCTGTCTACGAGCGCGAGAAGAAGTCTGTGCTCCAGTTGGCCCTGGTTTCATATTGGTATGATACACCGCGCTGGATTTGGG-GTGTGATGGGACATGAGTGTAGTGGCATCATCCCTCAATTATAAAGGAATTTAATATCCCAATGCCGAAAAATTTGCGCGGTGGGAACACAGGA-GTTATGTTCATAGGTAGAGAACTTCATCAGAAAGACTTTGAATGTCTTCAGGAAGAGGCTTCCACGAGATCTGGAAGAACTATCTTGTGA-GATCAATGAAATGTGATTGATGAAACAACCTGGCAAAAAATTCAGAAAGCTTGGACTCTACAGTGTGAAGAGTTAAACAGTGGATTG-GGCATGCACGTCCTCGAAGAGAAAAGTTAG</p>
SP	<p>MGSEAKEMKYRRRARVPEPFYDQCGRDRSGVLWDGALKENPVELLRKLDLDRHITRSCITDQPRERHRMSRRTASLRPSHAEPPLGR-GPEHYRSRYTGRYSGFPHSPNDLHRSMDHRYERQPSGRFRQWPERQWENSGYLGNHHSQTCOCAGLHGQRAVMQEEHIPMTRFYA-GQGSHLDFRSPVSSLELDRRSVASSLSYHSFYSKRRTTEFFRKKAESFCRPRVGAAPFVVCSSCNLLQLPLPGKCATKQIQRVRCGSCSEIVS-FKLEKHVLPARTSPFASKTGVSSSRQVSNFQWYQHODEGNSFHKLQAOERWQNKLDLADNISVSTSSYDRIDKEGCSNRSQSLVS-VRRSRLANIPKDLCOGDAYSQVETSFAFNTGNLQAPVIEDKCVDPFSSRLKDCSGGDRTSKECSLNIADSVADNVDRERSDVTEQNSKDKHE-GFGEETVSSRHEQKLKSTSGFCDDGSMGNIDKLADNDDTSSLEDGDVSKYEEKIKQDDNNFQSEKFTERYSKSCSKEDNNSVIQVETIATICK-QDDLD.DCYSLSNPSNEHAIMPSKLESSVNERNTSSRSVSEALEDEVQSAATKNGDSKFFAGFLKKGLKDLPSLFNQSDVSAKVISNGHSISERVL-RKAEEKSPVPGSGSYWYDRAAGTGVGMGHECSGIIPIPFKEFYNPMKPNCAGNGTGVIVNGRELHKQDFELLAGRLPRISGSKSYSVINGNVI-DETTGKLRKLKGLAPTVEKLKRGFMVHPEKS*</p>
FG	<p><i>extra-large G-protein-related, putative, expressed</i></p>

Tabela 6. Informações genômicas do gene LOC_Os05g50910, identificado pelo marcador SNP S05_29213630

O complexo de proteína G é composta por subunidades Gα, Gβ e Gγ e é um dos principais transdutores de sinais em células eucarióticas, relacionados a diversos processos

biológicos (PANDEY, 2009). Essas proteínas são encontradas em diversas plantas, sendo relacionadas a regulação da divisão celular, formação de órgãos, adaptação das plantas a estresses abióticos e respostas à estímulos abióticos (URANO; JONES, 2014).

Em arroz, as funções proteínas G extragrandes (*rice extra-large G* ou *XLG*) foram caracterizadas para resistência a doenças (Funções de *OsXLG1*, *OsXLG2* e *OsXLG3*). Os mutantes de arroz com *OsXLG2* e *OsXLG3* mostraram resistência ao patógeno *Magnaporthe oryzae*, enquanto os mutantes de *OsXLG1* conferiram resistência ao patógeno *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* (ZHAO *et al.*, 2022).

O marcador SNP S09_18281732, localizado no cromossomo nove e na posição 18281732 (Figura 7), foi identificado no gene LOC_Os09g30070 (Tabela 5) cuja função está associada ao domínio de ligação ARK.

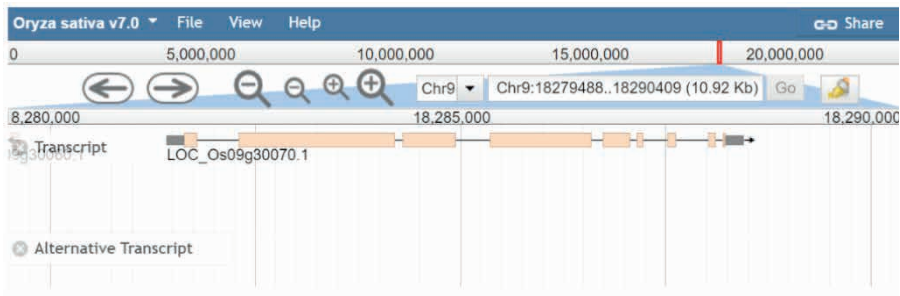


Figura 5. Identificação da posição do gene LOC_Os09g30070 no banco de dados genômicos

Concomitantemente, o marcador SNP S10_15699535 (Figura 6), localizado no cromossomo 10, posição 15699535, e no gene LOC_Os10g30210 (Tabela 8) foi associado a função geral de expressão de proteínas.

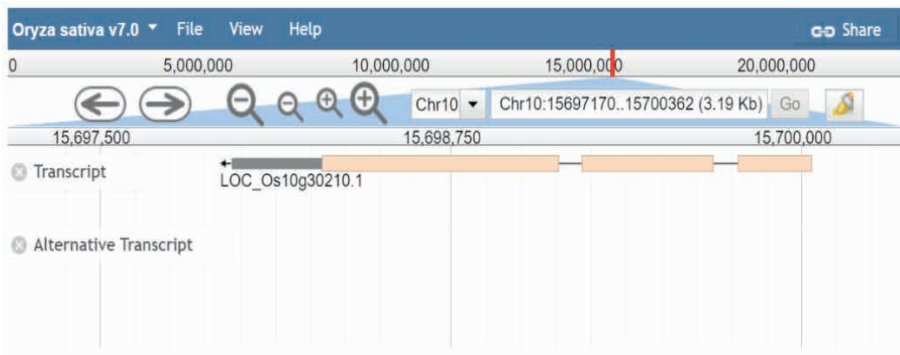


Figura 6. Identificação da posição do gene LOC_Os10g30210 no banco de dados genômicos

ST	ACACATCCTCCGCAACGACGCGGATTGCGCCACAGATCTCTCGCCCCACGTGCGCCGCCCTCCTCTCCAAATTCAAAATTCGCCGATCCCCCTCCTC- TCCCTCGGCCATCTCTCTCAAACCTCAAGCATCGCGCCTCCCCCTCGCCCGCCTCTCTCGAATGCCCAAACCCCTAGCCCGATCAGCGCGCGACCGACC- CACCCTCGAGGGAGCGCC ATGGAGAGGCTGTTCAATGCGAGGTAGTGATGGTTTGAACGACAGGATGGGTTGGCGGCGAGCTGCGGACGAGGTGGAGTCC- TACGACCAAGTCCCTCGCCTGCGCGCTCTCGCGCGCGCGCGCCCGCCCGCGGTGGCTCTCCCGTCTGCGCGCCCGCTGCGCGCCGACGGGGCT- GAATGGCAACACGAGCGCATCGGAGTTTGTTCATCTGGAAGCCATATTACCACACCAAGCAATCAATAGAAGTGTCTATCAGCCTTCAGCTGTTCTCTA- GTACTTCCTTAAGAAATGTGGGGCTTCCAAGTGGATATAGCCATCTATGGACTGCTTTGTAATTTCTTGGATATGACCAACCAACCAAGAGGTCCAGCAA- GAGCAGACTAAAGTTAATGAGGAGTTTGTCAACACTAGAGCTGAAGCCAAACATGTTTTCAAGGATTCAACGTTCCAGGTCAAGGCAAGGAATATCGA- AGACCGCTTAGCTGAAAGGGATGGAAGCTGCAATGGTGAAGTAGTGATGGTTTGAACGACAGGATGGAGGAGTCTAAAGATTGCTGGCGTGGCGG- TAAACAGGACCCACCATCATCATCTCTGAAACCATGTGGTGGTGTATGCAAAACATCTGGAGGCAACACACCCCTTTTCGAGGTTCAGGAGAATGATATT- TATACCAACAGAGGAAGTCAAGTTGAATTTCTTAAAGTGCAGTAAAGAGGGTGGTCTTGGAAAGTGGAGTTCACTTAGATTGTTCGCCATCTGTGTTCTA- GAAACAGATTTGTAGTCTGACAGTCTCTCAAGGTTCTAATGACTGCTCCGCTAGAGATTATCAAGAACACAAAGTTGCAGATAGCGGTGGCCCA- TCCCTCCCTGAAACTCATCTAATTTGTTGAGGCCCAAAATCTTCAATTTGAAGGTGTTGAATCAGTATGCATGAATTTTCAAAGTGA AAAAATGGGGCA- GCCACTGGAAGTGCCCATCTTGATCTTGCTGAGGCACATCCTTAAATGAAGACCCATCTTCTACTGGCTGTTATCATGTACCTTGTTCGTTGGGAA- GCTCATTGGTTGATGGTTGAATTTGGGACTTTTAAGCACTGACAGTGCAACATTGAAGCAGCACCTTCAATGTGGCAGTCTGTATCTTAGTCCACAC- CATTCTCGAAACAGGACCCCGTGTCACACCATTTCCCTCTGAAGTACCTAATTACACGAGTGAACCATTAGTTGAGCAGGATACATATTGTAATCCTGA- AATCAATTTCTCTGGAAGGACCATGTTCTAAGGTGACGCCAAGTCTGTTGAAAGGAAGAAACGAAGGCATGCCCGATGCCATCCACTGCTTAAACAG- GATGCATTGCATACCATAGGAAGCACCGGAAAGAAATAAGAAATCTTGCCCTCTCGGAACCTCCACTCCTCTTGAACACAGCGAGCTGTATCCTCATGTCTT- GCCCTTGCTCAACGCGATAGATCTGTGCAACACCGTGCAGAGTAGTTCTCGGCCCTCCTCTATCAACAGGAATATTGCCGGACAGTTTGTGGAAGCGGTT- GGTTTAGACCCACTTCCGCATCAATGATACAATAGCCAAATGCTCCCATCTAGGTCTGCTGCAAGCCAGATGCTGCTCCACTTCGACTCGTTAAT- TCTGGTGTGTTTATCAACCGAGCTTCTCTGTTGTTGAAATCAAAAATAACAAAGATTCCAATGGTTGCTGTTGTGAGGGACCACTGTATCCATAGAGA- AACCGCGCTCCCGAGGACATATTATTGGATAGACACCTTATGGAACCTCAATGGTTTTCGAGATGAGGATACCTCCTTGGGCCACACTCTGGGTACA- CATAATGAGATGCTGAAAGGAAGAGGCGACGCACTTGGTGAAGTGCCTTCTGGAAGCTCAACAGTTCTCAGAAAAAACCCAAAGGGTTTGAAT- GAAGCATCTGGTTTTTCTTCCGGAAAGATGAGTGTGCAAGGGCAAAAGGTTGAAGACAATATTTCAACTGGTGTGATGCACACACAGAAAGGAGCA- GGGGGTTTTGTGCCATGAACCTGCACGGGAAGATCTCCACCAAGATGGAACAGAACAAAGAACTCCTCTTTGATAATGCTGTTCAAATAAATGCTAAT- CGATGCACCGCAGATAACAATAAGCAAAATCAATCTTTACGACCTTCTGTTTCGATACTCTTACGTAGCTTGATGTGCATGAGAAAAATTAATCTGCTC- CAGTCAGAGGAAGAAAGTGTCTGTTGTGGCCAGAAGAGGTGCAGATGCAGATGGAGTTCAGGTAACCGGTGGGCCCATCATCTAAGAGAAGAGAAATA- AAGCGTGAATCAATGCTGCTCTCCAGCTCTCCTAACACAAATTCATTGCTGTGGTCCACCAAGTTGATATTGACAATCATGTGTTACCCCTTGGAA- AATTTCTCAGGGAAGTCTCAGCCTTCAGGCCGTTACTTCTTAAGGGATTTAGGGTCTCTCGGAGCATGTCTCTCAAGTCAGAGGAGAGGAATGCTGT- TGAGTCACGGCAACATATCAGTATCTAGTATCCATAATAAACACGACGAGTTCTCCTGAAAGATATAATAAGGCTAGTTTAGATAATGAAATGGGAATTC- TCAGGACAGCTACAAAAATACATTAGATGTTGTGGAACCAACCGCTGCTTTGCCAGCTGCTATGGAACCTTAATGATAATGAGAAATCATGCGCAGA- AGAGGAATCCTTGTGAGAAGTTAAACACGCAAAATGATACTTGTGCAAGTGTGGTACACCGCAAAATGACTCTTCAGATTGATAACATTGCAATCTCA- GAGTGAATTAATAATCAGAAAAATTATCTAGAGAGAAGTCAATTAATCTATATCTGCAAGTTATGTTTCGGATCAAAATGGTGATCAAGCACATGCACCAA- GTGCATTGGTTGCTGAGAAATTAAGTTATGGCTCCAGTGTAGAACCTTGACAGGAGATGTAAAGTAATGGTTGCAAAAGGGAAGTTGTTGTCTGGTGTCT- GCTATTACTATGCAAGATGGGGATGAATCTGTTGACTGTGATGCCACAATGCCGGAATTGAGCGGATTTGATGTTCCATCCAATTTGACAGCCCATGT- GCTGAGACAAAGACATCTGAAGCCCTTTGTGAGTCCGAAAAATAGTACCCTCAGTTCAAAGTTCTCAAAATATGACACTAACACAGAAAGTGGTGT- GAGCCCATTTGTGACCCATGTCTGGGAAGCCTATAAATCCCTGATGATTGCAACAATACAGAGCAAAATGATGATAGAGCAATGACATTTT- GGAGCATGTGGATTGGGACTTGATGATTCCTTTCTATTATGATGTACAGCTCATGTTCTTCAAATGGTAGCAGTGGCAAAAGAGAACAAATGACAATC- CATTGACCCCATCAGTTGAAAAATAGGCCCTGGGGAAAGTGTGAGTGTGATCTGGATCTAGTTCAGAACATATGGGCTCTATTCTGAACTAGAATGCT- TCCGAATTTGATGAACATAGCAGCATGCGAGAAGAAATGAATACCAAGGGATGTTAGATGGATCTGCTGGTTGAGTTTACTCGCATCAAGTTGCCATCTG- GCAGAAAGCACTTCAGGATATCACTGGATATGTGCAAAACACTGTAATTTCTGCCCTCTCTTCTCCTCAATATCTTGGATACAGGTAATGAGCTCAATCA- TCAGACAGATCTCTAAATGGTTCATGCCAACGATAAGCCAAAAACAGTCTTGCTGCTTCAACCAAGAGAGAGAGAAAAATATCTGATTCCTTCATCC- TAGATTAAAGGAGGACAGAACTACATAACAGAAATGGAAGACACAGAGTGAAGCCAATATTGCAACAAATCTAAGCCTAGCAATATTGTTGCCAATGT- GACATCATTTTATACCTCTTTGTAACCAAAAGTTGCAACCTACAACAGCATGTGTGAAAAAAGATGTGAGAGTGAAGGCACCTTGAGGCAGCTGAAGCTG- CAAAACGCCCTTGAAGAAAAAGAAACAAATGAACGTGAAATGCGCAAGCAGCTGCAAAAATAGAGCTGTAAGAGACTGAAGCAAGAGAAAGAAATTAAG- GCAAAAAACAGGAGGAACAAAAAGAAAGAGAGATGCCGATGTGGCTGCTAAAAAACCGCAAGAGGAGAGGAGGAAAAAGGAAAAAGCAGAGAA- AAAGAAATGCCTGAGGAGGCTCGGAACCAACAGAGAGAGCTACAGAAAAAAGTCTTCTGCTGTAATGATGAGAAAGATGTTTGTGCAAAAAACATCT GATAATATAGAGTGCACAAAACCTGATGGGAGAAGTACCGAACCTGCTATGACCAATATTTCCAAACAGTCTTGAAGAG TCATACCAAAATGTC- TCCCATAAGGATTTCTGATGAAGAGGATGATGATGATTTTGAACATGAGCAAGAAATCCAGAGTGAAGGAGAAATTTATCCTCTGCTGGGCTCG GAAAGAAAACCTGGATAAAGTCTGTTGTGCTCAATCAGAGTTTGAACCTAGAGAACTTTTGTGACAAAGGTGCTCCTTCAACTATCTGATG TTCTTTCAAGTTACATACCAACAGCTGGCTTCAGATAAGTTTCAATTTGACGGACTATCGCAATACGCTATGCCAAATCATCATCAAGTTGTG- CATATTGCTTGGACGGCATTTCTTGTATGCTAGAAATTAATCAACGTAGCAAAAAATTTGTTCTTGGGAATTTAGAAATTTAGCAGGACATGTTGTG- CACATTTGTATACATATTGGGCATAACCAATTTGTACAGGCCGAGTTATGTTTATG
----	---

SCDS	<p>ATGGAGGAGCTGTTTCATCGAGGTTGTCGGCGGGCGGAGCTGGTGCGCGGCAGCTGCGGCAGCAGGTTGGAGTCTCAGCAGCACTCCCTCGCCTCGCCGCTCTCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCTGGCTCTCCCGCTCGCGGCCCGCTCGCCGCAGGGGGTCAAGTGGAACCAACGAGCCATCGGAGTTGGTTTTCATCTCGAAGAACCTATTACCAACAGCAGCAATCAATAGAACTGCTATCAGCCTTCAGCTGTCTTGAGTCTCTTAAGAAATGTGGGGCTTCCAGTGGATATGAGTCCATCTATGGACTGCTTGTAATTCTCTGGATACTGACCAACACAGAGAGGTCACAGCAAGAGCAGACTAAAGTTAATGAGGAGTTGTCAACAGCATAGAGCTGAAGCCAACATGTTTTCAGGATTCACAGTTCAGGTCGAAGGCAAGGAATATCGAAGACCGCTTACGTGAAGG-GATGAAGCTCGAAATGGTGGAGTAGTGTGGTTGTCGAACAGCAGGTGAGGAGGTCTAAGATTGCTGGGTGGCGGTAAACAGGACCCACCATCATCATCTCTGTAACCATGTGGTGGTGTGCAACAACATCTCTGGAGCAACACACCTTTTCGAGTGCAGGAGATGATTTATATACCAACAAAGGAACCT-CAGTTGAAATCTTAAAGTCAGGTAAAGAGGGTGGTCTTGGAAGTGGAGTTGCTACGTAGATTGTTCGCCATCTCGTGGTTAGAAAACAAGATTGTTAGT-TCTGACAGTCTCTCAAGGTGTTCTAATGACTGCTCCGCTAGAGATCATCAAGAACCAAGTTGCAGATAGCGTGTGCCATCCCTCCCTCGAAACTCA-TCTATTGTTGAGCCCAAAATTCCTCAATTTGAAGTTGTGAATTCAGTATGCATGAATTTTCAAGTGAAAAAATGGGCGAGCCATGGAAAGTGCCCA-TCTTGATCTTGCTGAGGCACATCCTTTAAATGAAGACCCATCTTCTACTGGCTGTTATCATGTACCTTGTTCGTTGGGAAGCTCATTGGTTGATGGT-TGAATTGGGACCTTTAAGCATGACAGTGCAACATTTGAAGCAGGATCTCAATGTGGGACGTCTGATCTTAGTCCACACATCTCGAAACAAGGACC-CGTGTGCAACCACTTCTCTCTGAAGTACCTAATTACAGAGTGAAACCATTAGTTGAGCAGGATACATATTGTAATCCTGAAATCAATTTCTGGAAGGAC-CATGTTCTGAAGTCAGGCCACATGCTTGCCAAAGGAAGAACCAAGGACATGCCCCGATGCGCAATCCACTGCTTAAACACAGATGCATGTCATACCATAGGA-AGCACCGAAGATAAGAAATCTGTAAGCTCGGAAGCTCCACTCTCTGAAACACGGAGCTGTGATCTCATGTCTGCCCTGTGCTGTCAGCAGGTAGATG-TGTGCACACAGCTGACAGTAGTTCTCGGCCCTCTCTATACACAGGAATATGCCGACAGCTTGTGTTGAAGCGGTTGGTTTAGACACCTTCCGCAT-TCAAATGATACAAATAGCAATGCTCCCCATCTAGGTCGCTGACAGCCGAGTCTGCTCCACTTCGACTCGTAAATCTGGTGATCTTTATCAACC-GAGCTTCTCTGTTGTGTAATACACAAATAACAAAGATTCCAATGGTTGTGCTGTGAGGGCACCACTGTATTCATAGAGAAACCGCGCTCCGAGGAC-CAATATTATTGGATAGACCACTTGAAGCACTCAATGGTTTTCGAGATGAGGATACCTCCCTGGGCCACACTCTGGGTACACATATGAGATGCTGAAA-GGAAAGAGCGACAGCACTGGTGGAAGTGCCTATCTGGAAGCTCAACAGTTCTGCAAAACACCGAAGGTTTCTGATGAGCACTGCTGTTTCT-TCCGGAAGAATGAGTCTCGCAAGGCAAAAGGTTGAAGACAATTTCAACTGGTGTGCTGACACACAGAAAGGAGCAGGGGTTTGTGTGCCAT-GAAGCTACCGGAAGATCTCCAACAGGTGGAACACAGAAACCTCTCCTTTGTAATGCTGCTCAATAAATGCTACTGATCGACCGCAGATA-ACAATAAGCAAAATCAAATCTTTACGACCTTCTGTTCGATACTCTTTACGTAGCTTGATGTCACATGAGAAAAATTAATCTGCTCCAGTCAGAAGGAAG-AAGTGCTGCTTGTGCGGAGAAGGGTCAGTGACAGTGAGGTCAAGTAAACGGTGGCCCATCTCTAAGAGAGGAAGAAAGCGTCAATCAAT-GCTGCTCTTCAGCTCTCTCTAACAAATCATTTGTTGCTGGTCCACCAAGTTGATATTGATTAACATCATGTGTACCCCTTGGAAATTTCTCAGGGG-CTCTCAGCCTTACGCGGCTTACTCTCTTAAGGATTATAGGTCCTCTGGGAGCATGCTCTCAAGTGCAGGAGAGGAATGCTGTGATGACACGGCA-CATATCATGTACTAGTCTCATTAATAAGCCAGCGTTCTCCTGAAAGATATAAAGGCTATTTAGATAATGAAATGGGAATCTCCGAGGACAGTTA-CAAAATACATTAGATGTTGTGAAAACAACCGCTGCTTTGCCTAGCTGCTATGGTACCTTAATTGATAATGAGAATCATGCGCAGAAGAAAAATCCT-TGCTTAGAAGGTAACAGCAATGATACTTGTTCGAGTGTGCTGACACGCAAAATGACTTTCAGATTGATAACATTGCATCTCAGAGTGTAATATTA-AATTGAGAAATTTCTAGAGAGAATCAATTAATACTTGTGCAAGTTATGTTTCGAGTCAAAATGGTGATCAGACGATCGACCAAGTGCATTTGGT-TGCGAAGATTTAAGTTATGGCTCCAGTGTAGAAGTCTGACAGAGAGTGAAGAAATGATGGTTCAAAGGGAAGTTGTTGTTGCTGGTGCTGCTTACTATTG-TCAAGATGGGATGAATCTGTTGACTGTGATGCCAATGCGGGAATTCGAGCGATTTGATGTTCCTCAATTTGACAGCCGATGCTGCTGAGCAAA-GACATCTGAAGCCCTTGTGTGATGTCAGAAAAATGTACCCCTCAGTTCAAAGTTCTCAAAATTGACATCAACACAGAAAGTGGTGTGAGCCACCT-TGTGACCGATGCTGGAAGCCCTATAAATCTCCCTGATGTTTGCACAATCAGACCAAAATATGAGAAGCATACATGACATTTTGGAGCATGTG-GATTGGGACTTGATGATTTCTTTTCTATTATGATGTACAGCTTTCATGTTCTTCAAATGGTAGCAGTCGAAAGAGAACATGACATCAATTGACCC-CATCAGTTTGAAAAATATGGCTGGGGAAAACTGTGACGTACAGTCTGGATCTAGTTCAGAACATATTGGGCTTATCTTCCGACTGAAATGCTTCGCAAT-TGATGAACATGAGCAGCATCGCAGAAGAAATGTACATGAGGATGTATCATGAGTCTGCTGGTTTGAGTTAGTCTGCATGCTGCTGAGCAGAA-AAGCATCTCAGGATATCACTGGAATTGTGCAAAACAGTGAATTTCTGCCCTCTCTTCTCCATAATTTCTGGAATCAGGTAATGAGCTCAATCAGACA-GAGTCTCAATAATGGTCAACGACAGTGAACCAAAAAAGCTGCTGCTCTCAACAGAGAGAGAGAAAAATATCTGATTCCCTCATCTGATTAT-AAGGAGGACAGAACTACATAACAGAAATGGAAGACACCAGAGTGAAGCCAATATTGACAAACAATCTAAGCCTAGCAATATTGTTGCCAATGTGACAT-CTATTATACCTCTTGTAAACAAAGATTTGCAACATGCAACGACATGTGTGAAAAAAGATGTACAGATGAGGACCTTGAAGGCATGTGAAGCTCGCAA-ACGCTTGTGAAGAAAAGAAACAAATGAAACGCTGAAATGCCCAAGCAGCTGCAAAACTAGAGCGTGAAGAGCTGAAGCAAGAGAAAGATTAAGAC-AAAAACAGGAGAGCAAAAAAGAGAGAGATGCCGATGTGGCTGTCAAAAACCGGCAAGAGGAGAGGAGAGGAAGGAAGGAAAGGACAGAGAAA-AAAAATGCACTGAGGAGGCTCGGAAAACCAAGACAGGACGATCTCAGAAAAAAGCTTCTGCTGTAAGTATGAGAAAGATTTGTGTCGAAAAACAT-CATGATAATAGAGCTGACAAAACCTGATGGGAGAACTACCGAACCTGCTATGACCAATATTCAAAACAGTCTTGAAGAGCATACCAATGATCTCCTTA-TAAGGATTTGATGAGAGAGATGATGATGATTTGAACATGAGCAAGAATTCGACAGCTAGGAGAAATTTATCTCTGCTGGGCTCGGAAAAAAGT-TGGATAAACTCTTGTGTGCCAATCAGAGTTTAGACCGCTAGAGAAATTTTGACAAAGATGGCTCTTCAACTATCTTGATGTTCTTTCATGTCATATC-CACAACGTGGCTTCAGATAA</p>
SP	<p>MELFMQVFERRDDVAAALQRLQVESYDQSLACALLAAGRPPLWLLPSRPAAPQ GLNKGPAPEFVFTGSHITPAINTRVQSPVPS-TLRLNVLPSPGSHLWTACNSLTDQHOEQVEQTKVNEEFVNTRAHEANFRIQRISRSRNIREDLREDEAAGGSDGLQDRMER-SKIAGVRLNRNTTSSSPGCGDANNSGAGTFRPGQENDIYTKNRNSVEFLKSKSEGLGVGHVLDSPSLGVNHNKPSVSLFLKVPKND-SRRSRTQVADSVCHPLPETHLFEVPEKLFEQVEVSCVMFNSCEKMGQPLESAHLDLAEPHLNEDPSSTGLYCNKIVSSGVSLDVEL-GILLSDSATLKQHLQCGSPDLSPHTRSRNKDPCPTISSEVPNYTSEPLVEQDTCYNPEINSLEGPCSKVSQILLEETKACPDANPLKTKDALH-TITSERIRLNASRNSTPLEQRSSDHVPLTQQRSSRVQPADSSSRPPLSTGILPDSLLEAVGLDLPHSNDTNSQCSRPSAAALDVLNCHLPLRLV-NSGDVYQPSFSCCKSQNNKNSGCAVEHTSIEKPSQEQYLLDRPPELNGFADEDPLHGLTTHNEMLKGKADLNDVCHSSKGLNS-SQKPKPGLTEASFGSSKGNESAQGVKNESISTGVMMHTTISRSGFCAMNCTEDLQDQDTEOETSPFDNAVQINNRDTHLNNKQKSLRPS-VLRSLSMLSEKINLLQSEGRSAACGKGRSDADGVQVNGGPPSKRRRIKRSQNAALSPPNTNSLVVHVOICNADVNHNKIFSGKGSQPS-GRYFLRGLKSSGMSLSKSEERNVAVSHGNISVSSIHNKTSSSPERYNKASLDNENGNPSGLQNLTDVVKTAAALPSCYGLDTRNEKSCAE-ENPCLEGDHSHDTCSSVYHQQMTLDQINIASQVILNSENISITASVYSDQNGDQAHPLSVRENLSYSGSVELDRQKSSKGSLLSGAAITM-DGDGESVDCAATMEFERFDVPIQDFSPCAETKSEALCESRKLVLTLSSKFSNYDTETESGVSHLLSAMSGKPINFPDDLQRYANNRDSITDIFGACGLG-LDSFSIYDVATSCSSNGSSAKENNNDPLTPSVKEYLQGLKLSARSQSSSEHMGSIPELFCRDEHSHSIAEENYQGMHGSAGLSYSHOLPSGRKALQDITGL-CONVTNSALSSIFLDTGNELNHQDITDLINGHADPKNSLAATKREKIDSLLHPRLFTLITLHNRNGHQSEANDKQKSPNSIVANYTFSIPLVKLPQTTC-VKKDVRVKALAEAAAKRLLEEKQNEREMRKAALKLERERLQKEKELQKQEEQKKRRADVAAKKRQRGEEERKEKQRKRKCTEARKQKQKPTES-LVANDEKDVCKRTS DNIETLKPDGRITTEPAMTNIPNLSLESYQMSPKYKDSDEEDDDDDFEHEQESRRRRKFIWSWAR KENLKDLLSNQSLDPRELFAQK-CSFNLSDV LSVHIPQRGRF*</p>
FG	Inner centromere protein, ARK-binding domain

SG	<p> ATGGCCGCCTCCTCCTCCAACCCACGCCTCTGCTGCTGCCACCGCCGCCGC- CGCAAGAGCCCCGCGCCTCTGTGCGCCGCCGCCCGCTGCGCTACGCCGAAGCC- GATCCCCACCGTCGCCGACAACTTCCGCAGCCTGCTCAGGTCCGGCGAGGCGC- TCCTCCGCTTCGCCTTCCGCGGCAACTCCGGCCAATTGACTACCCGGCATCCGCC- TCCGCCTCGGCCGCCGCCGAGCAGCAGCATCCCCACCACCACAACCGCCCG GTGCGTACGCCTCGATCGTGAGCTCGAACACACTCGATCAGCAACCATGGCGAT- TACCTTCTTCACTGAGACACTCGCGTTTGCAGGCTGAGATCATGAAGCGGCTGCAGCG- GGAGAAGTTCGCCGACATGATCAAGCACATGGACGGGCACGAGCAGATCGACCGCCT- CGTCGCGCTGTACACGAGCAGCGCCAAGGGGTTCCACCTCCCGGAGCTCCCCGTCC- GGGTGAAGGTGCGACTCGACGCGGCCGCGCGCTGCTCCTCGTCGACGGCGACGA- GCTCGAGCAGGCGAGGGACAGGCTCGCCAAGGCCAGGAACACGACGCGGGCTCGGC- TCCAGGTTCTGTTCGAGTCGAGCACCCGTGGCGGCAAGGACACCGTCGCCGCGGA- GCTCGCCACCGGGCTCGGGGCGGCGGCGGCGGCGGCCGCCGCGGAGGCCACT- GGAGCTCACCCGGCTGCAGTACTGCGCCACGTACGCGACCTGCTGTGATGACCC- TCGTCCCGTTTGGCGCCCAAGTGAACAACCTTCTTGACGGTTCGAGCCTGATCCAG GTAAC TTGCCACTGAGCTCGCTGGAGTATTGGCGGTTGCGGCGGCGAGCTTTTGTCT- GACGATGAAACTGTTCCGCCGAGAGTATCCAGAGCAGAGCGTTGTCCGGCGGGCCGC- CGTCGTATTCGAGCGTTCATGACTGCGGCGCCGGCGTGAGCATCAAGGGATCAAGAT- TCAGGGCCTCCATAGCTGAGCTGATCTTTGTTCTCCAGGCGAACATGGCGGCGGCG- GCGGCGGCGGCAATGGCGATCACGAGGTGCCCAACCGGTTGACGACGTTTCGGCAA- GGTGAGCTACGAGACGGCCGACGACATCAAGCTCAGCTTGTCCGGGCTGTGGCAGG- TCCGCTCGCCGGCGTCCCGGTTTCAGCGACCTCGGCGCGCTCGCCGTGCCGTGGG- CAGCCTGAAGACGCGGAGAGCCATCGCTCCTCCTCCGTCGCCGCCGCGGACGACG- CATCCTCCTCCGTGCGCGACCTGATGGTGCAGGTGCCGCGCCTCCTGCTCCTCC- CACCCCATGATGGGTATAGGGTCGACGGTGGCGGTGCAGGGCTCCGTTGCCGCC- GCCGCCGCCGCCACGGCGCGCTCGTCGCACACGGTGGCCGTATGGTGGACTG- CGACATGTACGACACCTTGAGAGCAGAAGGCTGGGTTCGAGATGGAGACGGCGGCGG- CGGCGACTCCGGCGAGGCGGCGCGGCGGCGGTTGGCGCGGTGGGGAGTCTGCGTGTG- CGACTGCCCCGAGCAGAGCTCGGGTGGGGGGTGCAGGATCGGCGGCACGGCGGA- GAGGAACGCGCACCCGGCCGACGTGGAAGGGTTCCTCAGCTTCGACCTCGGCAAGG- GCGGCAGGGTGCAGCCGGGCTCGTCATCGCCATGGACGGCGACAAGCGGACGCC- GCGCTGGTGTGAGGTCTGCTGGTCTCATGTGACGCCGTGATCAAACCTTGCCCGT- TCTTCCCTTCATGCCGGTGTGTTTGGTTTTTGTCTGAAATCTGTTGCAGATATAATAA- GCGTACGTGACAAATGCCCTCCTTCAATTTACACCTGAGTGAGATTCATTTTTCTTTT- GCTTTTTGAGGGATTTTTTTTCTACCACCAACATATCGATCGTCGCTTGCTTTAGATAG- CAAAAGGGAAGTCAATTTGAGTAAATTTGATAACACCTTAACTTTTTGTCCAAAAGT- GCCAAGTTAATTGTAATCTGTAGCTCTCAGAAATTTGAGCTAAAGTTGCCATTCTT </p>
----	---

ST	<p>ATGGCCGCTCCTCCTCCAACCCACGCCTCTGCTGCTGCCACCGCCGCCGCGC- CGCAAGAGCCCCGCGCCTCTGTGCGCCGCCGCCGCCGCTGCCTACGCCGAAGCC- GATCCCCACCGTCGCCGACAACCTCCGCAGCCTGTCAAGTCCGGCGAGGCGC- TCCTCCGCTTCGCTTCCGCGGCAACTCCGGCCAATTGACTACCCGGCATCCGCC- TCCGCTCGGCCGCCGCCGAGCAGCAGCATCCCCACCACCACAACCGCCCG GCTGAGATCATGAAGCGGCTGCAGCGGGAGAAGTTCCGCCGACATGATCAAGCACATG- GACGGGCACGAGCAGATCGACCGCCTCGTCGCGCTGTACACGAGCAGCGCCAAGGG- GTTCCACCTCCCGAGCTCCCGTCCGGGTGAAGGTGCACCTGACGCGCGCCGCG- GCGTGTCTCTCGTCGACGGCGACGAGCTCGAGCAGGCGAGGGACAGGCTCGCCA- AGGCCAGGAACACGACGGGGCTCGGCTCCAGGTTCTGTGTTTCGAGTTCGAGCACCCGT- GGCGGCAAGGACACCGTCGCGCGGAGCTCGCCACCCGGGCTCGGGGCGGCGGCG- GCGGCGCGCGGCCGCGGAGGCCACTGGAGCTCACCCGGCTCGCGACTCGCGCC- CACGTGACGACCTGCTGTGATGACCCTCGTCCCGTTTGGCGCCAGTGCAACA- ACTTCTTGACAGGTTTCGAGCCTGATCCAGAGTATCCAGAGCAGAGCGTTGTCCGGCG- GGCCGCCCTCGTATTCGAGCGTCATGACTGCGGCGCGGCCGTCGAGCATCAAGGGAT- CAAGATTACGGCCTCCATGAGCTGAGCTGATCTTTGGTTCTCCAGGCGAACATGCGCG- CGGCGCGGCGGCGGCAATGGCGATCACGAGGTGCCCAACCGGTTGACGACGTTTCG- GCAAGGTGAGTACGAGACGCGCGACGACATCAAGCTCAGCTTGTCTGGGGCTGTGG- CAGGTCCGCTCGCCGGCGTCCCGGTTTCAGCGACCTCGGCGCGCTCGCCGTGCCGT- GGCAGCTGAAGACGCTGAGAGCCATCGTCTCTCCGCTCGCGCGCGAGCA- CGCATCCTCCTCCGTGCGCGGACCTGATGGTGCAGGTGCCGGCGCCTCCTGCTCCTC- CCACCCCATGATGGGTATAGGGTCGACGGTGGCGGTGCAGGGCTCCGTTGCCGCC- GCCGCCGCGCGCCACCGCGCGCGTCTGTCGACACGCTGGCCGTCATGGTGGACTG- GCACATGACGACACCTTGAGAGCAGAAGGCTGGGTGAGATGGAGACGCGCGCG- CGGCGACTCCGGCGAGGCGCGCGCGGCGGTTGGCGCGGTGGGGAGTCTGCGTGTG- CGACTGCCCGGAGCAGAGCTCGGGTGGGGGGTGGCGGATCGCGCGCACGCGCGGA- GAGGAACGCGCACCGCGCGCACGTGGAAGGGTTCTCAGCTTCGACCTCGGCAAGG- GCGGACGGTCGCGCGCGGCTCGTCATCGCCATGGACGGCGACAGCGCGACGCC- GGCGCTGGTGTGAGGTCTGTCGTGGCTCATGTGACGCCGGTGTCAAACCTTGCCCGT- TCTTCCCTTCATGCCGGTGTGTTTTGGTTTTTGTCTGAAATCTGTTGCAGATATAATAA- GCGTACGTGACAAATGCCCTCCTCAATTTACACCTGAGTGAGATTTCATTTTCTTTT- GCTTTTTGAGGGATTTTTTTTTTACCAACCAACATATCGATCGTCGCTTGCTTTAGATAG- CAAAAGGGAACCTGAATTTGAGTAAATTTGATAACACCTTTAACTTTTTGTCCAAAAGT- GCCAAGTTAATTGTAATCTGTAGCTCTCAGAAATTTGAGCTAAAGTTGCCATTCTT</p>
SCDS	<p>ATGGCCGCTCCTCCTCCAACCCACGCCTCTGCTGCTGCCACCGCCGCCGCGC- CGCAAGAGCCCCGCGCCTCTGTGCGCCGCCGCCGCCGCTGCCTACGCCGAAGCC- GATCCCCACCGTCGCCGACAACCTCCGCAGCCTGTCAAGTCCGGCGAGGCGC- TCCTCCGCTTCGCTTCCGCGGCAACTCCGGCCAATTGACTACCCGGCATCCGCC- TCCGCTCGGCCGCCGCCGAGCAGCAGCATCCCCACCACCACAACCGCCCG GCTGAGATCATGAAGCGGCTGCAGCGGGAGAAGTTCCGCCGACATGATCAAGCACAT- GGACGGGCACGAGCAGATCGACCGCCTCGTCGCGCTGTACACGAGCAGCGCAAG- GGGTTCCACCTCCCGAGCTCCCGTCCGGGTGAAGGTGCACCTCGACGCGCGCG- GCGCGCTGCTCCTCGTCGACGGCGACGAGCTCGAGCAGGCGAGGGACAGGCTCGC- CAAGGCCAGGAACACGACGGGGCTCGGCTCCAGGTTCTGTGTTTCGAGTTCGAGCACC- CGTGGCGGCAAGGACACCGTCGCCCGGAGCTGCCACCGGGCTGCGGGCGCGG- GCGGCGGCGGCGCGCGGAGGCCACTGGAGCTCACCCGGCTGCAGTACTGC- GCCACGTGACGACCTGCTGTGATGACCCTCGTCCCGTTTGGCGCCAGTGCAA- CAACTCTTTCGACGTTTCGAGCCTGATCCAGAGTATCCAGAGCAGAGCGCTGTCCGG- CGGGCGCGCGCGCGCGCGGCAATGGCGATCACGAGGTGCCCAACCGGTTGACGAC- GTTCCGCAAGGTGAGCTACGAGACGGCCGACGACATCAAGCTCAGCTTGTCCGGG- GTGGCAGTCCGCTCGCTTCCGAGCGTCATGACTGCGCGCGCGTGCAGCATCAAGG- GATCAAGATTCAAGGCCTCCATAGCTGAGCTGATCTTTGGTTCTCCAGGCGAACATG- GCGGCGGCGGCGGCGGCGGCAATGGCGATCACGAGGTGCCCAACCGGTTGACGAC- GTTCCGCAAGGTGAGCTACGAGACGGCCGACGACATCAAGCTCAGCTTGTCCGGG- GTGGCAGTCCGCTCGCTTCCGAGCGTCATGACTGCGCGCGCGTGCAGTACTGCGCG- GCCGCTGGGCAGCCTGAAGACGCGGAGAGCCATCGTCTCCTCCTCGTCGCCGCCG- CGACGACGCATCCTCCTCGTCGCCGACCTGATGGTGCAGGTGCCGGCGCCTCCT- GTCCTCCCACCCCATGATGGGTATAGGGTCGACGGTGGCGGTGCGAGGCTCCGTT- GCCGCCGCGCGCGCGCGCGGCAATGGCGATCACGAGGTGCCCAACCGGTTGACGAC- TGGACTGCGACATGTACGACACCTTGAGAGCAGAAGGCTGGGTGAGATGGAGACGG- CGGCGGCGGCGACTCCGGCGAGGCGGCGCGCGGCGGTTGGCGCGGTGGGGAGTCT- GCGTGTCCGACTGCCCGGAGCACGAGCTCGGGTGGGGGTTGCCGATCGGCGGCGAC- GGCGAGAGGAACGCGCACCGCGCGCACGTGGAAGGGTTCTCAGCTTCGACCTCG- GCAAGGGCGGCGAGGGTGCAGCCGGGCTCGTCTCGCCATGGACGGCGACAAGCG- GACGCCGCGCTGGTGTGAGGTCTGTCGTGGCTCATGTGA</p>

SP	MAASSNPTPLLLPPPPPPQEPAPLSPPPLPTPKIPTVADNFR-SLLRSGEALLRFAFRGNSGQLTHRHPPPPRPPQQQHPHHNRPAEIMKRLQREKFADMIKHMDGHEQIDRLVALYTSSAKGFHLPE-LPVRVKVALDAAGALLVDGDELEQARDRLAKARNTTGLGSRFVFESSTRGGKDTVA-AELATGLGAAAAAAGGRPLELTRLQYCAHVSDLLSMTLVFPGAQCNNFLHGSSLIQSIQSRALSGGPPSYSERHDCGAGVSIKGSRFRASIAELIFGSPGEHGGGGGGGGNGDHE-VPNRLTTFGKVSYETADDIKLSLSGLWQVRSPASRFDL GALAVPLGSLKTRRAIAPPPS-PPATTHPPPSDLMVQVPAPPAPPTMMGIGSTVAVQGSVAAAAAATAPSSHTVAVMVD-CDMYDTLRAEGWVEMETAAAATPARRRGPVARWGVVCVSDCPEHELGWGVRIGGTAER-NAHRPHVEGFSLFDLKGKGRVQPGGLVIAMDGDKRTPALVLRSSWLM*
FG	expressed protein

Tabela 8. Informações genômicas do gene LOC_Os05g50910, identificado pelo marcador SNP S05_29213630

4 I CONCLUSÕES

Dos oito marcadores SNPs, cinco foram encontrados em genes para a cultura do arroz. Esses genes possuíam as funções de: proteína hipotética (LOC_Os01g49070, S01_23885433); função relacionada a calmodulina (LOC_Os03g06570, S03_3311741); domínio de proteína quinase (LOC_Os04g45920, SNP S04_27195948); proteínas G (LOC_Os05g50910, SNP S05_29213630); domínio de ligação ARK (LOC_Os09g30070, S09_18281732) e expressão de proteínas (LOC_Os10g30210, SNP S10_15699535).

Somente os marcadores SNP S05_28201815 e SNP S08_22353023 não foram identificados em genes no genoma da cultura, porém, os mesmos podem ter potencial futuramente para uso na seleção assistida por marcadores (SAM) para a cultura do arroz.

Os genes identificados podem ser de interesse de melhoramento para a cultura do arroz ou para outras culturas, pois diretamente ou indiretamente estão relacionados a tolerância à fatores abióticos, como tolerância à seca. Se considerarmos o plantio de arroz de terras altas no estado do Piauí, o caráter tolerância à seca é um dos mais importantes a serem estudados, pois a irregularidades de chuva no estado faz com que ocorra baixas produtividades da cultura no estado.

REFERÊNCIAS

BOUCHÉ, N.; YELLIN, A.; SNEDDEN, W. A.; FROMM, H. Plant-specific calmodulin-binding proteins. **Annu. Rev. Plant Biol.**, v.56, p.435–466, 2005.

CHAVES, M. M.; OLIVEIRA, M. M. Mechanism's underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 55, n. 407, p. 2365-2384, 2004.

CHINPONGPANICH, A. *et al.* Expression analysis of calmodulin and calmodulin-like genes from rice, *Oryza sativa* L. **BMC Research Notes**, v.5, p. 625, 2012.

- DROILLARD, M. J. *et al.* Protein kinases induced by osmotic stresses and elicitor molecules in tobacco cell suspensions: Two crossroad MAP kinases and one osmoregulation-specific protein kinase. **FEBS Letters**, v.474, p. 217–222, 2000.
- FALEIRO, F. G. **Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. 1. ed. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007. 102 p.
- JIN, Y.*et al.* Rice male development under drought stress: phenotypic changes and stage-dependent transcriptomic reprogramming. **Molecular Plant**, v.6, p.1630-1645, 2013.
- LI, Z. *et al.* QTL mapping of root traits in a doubled haploid population from a cross between upland and lowland japonica rice in three environments. **Theor. Appl. Genet**, v.110, p. 1244–1252, 2005.
- PANDEY, S. Heterotrimeric G-protein signaling in plants: conserved and novel mechanisms. **Annual Review of Plant Biology**, v. 70, p. 213-238, 2019.
- RAO, N. K. Plantgenetic resources: advancing conservation and use through biotechnology. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 3, n. 2, p. 136-145, 2004.
- SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, p.221-227, 2007.
- SILVA, O.F. da (2020). Dados conjunturais do arroz (área, produção e rendimento). Brasil- 1986 a 2020* Disponível em: <www.cnpaf.embrapa.br/socioeconomia/index.htm>. Acesso em 11 de julho de 2022.
- SINGH, U. *et al.* Molecular markers and their applications in cattle genetic research: A review. **Biomarkers and Genomic Medicine**, v. 6, n. 2, p. 49-58, 2014.
- SOSBAI - SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO. **Arroz irrigado: Recomendações Técnicas da Pesquisa Para o Sul do Brasil/XXXII**. Reunião Técnica da Cultura do Arroz Irrigado. Farroupilha, RS: SOSBAI, 2018. 205p.
- URANO, D.; JONES, A. M. Heterotrimeric G protein-coupled signaling in plants. **Annual Review of Plant Biology** v. 65, p. 365-384, 2014.
- VIDAL, M.S. *et al.* **Déficit hídrico: aspectos morfofisiológicos**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2005. 19p. (Embrapa Algodão. Documentos, 142).
- LIU, C.G.; ZHANG, G.Q. Single nucleotide polymorphism (SNP) and its application in rice. **Yi Chuan**, v. 28, p. 737-44 2006.
- XIE, K. *et al.* Direct Phosphorylation and Activation of a Mitogen-Activated Protein Kinase by a Calcium-Dependent Protein Kinase in Rice. **Plant Cell**, v. 26, n. 7, p. 3077-3089, 2014.
- YAMBAO, E. B. *et al.* Root xylem influence on the water relations and drought resistance of rice. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 43, n. 252, p. 925-932, 1992.
- YANG, T.; POOVAIAH, B. W. Calcium/calmodulin mediated signal network in plants. **Trends Plant Science**, v.8, p. 505-512, 2003.

ZHAO, Y. *et al.* Rice extra-large G proteins play pivotal roles in controlling disease resistance and yield-related traits. **New Phytologist**, v. 234, n. 2, p. 607-617, 2022.

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA ADICIÓN DE GEL DE ALOE (*Aloe barbadensis miller*) EN LAS CARACTERÍSTICAS DEL YOGURT

Data de submissão: 26/07/2023

Data de aceite: 02/10/2023

Baldiris Corrales Jose Alberto

Universidad Del Sinú seccional Cartagena
Cartagena de Indias, Bolívar, Colombia
<https://orcid.org/0009-0008-1696-1099>

Martínez Medrano Ana Beatriz

Universidad de Sucre
Sincelejo, Sucre- Colombia
<https://orcid.org/0000-0002-5969-4081>

Guzmán Diaz Natalia Paola

Universidad de Sucre
Sincelejo, Sucre- Colombia
<https://orcid.org/0000-0002-6918-1183>

Navaja Galindo Laddys

Universidad Del Atlántico
Barranquilla- Atlántico, Colombia

Supelano Rincón Mónica.

Universidad Del Atlántico
Barranquilla-Atlántico, Colombia

RESUMEN: El yogurt como derivado lácteo va en aumento del interés de la industria de alimentos requiriéndose encontrar con nuevas fuentes vegetales con un alto contenido de nutrientes para adicionar y aportar beneficios para la salud de los consumidores que influyen positivamente en nuestro organismo. El objetivo de esta

investigación es evaluar el comportamiento en el proceso de elaboración yogurt, al cual se le adiciono sábila (*Aloe Barbadensis miller*) Para lograr este objetivo se realizó un análisis proximal (proteína, grasas, minerales) además se realizó un análisis sensorial, desarrollándose una prueba de preferencia, los resultados obtenidos se analizaran con un análisis de varianza con un software Statgraphics Centurion XVI. Con respecto a los contenidos de proteína, grasa acidez, para los diferentes tratamientos no hubo diferencias significativas, para esto se cuenta con un nivel de confianza del 95.0%. Además se determinó que la cantidad de proteína resultante para el yogurt con sábila es superior a la cantidad mencionada por la Norma Técnica colombiana 805, cuyo valor es de 2,6%. En la evaluación sensorial se encontró que el yogurt de sábila preferido por los consumidores en fue el elaborado con el 5% de gel de sábila (80%), sobre el yogurt de 10% de gel de sábila (40%) y el de 15% de gel de sábila (55%). Los resultados obtenidos del análisis microbiológico con respecto a los coliformes se encuentran dentro de los parámetros establecidos por la norma técnica colombiana NTC 805, así mismo los recuentos de hongos y levaduras se encuentran en el índice permisible; para

identificar nivel de buena calidad, lo cual lo hace apto para consumo humano.

PALABRAS CLAVE: proteína, sensorial, aceptación, fermentación, leche.

EVALUATION OF THE EFFECT OF THE ADDITION OF ALOE GEL (*Aloe barbadensis miller*) ON THE CHARACTERISTICS OF YOGURT

ABSTRACT: Yogurt, as a milk derivative, is increasingly gaining interest in the food industry, leading to a search for new plant sources with high nutrient content to add and provide health benefits to consumers that positively influence our bodies. The objective of this research is to evaluate the behavior in the yogurt production process by adding aloe vera (*Aloe Barbadensis Miller*). To achieve this objective, a proximal analysis was conducted (protein, fats, minerals), as well as a sensory analysis with a preference test. The obtained results were analyzed using variance analysis with Statgraphics Centurion XVI software. It was observed that there is no significant difference in protein, fat, and acidity parameters between the two yogurts. Regarding the protein, fat, and acidity contents for the different treatments, there were no significant differences, with a confidence level of 95.0%. Additionally, it was determined that the protein content in the aloe vera yogurt is higher than the value mentioned in the Colombian Technical Standard 805, which is 2.6%. Regarding the sensory evaluation, it was found that consumers preferred the aloe vera yogurt made with 5% aloe gel (80%) over the ones with 10% aloe gel (40%) and 15% aloe gel (55%). The results of the microbiological analysis, specifically concerning coliforms, meet the parameters established by the Colombian Technical Standard NTC 805, and the counts of fungi and yeasts are within the permissible range, indicating good quality and making it suitable for human consumption.

KEYWORDS: protein, sensory, acceptance, fermentation, milk.

1 | INTRODUCCIÓN

El yogurt es considerado un alimento fundamental para la salud, debido que es un producto del grupo probiótico, los cuales contienen varias colonias de Microorganismos vivos que influyen positivamente en nuestro organismo. La palabra probiótico significa “por la vida”. Los probióticos son alimentos con microorganismos vivos adicionados que permanecen activos en el intestino que al administrarse en cantidades adecuadas confieren un beneficio a la salud. (Spreer, 2003). Además, es un excelente antialérgico: al depurar los intestinos, reduce o desaparece las alergias provocadas por un organismo intoxicado. Su alto contenido en calcio y proteínas de alta calidad, vitaminas e hidratos de carbono, restaura enormemente las defensas del organismo (Beltrán, 2009).

Según la NTC 805 hay varios tipos de yogurt como consecuencia a su proceso de elaboración como afanado, batido y líquido, de acuerdo con el contenido de materia grasa como entera, parcialmente descremada y descremada, según se le adicione o no edulcorante las leches fermentadas pueden ser: Sin dulce o con dulce.

Debido a sus características y propiedades, el yogurt se ha convertido en uno de los alimentos lácteos más apetecidos del mundo gracias a la variedad de sabores y

presentaciones que existen en el mercado adquiriendo mayor importancia en la alimentación actual, especialmente en la industria de productos lácteos fermentados. El yogurt como derivado lácteo va en aumento del interés de la industria de alimentos requiriéndose encontrar con nuevas fuentes vegetales con un alto contenido de nutrientes para adicionar y aportar beneficios para la salud de los consumidores. La sábila como recurso natural que se encuentra localizado en varios departamentos: Atlántico, Antioquia, Cundinamarca, Guajira, Magdalena, Tolima, Santander, Valle del Cauca y la Región Cafetera no es aprovechado a pesar de ser una buena fuente de características nutricionales tales como aminoácidos, vitaminas, enzimas y minerales (García, 2009).

Actualmente la tecnología de elaboración de yogurt está al alcance de todo el mundo y se produce en forma industrial o artesanal, es un alimento de origen biológico, que se obtiene de la fermentación láctica ácida de la leche, debida al *Lactobacillus bulgaricus* y el *Streptococcus thermophilus*. Dentro de sus propiedades se encuentran: Estabilizar la flora intestinal, favorecer la absorción de las grasas, combatir enfermedades gastrointestinales, facilitar la asimilación de nutrientes, disminuir el colesterol y reducir los efectos negativos de los antibióticos (Rosales, 2006).

En Colombia ha aumentado el interés de la industria de alimentos en encontrar nuevas fuentes vegetales con un alto contenido de nutrientes, para adicionar a sus productos y aportar beneficios para la salud de los consumidores. (Trejo, 2014). Una alternativa a lo anterior la elaboración de yogurt con adición de sábila (*Aloe barbadensis miller*), un producto preparado a partir de la leche al cual se le adiciona gel de aloe; Investigaciones científicas realizadas sobre la composición y las propiedades del Aloe vera, demuestran que posee características y propiedades específicas y beneficiosas para la salud y nutrición humana, considerado como materia prima o ingrediente principal en la elaboración de alimentos. Consecuentemente, el Aloe vera se convierte en una excelente fuente de productos químicos nutricionales para el desarrollo y comercialización de nuevos productos.

Con la realización del yogurt con sábila se pretende brindarles a los consumidores un alimento natural, saludable e innovador; cumpliendo con las normas sanitarias e higiene indispensable para la producción de un alimento de calidad; así mismo teniendo como objetivo evaluar las propiedades bromatológicas (acidez, porcentaje de extracto seco, grasa, densidad, proteína, pH, cenizas, viscosidad y microbiológico) y sensoriales del yogurt, adicionando las diferentes concentraciones (5%, 10% y 15%) de gel de sábila, elaborando así un alimento innovador en el sector lácteo colombiano (Navaja, Supelano, 2014).

2 | MATERIALES Y METODOS

Para la elaboración del yogurt con sábila (*Aloe vera barbadensis Miller.*) adicionado con tres (3) concentraciones de gel Aloe 5%, 10% y 15%. Se llevaron a cabo las siguientes

etapas:

Recepción de la materia prima. Se empleó leche entera, se realizaron pruebas de recepción y controlar la calidad de la misma (Análisis organoléptico: olor y color, Acidez por titulación, Densidad y Prueba de alcohol).

Pasteurización: la leche se pasteurizó a una temperatura de 85° C durante un periodo de 5 minutos, con el objetivo de destruir los microorganismos perjudiciales, sin afectar las cualidades sensoriales y nutritivas de la leche.

Enfriamiento: posteriormente fue enfriada a una temperatura aproximada de 43°C, con la ayuda de un baño de maría con agua fría.

Inoculación: Para la inoculación se utilizó cultivo comercial liofilizado YO-MIX Danisco ® con adición directa.

Incubación: la leche inoculada se conservó a una temperatura promedio de 42°C durante 6 horas, se agito el producto cuando obtuvo un coagulo medianamente firme y un pH de 4,8.

Elaboración y preparación del gel de sábila. Para las etapas de adecuación y preparación del gel se tuvieron en cuenta las metodologías descritas por Cullanco (2014). La penca de la sábila se adquirió en un supermercado local, luego se realiza un lavado con agua y desinfección con una solución de hipoclorito de sodio al 0.1% durante 30 segundos, posteriormente se enjuagó; seguidamente se secaron y cortaron en la base de la penca para eliminar el contenido de aloína de la misma. Se retiraron las capas exteriores que visten la hoja de sábila y se extrajo el gel, el cual fue enjuagado varias veces con agua y empacado en bolsas herméticas, posteriormente conservados en refrigeración a una temperatura inferior a 5° C (figura 1 y 2).

A cada tratamiento se adiciono el gel de sábila en sus diferentes concentraciones (5%,10%,15%).



Figura 1

Preparación del gel



Figura 2

Extracción del gel de aloe

Envasado y refrigeración. Se vertió el yogur en recipientes de plástico (200 ml). Los envases se esterilizaron previamente en agua caliente por un tiempo de 5 minutos, luego se refrigeró el producto entre 2- 5°C.

Al momento de tener el producto terminado, se evaluaron los siguientes parámetros fisicoquímicos: acidez, sólidos solubles totales (**°Brix**), sólidos no grasos, grasa, densidad, proteína, pH, cenizas. Se realizaron también análisis microbiológicos y sensoriales para determinar el grado de aceptabilidad del yogurt con sábila.

Cenizas (Método Gravimétrico). se introdujo un crisol limpio y seco en una mufla a 550°C por 1 hora; después de este tiempo, la muestra fue llevada a un desecador hasta que disminuya su temperatura. Luego se pesó el crisol en una balanza analítica y se registró como (C1), seguidamente se pesó 5g del yogurt y se registró como C2; finalmente se colocó la muestra en un mechero para después introducirla a la mufla hasta alcanzar los 600°C y obtener unas cenizas grisáceas, después se enfrió la muestra en la desecadora, para luego pesar y registrar como C3. Aplicando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Ceniza} = \frac{C3 - C1}{C2 - C1} \times 100$$

Acidez (Método volumétrico). Para esta prueba se utilizaron 10g de yogurt, en un Erlenmeyer, adicionándole 3 gotas de fenolftaleína. Se realizó una titulación con hidróxido de sodio (0,1N) previamente estandarizado, hasta que la solución tomó un color rosado ligero.

Densidad: Se vertió yogurt en una probeta a una temperatura de 20°C, luego se introdujo el aerómetro de modo que ocupara la parte central del líquido, se esperó que se estabilizara el aerómetro para luego leer la densidad.

pH (Potenciómetro). Para realizar esta prueba se utilizó un potenciómetro, el cual fue calibrado previamente con buffer pH= 4 y pH= 7. El valor se obtuvo introduciendo

directamente el electrodo dentro de la muestra.

Porcentaje de extracto seco. Esta prueba consistió pesar los crisoles en una balanza analítica registrándose como C1; teniendo el peso de los crisoles se procedió a colocar de 10 gramos de cada muestra de yogurt en los crisoles registrándose como C2. Luego se ubicaron en la estufa de desecación en una temperatura de 110- 130°C por 1 hora, después de este tiempo se retiró los crisoles de la estufa se situaron en el desecador para enfriarlos y pesarlos, registrándolo como C3. Para determinar el porcentaje de extracto seco, se utiliza la siguiente ecuación:

$$\% \text{Extracto seco} = \frac{C3 - C1}{C2 - C1} \times 100$$

Proteína (Método kjendahl). La realización de este método consto de tres partes: digestión, destilación y titulación tomando un alicanto con indicador de toschiro, hasta pasar del color verde al azul y gota a gota hasta el incoloro. Finalmente se realizó una experiencia con un blanco que contenía todos los reactivos menos la muestra. La cantidad de proteína se obtuvo mediante la siguiente formula:

$$\%N = \frac{(\text{mL HCL gastado} - \text{mLde HCL blanco})N \text{ HCL} \times 1.4}{\text{peso de la muestra}}$$

Materia grasa (Método Soxhelt). Consistió en secar 5g de muestra en una estufa a 40°C por 5 horas después se cubrió la muestra con un papel filtro y se colocó en un dedal, seguidamente se ubicaron los dedales en la unidad de extracción. Luego se pesó un matraz de ebullición y se agregó 150ml de éter de petróleo, se ensambló el matraz de ebullición, el matraz de soxhelt y el condensador. Después de cierto tiempo se extrajo la grasa de la muestra en el extractor de soxhlet a una velocidad de condensación de 5 a 6 gotas por segundo calentando el solvente en el matraz de ebullición. Finalmente se dejó secar el matraz de ebullición con la grasa extraída en un horno de secado por 100°C durante 30 minutos. se dejó enfriar el matraz de ebullición en un desecador para luego pesar el matraz de ebullición con el resto de la muestra. El porcentaje de grasa se calculó por medio de la siguiente formula:

$$\% \text{ Grasa} = \frac{\text{g matraz final} - \text{g matraz inicial}}{\text{g de muestra}} \times 100$$

Análisis microbiológico. A las muestras de yogurt se le realizó recuento de coliformes totales y recuento de mohos y levaduras. Para ambos análisis se utilizó la técnica "Pour Plate" o vertido en placa. Estas pruebas se realizaron cumpliendo como lo exige la NTC 805 Productos lácteos leches fermentadas.

Evaluación sensorial. Se realizó a través de un grupo de 20 panelistas no entrenados, quienes evaluaron cuatro características del yogurt con sábila utilizando una escala hedónica verbal de 5 grados de intensidad del parámetro a evaluar. Siendo sabor,

aroma, color y viscosidad las características evaluadas. De igual modo se realizaron pruebas de preferencia para determinar cuál fue el tratamiento con mejor aceptación entre los panelistas.

Se realizó un análisis estadístico con el software estadístico Statgraphics Centurion XVI. Se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) y un análisis LDS (Pruebas de Múltiple Rangos) con un nivel del 95.0% de confianza.

3 I RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis fisicoquímicos

De los parámetros analizados en el yogurt con sábila (*Aloe vera barbadensis miller*.) se seleccionaron tres (porcentaje de grasa, contenido de proteína, y porcentaje de acidez), para realizar una comparación con los requisitos fisicoquímicos de la norma técnica colombiana NTC 805 para productos lácteos leches fermentadas (Tabla 1,2 y 3).

PARAMETRO	RESULTADO	
	YOGURT 5%	NTC 805
Proteína	2.7%	2.6%
Ceniza	0.69%	-
Grasa	2.8%	2.5%
pH	4.94	-
Acidez	0.7% AL	0,6 %AL
Porcentaje de extracto	18.11%	-

AL: porcentaje de ácido láctico

Tabla 1. Resultado del análisis fisicoquímico del yogurt con sábila (*Aloe Vera barbadensis miller*) con una concentración del (5%) de gel de sábila.

PARAMETRO	RESULTADO	
	YOGURT 10%	NTC 805
Proteína	2.7%	2.6%
Ceniza	0.70%	-
Grasa	2.9%	2.5%
Ph	4.98	-
Acidez	0.7% AL	0.6% AL
Porcentaje de extracto seco	18.12%	-

AL: porcentaje de ácido láctico

Tabla 2. Resultado del análisis fisicoquímico del yogurt con sábila (*Aloe vera barbadensis miller*) con una concentración del (10%) de gel de sábila.

Comparación de los parámetros acidez, grasa y proteína en el yogurt con sábila con la NTC 805 en una concentración de 10% de gel de sábila.

PARAMETRO	RESULTADO	
	YOGURT 15%	NTC 805
Proteína	2.12%	2.6%
Ceniza	0.72%	-
Grasa	3%	2.5%
pH	5.02	-
Acidez	0.6% AL	0.6% AL
Porcentaje de extracto seco	18.13%	-

AL: ácido láctico

Tabla 3. Resultado del análisis fisicoquímico del yogurt con sábila (*Aloe Vera Barbadensis miller*) con una concentración del (15%) de gel de sábila.

Realizando la comparación con la norma 805 y los resultados obtenidos en el laboratorio nos damos cuenta que para las concentraciones de 5 y 10% de sábila (*Aloe vera barbadensis miller*) no hubo diferencias significativas en cuanto a los tres parámetros (proteína, grasa y acidez) seleccionados con un nivel de confianza del 95.0%.

A diferencia del yogurt con una concentración del 15%, realizando la comparación nos damos cuenta que la concentración de proteínas en el yogurt y el enriquecimiento de la misma con gel de sábila, dieron lugar a porcentaje mayor de proteína en el producto. La cantidad de proteína resultante para el yogurt con sábila es superior a la cantidad mencionada por la Norma Técnica colombiana 805, cuyo valor es de 2,6%.

Análisis microbiológico

REQUISITOS	REPORTE (UFC/g)		
	Yogurt al 5% adición de gel	Yogurt al 10% de adición de gel	Yogurt al 15% de adición de gel
Recuento de coliformes totales	Negativo	Negativo	Negativo
Recuento de coliformes fecales	Negativo	Negativo	Negativo
Recuento de mohos y levaduras	Negativo	Negativo	Negativo

UFC: unidades formadoras de colonias

Tabla 4. Resultado del análisis microbiológico del yogurt con sábila (*Aloe vera barbadensis miller*.)

Respecto a cada uno de los índices que la norma establece, el resultado es negativo, esto quiere decir que no hay presencia de microorganismos patógenos que puedan causar algún tipo de intoxicación alimentaria, de donde se deriva que el producto es inocuo y apto para el consumo de la población objetivo.

Análisis sensorial

COLOR					
Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,433333	2	0,216667	0,31	0,7327
Intra grupos	39,5	57	0,692982		
Total	39,9333	59			
VISCOSIDAD					
Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,433333	2	0,216667	0,28	0,7539
Intra grupos	43,5	57	0,763158		
Total	43,9333	59			
SABOR					
Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,3	2	0,15	0,27	0,7623
Intra grupos	31,35	57	0,55		
Total	31,65	59			

Tabla 5. Resultados de ANOVA para atributos sensoriales

El producto elaborado para que tenga una buena aceptabilidad debe cumplir con una serie de características de calidad e inocuidad, que impresione fácilmente a los sentidos de la vista, gusto y olfato de las personas que la consumen para dar un resultado satisfactorio. Se utilizó para la degustación tres muestras de yogurt con diferentes concentraciones (5%, 10% y 15%) de aloe vera.

Las características de color, viscosidad y sabor no fueron diferenciadas entre las concentraciones (5,10 y 15%), lo cual indica que estas variables no influyeron sobre la preferencia de los consumidores.

A partir de la prueba de preferencia y los resultados obtenidos de las características sensoriales (color, viscosidad y sabor) se determinó que el yogurt con sábila a una concentración del 5%, fue el preferido por los consumidores

4 | CONCLUSION

De acuerdo con los resultados fisicoquímicos de proteína, grasa y acidez realizadas en el laboratorio y comparados con la NTC 805 no existe diferencia significativa entre estas, sin embargo el yogurt con un 15% de gel de sábila tiene un mayor porcentaje de proteína en comparación con lo establecido en NTC 805.

El yogurt de sábila (*Aloe Vera Barbadosensis miller.*) en sus diferentes concentraciones

5%, 10% y 15% de gel de sábila cumple con lo establecido en la norma NTC 805.

Los consumidores del yogurt con sábila, no encontraron diferencia en ninguna de las concentraciones con respecto a sabor, color y viscosidad.

El Yogurt con concentración de sábila (*Aloe Vera Barbadensis miller*) del 5% fue el preferido por los consumidores

Los análisis microbiológicos realizados en el yogurt con sábila evidencian que este cumple con los requisitos de la norma NTC 805 para leches fermentadas.

REFERENCIAS

Andrade R, Arteaga M y Simanca M. 2010. **Efecto del Salvado de Trigo en el Comportamiento Reológico del Yogurt de Leche de Búfala**. Información Tecnológica Vol. 21(5), 117-124 (2010) doi:10.1612/inf.tecnol.42771it.09.

Association of Official Analytical Chemists. **Manual of Official Methods of Analysis A.O.A.C.** 1995. 16th edition, ed. By Hoorwitz, N., Chialo, P. and Reynolds, H. Benjamín Franklin., Station, Washington.

Beltran. 2009. El yogurt y sus propiedades. Edición Madrid

Cullanco, W. 2014. **Evaluación del efecto de la adición de sábila en las características organolépticas del yogurt funcional en Acobamba- Huancavélica**. Tesis para optar el título de ingeniero Agroindustrial.

Domínguez-Fernández, R.N., Arzate-Vázquez, I., Chanona-Pérez, J. J., Welti-Chanes, J. S., Alvarado-González, J. S., Calderón-Domínguez, G., Garibay-Febles, V., & Gutiérrez-López, G. F. (2012). **El gel de Aloe vera: estructura, composición química, procesamiento, actividad biológica e importancia en la industria farmacéutica y alimentaria**. *Revista mexicana de ingeniería química*, 11(1), 23-43. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382012000100003&lng=es&tlng=es.

García, 2009. Los 100 componentes activos del Aloe Vera.

Navaja, Supelano 2014. **Elaboración de un yogurt con sábila (*aloe Barbadensis miller*) y su caracterización bromatológica y sensorial basado en la norma NTC 805**. Tesis previa para optar el título de Ingeniero Agroindustrial.

ICONTEC. 2005. **Norma técnica colombiana NTC 805 productos lácteos leches fermentadas. *Formato Documento Electrónico(APA)**

Rosales, 2006 **Manual Práctico de Industrias de Alimentos**.

Spreer, E. 2003 **Productos lácteos fermentados yogurt**, Lactologia industrial.

Trejo, 2014 **Elaboración de yogur batido adicionando cuatro concentraciones de gel de sábila (*aloe barbadensis miller*) y su influencia en el crecimiento de la población microbiana**. Tesis previa a la obtención del título de: ingeniera agroindustrial.

POLIFENOLES Y ANTIOXIDANTES EXÓGENOS

Data de aceite: 02/10/2023

Rafael Manuel de Jesús Mex-Álvarez

Patricia Margarita Garma-Quen

María Magali Guillen-Morales

David Yanez-Nava

José Luis Kantún-Haas

María Isabel Novelo-Pérez

Roger Enrique Chan-Martínez

Edwin Román Chulin-Canul

INTRODUCCIÓN

Los antioxidantes exógenos se oxidan al neutralizar especies reactivas como los radicales libres, por ello deben reponerse continuamente para no depletarse; los compuestos antioxidantes ingresan al organismo humano mediante la ingestión de alimentos que los contienen. Los antioxidantes exógenos más conocidos son: la vitamina C, la vitamina E (α -tocoferol), la vitamina A y el β -caroteno.

La vitamina C también se conoce como ácido ascórbico, se localiza en el citosol y en los fluidos extracelulares y tiene la capacidad de aceptar electrones y reaccionar directamente con el anión superóxido, el radical hidroxilo y algunos hidroperóxidos lipídicos, además de actuar sobre el tocoferoxilo para transformarlo en vitamina E.; asimismo, destruye eficazmente las nitrosaminas a través de procesos radicalarios y se le atribuye un efecto anticarcinógeno frente al humo del tabaco y de inhibición de la invasión tumoral. Sin embargo, el ascorbato puede

RESUMEN: Los antioxidantes ayudan a preservar los sistemas biológicos sujetos al estrés oxidativo como consecuencia de su metabolismo y a la exposición al oxígeno; aunque muchos antioxidantes son sintetizados por el organismo humano, también deben ingerirse antioxidantes en la dieta para poder mantener el equilibrio entre las especies oxidantes generadas y la capacidad del sistema biológico para neutralizarlas. Los principales antioxidantes exógenos son las vitaminas C y E así como compuestos polifenólicos ingeridos principalmente en alimentos de origen vegetal.

llegar a ser un potente prooxidante cuando se encuentran presente en concentraciones excesivas de iones hierro y cobre.

Por su parte, la vitamina A se encuentra en las membranas e impide la lipoperoxidación al reaccionar con el oxígeno singlete (1O_2) y el radical hidroxilo ($\cdot OH$); en cambio, la vitamina E se localiza en las membranas biológicas y su principal función es evitar la propagación de la peroxidación de lípidos. La isoforma más abundante de la vitamina E es el α -tocoferol que se caracteriza por presentar en su estructura un grupo hidroxilo cuyo átomo de hidrógeno puede removerse fácilmente; los radicales peroxilo formados durante la lipoperoxidación tienen una mayor afinidad por el α -tocoferol que por las cadenas de los ácidos grasos adyacentes, la reacción convierte al α -tocoferol en un radical que es poco activo e incapaz de reaccionar con otros ácidos grasos, y de esta manera detiene la cadena de reacciones de la lipoperoxidación; aquí interviene la vitamina C para reestablecer la forma antioxidante de la vitamina E y para neutralizar los radicales superóxidos, hidroxilo y perhidroxilo.

El β -caroteno actúa directamente como atrapador del oxígeno simple y de lipoperóxidos, también puede ser transformado a vitamina A en el intestino humano y además puede neutralizar al oxígeno singlete; tanto el β -caroteno como la vitamina A son antioxidantes solubles en lípidos y tienen la posibilidad de unirse a las diferentes especies reactivas de oxígeno; el β -caroteno se ubica en el interior de las membranas, o en las lipoproteínas del citoplasma.

ANTIOXIDANTES NATURALES

En los últimos años, el uso de antioxidantes naturales se ha promovido y la investigación sobre antioxidantes naturales se ha centrado principalmente en compuestos fenólicos, en particular, los flavonoides; los compuestos fenólicos son agentes reductores y su potencial relacionado con la salud, le ha atribuido a su capacidad antioxidante, propiedades de gran alcance que pueden proteger al organismo de las reacciones de oxidación causados por radicales libres.

Los polifenoles son compuestos químicos que se encuentran ampliamente distribuidos en las frutas y vegetales; originan una de las clases más importantes de metabolitos secundarios en plantas, en su mayoría derivados de la fenilalanina y en menor cantidad de la tirosina; los compuestos fenólicos están relacionados con la calidad sensorial de los alimentos de origen vegetal, fresco y procesado. Se ha demostrado que los polifenoles dietéticos juegan un papel importante en la salud humana previenen o retrasan enfermedades crónicas, como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, inflamación crónica y muchas enfermedades degenerativas

Los fenoles son compuestos aromáticos que se caracterizan por tener uno o varios grupos hidroxilo unidos directamente al anillo aromático, el comportamiento antioxidante está relacionado con su capacidad para quelar metales, ya sea manteniendo su actividad

catalítica o reduciéndolos. Los compuestos fenólicos son uno de los grupos de metabolitos secundarios más ubicuos que se encuentran en el reino vegetal y son sintetizados por tres vías biosintéticas diferentes: la vía del ácido shikímico que produce los derivados de fenilpropanoides (C6-C3), la vía del acetato-malonato o policétido, que produce propanoides fenilo de cadena lateral, incluidos los flavonoides (C6-C3-C6) y algunas quinonas; la vía del ácido mevalónico genera los compuestos terpenicos mediante hidrogenación.

Los compuestos polifenólicos constituyen un grupo diverso de moléculas que exhiben capacidad antioxidante, entre estas se encuentran los fenoles ácidos y los flavonoides; los primeros, los fenoles ácidos, se caracterizan por contener un solo anillo aromático y son ejemplos de éstos el ácido cinámico y el ácido gálico; los tres grupos más importantes en los que se divide los compuestos fenólicos son: polifenoles, ácidos fenólicos y flavonoides. Sin embargo, existe, una amplia variedad de derivados fenólicos incluyendo fenoles simples, fenilpropanoides, derivados del ácido benzoico, taninos (hidrolizables y condensados), lignanos, y estilbenos

Numerosos estudios han avalado las propiedades biológicas de los polifenoles, estos efectos son fundamentalmente consecuencia de sus propiedades antioxidantes, pueden actuar como antimicrobianos y antimutagénicos, inhiben *in vitro* la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) relacionadas con enfermedades coronarias y protegen al ADN del daño oxidativo, también inhiben la agregación plaquetaria y presentan efectos antiinflamatorios; se ha descrito que poseen actividad anti-tumoral, actuando como inhibidores de procesos celulares cancerígenos, actividad anti-VIH y actúan como protectores frente a la peroxidación lipídica en los glóbulos rojos, igualmente algunos fenoles presentan actividad vasodilatadora y vasoprotectora, así como sus acciones antitrombóticas, antilipémicas, antiateroscleróticas y antiapoptóticas

LOS FLAVONOIDES, UN GRUPO ESPECIAL DE POLIFENOLES

Los flavonoides son moléculas con un esqueleto común de difenilpirano (C6-C3-C6'), constituido por un anillo bencénico fusionado a un pirano y con un fenilo como ramificación (**Figura 1**); el anillo de benceno fusionado se denomina anillo A y se biosintetiza en plantas a través de la ruta de los poliacetatos, mientras que el anillo de benceno ramificado se nombra como anillo B y junto con la unidad C3 proceden de la ruta del ácido shikímico; este anillo está hidroxilado en sus grupos bencenos y, en consecuencias, se clasifican como compuestos polifenólicos.

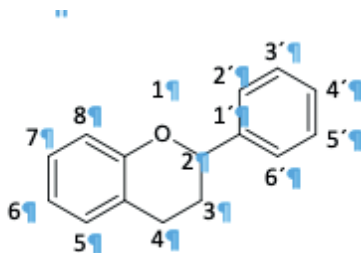


Figura 1. Representación estructural química general de un flavonoide.

Por su estructura y por el color que presentan, los flavonoides se clasifican en antocianinas (pigmentos de color rojo, azul y morado) y en antoxantinas (sustancias incoloras o amarillas) y se subdividen en cinco grupos: flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanoles e isoflavonas (**Figura 2**); dependerá de características particulares de la estructura química para asignarlos en un determinado grupo, principalmente si presenta la insaturación el anillo de pirano y la posición del fenilo como ramificación. (**Tabla 1**), también se diferencian entre sí por las sustituciones que presentan (grupos alquilo, glucósidos, acilos, entre otros).

Nombre		Descripción	Ejemplos
Antocianidinas		Tiene un grupo –OH unido en posición 3, pero además poseen un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C.	Cianidina, delfinidina, pelargonidina, peonidina, malvidina.
Antoxantinas	Flavanol	Con un grupo –OH en posición 3 del anillo C.	Catequina, epicatequina, epigallocatequina
	Flavona	Posee un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y poseen un doble enlace entre los carbonos 2 y 3 del anillo C.	Diosmetina, tangeritina, luteolina, apigenina.
	Flavonoles	Grupo carbonilo en posición 4 y un grupo –OH en posición 3 del anillo C.	Quercetina, kaenferol, rutina.
	Flavanona	Posee un grupo carbonilo en la posición 4 del anillo C.	Narangina, hesperidina, eriodictiol.
Isoflavonas		Tienen el anillo B en la posición 3 del anillo C.	Genisteina, daidzeina, orobol.

Tabla 1. Clasificación estructural de los flavonoides.

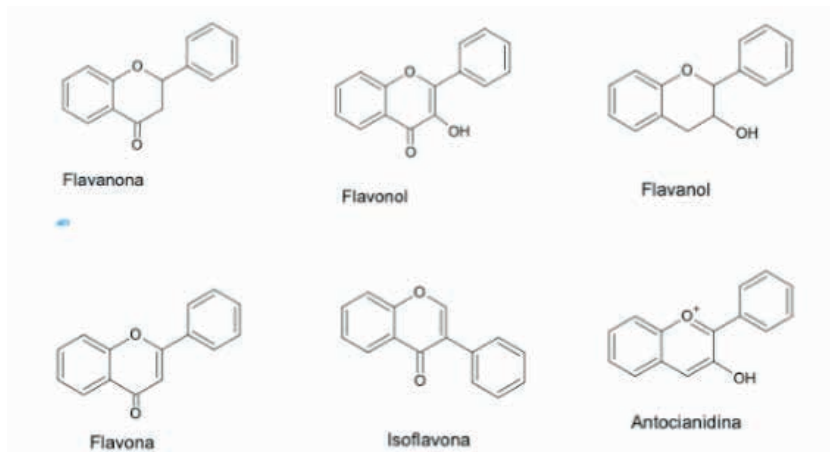


Figura 2. Representación estructural química de las principales clases de flavonoides.

Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo y pueden unirse a polímeros biológicos como son las enzimas, los transportadores de hormonas y el ADN; también pueden quelar iones metálicos transitorios (Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+}), catalizar el transporte de electrones y depurar radicales libres de hecho poseen una mayor capacidad antioxidante que los ácidos fenólicos contra los radicales peróxidos. Los flavonoides se encuentran en numerosos frutos, plantas y semillas de diferentes especies, el valor medio de la ingesta de flavonoides es de 20 mg al día y el principal flavonoide consumido es la quercetina que se encuentra principalmente en el té (*Camellia sinensis*)

ÁCIDOS FENÓLICOS Y TANINOS.

Los ácidos fenólicos son compuestos importantes encontrados en los alimentos pues cerca del 33% de los fenoles dietarios pertenecen a este grupo; se dividen en dos tipos de fenoles ácidos: derivados del ácido hidroxibenzoico y derivados del ácido hidroxicinámico (**Figura 3**), los ácidos hidroxibenzoicos se caracterizan porque tienen en común la estructura C6-C1 e incluyen los ácidos gálico, *p*-hidroxibenzoico, protocatéquico, vanílico y sirínico; el té negro y el vino tinto representan una fuente rica de ácido gálico. Sin embargo, los monohidroxibenzoatos son efectivos para neutralizar radicales hidroxilo.

Por otro lado, los ácidos hidroxicinámicos son compuestos aromáticos con una cadena lateral de tres carbonos (C6-C3), los más comunes son los ácidos cafeico, ferúlico *p*-cumárico, y sinápico; la presencia de un doble enlace carbono-carbono entre el anillo bencénico y el grupo carboxilo ejerce una acción potenciadora de las propiedades reductoras del grupo $\cdot\text{OH}$.

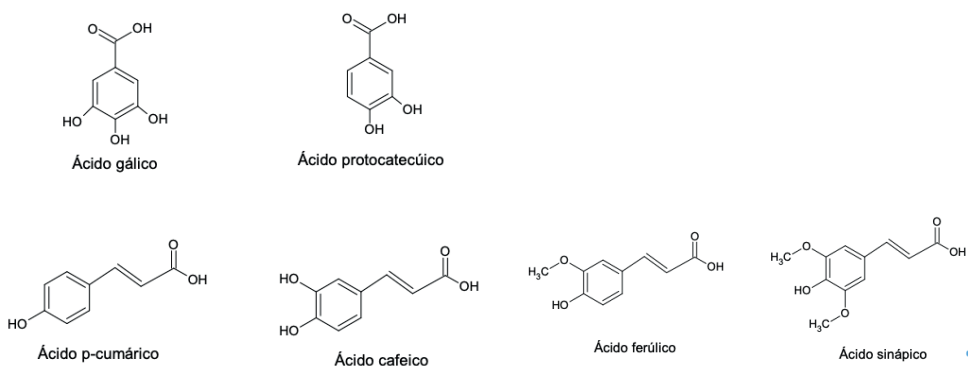


Figura 3. Representación estructural química de ácidos hidroxibenzoicos (gálico y protocatéquico) e hidroxicinámicos (p-cumárico, cafeico, ferúlico y sinápico).

Existe una gran variedad de fenoles ácidos distribuidos en productos de origen vegetal como la curcumina, presente en el *curry* y la mostaza y otros fenoles ácidos como el ácido cafeico, ferúlico y clorogénico que están presentes en frutas, semillas de café y soya.

Muchos flavonoides se polimerizan en las plantas o como resultado del procesamiento de los alimentos; los polímeros resultantes se conocen como taninos, responsables de precipitar algunas proteínas y alcaloides para convertir la piel del animal en cuero. Los taninos representan un grupo de moléculas polifenólicas solubles en agua y ocupan el tercer lugar de importancia entre los compuestos fenólicos y se agrupan en dos categorías según su propiedad química frente a ácidos (hidrolizables y no hidrolizables, también llamados condensados).

Los taninos hidrolizables contienen un núcleo central de alcohol polihídrico, tal como la glucosa, y los grupos hidroxilo están esterificados, ya sea parcial o totalmente por el ácido gálico (galotaninos) o ácido hexahidroxidifénico (elagitaninos); los taninos condensados son principalmente los productos polimerizados de flavan-3-oles y flavan-3,4-dioles o una mezcla de los dos y estructuralmente son más complejos que los taninos hidrolizables. El estudio de la actividad antioxidante de taninos condensados *in vitro* e *in vivo*, demuestran que son secuestradores efectivos de radicales libres, los cuales inhiben la oxidación de tejidos mejor que la vitamina C, vitamina E y β -caroteno.

ESTILBENOS Y LIGNINAS

Los estilbenos tienen una estructura C6-C2-C6 y son fitoalexinas, una clase de compuestos antimicrobianos producida como una parte del sistema de defensa en las plantas contra la enfermedad, el principal representante es el resveratrol que existe tanto en las formas *cis* y *trans* principalmente en uvas y cacahuates. Por su parte, los lignanos son sustancias producidas por dimerización oxidativa de dos unidades de fenilpropano.

A MANERA DE CONCLUSIÓN

Los polifenoles son un grupo de metabolitos secundarios de importancia biológica como antioxidantes exógenos que son útiles en la prevención o mejoramiento del estado de salud en pacientes con enfermedades crónico degenerativas como el cáncer, la diabetes y otros males derivados del estrés oxidativo; sus fuentes naturales son principalmente las frutas y verduras y por ello deben ingerirse habitualmente con el fin de mejorar la salud de sus consumidores.

REFERENCIAS

1. Alves, J.; Mendonca, L. A.; Reis da Silva, S. J.; Flach, A. 2014. Color phenolic and flavonoid content and antioxidant activity of honey from Roriana Brazil. *Food Science and Technology*. **34** (1): 69-73.
2. Avello, M.; Suwalsky, M. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea*. **494** (2): 161-172.
3. Bhattacharya, A.; Sood, P.; Citovsky, V. 2010. The roles of plant phenolics in defence and communication during *Agrobacterium* and *Rhizobium* infection. *Molecular Plant Pathology*. **11** (5): 705-719.
4. Cabral de Oliveira, A.; Barros Valentim, I.; Fonseca Goulart, M.O. 2009. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. *Química Nova*. **3** (32): 689-702.
5. Cabrera, M.L.; Salinas, Y.; Velázquez, G.A.; Espinosa, E. 2009. Contenido de fenoles solubles e insolubles en las estructuras del grano de maíz y su relación con propiedades físicas. *Agrociencia*. **43**: 827-839.
6. Cárdenas, N.; Pedraza, J. 2005. Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes: aspectos básicos. *Educación Química*. **17** (2): 164-173.
7. Castañeda, C. B.; Ramos, L.L. E.; Ibáñez, V. L. 2008. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Horizonte Médico*. **1** (8): 56-72.
8. Cartaya, O.; Reynaldo, Inés. 2001. Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*. **22** (2): 5-14.
9. Ciappini, M.C.; Stoppani, F.S.; Martinent, R.; Álvarez, M.B. 2013. Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y favonoides en mieles de tréboles, eucalipto y alfalfa. *Revista Ciencia Tecnología*. **19**: 45-51.
10. Córdova, A.; Ruiz, C. G.; Córdova, C. A.; Córdova, M. S.; Guerra, J. E.; Rodríguez, B. E.; Katherine Arancibia, K. 2009. Estrés oxidativo y antioxidantes en la conservación epidérmica. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*. **3** (1): 1-38.
11. Corrales, L.C.; Muñoz, M.M. 2012. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Nova Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*. **10** (18): 135 – 250.

12. Dufresne, C.J.; Farnworth, E.R. 2001. A review of latest research findings on the health promotion properties of tea. *Journal of Nutritional Biochemistry*. **12** (7): 404-421.
13. Elejalde, J.I. 2001. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *Anales de Medicina Interna*. **18** (6): 326-335.
14. González, M.C.; Betancourt, M.; Ortiz, R. 2000. Daño oxidativo y antioxidantes. *Bioquímica*. **25** (1): 3-9.
15. Halliwell, B. 2006. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*. **141**: 312-322.
16. Hajimahmoodi, M.; Moghddam, G.; Ranjbar, A. M.; Khazani, H.; Sadeghi, N.; Reza O. M. 2013. Total phenolic, flavonoids, tannin content and antioxidant power of some Iranian pomegranate flower cultivars (*Punica granatum*, L). *American Journal of Plant Sciences*. **4** (1):1815-1820.
17. Hou, Z.; Lambert, J.D.; Chin, K.V.; Yang, A.S. 2004. Effects of tea polyphenols on signal transduction pathways related to cancer chemoprevention. *Mutation Research*. **555** (1-2):3-19.
18. Kumar, S. 2014. The importance antioxidant and their role in pharmaceutical science. *Asian Journal of Research in Chemistry and Pharmaceutical Sciences*. **1** (1): 27-44.
19. López, J. 2008. Los alimentos funcionales: importancia y aplicaciones. *Escuela Agrícola Panamerica Zamorano*, Chile. **3**: 121-134.
20. Maldonado, O.; Jiménez, E.N.; Guapillo, M.R.B.; Ceballos, G.M.; Méndez, E. 2010. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. *Revista Médica Universidad Veracruzana*. **10** (2): 32-39.
21. Martínez, N. S.; Arévalo, K.; Verde, M. J.; Rivas, C.; Oranday, A.; Núñez, M. A.; Morales, M. E. 2011. Antocianinas y actividad anti radicales libres de *Rubus adenotrichus* Schldl (zarzamora). *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. **42** (4): 66-71.
22. Martínez, S.; González, J.; Culebras, J. M.; Tuñón, M.J. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*. **17** (6): 271-278.
23. Mendes de Oliveira, R.M. 2012. Quantification of catechins and caffeine from green tea (*Camellia sinensis*) infusions extract, and ready-to-drink beverages. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. **32** (1): 163-166.
24. Milner, J.A. 2004. Molecular targets for bioactive food components. *American Society for Nutritional Sciences*. **134** (9): 2492S-2498S.
25. Muñoz Velázquez, EE. 2012. Comparación del contenido fenólico, capacidad antioxidante y actividad antiinflamatoria de infusiones herbales comerciales. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. **3** (3): 481-495.
26. Porras, A. P.; López, A. 2009. Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. **3** (1): 121-134.

27. Quiñones, M.; Miguel, M.; Aleixandre, A. 2012. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*. **27** (1): 76-89.
28. Tomás, F.A. 2003. Los polifenoles de los alimentos y la salud. *Alimentación, Nutrición y Salud*. **10** (2): 41-53.
29. Ugartondo, V. (2009). *Caracterización de derivados polifenólicos obtenidos de fuentes naturales. Citotoxicidad y capacidad antioxidante frente a estrés oxidativo en modelos celulares* (Tesis doctoral). Universitat de Barcelona. Facultad de Farmacia, Departamento de Fisiología. Barcelona.
30. Vázquez, A. A.; Parrilla, E. A.; López, J. A.; Wall, A.; Rosa, L. 2012. Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. *Tecnociencia Chihuahua*. **6** (2): 84-93.
31. Velásquez, A. M. 2004. Extracción de taninos presentes en el banano verde. *Revista Lasallista de Investigación* **1**: 17-22.
32. Vázquez, A. A.; Álvarez, E.; López, J. A.; Wall, A.; De La Rosa, L. 2012. Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. *Alimentos*. **4** (2): 84-93.
33. Venereo, J.R. 2002. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*. **31** (2): 126-133.

IMPACTO DE DIFERENTES SUBSTITUTOS DE AÇÚCAR NOS PARÂMETROS TECNOLÓGICOS DE BISCOITO TIPO COOKIE

Data de submissão: 05/08/2023

Data de aceite: 02/10/2023

Cláudia Moreira Santa Catharina Weis

Universidade Estadual de Londrina,
Programa de Pós-Graduação em Ciência
de Alimentos, Londrina – Paraná
<https://orcid.org/my-orcid?orcid=0009-0003-3590-9759>
<http://lattes.cnpq.br/2081814066912301>

Juliana Steinbach

Universidade Tecnológica Federal do
Paraná, Programa de Pós-Graduação
em Tecnologia de Alimentos, Francisco
Beltrão/Londrina – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/8382959355549498>

Naimara Vieira do Prado

Universidade Tecnológica Federal do
Paraná, Programa de Pós-Graduação
em Tecnologia de Alimentos, Francisco
Beltrão/Londrina – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/4591550723954777>

Vânia de Cássia da Fonseca Burgardt

Universidade Tecnológica Federal do
Paraná, Programa de Pós-Graduação
em Tecnologia de Alimentos, Francisco
Beltrão/Londrina – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/2915855053093649>

Alessandra Machado-Lunkes

Universidade Tecnológica Federal do
Paraná, Programa de Pós-Graduação
em Tecnologia de Alimentos, Francisco

Beltrão/Londrina – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/9970617360931344>

RESUMO: O consumo excessivo de açúcar é um problema de saúde pública e assim, há um acordo nacional para a redução deste ingrediente no biscoito. O açúcar confere sabor e aroma, impacta no volume, textura, umidade, cor e no processo fermentativo do produto. O objetivo deste estudo foi avaliar o impacto na dureza, cor, volume aparente, volume específico e fator de expansão de substitutos de açúcar de diferentes classes (polidextrose, enzima, eritritol, taumatina, aroma T-sweet) em biscoito tipo cookie. Um delineamento fatorial fracionado com cinco fatores foi aplicado obtendo-se 17 formulações de cookie. Ainda, uma formulação controle (redução de 30% de sacarose) e uma formulação padrão que se assemelha as formulações comerciais foram usadas. Foi utilizada a técnica de curvas de superfície de respostas para entender o impacto da substituição de sacarose bem como a interação dos substitutos avaliados. As interações estatisticamente mais adequadas indicam formulações com as maiores concentrações de polidextrose e contendo taumatina. As formulações

que apresentaram comportamento semelhante ao controle são três: a que incluiu somente taumatina (2), a que conteve taumatina, T-sweet e eritritol (6) e a com todos os substitutos de sacarose testados (16). Os tratamentos com polidextrose (9) e com taumatina, polidextrose e eritritol (10), são os mais próximos do padrão. Taumatina e polidextrose foram os ingredientes promissores para a substituição de sacarose pois não desencadearam perdas tecnológicas significativas no biscoito tipo cookie em função da redução de sacarose.

PALAVRAS-CHAVE: Açúcar. Cor. Textura. Volume. Biscoito.

IMPACT OF DIFFERENT SUGAR SUBSTITUTES ON TECHNOLOGICAL PARAMETERS OF COOKIE

ABSTRACT: Excessive consumption of sugar is a public health problem and therefore, there is a national agreement to reduce this ingredient in biscuits. Sugar imparts flavor and aroma, impacts volume, texture, moisture, color and the fermentation process of the product. The aim of this study was to evaluate the impact on hardness, color, apparent volume, specific volume and expansion factor of sugar substitutes of different classes (polydextrose, enzyme, erythritol, thaumatin, T-sweet aroma) in cookie type biscuits. A fractional factorial design with five factors was applied, obtaining 17 cookie formulations. Furthermore, a control formulation (30% sucrose reduction) and a standard formulation that resembled commercial formulations were used. The response surface curves technique was used to understand the impact of sucrose replacement as well as the interaction of the evaluated substitutes. The statistically more adequate interactions indicate formulations with the highest concentrations of polydextrose and containing thaumatin. There are three formulations that showed behavior similar to the control: the one that included only thaumatin (2), the one that contained thaumatin, T-sweet and erythritol (6) and the one with all sucrose substitutes tested (16). Treatments with polydextrose (9) and with thaumatin, polydextrose and erythritol (10) are closest to the standard. Thaumatin and polydextrose were the promising ingredients for replacing sucrose, as they did not trigger significant technological losses in the cookie type biscuit due to the reduction of sucrose.

KEYWORDS: Sugar. Color. Texture. Volume. Biscuit.

1 | INTRODUÇÃO

A maior participação de alimentos industrializados ricos em açúcares e gorduras é uma consequência da evolução do padrão alimentar observado nas últimas décadas (GOMES; SANTOS; FREITAS, 2010). Neste contexto, a indústria de alimentos busca alternativas para a sua redução, já que a população se preocupa com o consumo excessivo desses ingredientes (AMSTALDEN; STEEL, 2019).

Os brasileiros consomem 1,5 vezes a mais de açúcar do que o recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), ou seja, o consumo diário de açúcar dos brasileiros equivale a 18 colheres de chá (medida caseira). Deste montante, 64% é oriundo de açúcar adicionado aos alimentos e o restante é proveniente de alimentos industrializados (OCCHI, 2018).

O consumo excessivo desencadeia aumento de Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) como obesidade e diabetes. No Brasil, as DCNT respondem por mais de 70% das causas de mortes (ABESO, 2018; OCCHI, 2018).

Neste contexto, um acordo nacional foi firmado para reduzir o açúcar em alimentos industrializados, dentre os quais: bebidas açucaradas; biscoitos, bolos e misturas, achocolatados e produtos lácteos (FLOR; CAMPOS 2017; IBGE, 2014). Este acordo com o Ministério da Saúde foi assinado pela ABIA (Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação); ABIMAPI (Associação Brasileira da Indústria de Biscoitos, Massas Alimentícias e Pães & Bolos Industrializados), ABIR (Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e Bebidas Não Alcoólicas) e Viva Lácteos (Associação da Indústria de Lácteos). Ao todo, fazem parte do acordo 68 indústrias, que representam 87% do mercado de alimentos e bebidas do país (OCCHI, 2018; DUAS RODAS, 2018).

O biscoito tem no açúcar um ingrediente de grande impacto tecnológico (SAHIN *et al.*, 2019), confere sabor e aroma, impacta no volume, textura, umidade, cor e no processo fermentativo, e também na aceitação sensorial do produto (DI MONACO *et al.*, 2018). Assim, a redução gera desafios tecnológicos para a indústria, e também um nicho de mercado preocupado com a nutrição e saúde, estimulando o desenvolvimento de pesquisas relacionadas a redução e/ou substituição de sacarose (LUO *et al.*, 2019; SAHIN *et al.*, 2019).

A redução do teor de açúcar em produtos processados tem sido considerada uma das estratégias mais eficientes para diminuir a ingestão de açúcar, e vem apresentando êxito quando aliada ao estudo do perfil conceitual (OLIVEIRA *et al.*, 2015). O Brasil é o quarto maior vendedor mundial de biscoitos em toneladas e o consumo *per capita* de biscoitos, no país, no ano de 2020 foi de 7.211 kg/brasileiro/ano (ABIMAPI, 2021). O Brasil é a quinta população que mais consome biscoitos no mundo. Os biscoitos tipo *cookie* são consumidos, sobretudo, por aqueles que buscam melhorias na qualidade da dieta (ARANHA *et al.*, 2017).

As abordagens utilizadas na redução de açúcar, estão relacionadas a diminuição da concentração deste ingrediente nas formulações alimentícias (DI MONACO *et al.*, 2018) fazendo uso de ingredientes capazes de ativar os receptores de sabor doce (JANG *et al.*, 2021), carboidratos complexos (polidextrose) (KOCER *et al.*, 2007), e compostos químicos não nutritivos naturais e não naturais (KOIZUME *et al.*, 2015; LEE *et al.*, 2021; MASUADA; KITATAKE, 2006; WAKSMONSKI; KOPPEL, 2016). Ainda, uma abordagem não relacionada diretamente com a redução da quantidade de açúcar nas formulações de biscoito faz uso da adição de aromas (BI *et al.*, 2021; BUETTNERA; BEAUCHAMPB, 2010, DUAS RODAS, 2021).

Estudos abordando mais do que dois ingredientes de classes diferentes de substitutos são pouco explorados. De fato, sabe-se que ingredientes de diferentes classes na mesma matriz alimentícia podem reduzir perdas tecnológicas inerentes a redução de

sacarose (POURMOHAMMADI *et al.*, 2017). Até o momento não se tem conhecimento de um ingrediente com tantas funções tecnológicas e eficiência para o uso em produtos panificados como a sacarose (LUO *et al.*, 2019; SAHIN *et al.*, 2019).

Assim, o objetivo deste trabalho foi elaborar diferentes formulações substituindo o açúcar por aroma (*T-sweet* Duas Rodas), taumatina (*GreenSugar T* Prozyn), carboidrato obtido por tecnologia enzimática (*GreenSugar BK* Prozyn), polidextrose e/ou eritritol em formulação controle com redução de 30% de açúcar. A dureza, cor, volume aparente, volume específico e fator de expansão dos biscoitos tipo *cookie* foram usados para entender o efeito deste delineamento experimental.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Para a preparação dos cookies foi utilizado farinha de trigo (Anaconda, São Paulo, Brasil), açúcar refinado (Alto Alegre, Presidente Prudente, Brasil), gordura vegetal hidrogenada (COAMO, Campo Mourão, Brasil), leite em pó desnatado (Piracanjuba, Goiânia, Brasil), sal (Cisne, Rio de Janeiro, Brasil), hidrogenocarbonato de amônio (Kamilla, Planalto, Brasil), todos ingredientes que foram adquiridos no comércio local. Alguns ingredientes foram adquiridos por meio de compra on-line: bicarbonato de sódio (Qualipro – Adicel, Belo Horizonte, Brasil), polidextrose (Adicel, Belo Horizonte, Brasil) e eritritol (Adicel, Belo Horizonte, Brasil). Os ingredientes usados como substitutos do açúcar foram obtidos por doação dos fabricantes, como a taumatina (*GreenSugar T*, Prozyn Biosolutions for Life, São Paulo, Brasil), o carboidrato obtido por tecnologia enzimática (*GreenSugar BK*, Prozyn Biosolutions for Life, São Paulo, Brasil), e o aroma de açúcar (*T-sweet*, Duas Rodas, Jaraguá do Sul, Brasil).

A formulação elencada para ser adotada como formulação padrão dos *cookies* foi descrita por Laguna *et al.* (2013) com algumas modificações, como a adição de 0,2% (em relação a massa de sacarose) de aroma microencapsulado sabor baunilha (GranFlavor Baunilha, Duas Rodas, Jaraguá do Sul, Brasil) e o triplo da quantidade de água. Esta escolha deve-se a utilização de poucos ingredientes e similaridade com a formulação utilizada nas indústrias do Sudoeste paranaense. Para a formulação padrão (P) foi proposto 30% de redução de sacarose e esta nomeada de formulação controle (C). A partir dela com vistas a diminuir ainda mais a quantidade de açúcar foi realizado um delineamento fatorial fracionário do tipo 2^{k-1} com 5 fatores (ou variáveis) e 3 repetições do ponto centro (PC), perfazendo 17 formulações.

O planejamento experimental teve cinco variáveis independentes: taumatina (X1), enzima (X2), *T-sweet* (X3), polidextrose (X4) e eritritol (X5). Cada variável representou um possível substituto de sacarose e foram avaliadas quanto aos principais parâmetros tecnológicos de impactos na qualidade dos cookies fabricados. Os *cookies* foram fabricados em escala laboratorial conforme descrito por CATHARINA *et al.* (2021). A Tabela 1 traz

as combinações dos ingredientes substitutos de açúcar empregadas em cada formulação sugerido pelo delineamento experimental. Nessa tabela são utilizadas as variáveis decodificadas, expressas em gramas de ingrediente aplicados em cada tratamento.

As variáveis foram interpretadas pelo software utilizado, com valores codificados, variando de -1 a +1. O nível -1 correspondeu a não utilizar o referido ingrediente na formulação, enquanto que o nível +1 correspondeu ao uso máximo do ingrediente na formulação, sendo o máximo recomendado pelo fabricante de cada ingrediente. A triplicata de pontos centrais representa o uso de todas as variáveis no nível codificado 0, equidistante dos níveis -1 e +1, respeitando o princípio da ortogonalidade. Logo, nos pontos centrais encontram-se formulações com 50% do máximo possível de ser utilizado de cada um dos cinco ingredientes (X1, X2, X3, X4 e X5).

Os biscoitos foram avaliados quanto aos parâmetros tecnológicos relacionados a dureza, cor, volume aparente, volume específico e fator de expansão (AVENA; RADA; HOEBEL, 2008; DI MONACO *et al.*, 2018). Os resultados obtidos nas análises dos parâmetros tecnológicos dos biscoitos tipo cookie foram verificados quanto ao modelo matemático disponível na versão de teste do software Statistica que melhor se ajustou aos dados baseado no critério do coeficiente de determinação (R^2), ou seja, o melhor ajuste é o que proporciona R^2 mais próximo de um. Para que fosse possível realizar afirmações quanto à significância, o modelo matemático (equação) referente a cada parâmetro foi validado previamente por gráfico de Pareto ao nível de confiança de 95%, com coeficientes de regressão e de determinação aceitáveis. Então foi possível aplicar ANOVA para validação dos modelos, obtendo p-valor < 0,05 e R^2 suficientemente próximo de um. Dessa forma sendo possível afirmar se houve ou não efeito significativo para cada um dos parâmetros tecnológicos avaliados.

Formulação ^z	Taumatina	BK ^s	T-sweet ^q	Polidextrose	Eritritol
1	0	0	0	0	0,475
2	0,063	0	0	0	0
3	0	0,6	0	0	0
4	0,063	0,6	0	0	0,475
5	0	0	0,48	0	0
6	0,063	0	0,48	0	0,475
7	0	0,6	0,48	0	0,475
8	0,063	0,6	0,48	0	0
9	0	0	0	6,3	0
10	0,063	0	0	6,3	0,475
11	0	0,6	0	6,3	0,475
12	0,063	0,6	0	6,3	0
13	0	0	0,48	6,3	0,475
14	0,063	0	0,48	6,3	0

15	0	0,6	0,48	6,3	0
16	0,063	0,6	0,48	6,3	0,475
17 (PC)	0,031	0,3	0,24	3,15	0,236

Nota: *Formulação controle: 100 g farinha de trigo; 20,62 g de açúcar; 1,05 sal; 33 g de água; 1,75 g de leite em pó; 0,35 g de bicarbonato de sódio; 0,20 g de hidrogenocarbonato de amônio e g de aroma de baunilha. [§] Carboidrato obtido por tecnologia enzimática. [¶] Aroma.

Tabela 1 – Quantidades em gramas dos ingredientes substitutos de açúcar utilizados na formulação controle de *cookie* conforme delineamento experimental.

Fonte: Adaptado de CATHARINA *et al.* (2021).

E para expressar a interação entre os fatores, aplicou-se a técnica de contorno de superfície de resposta. A fim de elucidar o comportamento das diferentes formulações frente ao controle e amostra padrão foi aplicado análise dos componentes principais (ACP). A análise dos componentes principais foi feita com a versão trial do software XLSAT.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos parâmetros tecnológicos das formulações estudadas a partir do delineamento fatorial fracionário estão apresentados na Tabela 2 com o valor médio \pm desvio padrão. Quanto a cor, o parâmetro luminosidade variou de 69,02 a 76,66. Sabe-se que biscoitos com maior concentração de açúcar apresentam coloração mais escura, ou seja, valores de L menores, em função da ocorrência da reação de caramelização do açúcar e da reação Maillard (MORAES *et al.*, 2010). Os valores de a^* variaram de -0,12 a 4,95, sendo que a formulação padrão apresentou valor para a^* (1,47) inferior ao observado na formulação controle (4,95), mostrando que o padrão tende menos para o vermelho em comparação com o controle.

Houve um predomínio de cor vermelha nas seguintes formulações: somente com taumatina (2), com taumatina, enzima e eritritol (4), com taumatina e eritritol 10) e com taumatina, enzima, polidextrose e eritritol (12). Essa tendência de cor é esperada principalmente nas bordas do biscoito tipo cookie (MORAES *et al.*, 2010). O esperado são *cookies* com tendências de coloração amarela (PIETA, 2015). Os resultados para b^* variaram de 14,21 a 27,48, sendo que a taumatina agiu de forma significativa promovendo os maiores valores para este parâmetro (Tabela 2).

T-sweet e GreenSugar BK foram os ingredientes que influenciaram o parâmetro L, no sentido de reduzir esse valor, tendendo para *cookies* mais escuros. Acredita-se que as melhores formulações em termos de luminosidade são as que apresentam baixas concentrações de T-sweet e altas concentrações de GreenSugar BK (Figura 1A). Eritritol afetou a^* , promovendo valores mais elevados para este parâmetro. Para valores ideais da coordenada a^* , sugere-se o emprego de formulações que apresentam baixas concentrações de eritritol e baixas concentrações de T-sweet, também (Figura 1B). Para

o parâmetro b^* , onde, no espectro as tonalidades variam de azul ($-b^*$) a amarelo ($+b^*$), apontam-se como formulações ideais as que apresentam alta concentração de taumatina e baixa concentração de T-sweet ($R^2 = 0,974$) (Figura 1C). As formulações com essa característica, altas concentrações de taumatina e baixas concentrações de T-sweet são 2, 4, 10 e 12 (Tabela 2).

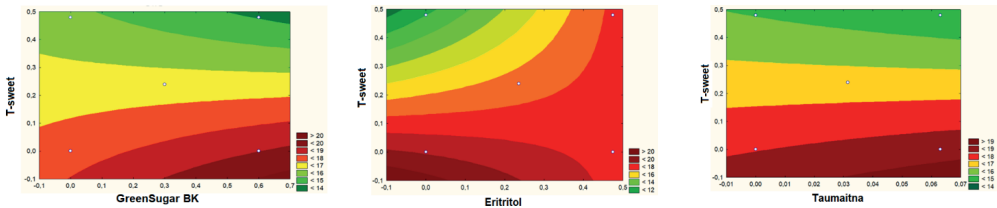
Formulações	Dureza (N)	L	a*	b*	Volume aparente (cm³)	Volume específico (cm³.g⁻¹)	Fator de expansão
C	14,60 ± 6,24	69,02 ± 0,61	4,95 ± 0,02	27,48 ± 0,30	2,50 ± 0,62	27,50 ± 5,00	13,23 ± 0,00
P	18,11 ± 2,39	71,86 ± 0,70	1,47 ± 0,01	26,64 ± 0,32	2,74 ± 0,59	30,00 ± 5,00	15,04 ± 4,25
1	15,17 ± 2,39	72,97 ± 0,60	1,89 ± 0,07	25,71 ± 0,21	1,23 ± 0,00	10,00 ± 0,00	13,81 ± 0,12
2	23,60 ± 6,24	72,20 ± 0,12	3,57 ± 0,11	27,78 ± 0,14	2,07 ± 0,59	17,50 ± 5,00	11,05 ± 0,10
3	26,04 ± 7,74	71,17 ± 0,22	0,45 ± 0,04	22,31 ± 0,02	1,64 ± 0,47	17,50 ± 5,00	16,04 ± 2,64
4	12,49 ± 5,89	74,84 ± 0,25	0,72 ± 0,03	24,00 ± 0,98	1,71 ± 0,49	17,50 ± 5,00	11,25 ± 0,10
5	11,79 ± 4,55	76,51 ± 0,07	- 0,58 ± 0,07	22,44 ± 0,02	1,35 ± 0,00	10,00 ± 0,00	13,47 ± 1,38
6	21,81 ± 6,38	72,05 ± 0,14	3,46 ± 0,08	27,36 ± 0,03	2,63 ± 0,01	20,00 ± 0,00	15,43 ± 2,37
7	19,10 ± 7,02	73,65 ± 0,38	- 0,12 ± 0,04	22,19 ± 0,16	1,85 ± 0,71	15,00 ± 5,77	18,33 ± 0,00
8	11,35 ± 3,49	75,35 ± 0,27	0,04 ± 0,04	24,26 ± 0,12	2,10 ± 0,60	17,50 ± 5,00	11,85 ± 1,43
9	9,84 ± 2,83	74,10 ± 0,27	0,29 ± 0,00	23,87 ± 0,12	3,48 ± 0,63	27,50 ± 5,00	15,43 ± 2,37
10	22,17 ± 3,49	74,06 ± 0,14	0,40 ± 0,07	23,51 ± 0,17	3,05 ± 0,70	25,00 ± 5,77	12,43 ± 1,66
11	21,29 ± 2,96	74,02 ± 0,81	0,91 ± 0,04	24,26 ± 0,30	2,55 ± 0,54	22,50 ± 5,00	19,00 ± 0,38
12	16,63 ± 6,69	74,84 ± 0,10	0,36 ± 0,01	23,33 ± 0,05	3,74 ± 0,69	27,50 ± 5,00	13,75 ± 0,00
13	16,16 ± 5,07	72,97 ± 0,52	3,79 ± 0,35	27,70 ± 0,80	2,70 ± 0,62	25,00 ± 5,77	17,66 ± 2,44
14	11,91 ± 3,17	75,55 ± 0,16	0,45 ± 0,02	24,31 ± 0,10	2,00 ± 0,00	20,00 ± 0,00	11,10 ± 0,11
15	13,34 ± 3,17	76,66 ± 0,03	0,03 ± 0,02	23,47 ± 0,20	3,00 ± 0,55	27,50 ± 5,00	13,68 ± 0,12
16	12,50 ± 3,11	72,19 ± 0,27	3,95 ± 0,02	27,19 ± 0,13	2,04 ± 0,05	20,00 ± 0,00	15,35 ± 2,20
1º PC	15,63 ± 3,68	74,62 ± 0,58	2,14 ± 0,24	15,04 ± 1,53	2,72 ± 0,00	30,00 ± 0,00	72,05 ± 0,95
2º PC	13,24 ± 1,36	74,47 ± 0,38	2,48 ± 0,39	14,21 ± 2,96	2,50 ± 0,45	27,50 ± 5,00	69,02 ± 0,84

3° PC	15,04 ± 2,42	71,47 ± 0,01	2,65 ± 0,13	18,05 ± 2,87	2,75 ± 0,02	30,00 ± 0,00	71,87 ± 0,26
-------	--------------	--------------	-------------	--------------	-------------	--------------	--------------

Tabela 2 – Resultados para os parâmetros tecnológicos avaliados.

Fonte: Adaptado de CATHARINA *et al.* (2021).

Sendo as formulações 3, 4, 11 e 12 as apontadas como ideais para L e as formulações 2, 4, 10 e 12 as indicadas em termos de a* e b*, tem-se que as melhores formulações para investigações e estudos futuros, avaliando a cor de *cookies* com redução de açúcar são as formulações com taumatina, enzima e eritritol nas concentrações máximas testadas nesse estudo (4) e com taumatina, enzima e polidextrose, também nas concentrações máximas (12).



Nota: (a) Luminosidade - L ($R^2 = 0,974$); (b) Parâmetro a* ($R^2 = 0,974$); (c) Parâmetro b* ($R^2 = 0,974$)

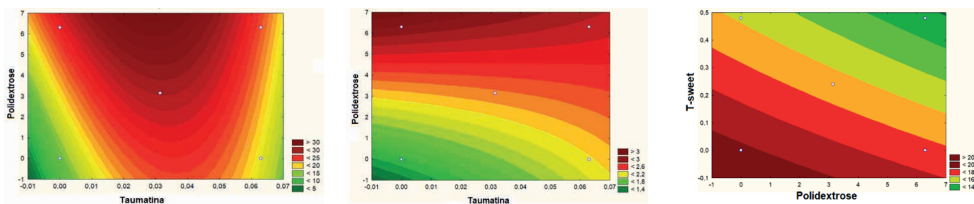
Figura 1 – Contorno da superfície de resposta ajustada avaliando o parâmetro tecnológico cor

Fonte: Adaptado de CATHARINA *et al.* (2021).

Quanto ao volume os ingredientes substitutos que geraram maior impacto no volume aparente, e, por consequência, no volume específico foram taumatina e polidextrose (Figura 2A e 2B). A redução de sacarose em cookies pode gerar redução de volume do produto (LUO *et al.*, 2019).

Para o volume aparente, as melhores formulações 10, 12 e 14 são as que apresentam altas concentrações de polidextrose e contendo taumatina. Polidextrose é frequentemente aplicada em alimentos como agente de volume (LUO *et al.*, 2019). Na Figura 2B, as melhores formulações para volume específico são as que apresentam baixas concentrações de taumatina e altas concentrações de polidextrose. É característica de biscoito tipo cookie apresentar um menor volume específico e um fator de expansão maior (SAHIN *et al.*, 2019).

Formulações com concentrações elevadas de polidextrose e concentrações também elevadas de T-sweet, como as formulações 13, 14, 15 e 16, tendem a gerar perdas tecnológicas em termos de fator de expansão em *cookies* com redução de açúcar. O fator de expansão de biscoitos apresenta aumento a medida que a concentração de açúcar também é elevada (MORAES *et al.*, 2010). Sabe-se que a expansão não deve ser muito elevada, pois pode desencadear problemas de ordem de processo, como não adequação do produto a embalagens padronizadas.



Nota: (a) Volume aparente ($R^2 = 0,994$); (b) Volume específico ($R^2 = 0,996$); (c) Fator de expansão ($R^2 = 0,994$)

Figura 2 – Contorno da superfície de resposta ajustada avaliando os parâmetros tecnológicos volume aparente, volume específico e fator de expansão.

Fonte: Adaptado de CATHARINA *et al.* (2021).

A dureza neste experimento variou de 9,84 a 23,6 N, sendo a dureza da formulação padrão em torno de 18 N e a do controle (reduzido em açúcar) em torno de 14 N. Ou seja, a formulação controle apresentou dureza inferior ao padrão. Resultados estes consoantes com os relatados por Gallagher *et al.* (2003). As formulações indicadas como as mais promissoras para evitar perda tecnológica em relação a dureza, em função da redução de açúcar, são as que combinam concentrações elevadas de polidextrose e concentrações intermediárias de taumatina (Figura 3).

Além da observação dos gráficos de superfície de resposta, para visualizar quais formulações se assemelham mais com as formulações adicionais ao delineamento experimental (padrão e controle) foi aplicado uma análise dos componentes principais (ACP), que tem por objetivo elencar as formulações mais representativas através de combinações lineares (ANDRADE, PINTO, 2003) (Figura 4).

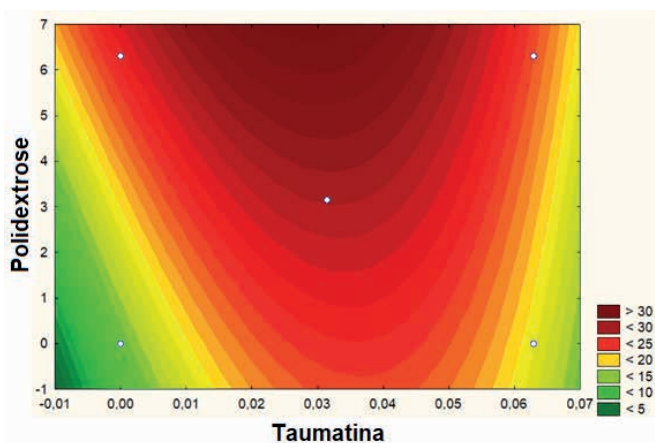


Figura 3 - Contorno da superfície de resposta ajustada para os fatores polidextrose e taumatina na dureza (N) ($R^2 = 0,994$)

Fonte: Adaptado de CATHARINA *et al.* (2021).

A ACP, com os sete parâmetros tecnológicos avaliados distribuídos de forma bidimensional, onde o componente principal 1 (eixo F1) foi capaz de explicar 38,39% da variabilidade total dos dados e o componente principal 2 (eixo F2) explicou 28,07%. Logo, com a ACP foi possível explicar 66,45% da variabilidade total dos dados. No gráfico Biplot (Figura 4), foram obtidas três formulações mais próximas da formulação padrão, a apenas com polidextrose (9); a que combinou taumatina, polidextrose e eritritol (10); e a com taumatina, enzima e polidextrose (qual o número dessa aqui?). Também foram observadas três formulações mais semelhantes a formulação controle, pois, no gráfico Biplot encontram-se mais próximas da formulação controle, foram as formulações apenas com taumatina (2); combinando taumatina, enzima e eritritol (6) e aplicando os cinco ingredientes estudados como substitutos de sacarose, taumatina, enzima, T-sweet, polidextrose e eritritol (16).

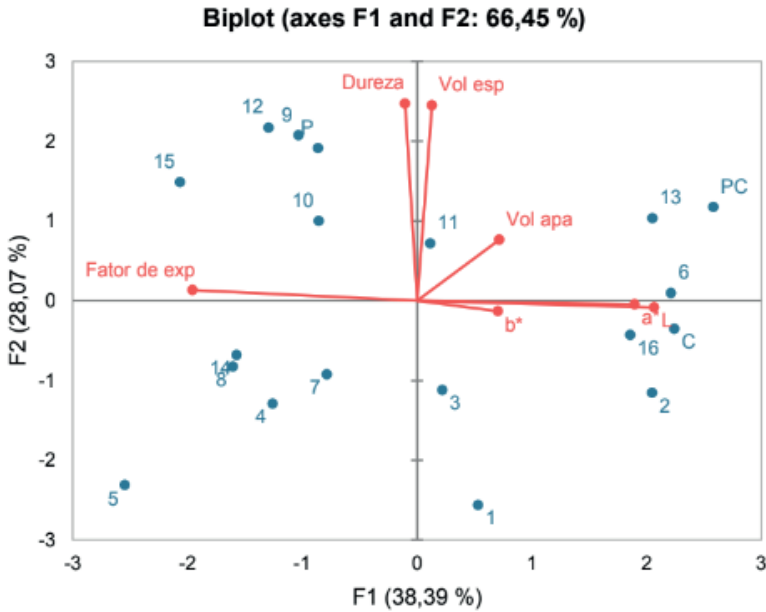


Figura 4 – Análise de Componentes Principais
 Fonte: Adaptado de CATHARINA *et al.* (2021)

4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

A taumatina para dureza, em pequenas quantidades combinada com altas quantidades de polidextrose geram resultados satisfatórios, ou seja, corânica e superfície quebradiça. Quanto a cor, para os parâmetros L, a* e b* é interessante a aplicação de doses baixas do aroma T-sweet. O ideal é um biscoito com baixos valores para L, indicando coloração mais escura e altos valores para a* e b*. Assim como para a textura, para o volume aparente e para o volume, taumatina e polidextrose foram substitutos de sacarose que geraram impacto significativo na formulação. Adicionalmente, um fator de

expansão mais próximo do padrão pode ser obtido com uso quantidades intermediárias de polidextrose combinadas com doses baixas de T-sweet. As interações estatisticamente mais adequadas e que tendem a um nível ótimo de cada fator indicam formulações com altas concentrações de polidextrose e contendo taumatina em quantidades intermediárias. Por fim, os tratamentos 9 (apenas com polidextrose) e 10 (combinando taumatina, polidextrose e eritritol), são os mais próximos do padrão, conforme demonstrado pela ACP.

AGRADECIMENTOS

A empresa Prozyn Biosolutions for Life pela doação dos ingrediente GreenSugar T (taumatina) e GreenSugar BK (enzima)

A empresa Duas Rodas pela doação dos ingredientes T-sweet e GranFlavor Baunilha.

A colaboração dessas duas empresas renomadas foi fundamental para a execução desse trabalho.

REFERÊNCIAS

AMSTALDEN, R. P.; STEEL, C. J. Redução de Gordura e Açúcar em Biscoitos tipo Cookie. **Revista dos Trabalhos de Iniciação Científica da UNICAMP**, Campinas, SP, n. 27, 2019.

ARANHA, D. C.; VIZU, M. A.; RIBEIRO, T. C.; MELO, F. R. G.; FIOCO, E. M. Avaliação sensorial de biscoito tipo “cookie” funcional e enriquecido em proteínas. **Linguagem Acadêmica**, Batatais, v. 7, n. 5, p. 23-34, 2017.

AVENA, N. M.; RADA, P.; HOEBEL, B. G. Evidence for sugar addiction: Behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. **Neuroscience and Biobehavioral**, v.32, n.1, p. 20-39, 2008.

BERTOLINO, T.; BRAGA, A. **Ciência e tecnologia para fabricação de biscoitos**. 1 ed., Editora Varela, 2017.

CATHARINA, Cláudia Moreira Santa.; LUNKES, Alessandra M.; BURGARDT, Vânia de C. F. Influência de Diferentes Combinações de Ingredientes para Substituição de Açúcar em Biscoitos Tipo Cookie 2021 (Trabalho de Conclusão de Curso). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, 2021.

DI MONACO, R.; MELE, N. A.; CABISIDAN, E. K.; CURRENT, S. C. Strategies to reduce sugars in food, **Opinion in Food Science**, v.19, p. 92–97, 2018.

DUAS RODAS, Flavors e Botanicals. **As camadas de um alimento que o P&D deve prestar atenção**. Disponível em: < <https://www.duasrodas.com/blog/inovacao/as-camadas-de-valor-de-um-alimento-que-o-pd-deve-prestar-atencao/>>.

FLOR, L. S.; CAMPOS, M. R. Prevalência de diabetes mellitus e fatores associados na população adulta brasileira: evidências de um inquérito de base populacional. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v. 20, n. 1, p. 16-29, 2017.

GALLAGHER, E.; O'BRIEN, C. M.; SCANNEL, A. G. M.; ARENDT, E. K. Evaluation of sugar replacers in short dough biscuit production. **Journal of Food Engineering**, v.56, p. 261–263, 2003.

GOMES, V. M.; SANTOS, M. P.; FREITAS, S. M. L. Análise de açúcares e gorduras de recheios em biscoitos recheados sabor chocolate. **CERES**, v. 5, n.1, p. 19-25, 2010.

HUTCHINGS, S. C.; LOW, J. Y. Q.; KEAST, R. S. J. Sugar reduction without compromising sensory perception. An impossible dream? **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2018. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29561168/>>.

JANG, Y.; CHUNG, S.; KIM, S.; PARK, S. Searching for optimal low calorie sweetener blends in ternary and quaternary system. **Food Quality and Preference**, v. 90, p. 1 -13, 2021.

KOCER, D.; HICSASMAZ, Z.; BAYINDIRLI, A.; KATNAS, S. Bubble and pore formation of the high-ratio cake formulation with polydextrose as a sugar – and fat – replaces. **Journal of Food Engineering**, v. 78, p. 953 – 964, 2007.

LAGUNA, L.; VALLONS, K. J. R.; JURGENS, A.; SANZ, A. Understanding the Effect of Sugar and Sugar Replacement in Short Dough Biscuits. **Food Bioprocess Technol**, 2012. Disponível em: < <https://repository.tno.nl/islandora/object/uuid%3A271d207a-82ee-47cf-bf64-a7dbe85459fd>>.

LIMA, M. F. **Estratégias para redução de açúcar de alimentos industrializados destinados ao público infantil**. 2019. 154 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2019.

LUO, X.; ARCOT, J.; GILL, T.; LOUIE, J. C.Y.; RANGAN, A. A review of food reformulation of baked products to reduce added sugar intake. **Trends in Food Science and Technology**, v. 86, p. 412–425, 2019.

MONTGOMERY, D. C. Design and analysis of experiments. Wiley, 2013.

MONTGOMERY, D. C. Introdução ao controle estatístico de qualidade. 7 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2016.

MORAES, Kessiane S. De; ZAVAREZE, Eleessandra da R.; MIRANDA, Martha Z. de; SALAS-MELLADO, Myryam de las M. Avaliação tecnológica de biscoitos tipo cookie variações nos teores de lipídio e de açúcar. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 233-242, 2010.

OCCHI, G. **Governo assina acordo para reduzir teor de açúcar em alimentos. Ministério da Saúde**. 2018. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/novembro/26/26.11.2018_%20Acordo%20de%20Redu%C3%A7%C3%A3o%20de%20A%C3%A7%C3%BAcar.pdf>.

OLIVEIRA, D.; ANTÚNEZ, L.; GIMÉNEZ, A.; CASTURA, J. C.; DELIZA, R.; ARES, G. Sugar reduction in probiotic chocolate-flavored milk: Impact on dynamic sensory profile and liking. **Food Research International**, v. 75, p.148–156, 2015.

POURMOHAMMADI, K.; NAJAFI, M. B. H.; MAJZOobi, M.; KOOCHeki, A.; FARAHNAki, A. Evaluation of dough rheology and quality of sugar-free biscuits: isomalt, maltodextrin and stevia. **Carpathian Journal of Food Science and Technology**, v. 9, n. 4, p. 119-130, 2017.

SAHIN, A. W.; ZANNINI, E.; COFFEY, A.; ARENDT, E. K. Sugar reduction in bakery products: Current strategies and sourdough technology as a potential novel approach. **Food Research International**, v. 126, 2019.

WAKSMONSKI, J. C.; KOPPEL, K. Variation in human sweet taste receptor may result in different levels of sweet intensity variability between sweet stimuli. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 51, p. 1958-1966, 2016.

QUÉ DEBEN SABER LOS ESTUDIANTES DE LA NEMATOLOGÍA AGRÍCOLA

Data de aceite: 02/10/2023

Ignacio Cid del Prado Vera

Grade PhD. Nematology. University of
California, Davis
Colegio de Postgraduados Edificio
Fitosanidad
Programa de Fitopatología
Km 36.5 Carretera México-Texcoco,
Montecillo 56264, Texcoco Estado de.
México

RESUMEN: Los nematodos parásitos de plantas reducen la producción y calidad en muchos cultivos, las pérdidas económicas son muy significativas en muchos países, donde no tienen suficientes Nematólogos, que asesoren a los agricultores. Las pérdidas no solo se presentan en cultivos agrícolas, sino también en la agricultura industrial, cultivos forrajeros y forestales, los que prácticamente no se les da la atención que se requiere. Cuando se desconoce la biología de los nematodos y la interacción con los cultivos, el costo del control de nematodos fitoparásitos, se incrementa cuando solo se aplican nematocidas y se reducen los beneficios y la calidad de la producción. La situación en América Latina es crítica, ya que se cuenta con algunos profesores con amplia experiencia en

docencia e investigación, además algunos Nematólogos se han jubilado y no ha habido sustitutos altamente capacitados, en consecuencia, hay una necesidad de entrenar y capacitar a jóvenes Nematólogos, que sean capaces de asesorar a los agricultores. En conclusión, en los países de América Latina el entrenamiento en Nematología agrícola es ausente, por lo que el personal técnico que trabaja en el campo, se basa para el manejo de los nematodos, en la aplicación de nematocidas. En América Latina, hay ausencia de Nematólogos que se dediquen de tiempo completo a la enseñanza, investigación y extensión agrícola, y algunos profesionistas enseñan parcialmente Nematología, dentro del programa del curso de Fitopatología General, y no profundizan en los temas nematológicos con detalles. Nosotros creemos que las Sociedades científicas además de organizar congresos, donde se dan conferencias y además publican los trabajos de investigación, tienen otro papel importante, que es el promover y apoyar a los Nematólogos de las Universidades e Institutos, en la organización de cursos que capaciten a los jóvenes Nematólogos y se formen nuevas generaciones. Los temas de los cursos, dependerán de las necesidades

del sistema de agricultura de cada país, y los profesores que participen, estarán sujetos a los objetivos y temas del curso, apoyados por los representantes del país organizador, estos cursos pueden ser cortos o extensos. Las Sociedades científicas pueden dar importantes servicios y promover el desarrollo de la ciencia de la Nematología, mejorar la economía de la producción agrícola, salud del suelo y la obtención de alimentos seguros.

PALABRAS CLAVE: Curso Nematología, Programa analítico, nematodos parásitos de plantas

ABSTRACT: Nematode parasitism of plants reduces crop yield and quality in many agricultural systems. The consequent economic losses are especially significant in countries where there are few Nematologists serving agricultural clientele. Losses are not just in crops for local consumption; there can also be substantial losses in crops grown for export, which are major sources of revenue for agricultural industries and national economies. Additionally, nematode impacts in production systems such as pasture and forestry have received little attention. When the biology of the organisms and their interaction with plants is uncertain, the costs of recommended nematode control options may exceed their benefits in crop yield improvement. Nematology in Latin America is in a critical phase; there are few professors with expertise in teaching Nematology and several retired teachers have not been replaced. Consequently, there is a dearth of training of new nematologists and technical professionals capable of providing guidance to agricultural producers. In fact, in some Latin American countries, training in Nematology is not available. In those cases, sales personnel in the pesticide industry provide the only source of information on nematode problems and, consequently, nematode management is based primarily on the application of nematicides. In Latin American countries lacking Nematologists who are dedicated to research and teaching, the training, if any, on plant and soil nematodes may be provided as a lecture in a Plant Pathology course and incomplete in appropriate detail. We believe that, beyond organizing scientific conferences and journals, there are other important roles of the Nematology Societies of the world. One is to promote and support the hiring of Nematology professors in Universities and research institutes and another is to organize and present courses that provide broad training for new generations of nematologists. Such courses, designed for specific professional development needs for an agricultural system or institute, could be short and intense, three or four days in length, and presented by world experts in the specific subject area supported by local disciplinary representatives. Nematology Societies can provide important services in promoting the development and outreach of the science of Nematology in order to improve the economics of agricultural production within the framework of environmental stewardship, soil health and food safety.

KEYWORDS: Nematology course, Analytic Program, plant parasitic nematodes

INTRODUCCIÓN

La agricultura en el mundo tiene varios problemas que afectan la producción agrícola, forestal e industrial por agentes fitopatológicos, que causan pérdidas económicas severas de millones de dólares; entre estos organismos que inducen severos daños, en los cultivos destinados para la alimentación o la industria, están los nematodos parásitos

de plantas, los que tienen una amplia gama de hospederos y distribución geográfica en el mundo, y diferentes hábitos parasíticos: ectoparásitos migratorios y sesiles, ecto-endoparásitos, endoparásitos migratorios y endoparásitos sesiles, que inducen síntomas desde lesiones necróticas, reducción del tamaño de raíz, amarillamientos, marchitez y achaparramiento. Para su sobre vivencia tienen estados biológicos importantes, como la dormancia, quiescencia y criptobiosis, que les permiten permanecer en el suelo o en partes superiores de las plantas, por tiempos variables, en diversos cultivos y en diferentes condiciones ecológicas y climas. Para que los profesionistas dedicados al estudio de estos organismos tengan un efectivo y honesto papel como profesores, investigadores y extensionistas, se requiere de la preparación de jóvenes profesionistas, tengan una alta formación académica, para que formen una nueva generación de Nematólogos altamente calificados, que entiendan, que enseñen, investiguen y apliquen las diversas técnicas en el diagnóstico, identificación y manejo de las poblaciones, las que en muchas ocasiones son muy altas y muy patógenas, y se requiere de la aplicación de varias técnicas para su manejo.

Una lamentable realidad en el mundo y en América Latina, es que nuestros profesores Nematólogos bien preparados y altamente calificados y con reconocimiento internacional, que han participado en la formación de nuevas generaciones de Nematólogos, han muerto, se han jubilado o retirado, esto ha traído como consecuencia, que en muchas instituciones educativas y de investigación, no se cuente con personal bien preparado o se ofrezca un curso completo, en el área de la Nematología, como una materia básica en la formación de: Fitopatólogos, Biólogos e Ingenieros agrónomos; en muchos casos, se han conformado en incluir dentro de los temas del curso general de Fitopatología, alguna información muy general sobre nematodos parásitos de plantas. La investigación en las diversas áreas de la Nematología, como Sistemática, Taxonomía, Ecología, Fisiología y Control, no cuenta con investigadores de dedicación exclusiva, que generen importantes aportaciones en las publicaciones, que tengan repercusión significativa en la producción de alimentos, en la asesoría honesta para los agricultores y en consecuencia en su mejora de vida y en el continuo desarrollo evolutivo de la Nematología Agrícola.

Un papel muy importante que deben de tener la Sociedades Científicas de Nematología del mundo, es no solamente la presentación de resultados de las investigaciones en los Congresos Nacionales e Internacionales, sino desde mi punto de vista deberían promover mediante cursos dictados por sus expertos miembros, que coadyuven en formar y educar y fomentar, en los jóvenes profesionistas el interés y orientación a la Nematología Agrícola. Por la trayectoria y experiencia de mis 53 años trabajando con nematodos, considero que un profesionista que se dedica a la enseñanza e investigación de esta importante Ciencia de la Fitopatología, debería considerar los siguientes aspectos: que el curso que enseñan, cuente con un programa analítico, y que este sea revisado, actualizado y aprobado por expertos y si son extranjeros mucho mejor, el tener un amplio dominio de las

diversas técnicas, que se utilizan en los cursos a nivel profesional o de postgrado; esto le permitirá transmitir a sus estudiantes su amplio conocimiento de nematodos, la difusión con seguridad de la información y tener éxito en los procesos educativos y ganarse, el respeto, la confianza y el interés de los estudiantes.

Entre los títulos de cursos que podrían fomentar la formación de jóvenes Nematólogos estarían: Principios de control de nematodos, Técnicas en Nematología, Taxonomía y morfología comparada, Técnicas moleculares aplicadas en Nematología, Nematodos entomopatógenos etc.

Deseo en esta ocasión compartir con ustedes las estrategias, recursos y tácticas que aplico en mi curso que doy en el Programa de Fitopatología, del Colegio de Postgraduados en México. Es muy importante tener un programa analítico del curso donde se explica claramente los objetivos del curso, el programa y contenido y objetivos de cada tema, las horas de teoría, laboratorio, salidas de campo y que aspectos en porcentaje que se van a considerar en la evaluación final; debe contener una lista de la literatura lo más reciente, relacionada con los temas a tratar y ofrecerles páginas electrónicas, donde el alumno puede obtener una mayor y amplia información del tema de su interés; un calendario de prácticas, donde se indique el tema y las salidas de campo y para cada práctica de laboratorio, debe contar con la descripción del tema estudiar, el material y técnicas a realizar, que géneros se van a observar y al final de cada práctica, con un temario que deben entregar el alumno, una semana después. Es muy importante las salidas de campo, donde los alumnos tienen la oportunidad de observar los síntomas en los cultivos, los signos en las raíces, como es la presencia de agallas en la raíz o en hojas, o la presencia de quistes adheridos a las raíces. Una salida de campo que me ha dado excelentes resultados, es realizar un viaje a la zona tropical, donde los estudiantes tienen la oportunidad de cambiar de ambiente y clima, coleccionar, extraer y observar, nematodos en diferentes nichos ecológicos como es: humedal, dunas, selva; nematodos con diferente hábito alimenticio como: los nematodos bacteriófagos, micofagos depredadores, marinos, los que habitan en humedal, dunas, selva, agua dulce y agua salobre, así como verán e identificarán, a los nematodos de que parasitan cultivos como: caña de azúcar, café, mango, cítricos, palma de coco, y plantas ornamentales de las zonas agrícolas. Con esta experiencia en campo, los alumnos son los responsables de realizar el muestreo, las extracciones y la observación en vivo de los nematodos, que habitan en los diferentes ambientes donde fueron colectados; con todas estas actividades de trabajo los estudiantes, se motivan y su aprendizaje es más firme. Otro objetivo del curso es que los alumnos expongan un seminario el cual se les pide al inicio del curso, ellos pueden escoger el tema o se les asigna, de esta manera los alumnos tienen que analizar la literatura, preparar sus imágenes y exponer, el título de la exposición, debe estar dentro del programa de seminarios, antes de realizar el viaje de prácticas. El objetivo de esta actividad es que los alumnos profundicen en el tema asignado y madurar como exponentes de conferencias, aprendiendo además a estar presentes en los seminarios,

a ser activos en las conferencias, a ser críticos y a incrementar su seguridad y confianza, cuando están enfrente del público.

Otro objetivo muy importante de las salidas de campo, es que tengan muestras de nematodos fijadas, donde los alumnos extraen una gran diversidad de nematodos, con diferentes hábitos tróficos y con el entrenamiento que se les da en cada una de las prácticas, ellos aprenden a identificar los nematodos fitoparasitos, a nivel de género y con ello cumplir con la solicitud, de que cada uno debe entregar una colección de preparaciones con nematodos identificados correctamente, al final del curso; la colección se les regresa completa, la que les servirá en sus futuras actividades profesionales como docentes o en sus investigaciones.

PROGRAMA ANALÍTICO CURSO DE NEMATOLOGIA AGRÍCOLA

FUNDAMENTACIÓN

El programa de Fitopatología tiene como objetivo formar especialistas altamente capacitados en el reconocimiento y manejo de las enfermedades causadas por nematodos en plantas cultivadas a través de la Enseñanza y la Investigación. De esta manera, los alumnos adquieren conocimientos básicos de este grupo de fitopatogenos más importantes en la agricultura, mediante diversas actividades realizadas en el aula, el laboratorio y el campo.

OBJETO DE ESTUDIO

Estudiar su morfología y biología, así como la sintomatología y las enfermedades que éstos causan y los métodos de manejo de las especies de mayor importancia económica.

OBJETIVOS GENERALES

- Hacer una revisión general de la ubicación zoológica del grupo y sus relaciones filogenéticas con los Phyla de Pseudocelomados más cercanos.
- Dar una visión general de la importancia de los nematodos para el hombre.
- Revisar las variaciones que se presentan dentro del Phylum Nemata o Nematoda, no sólo en cuanto a su morfología, sino también en sus hábitos ecológicos, síntomas que inducen, hábitos parasíticos y en su clasificación general, ubicando de esta manera los Órdenes que tienen representantes parásitos de plantas y el análisis de las especies más importantes en cada familia y las estrategias de manejo de las poblaciones.

OBJETIVOS EDUCATIVOS

- Fomentar la participación activa de los alumnos en las discusiones de los temas vistos, tanto en el aula como en el laboratorio y en el campo.
- Fomentar el trabajo en equipo para realizar las tareas y analizar los temas a tratar.
- Desarrollar en los alumnos la capacidad para transmitir conocimientos y hacer la presentación oral de trabajos asignados.
- Incrementar la habilidad para analizar la información contenida en trabajos científicos publicados en el idioma inglés.
- Fomentar la creatividad y la búsqueda de información relacionada con los trabajos y temas vistos en clase, haciendo uso de herramientas en telecomunicaciones con que cuentan las diversas universidades extranjeras (páginas electrónicas, Internet).

SISTEMA DE CONOCIMIENTOS

1. Se analizará las propuestas de clasificación general del Phylum Nemata y se hará énfasis en la taxonomía de las principales especies de nematodos fitopatógenos.
2. Se dará una descripción morfológica de cada uno de los sistemas y aparatos que tienen los nematodos, haciendo énfasis en los que caracterizan a los parásitos de plantas.
3. Se estudiarán:
 - a) los diferentes hábitos tróficos,
 - b) el desarrollo del parasitismo,
 - c) ciclos de vida, y
 - d) la sintomatología inducida por los nematodos en sus plantas hospedantes.
4. Se entrenará a los alumnos con el fin de que identifiquen los principales géneros de nematodos a través de los microscopios estereoscópico y el compuesto.
5. Se analizarán los principales métodos para el control de las especies de nematodos fitopatógenos de cada familia, que atacan los cultivos de importancia económica.

CONTENIDO TEÓRICO DEL CURSO

Tema 1. IMPORTANCIA DEL PHYLUM NEMATA.

Objetivo: Conocer los principales ejemplos de parasitismo por nematodos en el hombre, insectos y plantas.

Contenido:

Introducción y diagnóstico del Phylum Nemata.

Parasitismo y su origen.

Ejemplos de nematodos parásitos del hombre, ciclo directo e indirecto.

Orden Mermítida como parásitos de ortópteros y lepidópteros.

Orden Rhabditida como agentes de control biológico de plagas.

Ejemplos de enfermedades inducidas por nematodos parásitos de plantas.

Tipología de clase: Sesión interactiva y conferencia. Teoría: 1.5 h. **Total de horas:**

1.5 h.

Tema 2. MORFOLOGÍA DE NEMATODOS.

Objetivo: Conocer la morfología externa e interna, poniendo énfasis en la de los nematodos parásitos de plantas. Clasificación de las Clases Adenophorea y Secernentea, (Chitwood, 1959) y (Andrassy, 2007).

Contenido:

Morfología Externa.

Forma, tamaño y partes del cuerpo de los nematodos.

Cutícula externa.

Cefalización.

Anillos cuticulares.

Estructuras cuticulares.

Cutícula interna.

Pared cuticular.

Hipodermis.

Proceso de muda.

Morfología Interna

Sistema digestivo.

Sistema excretor.

Sistema muscular.

Sistema nervioso: central y periférico.

Sistema reproductor femenino y masculino.

Tipos de reproducción.

Embriología.

Desarrollo postembrionario.

Tipología de clase: Asignación de lecturas, clase interactiva y conferencia. Teoría: 7.5 h. Práctica de laboratorio: 12 h. **Total de horas: 19.5 h.**

PRIMER EXAMEN PARCIAL

Tema 3. EVOLUCIÓN DEL PARASITISMO EN PLANTAS.

Objetivo: Analizar el origen del parasitismo, considerando los cambios morfológicos y fisiológicos que sufrieron los nematodos para adaptarse al parasitismo en plantas. Describir los diferentes hábitos parasíticos del grupo, tanto en las partes aéreas como en las partes subterráneas.

Contenido: Desarrollo del parasitismo en las partes superiores de las plantas

(nematodos formadores de agallas).

Desarrollo del parasitismo en raíz.

Ectoparasitismo migratorio.

Ectoparasitismo sésil.

Ecto-endoparasitismo.

Endoparasitismo migratorio.

Endoparasitismo sésil.

Parasitismo asociado a insectos.

Tipología de clase: Asignación de lecturas, clase interactiva y conferencia. Teoría:

3h. **Total de horas: 3h.**

Tema 4. RESPUESTA DE LAS PLANTAS AL ATAQUE DE NEMATODOS.

Objetivo: Analizar la fisiología de las glándulas esofágicas subventrales y dorsal (contenido cualitativo de las secreciones). Describir la formación de lesiones necróticas por el desdoblamiento de la amigdalina y los fenoles. Describir la sintomatología inducida por los diferentes grupos de nematodos ectoparásitos y endoparásitos, en sus plantas hospedantes, haciendo énfasis en las principales alteraciones fisiológicas y anatómicas asociadas.

Contenido:

Lesiones en los tejidos parenquimatosos y vasculares.

Respuestas de hipersensibilidad.

Cambios bioquímicos.

Cambios fisiológicos.

Sincitio y células gigantes.

Hipertrofia e hiperplasia.

Tipología de clase: Análisis de literatura y conferencia. Teoría: 1.5 h. Práctica de laboratorio: 3 h. **Total de horas: 4.5 h.**

Tema 5. FACTORES ECOLÓGICOS Y BIOLOGÍA DE NEMATODOS.

Objetivo: Analizar los efectos que tiene la temperatura, las propiedades físicas y químicas del suelo, así como los exudados radicales, en la biología de nematodos (alimentación, eclosión, desarrollo postembrionario y estados de resistencia).

Contenido:

Influencia de la temperatura.

Factores físicos y químicos del suelo.

Exudados radicales.

Diapausa.

Criptobiosis.

Anhidrobiosis.

Tipología de clase: Teoría: 1.5 h. Práctica de laboratorio: 3 h. **Total de horas: 4.5 h.**

Tema 6. FACTORES DE REGULACIÓN DE POBLACIONES E INTERACCIONES.

Objetivo: Analizar la salinidad, acidez y textura del suelo como factores que inhiben el establecimiento de las poblaciones de nematodos. Estudiar las interacciones que establecen los nematodos con hongos, bacterias y virus. Revisar los organismos con lo que se ha obtenido un control biológico exitoso de nematodos fitopatógenos.

Contenido:

Propiedades físicas y químicas del suelo.

Agentes de control biológico de nematodos fitopatógenos.

Pochonia chlamydosporia.

Paecilomyces lilacinus o *Purpureocillium lilacinum*.

Pausteria penetrans.

Interacciones entre especies de nematodos con: *Fusarium* spp., *Verticillium* spp., nepovirus y netuvirus.

Compatibilidad nematodo-planta.

Tipología de clase: Teoría: 3 h. Práctica de laboratorio: 3 h. **Total de horas: 6 h.**

SEGUNDO EXAMEN PARCIAL

Tema 7. ANÁLISIS DE FAMILIAS, GÉNEROS Y ESPECIES.

Objetivo: Caracterizar morfológicamente a la Clase Adenophorea y análisis de los Ordenes Mermitida, Dorylaimida y Diphterophorida, así como sus Familias: Mermithidae, Longidoridae y Trichodoridae. Caracterizar morfológicamente a la Clase Secernentea y dentro de ésta, a los Ordenes Rhabditida y Tylenchida, con el análisis de las familias más importantes desde el punto de vista agrícola.

Contenido:

Introducción.

Enfermedades inducidas por *Xiphinema* spp. y *Longidorus* spp.

Características ecológicas.

Ciclos de vida.

Control biológico: Familias Mermithidae, Steinernematidae y Heterorhabditidae.

Descripción de las Superfamilias Tylenchoidea y Criconematoidea.

Análisis de las familias y sus principales géneros:

- a) Tylenchidae.
- b) Anguinidae.
- c) Dolichodoridae.
- d) Belonolaimidae.
- e) Pratylenchidae.
- f) Hoplolaimidae.
- g) Heteroderidae.

Descripción del Suborden Aphelenchina y las Familias Aphelenchoididae y Bursaphelenchidae.

Tipología de clase: Teoría: 4.5 h. Práctica de laboratorio 9 h. **Total de horas: 13.5**

h.

Tema 8. ALTERNATIVAS DE CONTROL Y MANEJO DE NEMATODOS FITOPATÓGENOS.

Objetivo: Analizar los principales métodos de control de nematodos asociados a diversas partes vegetales: semillas, hojas, tubérculos y raíces.

Contenido:

Control físico: desecación, calor húmedo y solarización.

Prácticas culturales: Limpieza de herramienta y entrada a los invernaderos, rotación de cultivos, inundaciones, fechas de siembra, remoción de residuos vegetales, cultivos de trampa.

Medidas cuarentenarias.

Especies de importancia cuarentenaria en México.

Resistencia genética.

Control biológico

Control químico.

Mecanismos de acción de los nematicidas y factores del suelo.

Control Integrado de nematodos fitopatogenos.

Biodesinfección del suelo (Biofumigación)

Tipología de clase: Teoría: 4.5 h. **Total de horas: 4.5 h.**

Tema 9. Diagnóstico molecular de nematodos. (Profesor Invitado)

Objetivo: Dar a conocer el diagnóstico molecular como una herramienta moderna, que apoya a la taxonomía de nematodos en la identificación de especies. Que los alumnos conozcan la técnica de la ampliación del DNA mediante reacción de la cadena de la polimerasa (PCR) y que tengan una sesión de práctica identificando una especie de importancia en la agricultura.

Tipología de clase: Teoría: 1.5 h. Práctica de laboratorio 3 h. **Total de horas: 3.0 h.**

9. Laboratorio sesiones prácticas

El laboratorio del curso consta de 15 prácticas, algunas de las cuales requieren de trabajo extra clase, tanto en invernadero como en campo. Las prácticas cubren los aspectos básicos, tales como: métodos de diagnóstico, extracción, montaje e identificación de los principales géneros de importancia económica, así como algunos de los métodos de control utilizados para el manejo de poblaciones de nematodos fitopatogenos. Las prácticas tendrán una sesión por semana (viernes), en horario de 10:00 a 14:00. Durante el curso se realizarán dos viajes de colecta, uno corto al estado de México (1 día) y otro de tres días al Estado de Veracruz, a La estación ecológica La Mancha del Instituto de Ecología Jalapa, Veracruz.

La evaluación del laboratorio incluye la entrega de los cuestionarios y dibujos correspondientes a las observaciones realizadas durante las prácticas (70%) y el reporte final y presentación de los resultados de la práctica de control químico de nematodos

fitopatogenos. Los dibujos se entregarán semanalmente para su revisión y los cuestionarios una semana después de la práctica correspondiente.

10. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN TEORIA

Para la evaluación del curso se tomarán en cuenta los siguientes aspectos:

- 1. Elaboración de tres exámenes teóricos..... 50 %
- 2. Examen final de laboratorio y reporte de prácticas..... 20 %
- 3. Seminario final..... 10%
- 4. Colección de nematodos fitopatogenos (preparaciones permanentes) 15%
- 5. Participación en clase, laboratorio y campo..... 5%

La suma total de los porcentajes obtenidos, dará la calificación final del curso.

Temas del programa de practicas

Práctica 1: Sintomatología. Práctica

Práctica 2: Muestreo de nematodos

Práctica 3: Técnicas de extracción de nematodos

Práctica 4: Muerte, fijación, deshidratación y montaje de nematodos

Práctica 5: Morfología externa de nematodos

Práctica 6: Control químico de nematodos. (Establecimiento de experimento).

Práctica 7: Morfología interna de nematodos

Práctica 8: Clasificación del Phylum Nematoda: Los Ordenes Dorylaimida y

Tylenchida

Práctica9: Suborden Tylenchina: Superfamilias Tylenchoidea y Criconematoidea.

Inicio de Identificación de nematodos en vivo

Viaje de práctica: La mancha, Ver. (3 días).

Práctica 10: Familias Tylenchidae y Anguinidae.

Práctica 11: Familias Dolichodoridae y Belonolaimidae.

Práctica 12: Familias Pratylenchidae y Hoplolaimidae.

Práctica 13: Familia Heteroderidae: Subfamilia Heteroderinae.

Práctica 14: Familia Heteroderidae: Subfamilia Meloidogyninae.

Práctica 6 (cont.): Control químico de nematodos fitopatogenos(Evaluación).

Práctica 15: Familias Criconematidea y Tylenchulidae.

Examen final de laboratorio y entrega de reporte final. Entrega de calificación de laboratorio.

Las fechas de laboratorio y salidas a campo pueden estar sujetas a cambios.

6 EVALUACIÓN LABORATORIO

Aspectos a considerar:

- 1) Cuestionarios, actividades complementarias y reportes 30%
- 2) Dibujos o fotografías realizados en clase.....15%
- 3) Entrega de un reporte final del trabajo en laboratorio (Compendio de prácticas)5%

4) Examen final de laboratorio.....	30%
5) Identificación de ejemplares vivos.....	20%
La suma total de los porcentajes dará la calificación final de laboratorio.	

REFERENCIAS

- Andrassy I. 2007. Free-living nematodes of Hungary, II (Nematoda Errantia). Ed. Pedozoologica Hungarica No. 4.
- Baker K.R, G.A. Pederson and G. L. Windham 1998. Plant and nematode interactions Ed. Agronomy number 36.
- Davies K. 2011. Biological control of plant –parasitic nematodes. Ed. Springer Science.
- Evans K, D.L. Trudgill, J.M. Webster. 1993. Plant parasitic nematodes in temperate Agricultura. Ed. CAB International.
- Eyualem-Abebe, W. Traunspurger and I. Andrassy. 2006. Freshwater nematodes Ecology and Taxonomy. Ed. CABI Publishing.
- Geraert E. 2013. Identification of the family Pratylenchidae (Nematoda: Tylenchida). Ed. Academic Press.
- Geraert E. 2013. Identification of the family Dolichodoridae (Nematoda: Tylenchida). Ed. Academic Press. 520 pp.
- Luc, M., R.A. Sikora & J. Bridge. 1990. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. C.A.B. International. 629 pp.
- Maggenti, A. 1981. General Nematology. Ed. Springer- Verlag. 372 pp.
- Manzanilla H.R. and N.M. Mendoza. 2012. Practical Plant Nematology. Ed. Biblioteca Básica de Agricultura. 883 pp.
- Marks R.J. and B.B. Brodie.1998. Potato cyst nematodes biology, distribution and control. CAB. International.
- Perry R.N., M. Moens and J.L. Starr. 2009. Root Knot nematodes. Ed. CAB International. 488 pp.

Sharma S.B. 1998. The cyst nematodes. Ed. Kluwer Academic Publishers.452 pp.

Siddiqi, M.R. 2000. Tylenchida Parasites of Plants and Insects 2nd. Edition. CABI Publishing. 833 pp.

Subbotin, S.A. and J.J. Chitambar.2018. Plant parasitic nematodes in sustainable agriculture of North America Vol.1- Canada, Mexico and Western USA. Ed. Springer.250 pp.

Subbotin A.S., M.M. Ocampo and J.G. Baldwin. 2010. Systematics of cyst nematodes (Nematoda: Heteroderidae) Vol. I and II. Ed. Brill Leiden-Boston.

Viglierchio, R.D. 1991. The world of nematodes. Ed. UC Davis. 266 pp.

Paginas de la red

<http://www.wormatlas.org/glossaries/pglossary.htm>

<http://www.wormatlas.org/>

NEMAPLEX

FUNCIONES DEL SILICIO EN CULTIVOS AGRÍCOLAS Y BENEFICIOS QUE APORTA CONTRA ESTRESSES BIÓTICOS Y ABIÓTICOS

Data de aceite: 02/10/2023

Lira-Saldivar, Ricardo Hugo

Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), Departamento de Biociencias y Agrotecnología. Blvd. Enrique Reyna Hermosillo, No. 140, Col. San José de los Cerritos. Saltillo, Coah., México

Vera-Reyes, Ileana

Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), Departamento de Biociencias y Agrotecnología. Blvd. Enrique Reyna Hermosillo, No. 140, Col. San José de los Cerritos. Saltillo, Coah., México

Ramírez-Luna Fernando

Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), Departamento de Biociencias y Agrotecnología. Blvd. Enrique Reyna Hermosillo, No. 140, Col. San José de los Cerritos. Saltillo, Coah., México

Flores-Hernández

Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), Departamento de Biociencias y Agrotecnología. Blvd. Enrique Reyna Hermosillo, No. 140, Col. San José de los Cerritos. Saltillo, Coah., México

Eduardo Arón

Departamento de Suelos, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna. Torreón, Coah., México.

ANTECEDENTES

Uno de los primeros reportes documentado sobre el silicio (Si) en suelos, plantas y animales fue de Jones y Handreck (1967), quienes mencionan que entre los factores que afectan el contenido de Si de las plantas se incluye el pH del suelo y el contenido de óxidos de hierro y aluminio presentes en las plantas, las cuales absorben diferentes cantidades de Si.

El Si a veces tiene un efecto beneficioso al aliviar la toxicidad del manganeso, ya que el Si altera la distribución del Mn en los tejidos de las hojas, evitando así que se acumule en áreas localizadas que se vuelven necróticas y mueren. La presencia de Si en pastos o plantas forrajeras asegura que los rumiantes en pastoreo ingieran cantidades

bastante grandes de Si, la mayoría de las cuales se encuentran en forma sólida.

En el trabajo de Miyake y Takahashi (1978) sobre la deficiencia de Si en plantas de tomate, se diferenciaron nueve síntomas, y a partir de sus resultados concluyeron que el Si tiene un efecto sobre la fisiología y el crecimiento reproductivo de esta solanácea. Más tarde esos autores observaron que la respuesta de crecimiento de las plantas de pepino a la deficiencia de Si es similar a las plantas de tomate (Miyake y Takahashi, 1983), así como a las plantas de soya (Miyake y Takahashi, 1985) y de fresa (Miyake y Takahashi, 1986).

Después Marschner et al. (1990) concluyen que las evidencias generadas eran insuficientes para clasificar el Si como un elemento esencial para el pepino. En cambio, el Si puede actuar como un elemento útil en condiciones de desequilibrio de nutrientes, por ejemplo, en el suministro de P y Zn, coadyuva a la deficiencia de Zn inducida por P.

Posteriormente Epstein (1999) señaló que el Si está presente en las plantas en cantidades equivalentes a macronutrientes como el Ca, Mg y el P, y en los pastos con frecuencia en niveles más altos que cualquier otro constituyente inorgánico. Sin embargo, no se considera un elemento esencial para las plantas. Como resultado, se omite en las formulaciones de soluciones nutritivas de cultivos y se considera insignificante en gran parte de la investigación. Concluyó mencionando que, la evidencia es abrumadora de que el Si debe incluirse entre los elementos que tienen una mayor influencia en la fisiología vegetal.

El objetivo del presente trabajo es mostrar de manera cronológica y hasta los reportes más actualizados, importantes resultados de investigación en los que se consignan los efectos benéficos del silicio para promover la fotosíntesis, y la resistencia o tolerancia de las plantas contra estreses bióticos y abióticos, como sequía, salinidad, plagas, enfermedades y fitotoxicidad por metales pesados; esperando que el lector medite que este mineral es más significativo de lo que se cree o piensa.

SILICIO CONTRA EL ESTRÉS HÍDRICO

La escasez actual de agua es un gran problema en regiones semiáridas como Pakistán y causa el deterioro de la productividad de los cultivos y reduce los rendimientos agrícolas en todo el mundo. Entre los estreses abióticos, la sequía se considera el factor limitante del crecimiento más importante, especialmente en regiones áridas y semiáridas. La tolerancia de las plantas a la sequía se asocia con el mantenimiento de su estado hídrico, ya sea reduciendo la pérdida de agua mediante la disminución de la transpiración o mejorando la capacidad de las raíces para extraer más agua mediante el ajuste osmótico (Figura 1).

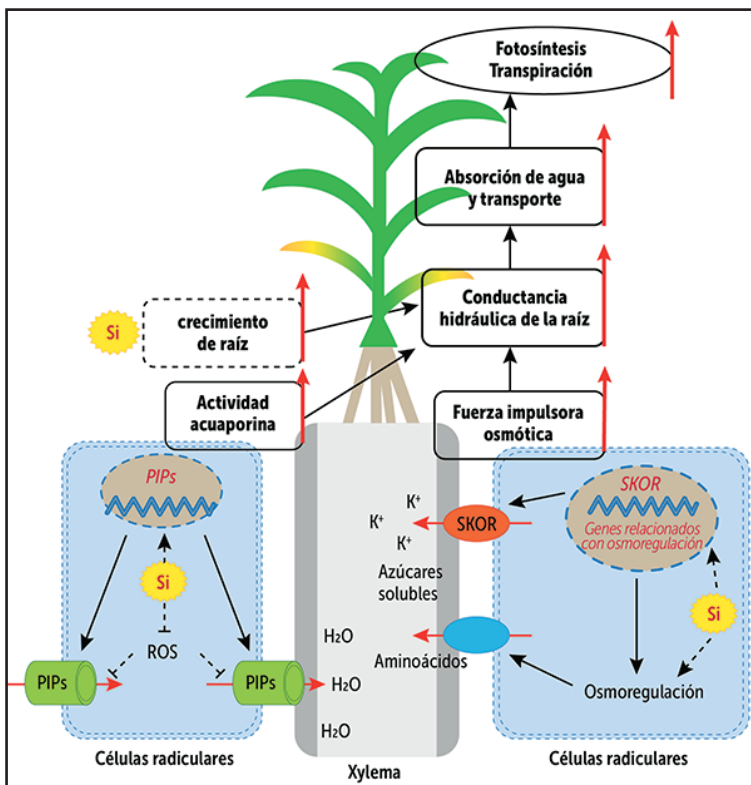


Figura 1. Esquema que ilustra deficiencia hídrica por estrés salino, la deficiencia de potasio y su interacción en procesos fisiológicos (Tomado de: <https://redagricola.com/quick-sol-entrega-una-estrategia-de-mitigacion-del-estres-hidrico-en-frutales/>).

En esta figura se ilustra el efecto del Si en el crecimiento radicular y la actividad de las acuaporinas cuando se presenta una deficiencia de potasio que afecta diversos procesos como: el potencial osmótico, la conductancia hidráulica de la raíz, la absorción y transporte de agua por los conductos del xilema y finalmente en la transpiración y fotosíntesis.

Bajo estrés por sequía, el Si aumentó la biomasa y el contenido de agua de las hojas en las plantas de pepino. El silicio también disminuyó la descomposición de la clorofila, en las hojas limitó el aumento de la permeabilidad de la membrana plasmática y el contenido de malondialdehído (MDA), alivió la respuesta fisiológica de la peroxidasa (POD) al estrés por sequía, mantuvo la superóxido dismutasa (SOD) y aumentó la actividad de la catalasa (CAT).

Estos resultados mostraron que bajo estrés por sequía el primer factor responsable de los efectos de la aplicación de Si sobre la biomasa fue el aumento de la fotosíntesis, y el segundo factor fue la mejora en la capacidad de retención de agua. Con base en estos hechos, se concluyó que el Si mejora la resistencia a la sequía primariamente al participar en el metabolismo de las plantas.

Entender las respuestas fisiológicas de las plantas al estrés hídrico es esencial para realizar el mejoramiento genético de los cultivos. Debido a eso, Gunes et al. (2008) investigaron los efectos del Si sobre el crecimiento de brotes y raíces, el contenido relativo de agua de la hoja (RWC), la resistencia estomática (SR), la peroxidación lipídica (MDA), la permeabilidad de la membrana (MP), la prolina y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), la actividad antioxidante no enzimática y las actividades de superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y ascorbato peroxidasa (APX) de 12 cultivares de girasol cultivados en condiciones de sequía.

Desde hace muchos años se comenta que la productividad agrícola está muy afectada por diferentes estreses abióticos, entre los cuales el estrés hídrico es la principal restricción ambiental que limita su crecimiento. Este estrés conduce a numerosos cambios fisiológicos y bioquímicos en las plantas y da como resultado una pérdida grave en los rendimientos, por lo que existe la necesidad de encontrar formas de aumentar la resistencia de los cultivos al estrés hídrico (Sacala, 2009). Uno de los métodos alternativos que implican el alivio de los efectos negativos del estrés es la aplicación de Si como fertilizante (radicular o foliar).

Amin et al. (2014) realizaron un estudio en macetas para evaluar el efecto de la nutrición de Si (0, 50, 100 y 150 mg/kg) en el crecimiento de híbridos de maíz relativamente tolerantes (P-33H25) a la sequía y sensibles (FH-810).

Se utilizaron dos niveles de contenido de agua en el suelo: 100 y 60% de la capacidad de campo. La condición del déficit hídrico en el suelo redujo los atributos morfológicos y fisiológicos de las plantas de maíz. La aplicación de Si mejoró la altura, el área foliar, la longitud de la raíz primaria, la materia seca de brotes y raíces, así como la materia seca de la planta, en condiciones de déficit hídrico.

Pavlovic et al. (2021) mencionan que la aplicación de Si tiene el potencial para aumentar la disponibilidad de nutrientes en la rizósfera y la absorción de raíces a través de mecanismos complejos, que aún no están claros. La regulación transcripcional mediada por Si de los transportadores de elementos tanto para la adquisición de raíces como para la homeostasis tisular se ha sugerido recientemente como una estrategia importante, que varía en detalle según la especie vegetal y el estado nutricional.

Estos autores resumieron la evidencia de la adquisición, absorción y translocación de nutrientes mediada por silicio como: N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn, Mn, Cu, B, Cl y Ni, tanto en condiciones de deficiencia como de exceso. Además, discuten las interacciones de Si con elementos benéficos como: Al, Na y Se.

La sequía es una limitación importante para la producción de arroz en las tierras de secano o temporal en China. Se ha verificado que el Si tiene una función importante en mejorar la resistencia de las plantas al estrés hídrico. Chen et al. (2011) seleccionaron dos líneas casi isogénicas de arroz (*Oryza sativa* L.), w-14 (susceptible a la sequía) y w-20 (resistente a la sequía), para estudiar los efectos de la aplicación de Si en las características

fisiológicas y el estado nutricional del arroz bajo estrés por sequía.

El estrés hídrico aumentó el contenido de K, Na, Ca, Mg y Fe de las plantas de arroz, pero el tratamiento con Si redujo el nivel de esos nutrientes. Por lo tanto, la aplicación de Si fue útil para aumentar la resistencia del arroz a la sequía, mediante la mejora de la eficiencia fotoquímica y el ajuste de la absorción de nutrientes minerales en las plantas.

El estrés por sequía obstaculiza el crecimiento de plantas forrajeras al alterar las relaciones planta-agua y las funciones fisiológicas. Saud et al. (2014) evaluaron el efecto del Si en la tolerancia a la sequía en el pasto *Poa pratensis* L. Después de tener plantas de 2 meses en invernadero se encontró que el estrés hídrico disminuyó la fotosíntesis, transpiración, conductancia estomática, tasa de crecimiento, eficiencia en el uso del agua y la calidad del pasto, pero aumentó la relación C: N de la raíz/brote y la hoja.

Tales alteraciones fisiológicas en las relaciones hídricas de las plantas y reducciones de crecimiento en el pasto azul de Kentucky se aliviaron con la adición de Si después del estrés hídrico. La aplicación de Si a 400 mg L⁻¹ aumentó la fotosíntesis en 44%, el contenido de agua de las hojas en 33%, el color verde de las hojas en 42% y la calidad del césped en 44% después de 20 días de estrés hídrico. La aplicación de Si demostró ser beneficioso para mejorar el rendimiento del pasto. Esto sugiere que manipular el Si a través de biotecnología puede resultar en el desarrollo de resistencia a la sequía en los pastos o forrajes.

La investigación de Xie et al. (2015) tuvo como objetivo determinar los efectos de la aplicación de Si sobre las características fotosintéticas del maíz en un suelo salino-alcalino, incluidas la tasa fotosintética, la conductancia estomática, la tasa de transpiración y la concentración de CO₂ intercelular de maíz en el campo con cinco niveles de suministro de Si (0, 45, 90, 150 y 225 kg·ha⁻¹).

Por su parte, Shi et al. (2016) investigaron los efectos del Si en la absorción de agua por la raíz y su función en la disminución del daño oxidativo en relación con la conductancia hidráulica de la raíz en tomate (*Solanum lycopersicum* 'Zhongza No.9') bajo estrés hídrico. Las plántulas de tomate se sometieron a estrés hídrico inducido por polietilenglicol-6000 al 10% (p/v) en ausencia o presencia de silicato añadido a 2.5 mM.

Los resultados mostraron que la adición de Si mejoró la inhibición en el crecimiento y la fotosíntesis del tomate, así como contenido de agua bajo estrés hídrico. La conductancia hidráulica de la raíz disminuyó bajo estrés hídrico y aumentó con la adición de Si. No hubo una contribución significativa del ajuste osmótico en la absorción de agua de la raíz mejorada con Si bajo estrés hídrico.

En el estudio de Ullah et al. (2016), el Si y las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) que contienen actividad ACC-desaminasa se evaluaron como una herramienta para mejorar la tolerancia a la sequía del tomate. Los resultados revelaron que el estrés hídrico causó reducciones en el crecimiento, rendimiento, acumulación de K, Ca y Mg, así como en el contenido relativo de agua (RWC), mientras que aumentó la

concentración de Na y la fuga de electrolitos.

La suplementación con Si y PGPR aumentó la acumulación de K en las plantas, mientras se En tres temporadas sucesivas (2014, 2015 y 2016), Helaly et al. (2016) realizaron experimentos de campo con cuatro cepas de mango sometidas a dos regímenes de agua y se investigaron los parámetros fisiológicos y de crecimiento relativos a la tolerancia al estrés hídrico en plantas de mango. También se evaluó el rendimiento y sus componentes. Los datos mostraron que todos los parámetros fisiológicos y de crecimiento aumentaron con el suplemento de K_2SiO_3 (Si) y fueron seguidos por el tratamiento de interacción (tratamiento de Si y su combinación con estrés hídrico), en comparación con la condición controlada.

El Si mejora la resistencia del maíz a la sequía, pero no se conocen bien las respuestas fisiológicas y agronómicas del maíz al estrés hídrico. Por lo tanto, Ning et al. (2020) realizaron un experimento de columnas de suelo (Figura 2) bajo protección a prueba de lluvia para cuantificar los efectos de la aplicación de Si en plantas de 6 hojas (D-V6), 12 hojas (D-V12), y en la etapa de ampolla (D-R2).

Los parámetros observados incluyeron el crecimiento de las plantas, fotosíntesis, osmolitos, actividad antioxidante y el rendimiento de grano. Los resultados mostraron que el estrés hídrico disminuyó el área foliar, el contenido de agua de las hojas, la tasa fotosintética, el contenido de clorofila y la actividad antioxidante de SOD, POD y CAT y aumentó la peroxidación lipídica. D-V6, D-V12 y D-R2 redujeron los rendimientos de grano en 12.9, 28.9 y 44.8%, respectivamente, en comparación con el tratamiento con riego abundante.

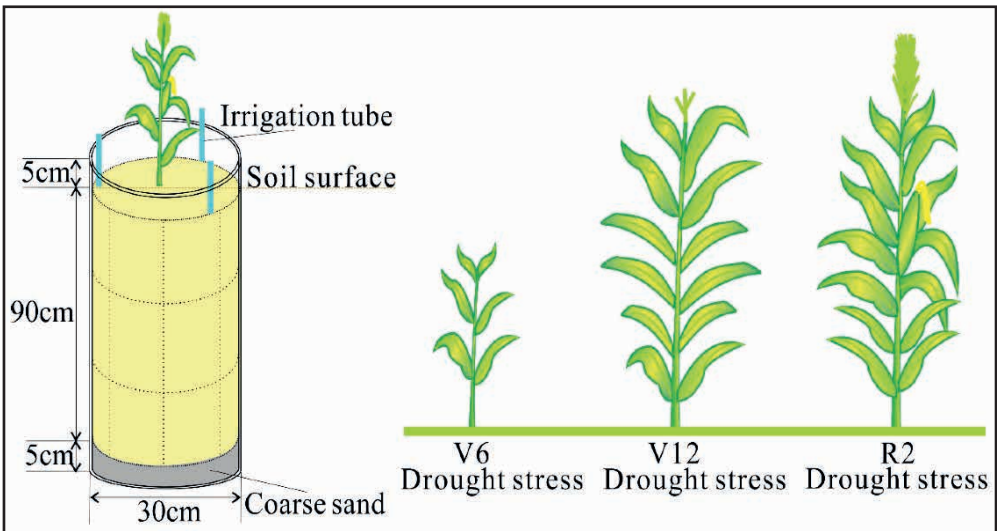


Figura 2. Diagrama de una columna experimental y los tres periodos de estrés por sequía aplicados a plantas de maíz durante las etapas de 6 hojas (V6), 12 hojas (V12) y ampolla (R2) (Tomado de: Ning et al., 2020).

El estrés por sequía se considera una de las principales limitaciones ambientales que con frecuencia restringe la producción de cultivos. En el estudio de Patel et al. (2021) se examinaron alteraciones del crecimiento, homeostasis iónica, pigmentos fotosintéticos, osmolitos orgánicos, la generación de especies ROS, los componentes antioxidantes y el perfil metabólico inducidos por el estrés hídrico (Figura 3).

De esa manera pudieron evaluar la función del Si en la mitigación de los efectos de la sequía y comprender el mecanismo de adaptación a la sequía en dos genotipos de cacahuate (*Arachis hypogaea* L.) contrastantes: (GG7) crecimiento rápido y alto, así como el TG26 de crecimiento lento y semienano.

La aplicación de Si mejoró el contenido de clorofila de las hojas, el porcentaje de contenido relativo de agua, el crecimiento y la biomasa en el genotipo GG7 en comparación con el genotipo TG26 bajo estrés hídrico. La suplementación con Si promovió la absorción y el transporte de nutrientes en condiciones de sequía en ambos genotipos, lo que eventualmente promueve el crecimiento de las plantas.

Además, la aplicación de Si aumentó los niveles de fitohormonas como el ácido indol-3-acético (IAA), el ácido giberélico (GA3), el ácido jasmónico (JA) y la zeatina en el genotipo GG7 bajo estrés hídrico en comparación con plántulas no tratadas con Si, lo que sugiere su participación en vías de señalización para la adaptación y tolerancia a la sequía.

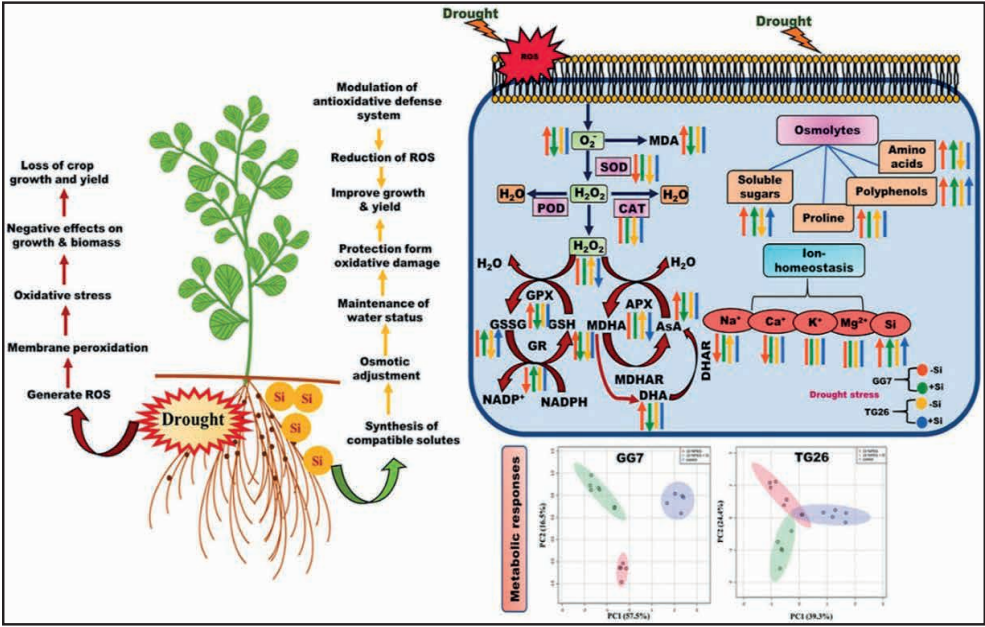


Figura 3. Mitigación del estrés por sequía inducida por silicio en dos genotipos de maní o cacahuate (*Arachis hypogaea* L.) a través de la homeostasis de iones, modulaciones del sistema de defensa antioxidante y regulaciones metabólicas (Tomado de: Patel et al., 2021).

El estudio de Etesami et al. (2022) donde se combinó el uso de Si con micorrizas

arbusculares (AMF) para mitigar el efecto de salinidad y sequía en plantas de arroz indica que los beneficios de la nutrición de Si, son limitados debido a su absorción restringida por la planta de arroz (Figura 4).

Respecto al efecto del Si en especies frutales como el durazno o melocotón, en el ensayo de Gao et al. (2022) se secuenciaron los transcriptomas de plántulas de durazno tratadas con Si y del control bajo estrés hídrico para identificar los genes o redes de genes, que podrían manejarse para aumentar la tolerancia a la sequía de las plántulas de durazno.

El Si viene siendo uno de los principales elementos que necesitan las plantas para hacer frente a las condiciones ambientales adversas, y se considera un elemento cuasi-beneficioso. El Si está involucrado en el crecimiento y la diferenciación de las raíces, el transporte de otros elementos, la asimilación de carbono, en actividades de enzimas clave, quelación de elementos tóxicos, regulación del sistema redox, distribución de fotosíntesis, es decir, tiene efectos directos en la modulación de la tolerancia y estabilización de la cantidad y calidad del grano producido bajo estrés (Kumar et al., 2023).

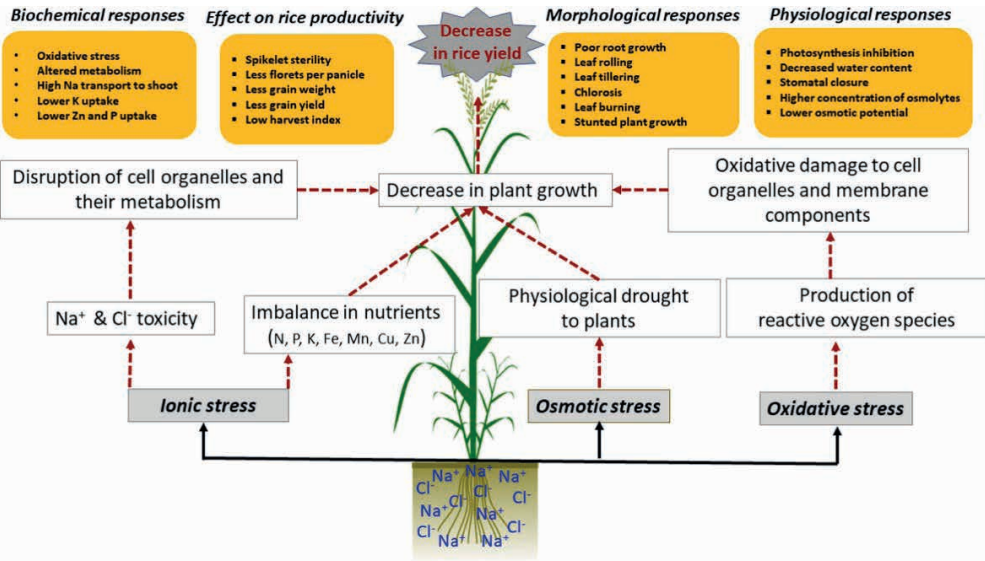


Figura 4. Efecto del estrés por sal y sequía en la planta de arroz. Esto causa estrés osmótico (sequía fisiológica), desequilibrio en los nutrientes (típicamente una disminución en la absorción de nutrientes) y estrés oxidativo, lo que provoca una disminución del crecimiento y rendimiento del arroz. Además, la salinidad conduce a la toxicidad iónica, especialmente por la acumulación de Na⁺ y Cl⁻ (Tomado de: Etesami et al., 2022).

Por su parte Gao et al. (2022) usaron plántulas de *Prunus persica* para analizar los efectos del Si en el crecimiento y los índices fisiológicos de resistencia al estrés hídrico. La adición de Si mejoró la eficiencia del uso del agua, la capacidad antioxidante y la tasa fotosintética, la inhibición del cierre de estomas, además, promovió el desarrollo de raíces y reguló aún más la síntesis de hormonas, aminoácidos y azúcares en plántulas de durazno.

El Si también regula el metabolismo de varios aminoácidos y promueve la acumulación de sacarosa y glucosa para mejorar la resistencia a la sequía. El Si mejoró la resistencia a la sequía de las plántulas de durazno al regular la síntesis de hormonas relacionadas con el estrés y la transducción de señales, y al regular el metabolismo de aminoácidos y el azúcar.

Recientemente Shanmugaiah et al. (2023) señalan que el Si está recibiendo cada vez más atención en la agricultura por sus beneficios para el crecimiento de las plantas y la tolerancia al estrés. Las plantas han desarrollado un mecanismo de transporte de Si altamente eficiente que implica la localización de proteínas transportadoras de Si que establecen una red altamente coordinada entre proteínas, lo que facilita la absorción y acumulación de Si.

También se ha descubierto que el Si puede promover el crecimiento de las plantas y aliviar una variedad de estreses bióticos y abióticos. La adición de Si mejora las características fisiológicas y químicas de la planta, incluidos sus mecanismos de defensa, modulación hormonal y patrones de expresión génica.

El Si activa las enzimas relacionadas con la defensa, promueve la producción de compuestos antimicrobianos, regula las vías de señalización e induce la expresión de genes relacionados con la defensa. Esto da como resultado una resistencia combinada que domina la resistencia bioquímica/molecular durante las interacciones planta-patógeno. Además, el Si alivia los efectos tóxicos del estrés abiótico, como el estrés salino, la sequía y los metales pesados.

El sistema agrícola mundial sigue siendo vulnerable a varios tipos de estrés bióticos y abióticos espacio-temporales. Kapoor et al. (2023) señalan que, a nivel molecular y fisiológico, se ha explorado intensamente la eliminación de los desafíos asociados con estos factores estresantes en las plantas. Pero las plantas han evolucionado con estrategias físico-bioquímicas, incluido un canal de comunicación cruzada de señalización que permite a las plantas decidir entre el crecimiento activo y las vías defensivas.

Los efectos de Se-Si en las respuestas defensivas de las plantas ahora se están investigando en una variedad de sistemas de plantas. Numerosos estudios ya han establecido el número de puntos convergentes que influyen directamente en la estimulación de compuestos antioxidantes para la mitigación de especies de reactivas de oxígeno (ROS), absorción de nutrientes y fitohormonas. El tratamiento foliar y del suelo con Se y Si mitiga el efecto del estrés biótico y abiótico al aumentar la producción de enzimas antioxidantes y disminuir la producción de compuestos ROS.

Además, se ha demostrado que la administración de micronutrientes como el Si y el Se mejoran las respuestas de defensa de las plantas en situaciones de estrés. Estos micronutrientes exhibieron muchas respuestas físico-bioquímicas asociadas con vías de comunicación cruzada de señalización de estrés. Actualmente se están realizando estudios ómicos para determinar los mecanismos moleculares exactos a través de los cuales se

podría entender bien la activación de la respuesta de defensa por Si/Se.

SILICIO CONTRA EL ESTRÉS SALINO

Romero-Aranda et al. (2006) consignan que el Si alivia el efecto nocivo de la sal en el crecimiento de las plantas de tomate al mejorar su estado hídrico, ya que las plantas tratadas NaCl solo mostraron una reducción en el peso seco y el área foliar del 55 y 58%, respectivamente, mientras que la reducción en las plantas tratadas con NaCl más Si fue solo del 31 y 22%, respectivamente. Por eso concluyeron que el Si mejora el almacenamiento de agua dentro de la planta, lo que permite una mayor tasa de crecimiento que, a su vez, contribuye a la dilución de la sal en la planta, mitigando así los efectos tóxicos de la sal.

El estrés salino es un estrés abiótico que afecta el crecimiento de las plantas y las actividades fisiológicas y bioquímicas, como la fotosíntesis y el contenido de clorofila. El estudio de Rohanipoor et al. (2013) se realizó con el fin de evaluar los efectos del Si sobre algunas respuestas fisiológicas del maíz bajo estrés salino. Las plántulas se trasplantaron a macetas de plástico que contenían suelo arenoso esterilizado y no salino. El Si se adicionó a cuatro niveles (0, 2, 4 y 6 mmol L⁻¹) de silicato de potasio K₂SiO₃ y se aplicó estrés salino a cuatro niveles (0, 3, 6 y 9 dS.m⁻¹) de cloruro de sodio (NaCl).

Con los tratamientos la salinidad disminuyó el peso fresco y seco del brote y la raíz, la longitud del tallo, el área foliar, el contenido de clorofila y el contenido relativo de agua (RWC) de las plantas de maíz, mientras que la aplicación de Si los incrementó. Hubo una notable disminución en los tratamientos con CE > 3 dS.m⁻¹, mientras que, el incremento de Si mejoró las respuestas fisiológicas del maíz. Por lo tanto, una nutrición adecuada de Si puede aumentar la resistencia a la salinidad en las plantas de maíz.

El Si puede aliviar el estrés biótico y abiótico en muchos cultivos y tiene efectos favorables sobre las plantas en condiciones de no estrés, pero hay dudas sobre la eficiencia del Si aplicado foliarmente y los efectos del Si sobre la nutrición mineral, los procesos fisiológicos y el crecimiento de las plantas de papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de riego.

El trabajo de Haghighi y Pessarakli (2013) se realizó en un invernadero utilizando un sistema hidropónico para estudiar los efectos de Si y nano silicio (N-Si) en el crecimiento y algunas características intercambio de gases de los tomates en condiciones de estrés salino. Después de las aplicaciones de Si y N-Si y las adiciones de NaCl a las soluciones nutritivas, se permitió que las plantas crecieran durante 42 días.

Los resultados mostraron que la salinidad tenía efectos nocivos sobre el peso fresco y seco de la planta, el volumen de la raíz y el diámetro del tallo. Por el contrario, la fuga de electrolitos aumentó al aumentar los niveles de salinidad. El aumento de los niveles de salinidad disminuyó el CO₂ subestomatal, la tasa fotosintética, la conductancia del mesófilo y la eficiencia del uso del agua fotosintética.

Los pesos fresco y seco, el volumen de raíces y la concentración de clorofila aumentaron con la aplicación de Si. El Si alivió el efecto del estrés por salinidad en el peso fresco de la planta, la concentración de clorofila, la tasa fotosintética y el contenido de agua de la hoja. El CO_2 subestomatal y la conductancia estomática disminuyeron con la aplicación de Si y el N-Si mejoraron la tasa de fotosíntesis, la conductancia del mesófilo y la eficiencia del uso del agua de la planta en condiciones de estrés salino de las plantas de tomate.

El efecto del silicio sobre los daños oxidativos inducidos por la salinidad en pepino se investigó por Khoshgoftarmanesh et al. (2014) en un experimento de invernadero. Se expusieron dos cultivares (*Cucumis sativus* L. cvs. Negin y Super Dominus) a dos niveles de salinidad (0 y 50 mM NaCl) y dos niveles de Si (0 y 1 μM). El Si estimuló el crecimiento de brotes de pepino en condiciones salinas. El contenido de MDA foliar aumentó en 'Super Dominus' mientras que permaneció sin cambios en 'Negin' debido al estrés salino.

El reporte de Khan et al. (2019) señala que el estrés por salinidad dificulta el potencial de crecimiento y la productividad de las plantas de cultivo al influir en la fotosíntesis, perturbar las concentraciones osmóticas e iónicas, producir oxidantes y excesivos radicales, regular las funciones fitohormonales, contrarrestar las vías metabólicas esenciales y manipular los patrones de expresión génica (Figura 5).

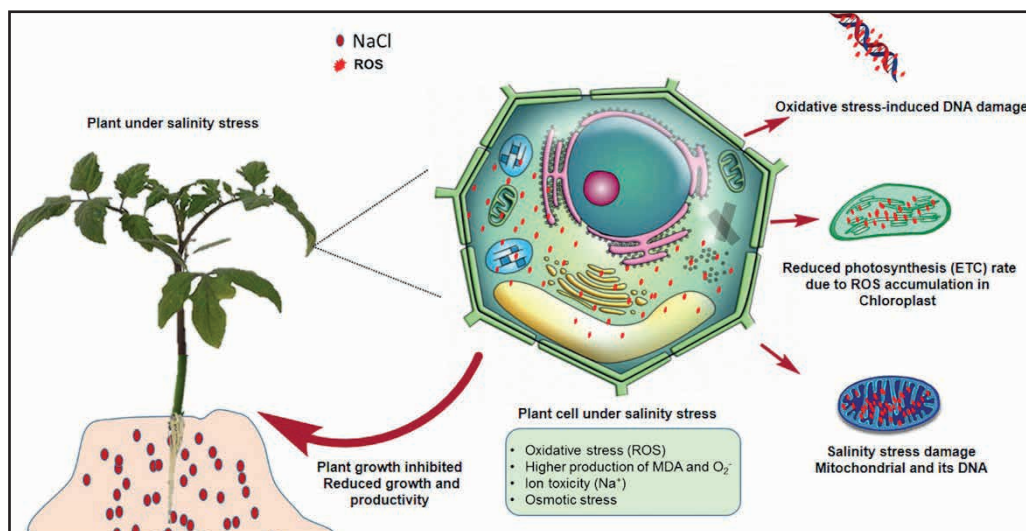


Figura 5. En plantas bajo condiciones de estrés por salinidad hay niveles altos de especies reactivas de oxígeno (ROS). Los niveles tóxicos de ROS impiden el crecimiento de las plantas al inhibir la cadena transportadora de electrones y la fotosíntesis en los cloroplastos, así como al causar mutaciones del ADN y dañar las mitocondrias (Tomada de Khan et al., 2019).

En respuesta, las plantas generan cascadas de señalización físico-bioquímica y molecular para superar el estrés por salinidad; sin embargo, la exposición continua puede abrumar el sistema de defensa, lo que provoca la muerte celular y el colapso de los aparatos

esenciales.

Las tierras agrícolas están muy afectadas por la salinidad, ya sea debido a fenómenos naturales o por prácticas agrícolas inadecuadas. Al Murad et al. (2020) señalan que el estrés salino posee dos amenazas principales para el crecimiento de los cultivos: el estrés osmótico y el estrés oxidativo. La respuesta de estos cambios va acompañada de una variedad de síntomas, como disminución del área foliar, la longitud de los entrenudos y el aumento del grosor y la succulencia de la hoja, la abscisión de las hojas y la necrosis de la raíz y el brote.

La salinidad también retrasa las posibles actividades fisiológicas, como la fotosíntesis, la transpiración, las funciones fitohormonales, las vías metabólicas y las funciones de genes/proteínas. Los cultivos en respuesta al estrés salino generan mecanismos de señalización en cascada para hacer frente a las sales como la producción de ROS (Figura 6), mientras que la exposición continua al estrés salino supera el sistema de mecanismos de defensa, lo que da como resultado la muerte celular y compromete la función de los organelos esenciales en las células de los cultivos.

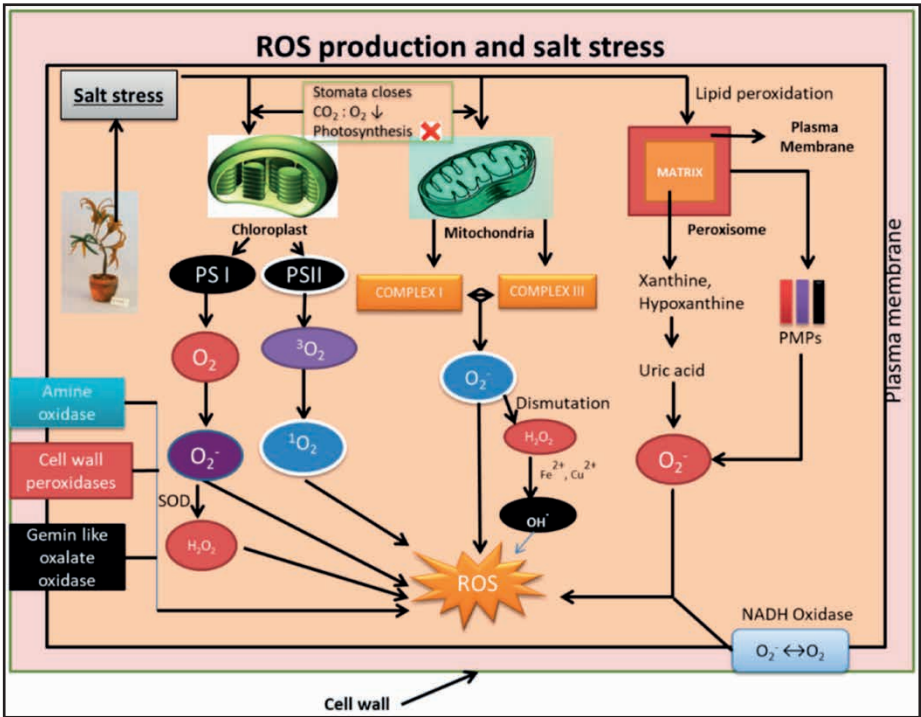


Figura 6. Esquema mostrando los mecanismos involucrados en la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) durante el estrés por salinidad. Los organelos celulares como el cloroplasto, la mitocondria y el peroxisoma están involucrados en la generación de ROS como O_2^- , oxígeno singulete (1O_2), OH y H_2O_2 (Tomado de: Al Murad et al., 2020).

Los cultivos agrícolas se enfrentan a importantes restricciones con el rápido

aumento del calentamiento global, siendo la salinidad un factor importante que afecta la productividad. Las plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) tienen un gran significado nutricional; sin embargo, puede verse influenciado negativamente por el estrés salino. Las nanopartículas (NPs) tienen excelentes propiedades, por lo que se utilizan en la agricultura para mejorar varios parámetros de crecimiento incluso en presencia de estrés abiótico (Figura 7).

Debido a esto el estudio de Alam et al., 2022 tuvo como objetivo investigar los efectos de las NPs de silicio (Si-NPs) mediante inmersión de raíces y aspersión foliar en plantas de tomate en presencia/ausencia de estrés salino. Los procesos de desarrollo de las plantas de tomate se vieron gravemente ralentizados por el estrés salino hasta en 35.8% (biomasa seca de los brotes), 44.3% (biomasa seca de raíces), 51% (longitud de los brotes) y 62 % (longitud de las raíces), pero esta reducción fue mitigada por el tratamiento de Si-NPs.

Los autores concluyeron que la aplicación foliar de Si-NP en plantas de tomate parece ser más efectiva que la inmersión de raíces y alivia el estrés salino al aumentar la actividad de la enzima antioxidante de la planta.

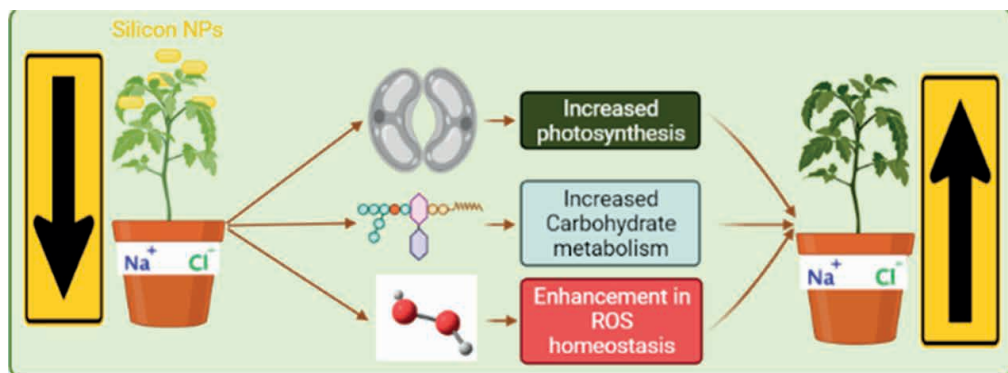


Figura 7. En estrés salino la aplicación de nanopartículas de silicio aumentó el crecimiento (altura y peso seco), contenido mineral de Mg, K, Cu, Fe, Mn, Zn, fotosíntesis, transpiración, conductancia estomática, concentración de CO_2 y actividad de enzimas antioxidantes, incluidas la superóxido dismutasa y la catalasa (Tomado de: Alam et al., 2022).

La disminución de la absorción de Na^+ y el mantenimiento de la relación Na^+/K^+ óptima se han considerado los procesos más importantes responsables de la tolerancia a la sal conferida por el Si, además, la acumulación excesiva de sodio limita la absorción de otros nutrientes e iones, incluido el K^+ (Ali et al., 2012).

La demanda de productos agrícolas sigue aumentando con el rápido crecimiento de la población. Sin embargo, los climas extremos, las plagas, enfermedades y la contaminación representan una gran amenaza para la producción agrícola de alimentos. Las nanopartículas de sílice (SNPs) son beneficiosas para el crecimiento y la producción de plantas y se pueden usar como nanopesticidas, nanoherbicidas y nanofertilizantes en la agricultura.

La suplementación con Si mejora la resiliencia de las plantas bajo estrés salino, debido a que modula varios procesos fisiológicos y bioquímicos en condiciones de estrés. Dhiman et al. (2021) hacen notar que la diafonía (o señales cruzadas) que ocurren entre el Si con la lignina y el contenido fenólico bajo estrés salino es vital, lo que ocurre por diversas vías (Figura 8) y consideran además que la evaluación de las respuestas de las plantas a niveles de proteómica es prometedora para comprender la función del Si en las plantas cultivadas.

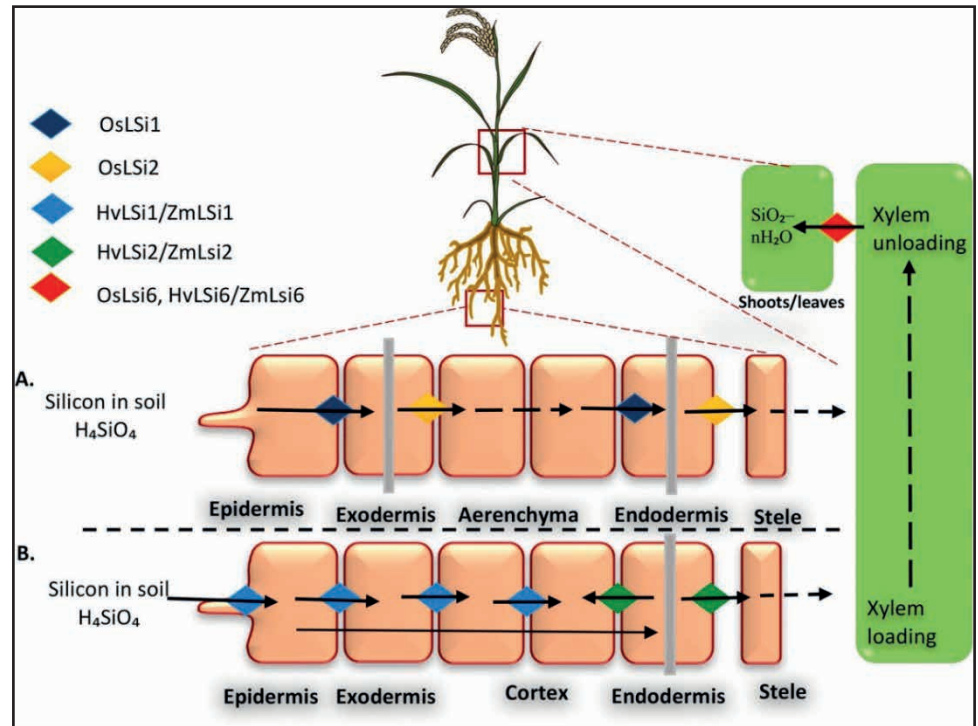


Figura 8. Esquema que ilustra la vía de absorción y el transporte de silicio (Si) a través de genes transportadores en (A) Arroz, (B) Maíz y Cebada. Los miembros de las familias *Brassicaceae* y *Solanaceae* se clasifican como excluidores de Si debido a la falta del gene transportador Lsi1 (Tomado de: Dhiman et al., 2021).

Los estreses abióticos, como la salinidad y la sequía, son las principales limitaciones para el crecimiento óptimo de las plantas, especialmente en regiones áridas y semiáridas. Por lo tanto, en los últimos años, los científicos agrícolas han comenzado a investigar sobre los fertilizantes que tienen un uso multifacético y que pueden usarse para mantener el crecimiento y rendimiento óptimos de plantas muy importantes bajo estrés ambiental.

El artículo de Wang et al. (2022) hace una revisión de la absorción y el transporte de SNPs en las plantas, así como su función y mecanismos para promover su crecimiento y mejorar la resistencia contra los estreses biótico y abiótico. En general, las SNPs inducen la resistencia de las plantas contra los factores de estrés al fortalecer la barrera física,

mejorar la fotosíntesis, activar la actividad enzimática defensiva, aumentar los compuestos antiestrés y activar la expresión de genes relacionados con la defensa.

Debido a que el trigo es el cultivo más importante del mundo, la tolerancia al estrés tiene una función crucial en la seguridad alimentaria. Cheraghi et al. (2023) señalan que, por diferentes mecanismos (Figura 9), el Si mejora la tolerancia de las plantas de trigo al estrés por salinidad y sequía, incluida la regulación de las relaciones hídricas de las plantas, el intercambio de gases, la fotosíntesis, el equilibrio de nutrientes, la reducción del estrés oxidativo, la reducción de la toxicidad iónica, la osmorregulación, el crecimiento de las raíces, la absorción de potasio y la estimulación de hormonas vegetales.

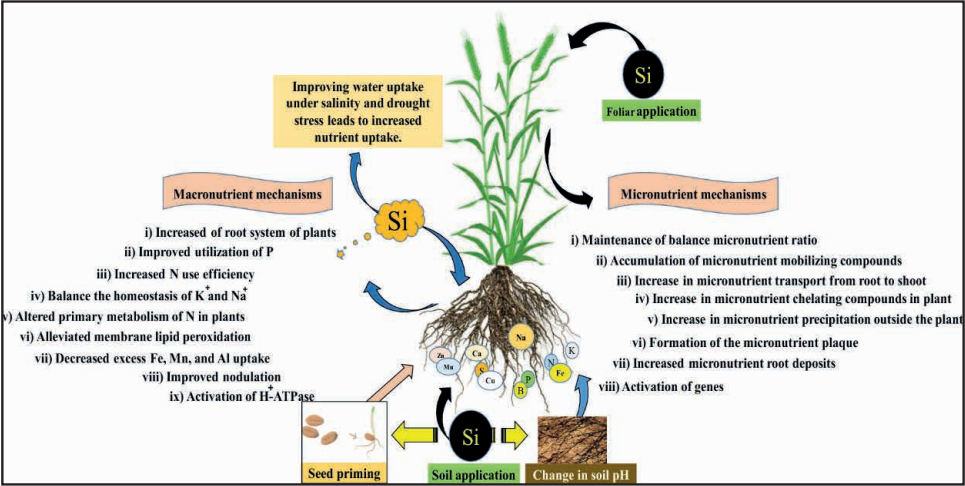


Figura 9. Resumen de los mecanismos por los cuales el Si alivia la deficiencia de nutrientes derivada del estrés por sequía y salinidad en el trigo. El Si aumenta la fotosíntesis al aumentar la actividad de la enzima Rubisco y la cantidad de clorofila en las hojas. Aumenta el contenido de pigmentos fotosintéticos (clorofila a, b y carotenoides), afectan la división celular y el crecimiento, mejoran las propiedades morfológicas y fisiológicas, así como el crecimiento vegetativo al aumentar el número de hojas (Tomado de: Cheraghi et al., 2023).

El riego con agua salina, los drenajes inadecuados y el uso de fertilizantes convencionales se consideran las principales razones del aumento de la salinidad del suelo. Otros estreses abióticos, incluida la contaminación por metales pesados, el frío, las heladas y la luz UV-B, afectan de forma destructiva a los productos agrícolas, pero sus efectos adversos en las plantas son menores que los del estrés por sequía y salinidad (Aminiyan et al. 2022).

CONCLUSIONES

La aplicación de Si mediante fertirrigación, aspersión foliar o pretratamiento de semillas actúa como un refuerzo para la maquinaria de defensa ya existente en las plantas, para hacer frente a los efectos drásticos de factores abióticos. La fertirrigación con silicio

también mejora las propiedades del suelo, incluida su capacidad de retención de agua, lo que indirectamente ayuda a mejorar la salud de las plantas. Queda claro que el Si es un elemento abundante en la Tierra y sus efectos positivos en las plantas lo hacen importante en la agricultura. En el futuro, las investigaciones centradas en aspectos específicos de la interacción Si-plantas serán importantes para diseñar estrategias agrícolas destinadas a mejorar el rendimiento de los cultivos con la fertilización del Si como micronutriente.

REFERENCIAS

- Alam, P., Arshad, M., Al-Kheraif, A.A., Azzam, M.A., y Al Balawi, T. (2022). Silicon nanoparticle-induced regulation of carbohydrate metabolism, photosynthesis, and ROS homeostasis in *Solanum lycopersicum* subjected to salinity stress. *ACS omega*, 7(36), 31834-31844.
- Ali, A., Basra, S.M., Iqbal, J., Hussain, S., Subhani, M., Sarwar, M., Haji, A. (2012). Silicon mediated biochemical changes in wheat under salinized and non-salinized solution cultures. *Afr. J. Biotechnol.*, 11, pp. 606-615.
- Al Murad, M., Khan, A.L. y Muneer, S. (2020). Silicon in horticultural crops: cross-talk, signaling, and tolerance mechanism under salinity stress. *Plants*, 9(4), 460.
- Aminiyan, M.M., Rahman, M.M., Rodríguez-Seijo, A., Hajiali Begloo, R., Cheraghi, M., Aminiyan, F.M. (2022) Elucidating of potentially toxic elements contamination in topsoils around a copper smelter: spatial distribution, partitioning and risk estimation. *Environ Geochem Health* 44(6):1795–1811.
- Chen, W., Yao, X., Cai, K. y Chen, J. (2011). Silicon alleviates drought stress of rice plants by improving plant water status, photosynthesis and mineral nutrient absorption. *Biological trace element research*, 142, 67-76.
- Cheraghi, M., Motesharezadeh, B., Mousavi, S. M., Ma, Q. y Ahmadabadi, Z. (2023). Silicon (Si): a regulator nutrient for optimum growth of wheat under salinity and drought stresses-a review. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-25.
- Dhiman, P., Rajora, N., Bhardwaj, S., Sudhakaran, S.S., Kumar, A., Raturi, G. y Deshmukh, R. (2021). Fascinating role of silicon to combat salinity stress in plants: An updated overview. *Plant Physiology and Biochemistry*, 162, 110-123.
- Epstein, E. (1999). Silicon. *Annual review of plant biology*, 50(1), 641-664.
- Etesami, H., Li, Z., Maathuis, F.J. y Cooke, J. (2022). The combined use of silicon and arbuscular mycorrhizas to mitigate salinity and drought stress in rice. *Environmental and experimental botany*, 201, 104955.
- Gao, H., Yu, W., Yang, X., Liang, J., Sun, X., Sun, M. y Peng, F. (2022). Silicon enhances the drought resistance of peach seedlings by regulating hormone, amino acid, and sugar metabolism. *BMC Plant Biology*, 22(1), 422.
- Gunes, A., Pilbeam, D.J., Inal, A. y Coban, S. (2008). Influence of silicon on sunflower cultivars under drought stress, I: Growth, antioxidant mechanisms, and lipid peroxidation. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 39(13-14), 1885-1903.

Haghighi, M. y Pessarakli, M. (2013). Influence of silicon and nano-silicon on salinity tolerance of cherry tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) at early growth stage. *Scientia Horticulturae*, 161, 111-117.

Helaly, M.N., El-Hoseiny, H., El-Sheery, N.I., Rastogi, A. y Kalaji, H.M. (2017). Regulation and physiological role of silicon in alleviating drought stress of mango. *Plant Physiology and Biochemistry*, 118, 31-44.

Jones, L.H.P. y Handreck, K.A. (1967). Silica in soils, plants, and animals. *Advances in Agronomy*, 19, 107-149.

Khan, A., Khan, A. L., Muneer, S., Kim, Y. H., Al-Rawahi, A. y Al-Harrasi, A. (2019). Silicon and salinity: Crosstalk in crop-mediated stress tolerance mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1429.

Kapoor, B., Kumar, P., Gill, N.S., Sharma, R., Thakur, N. y Irfan, M. (2023). Molecular mechanisms underpinning the silicon-selenium (Si-Se) interactome and cross-talk in stress-induced plant responses. *Plant and Soil*, 486(1-2), 45-68.

Khoshgoftarmansh, A.H., Khodarahmi, S. y Haghighi, M. (2014). Effect of silicon nutrition on lipid peroxidation and antioxidant response of cucumber plants exposed to salinity stress. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 60(5), 639-653.

Kumar, R.R., Rai, G.K., Kota, S., Watts, A., Sakhare, A., Kumar, S. y Praveen, S. (2023). Fascinating dynamics of silicon in alleviation of heat stress induced oxidative damage in plants. *Plant Growth Regulation*, 100(2), 321-335.

Marschner, H., Oberle, H., Cakmak, I. y Römhild, V. (1990). Growth enhancement by silicon in cucumber (*Cucumis sativus*) plants depends on imbalance in phosphorus and zinc supply. *Plant and Soil*, 124, 211-219.

Miyake, Y. y Takahashi, E. (1978). Silicon deficiency of tomato plant. *Soil Science and Plant Nutrition*, 24(2), 175-189.

Miyake, Y. y Takahashi, E. (1983). Effect of silicon on the growth of solution-cultured cucumber plant. *Soil Science and Plant Nutrition*, 29(1), 71-83.

Miyake, Y. y Takahashi, E. (1985). Effect of silicon on the growth of soybean plants in a solution culture. *Soil science and plant nutrition*, 31(4), 625-636.

Miyake, Y. y Takahashi, E. (1986). Effect of silicon on the growth and fruit production of strawberry plants in a solution culture. *Soil science and plant nutrition*, 32(2), 321-326.

Ning, D., Qin, A., Liu, Z., Duan, A., Xiao, J., Zhang, J. y Liu, Z. (2020). Silicon-mediated physiological and agronomic responses of maize to drought stress imposed at the vegetative and reproductive stages. *Agronomy*, 10(8), 1136.

Patel, M., Fatnani, D. y Parida, A.K. (2021). Silicon-induced mitigation of drought stress in peanut genotypes (*Arachis hypogaea* L.) through ion homeostasis, modulations of antioxidative defense system, and metabolic regulations. *Plant Physiology and Biochemistry*, 166, 290-313.

Pavlovic, J., Kostic, L., Bosnic, P., Kirkby, E.A. y Nikolic, M. (2021). Interactions of silicon with essential and beneficial elements in plants. *Frontiers in Plant Science*, 12, 697592.

Rohanipoor, A., Norouzi, M., Moezzi, A. y Hassibi, P. (2013). Effect of silicon on some physiological properties of maize (*Zea mays*) under salt stress. *Journal of Biological and Environmental Sciences*, 7(20).

Romero-Aranda, M.R., Jurado, O. y Cuartero, J. (2006). Silicon alleviates the deleterious salt effect on tomato plant growth by improving plant water status. *Journal of plant physiology*, 163(8), 847-855.

Sacala, E. (2009). Role of silicon in plant resistance to water stress. *Journal of Elementology*, 14(3), 619-630.

Saud, S., Li, X., Chen, Y., Zhang, L., Fahad, S., Hussain, S. y Chen, Y. (2014). Silicon application increases drought tolerance of Kentucky bluegrass by improving plant water relations and morphophysiological functions. *The Scientific World Journal*.

Shanmugaiah, V., Gauba, A., Hari, S.K., Prasad, R., Ramamoorthy, V. y Sharma, M.P. (2023). Effect of silicon micronutrient on plant's cellular signaling cascades in stimulating plant growth by mitigating the environmental stressors. *Plant Growth Regulation*, 100(2), 391-408.

Shi, Y., Zhang, Y., Han, W., Feng, R., Hu, Y., Guo, J. y Gong, H. (2016). Silicon enhances water stress tolerance by improving root hydraulic conductance in *Solanum lycopersicum* L. *Frontiers in Plant Science*, 7, 196.

Ullah, U., Ashraf, M., Shahzad, S.M., Siddiqui, A.R., Piracha, M.A. y Suleman, M. (2016). Growth behavior of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) under drought stress in the presence of silicon and plant growth promoting rhizobacteria. *Soil Environ*, 35(1), 65-75.

Wang, L., Ning, C., Pan, T. y Cai, K. (2022). Role of silica nanoparticles in abiotic and biotic stress tolerance in plants: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 1947.

Xie, Z., Song, R., Shao, H., Song, F., Xu, H. y Lu, Y. (2015). Silicon improves maize photosynthesis in saline-alkaline soils. *The Scientific World Journal*, 2015.

RELACIÓN ENTRE EL CONTENIDO DE N Y P EN GRANO Y FRACCIÓN DISPONIBLE EN EL SUELO

Data de aceite: 02/10/2023

Liliana Vega Jara

Fac. Ciencias Agrarias, Universidad
Nacional Hermilio Valdizán

RESUMEN: En una red de ensayos de largo plazo se evaluaron los efectos de 14 años de fertilización continua con N, P y S sobre la concentración de P Bray 1 y Nan, la relación Nan: P Bray 1 y, la relación de las concentraciones de N y P en granos de soja. Se analizaron suelos de tres estratos de profundidad (0-5, 5-10 y 10-20 cm) y granos de soja de cinco sitios experimentales de largo plazo de la Red de Nutrición CREA sur de Santa Fe que fueron instalados en la campaña 2000-2001, con seis tratamientos de fertilización: Testigo, PS, NS, NP, NPS y Completo (NPS+micronutrientes), bajo dos sistemas de rotación maíz-trigo/soja (M-T/S) (Balducchi y San Alfredo) y tres sitios con rotación maíz-soja-trigo/soja (M-S-T/S) y, en siembra directa (SD). Los resultados indican que el agregado de P como fertilizante aumentó los contenidos de P Bray 1 en el perfil de 0-20 cm pero el Nan no fue afectado por la fertilización. La concentración de P en granos tendió a aumentar con la disponibilidad de P en

el suelo hasta un punto crítico de P Bray 1 de 18 mg P kg⁻¹, lo cual sugiere que no hubo consumo de lujo por encima de ese valor de disponibilidad. La sensibilidad de la concentración de P en granos y de la relación Nan: P Bray 1 al agregado de P como fertilizante, sugieren que la fertilización puede ser una herramienta para modificar la composición de nutrientes en la fracción disponible y la composición del grano.

PALABRAS CLAVE: Fertilización de cultivos - Relación Nan: P Bray 1 - Relación P grano: P Bray 1

INTRODUCCIÓN

La práctica de la fertilización de los cultivos de granos ha aumentado en los últimos años en nuestro país (Fertilizar, 2014b). Distintos manejos de fertilización llevan a balances positivos o negativos de nutrientes del suelo (Adolfo & Casas, 2003). Estos distintos balances pueden provocar cambios en los contenidos totales y en las fracciones lábiles de carbono (C) y nutrientes. Estos cambios, en particular en las fracciones lábiles, pueden verse

reflejados en los productos cosechados (Ciampitti *et al.*, 2011b).

Debido a que los cambios en el suelo son lentos, se requieren experimentos de larga duración con distintos esquemas de fertilización para poder detectarlos (Boxler *et al.*, 2013; Eiza *et al.*, 2005) y evaluar su magnitud. Poco se sabe sobre la variación de las relaciones entre nitrógeno (N) y fósforo (P) en la fracción disponible del suelo por efecto de la fertilización de largo plazo y cómo se reflejarían estos cambios en los productos cosechados. La estequiometría considera las relaciones cuantitativas de los elementos en los seres vivos (Elser *et al.*, 2000b), y este concepto ha sido utilizado para estudiar los cambios en las relaciones entre nutrientes a distintos niveles de organización en ecosistemas (Peñuelas *et al.*, 2013). Las relaciones entre nutrientes también han sido propuestas como herramienta de diagnóstico de deficiencias nutricionales (Salvagiotti *et al.*, 2012). El análisis de los granos puede servir como herramienta complementaria al análisis de suelos, y también provee información sobre la exportación de nutrientes.

La región sur de Santa Fe del movimiento CREA, con el apoyo del IPNI y Agreservicios Papeanos (ASP), instalaron una red de ensayos a largo plazo en la campaña 2000-2001. Sus objetivos fueron varios, uno de ellos fue determinar respuestas directas y residuales de los cultivos a la aplicación de N, P y S como fertilizantes buscando complementar los métodos de diagnóstico de la fertilidad del suelo. En este trabajo se sintetizan los resultados obtenidos de análisis de suelos de tres estratos de profundidad (0-5 cm, 5-10 cm y 10-20 cm) y de granos de soja de primera y de segunda correspondientes a la campaña 2013-2014. Los objetivos de este trabajo fueron evaluar el efecto de los distintos regímenes de fertilización de largo plazo sobre: a. la concentración de P Bray 1 en el suelo y su relación con el P del grano y, b. la relación entre Nan y P Bray 1 en el suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron suelos de tres estratos de profundidad (0-5 cm, 5-10 cm y 10-20 cm) y granos de soja de los cinco sitios de la Red de Nutrición del CREA de la Región Sur de Santa Fe, durante la campaña 2013-2014. Las características de los ensayos son: dos sitios con rotación maíz-trigo/soja (M-T/S) (Balducci y San Alfredo) y tres sitios con rotación maíz-soja-trigo/soja (M-S-T/S) (La Blanca, La Hansa y Lambaré). Se evaluaron los seis tratamientos de la red: Testigo sin fertilizar, NP, NS, PS, NPS y Completo (NPS+micronutrientes). El diseño es en bloques completos aleatorizados con tres repeticiones en cuatro sitios, y dos en San Alfredo. El tamaño de las parcelas es de 25-30 m de ancho y 65-70 m de largo. Se utiliza maquinaria del productor y labranza en siembra directa (SD) en todos los casos. La dosis de fertilización se estima a partir de los rendimientos esperados más un 5-10% de fertilización de enriquecimiento con P y S a la siembra de soja y, a partir de modelos zonales para cultivos de alto rendimiento en el caso del N (Boxler *et al.*, 2014).

Se determinó el N potencialmente mineralizable (Nan) por incubación anaeróbica

a 40°C por 7 días, método descripto por Keeney & Bremner (1966) seguido de una colorimetría. El P Bray 1 se extrajo con solución de Bray & Kurtz 1 y la medición con colorimetría. Se determinó también la concentración en grano de P (digestión húmeda) seguido de una colorimetría. Los resultados se analizaron mediante ANOVA, y de regresión. Los ANOVA de concentración de P-Bray 1 se analizaron para cada estrato por separado. Se hizo un ANOVA para la relación Nan: P Bray 1 en cada sitio por separado. Las diferencias significativas fueron determinadas a un nivel de significancia del 5% usando la prueba de LSD. Los efectos de los tratamientos sobre la relación entre la concentración de P en grano y el P-Bray 1 se analizaron con una función lineal plateau. Los efectos de los tratamientos sobre las relaciones entre Nan: P Bray1 en el suelo se analizaron con una función potencial y logarítmica con SMA. Se compararon las distintas regresiones mediante test de F y, en los casos en que no fueron diferentes, la regresión para esos tratamientos se representó con una sola función.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Concentración de P Bray 1 en el suelo

Catorce años de fertilización continua con P incrementó el P disponible (P Bray 1) en los tres estratos de profundidad (0-5 cm, 5-10 cm, 10-20 cm) (Figuras 1 y 2). Como era esperable, los mayores efectos de la fertilización fosforada se vieron en el estrato superficial, esto puede ser debido a la forma de aplicación del fertilizante fosforado ya que se incorporaron a profundidades de 3 a 5 cm aproximadamente. Dick *et al.* (1991) reportaron que el sistema de SD permite que los nutrientes como el P se concentren en las capas superficiales, sin observarse efectos negativos de este fenómeno sobre la productividad de los cultivos. Los tratamientos sin P agregado (Testigo y NS) fueron inferiores en contenido de P Bray 1 en todo el perfil (Figura 1). Lambaré presentó los valores más altos de P Bray 1 en los tres estratos de profundidad, mientras que San Alfredo los valores más bajos (Figura 2). Los resultados en Lambaré podrían atribuirse al contenido inicial de P (71 mg kg⁻¹, 0-20 cm), mientras que los otros sitios tenían niveles más bajos y similares entre sí (10-16 mg kg⁻¹) al comienzo de los experimentos (García *et al.*, 2005). Existen evidencias que agregados continuos de P durante 8 años producen aumentos de P en el pool total (Zheng *et al.*, 2002), y 6 años continuos de aplicar P incrementa el P lábil en el perfil de 0 a 20 cm (Ciampitti *et al.*, 2011c). Por lo tanto, es razonable que 14 años de fertilización continua con P haya modificado las composiciones iniciales de P disponible en estos sitios.

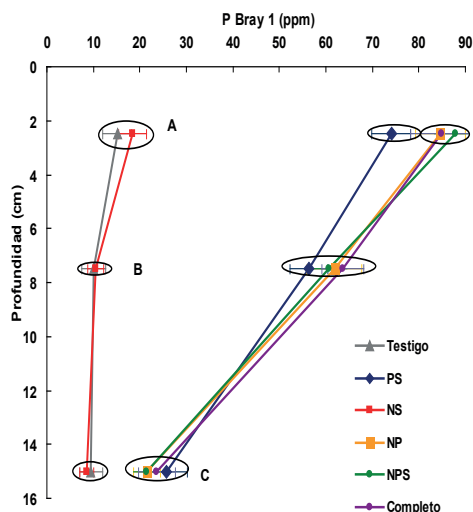


Figura 1: Distribución de la concentración de P Bray 1 a 0-20 cm en los tratamientos de la Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe, campaña 2013/2014. Los círculos encierran tratamientos que no son diferentes significativamente ($p > 0.05$) y las barras son el error estándar. Las letras mayúsculas representan a las diferencias significativas entre estratos de profundidad.

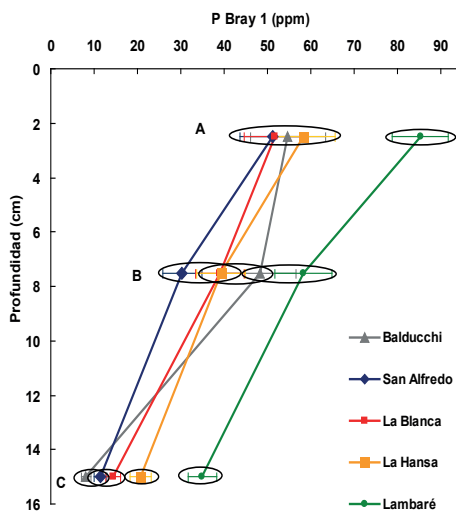


Figura 2: Distribución de la concentración de P Bray 1 a 0-20 cm en los sitios de la Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe, campaña 2013/2014. Los círculos encierran sitios que no son diferentes significativamente ($p > 0.05$) y las barras son el error estándar. Las letras mayúsculas representan a las diferencias significativas entre estratos de profundidad.

2. Relación entre la concentración de N y P en granos y su disponibilidad en el suelo

Los resultados obtenidos permitieron detectar una leve relación entre la concentración de N en granos y el Nan. Por otro lado, además el N en grano disminuyó ligeramente con el aumento del rendimiento (resultados no mostrados). Esto puede ser explicado porque el cultivo de soja tiene la capacidad de proveerse de N a través de la fijación biológica, por lo cual la capacidad del suelo de proveer N al cultivo no tiene relación tan directa con su concentración en el grano como en otros cultivos. Varios trabajos reportan que el 40 – 60% del N absorbido por el cultivo de soja proviene de la fijación biológica (Álvarez *et al.*, 1995; Collino *et al.*, 2015) dependiendo del genotipo del cultivar, factores ambientales y de la fertilidad del suelo (Álvarez *et al.*, 1995). El N del suelo se hace importante para el cultivo sólo en las primeras etapas de crecimiento (Fabre & Planchon, 2000).

La Figura 3 muestra la relación entre la concentración de P en los granos de soja y el P disponible en el suelo (P Bray 1). A mayores contenidos de P disponible aumentó la concentración de P en los granos hasta el punto de inflexión de 18,1 mg P kg⁻¹ en suelo y 5,87 mg P kg⁻¹ en granos, a partir del cual las concentraciones de P en granos fueron constantes. Este valor en suelo es ligeramente superior a los umbrales críticos de P disponible para los rendimientos del cultivo de soja en la región pampeana, que son de 9-16 ppm (Ferraris *et*

al., 2002, Gutierrez Boem *et al.*, 2010). Estos resultados sugieren que no habría consumo de lujo cuando la disponibilidad de P en el suelo es muy alta. Por encima de 18 mg P kg⁻¹ la probabilidad de aumentar la exportación de P por aumentos en la concentración de P en granos es baja. Por debajo de 18 mg P kg⁻¹ existe alta probabilidad que la planta siga destinando P a los granos en respuesta a aplicaciones de P como fertilizante.

Estos resultados sugieren que el análisis de concentración de P en granos puede ser complementario al de P Bray 1 como herramientas para el diagnóstico de P en suelos. Ciampitti *et al.* (2011c) obtuvieron una función polinómica entre el P acumulado en plantas de maíz y P lábil.

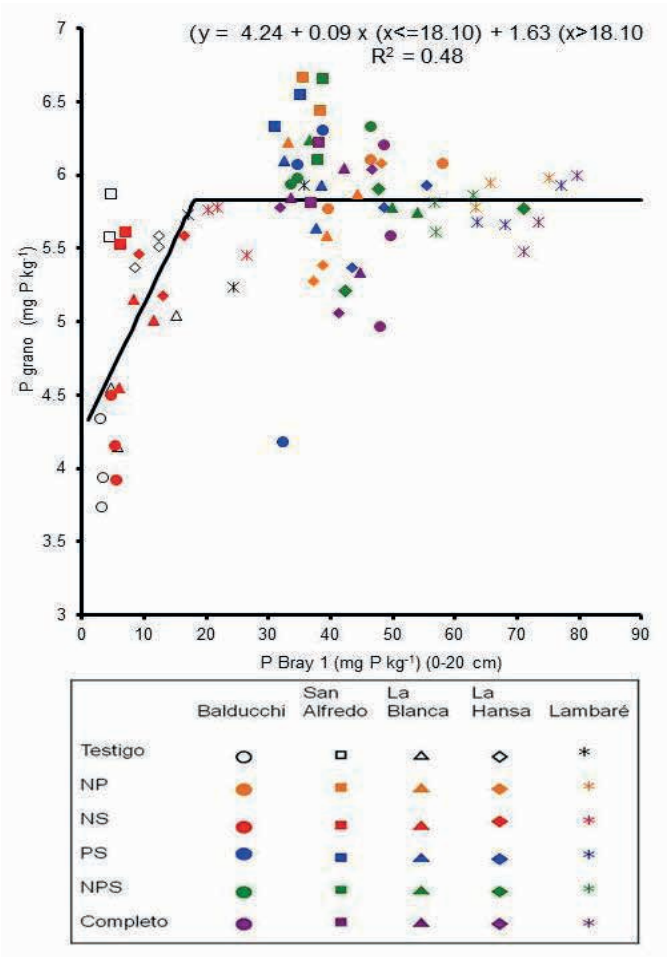


Figura 3: Relación concentración de P en granos de soja y P Bray 1 de 0-20 cm. La línea es la función Plateau de todos los tratamientos y sitios.

3. Relación Nan: P Bray 1 en el suelo

El agregado continuo de P provocó una disminución de 23% de la relación Nan: P Bray 1 en el estrato de 0 a 20 cm de profundidad (Figura 4). Esta disminución es explicada por los aumentos en concentración de P Bray con la fertilización fosforada ya que el Nan no fue afectado por la fertilización (Figura 1). Dada la gran interacción que existe entre los fosfatos y la matriz del suelo, la mayor parte del P de los fertilizantes es retenido por el suelo. En consecuencia, el agregado continuo de P produce aumentos marcados de este nutriente en las diferentes fracciones del suelo incluyendo la fracción lábil y disponible (Ciampitti *et al.*, 2011c; Zheng *et al.*, 2002). Sin embargo, no se han demostrado cambios del Nan por efectos puros de la fertilización (Eiza *et al.*, 2005).

Los tratamientos sin P agregado (NS y Testigo) presentaron valores de Nan: P Bray 1 en el suelo más altos (entre 2,33 y 9,55) que los tratamientos fertilizados con P (NP, PS, NPS, Completo) (entre 0,62 y 1,37) (Figura 5). Chen *et al* (2000a) reportaron que en suelos bajo cultivo de pastos, la relación N:P en fracción orgánica disminuía en un 33% comparado con suelos de bosque, lo cual sugiere que la relación N:P puede ser usada para evaluar la limitación de N y P.

La Figura 4 muestra que la fertilización con P además de producir cambios en las relaciones Nan: P Bray 1 también hizo esta relación más débil (bajo R^2). Esto podría deberse a que el Nan proviene de la materia orgánica del suelo, mientras que la disponibilidad de P está regulada por su fracción inorgánica lábil. Es decir, aplicaciones con P en el largo plazo hacen que su pool inorgánico sea más importante para la regulación de su disponibilidad, perdiendo relación con el Nan. Cleveland & Liptzin (2007) informaron que la relación entre estos dos nutrientes (i. e. N y P) no era lineal en el corto plazo porque concentraciones de P tienen lentos aumentos que el N. La Figura 4 también muestra que en situaciones donde el P no fue agregado (Testigo y NS) la relación Nan: P Bray 1 es más estrecha (R^2 : 0,61) tiende a ser mayor (mayor pendiente) en la medida que baja la disponibilidad de P, acercándose a los valores de relación N:P que se pueden observar en la materia orgánica del suelo (~ 8 , Stevenson & Cole, 1999). Esto sugiere que la MOS empieza a ser una fuente relevante de P disponible en estas situaciones. Cleveland & Liptzin (2007) indicaron que el pool orgánico es fuente importante de P lábil en suelos con importantes contenidos de MO.

Las mayores disminuciones de la relación Nan: P Bray 1 por no agregar P se vieron en San Alfredo y Balducchi, 30% y 32% respectivamente más que en Lambaré (sitio con mayor contenido de P Bray 1). En todos los sitios la relación Nan: P Bray 1 en tratamientos que incluyeron a la fertilización fosforada no difirieron entre sí (Figura 5). La relación Nan: P Bray 1 de los tratamientos NS y Testigo en Lambaré y La Hansa fueron las más bajas (Figura 5), esto podría atribuirse a la riqueza inicial en P, texturas arcillosas e historias agrícolas cortas en esos sitios con respecto a los demás sitios (Boxler *et al.*, 2014) que contribuyeron al aumento y mantenimiento de P en el suelo.

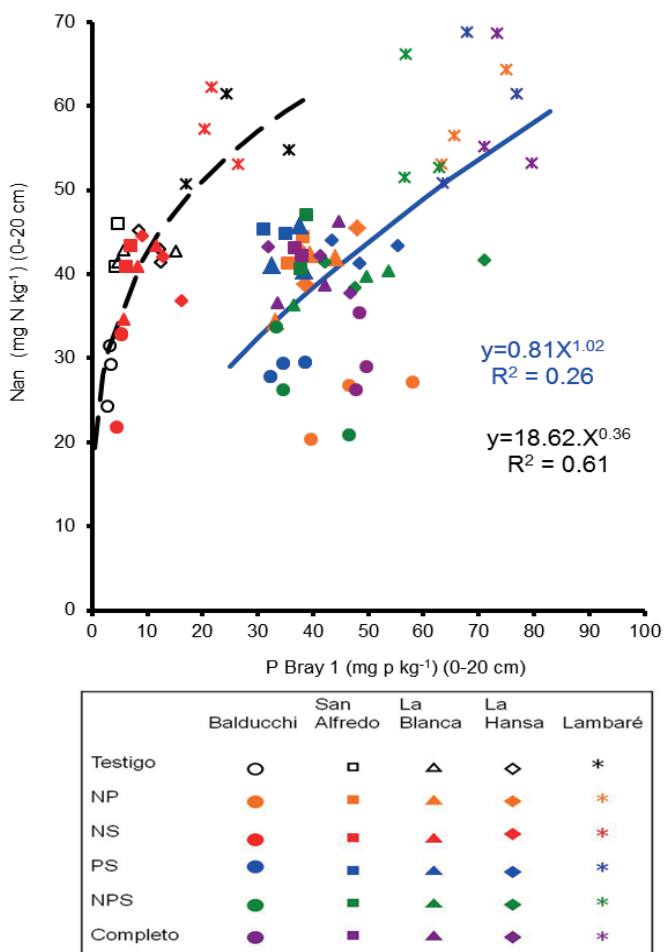


Figura 4: Relación entre concentración de Nan (mg N kg⁻¹) y P Bray 1 (mg P kg⁻¹). La línea negra punteada corresponde a la función de los tratamientos sin fertilizar con P y la línea azul llena al de los fertilizados con P.

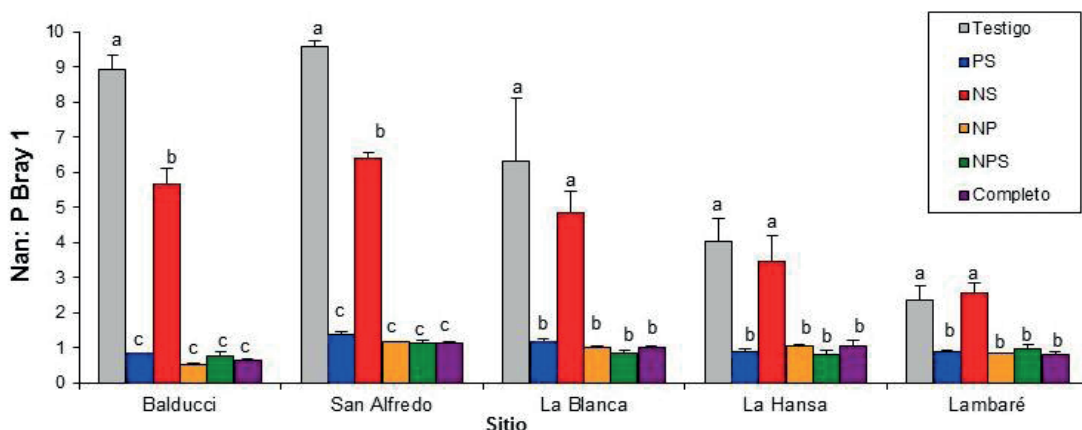


Figura 5: Relación Nan: P Bray 1 en el suelo entre los tratamientos en todos los sitios. Cambios de letra implican diferencias significativas determinadas mediante LSD a un nivel de 5% en cada sitio.

CONCLUSIONES

El agregado de P como fertilizante por 14 años consecutivos aumentó los contenidos de P Bray 1 en el perfil de 0-20 cm. La concentración de P en los granos de soja tendió a aumentar con la disponibilidad de P en el suelo hasta un punto crítico de P Bray 1 (18 mg P kg⁻¹) a partir del cual las concentraciones de P en granos fueron constantes. Estos resultados sugieren que no hubo consumo de lujo por encima de ese valor de disponibilidad.

La fertilización continua de largo plazo con P cambió la relación Nan: P Bray 1 en los suelos, mientras que aplicaciones con N no la afectaron en forma significativa. La relación Nan: P Bray 1 tendió a bajar con el aumento del P Bray 1 del suelo. La sensibilidad de la concentración de P en grano y de la relación Nan: P Bray 1 al agregado de P como fertilizante, sugieren que la fertilización puede ser una herramienta para modificar la composición de nutrientes en la fracción disponible y la composición del grano de soja.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece especialmente a F. Permingeat por la colaboración en el muestreo a campo de los ensayos y la recolección de muestras.

REFERENCIAS

Adolfo, G & R Casas. 2003. Balance de nutrientes. Fertilizar INTA Año 8 Número Especial "Sostenibilidad" ISSN 1666-8812 diciembre 2003.

Alvarez, R; J H Lemcoff & A H Merzari. 1995. Balance de Nitrógeno en un suelo cultivado con soja. Ciencia del Suelo 13:38-40.

Boxler, M. 2013. El manejo de nutrientes según los asesores. Simposio Fertilizar, Rosario. Disponible on line en: <http://www.fertilizar.org.ar>.

Boxler, M; F O García; A Correndo; S Gallo; R Pozzi; F Bauschen; N Reussi Calvo & A Berardo. 2014. Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe. Resultados de la campaña 2013/2014. IPNI. Disponible on-line en: <http://lacs.ipni.net/topic/research>.

Bray, R H & L T Kurtz. 1945. Determination of total, organic, and available forms of phosphorous in soil. *Soil Sci.* 134:376–380.

Chen, C R; L M Condon; M R Davis & R R Sherlock. 2000a. Effects of afforestation on phosphorus dynamics and biological properties in a New Zealand grassland soil. *Plant Soil* 220:151–163.

Ciampitti, I A, F O García, L E Piccone & G Rubio. 2011b. Soil Carbon and Phosphorus Pools in Field Crop Rotations in Pampean Soils of Argentina. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 75: 616-625.

Ciampitti, I A, L I Piccone, G Rubio, & F O García. 2011c. Pathways of Phosphorous Fraction Dynamics in Field Crop Rotations of the Pampas of Argentina. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 75: 3: 918-926.

Cleveland, C C & D Liptzin. 2007. C:N:P stoichiometry in soil: is there a “Redfield ratio” for the microbial biomass? *Biogeochemistry*. 85: 235-252.

Collino, D J; F Salvaggiotti & A Peticari. 2015. Biological nitrogen fixation in soybean in Argentina: relationships with crop, soil, and meteorological factors. *Plant Soil* 392:239-252.

Dick, W A; E L McCoy; W M Edwards & R Lal. 1991. Continuous application of no-tillage to Ohio soils. *Agron. J.* 83:65-73.

Eiza, M J, N Fioriti, G A Studdert & H E Echeverría. 2005. Fracciones de carbono orgánico en la capa arable: Efecto de los sistemas de cultivo and de la fertilización nitrogenada. *Ciencia del Suelo* 23:59–67.

Elser J J; R W Sterner; E Gorokhova; W F Fagan; T A Markow; J B Cotner; J F Harrison; S E Hobbie; G M Odell & L W Weider. 2000b. Biological stoichiometry from genes to ecosystems. *Ecology Letters* 3:540-550.

Fabre, F & C Planchon. 2000. Nitrogen nutrition, yield and protein content in soybean. *Plant Science* 152: 51-58.

Ferraris, G, F H Gutiérrez Boem & H Echeverría. 2002. Respuesta a la fertilización en el cultivo de soja de primera. *IDIA XXI, año II, no. 3, diciembre*, pp. 52-58.

Fertilizar AC. 2014b. Consumo de Fertilizantes, Campaña 2013/2014. 1 p. (www.fertilizar.org.ar).

García, F; M Boxler; J Minteguiaga; H Blanco; R Houssay; G Deza Marín & A Berardo. 2005. Efectos directos y residuales de la fertilización en maíz: Resultados de la red de nutrición CREA sur de Santa Fe. *Actas VIII Congreso Nacional de Maíz. AIANBA-Maizar. Rosario, 16-18 Noviembre 2005.* pp. 154-157.

Gutiérrez Boem, F H, F O García & M Boxler. 2010. ¿Qué tan distintos son los niveles críticos de fósforo disponible para soja, maíz y trigo? XXII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, mayo-junio, Rosario.

Keeney, D R, and J M Bremner. 1966. Comparison and evaluation of laboratory methods of obtaining an index of soil nitrogen availability. *Agron. J.* 58:498–503.

Peñuelas, J; P Benjamin; J Sardans; P Ciais; M Van der Velde; L Bopp; O Boucher; Y Godderis ; P Hinsinger; J Llusia; E Nardin; S Vicca; M Obersteiner & I A Janssens. 2013. Human-induced nitrogen–phosphorus imbalances alter natural and managed ecosystems across the globe. *Nat Commun.* 4: 2934.

Salvagiotti F; G Ferraris; A Quiroga; M Barraco; H Vivas; P Prystupa; H Echeverría & F G Gutiérrez Boem. 2012. Identifying sulfur deficient fields by using sulfur content; N:S ratio and nutrient stoichiometric relationships in soybean seeds. *Field Crops Research.* 135:107-115.

Stevenson, F J & M A Cole. 1999. *Cycles of Soil* por Jhon Wiley & Sons. Inc. 605 Third Ave., New York, NY10158. ISBN 0-471-32071-4. Hardback, 427 p.

Zheng, Z, R R Simard, J Lafond & L E Parent. 2002. Pathways of soil phosphorus transformations after 8 years of cultivation under contrasting cropping practices. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 66:999–1007.

TRABAJO COLABORATIVO EN LA MANO DE OBRA (BRAZO) EN LA PRODUCCIÓN DE MAÍZ DURO EN LA PROVINCIA DE LOJA

Data de submissão: 01/09/2023

Data de aceite: 02/10/2023

Edison Miranda

Mg.Sc., Docente titular. Universidad Nacional de Loja.
<https://orcid.org/0000-0003-1805-0332>.

Betty Jaramillo

Mg. Sc., Funcionario Público Ministerio de Salud Pública,
<https://orcid.org/0009-0006-6931-1394>.

Hjalmar Álvarez

Estudiante de grado. Universidad Nacional de Loja.
<https://orcid.org/0009-0001-8607-9885>.

Karen Álvarez

Estudiante de grado. Universidad Nacional de Loja.
<https://orcid.org/0009-0002-0803-5323>.

Carla Cabrera

Estudiante de grado. Universidad Nacional de Loja.
<https://orcid.org/0000-0001-5081-6882>.

Jordy Chimbo

Estudiante de grado. Universidad Nacional de Loja.
<https://orcid.org/0009-0008-9584-623>.

Jimmy Erreyes

Estudiante de grado. Universidad Nacional de Loja.
<https://orcid.org/0009-0006-3279-6770>.

Janela Flores

Estudiante de grado. Universidad Nacional de Loja.
<https://orcid.org/0009-0003-3746-4693>.

Sheyddi Quiroga

Estudiante de grado. Universidad Nacional de Loja.
<https://orcid.org/0009-0007-6008-9755>.

Heidy Sarmiento

Estudiante de grado. Universidad Nacional de Loja.
<https://orcid.org/0009-0000-7501-2899>.

Janeth Valle

Estudiante de grado. Universidad Nacional de Loja.
<https://orcid.org/0000-0002-8949-7951>.

RESUMEN: En Ecuador, la provincia de Loja se ubica en el tercer lugar en la producción de maíz duro, se caracteriza por ser cultivado en invierno, una sola vez por año en los cantones de Celica, Pindal y Zapotillo. En su mayoría, son cultivos familiares que siguen el proceso de siembra, labores culturales y cosecha, tres actividades agrarias que utilizan la mano de obra, calificada por experiencia o capacitación; a los productores de maíz duro se aplicó un

muestreo aleatorio estratificado con la utilización de encuestas y listas de cotejo en grupos focales considerando los centros de actividad como la siembra donde se desarrollan las labores de desbroce de monte, quema de maleza y, con la primera lluvia de invierno, se procede a sembrar sin labrar la tierra, resultando en la disminución del costo de mano de obra; en las labores culturales: la fumigación y fertilización; y, en la cosecha: la recolección, amontonado y desgranado de mazorcas, actividades que afectan el costo; para disminuir los costos de mano de obra, los sectores de influencia realizan una labor denominada *brazo*, que consiste en organizar la ayuda de una a cuatro personas para desarrollar actividades agrarias en un trueque entre vecinos, todo dependiendo de la extensión de las hectáreas de cultivo. El trabajo agrario que desarrolla el pequeño, mediano y gran productor denominado *brazo* no está reconocido en la legislación ecuatoriana referente a las modalidades de trabajo estipuladas en el artículo 11 del Código del Trabajo; para evitar problemas contractuales en el ámbito laboral se debe reformar el artículo 3 referente a la excepcionalidad de pagar una remuneración a los integrantes del *brazo*.

PALABRAS CLAVE: Brazo, mano de obra, costo, maíz duro, Loja.

COLLABORATIVE WORK IN LABOUR (BRAZO) IN THE PRODUCTION OF HARD CORN IN LOJA PROVINCE

ABSTRACT: In Ecuador, Loja province is in third place in the production of hard corn, characterized by being cultivated in winter, only once a year in the cantons of Celica, Pindal and Zapotillo. They are mostly family crops that follow the process of sowing, cultural work and harvest, three agricultural activities that use labour, qualified by experience or training; a stratified random sampling was applied to the producers of hard corn with the use of surveys and checklists in focus groups considering the centers of activity such as planting where the forest is cleaned, burning weeds and, with the first winter rain, the sowing starts without tilling the land, resulting in a decrease in the cost of labour; in cultural work: fumigation and fertilization; and, in the harvest: the collection, stacking and shelling of ears, activities that affect the cost; to reduce labour costs, the sectors of influence carry out a task called *brazo*, which consists of organizing the assistance of one to four people to develop agricultural activities in a barter between neighbours, all depending on the extension of the cultivated hectares. The agricultural work carried out by the small, medium and large producer called *brazo* is not recognized in Ecuadorian legislation regarding the work modalities stipulated in article 11 of the Labour Code; in order to avoid contractual problems in the workplace, article 3 must be reformed concerning the exceptionality of paying remuneration to the members of the *brazo*.

KEYWORDS: Brazo, labour, cost, hard corn, Loja.

INTRODUCCIÓN

La producción de maíz duro en los cantones de Celica, Pindal y Zapotillo de la provincia de Loja, en su mayoría son cultivos familiares y se lo realiza en gran parte de forma manual, se establecen como fases productivas, *Siembra*, *Labores Culturales* y *Cosecha*; tres centros de actividad agraria que utilizan la mano de obra, calificada por

experiencia o capacitación.

Porter (2006) sostiene que la cadena de valor sirve como un medio analítico para examinar y entender las actividades primarias y de apoyo y así identificar las fuentes potenciales de diferenciación y costos. La cadena de valor establecida en la producción de maíz duro tiene como prioridad disminuir los costos de mano de obra en los centros de actividad mencionados, en los sectores de influencia se realiza un trabajo agrario denominado *brazo* que consiste en el apoyo entre vecinos y familiares que se organizan en grupos de uno a cuatro personas, optimizan los recursos económicos e influyen en la estandarización de los costos de mano de obra dentro de la cadena de valor.

Considerando que ningún trabajo es gratuito, el patrono estará obligado a cancelar una remuneración por el trabajo realizado, excepto en los casos de urgencia extraordinaria o de necesidad de inmediato auxilio.

La legislación ecuatoriana no reconoce el brazo como modalidad de trabajo agrario según el artículo 11 del Código del Trabajo (2005): “a) Expreso o tácito, y el primero, escrito o verbal; b) A sueldo, a jornal, en participación y mixto”. Las modalidades que aplican en el trabajo agrario son jornal y tarea.

METODOLOGÍA

La investigación descriptiva con un enfoque mixto fue desarrollada en el periodo comprendido del mes de agosto del 2021 hasta septiembre 2022, sobre una población de 4.100 productores de maíz duro, estudiados a partir de un modelo de muestreo aleatorio estratificado con la utilización de encuestas y listas de cotejo que fueron aplicadas a 100 productores de maíz en grupos focales de 41 productores en Celica, 24 productores en Pindal y 34 productores en Zapotillo, considerando los sectores con mayor productividad de la gramínea y una extensión mínima de cinco hectáreas de cultivo.

Se identificaron las variables que afectan directamente en la mano de obra agraria: las variables cualitativas corresponden a los centros de actividad de *Siembra, Labores Culturales y Cosecha* con sus actividades principales y auxiliares; en las variables cuantitativas se consideran los costos unitarios por jornal de trabajo y costos totales de la mano de obra por hectárea. La información obtenida se procesó a través de SPSS 26 y Microsoft Excel 2019.

RESULTADOS

Los productores de maíz duro de la provincia de Loja se encuentran clasificados en: (1) pequeño productor con cinco hectáreas; (2) mediano productor con una extensión mayor a cinco hasta diez hectáreas; (3) gran productor, que cultiva extensiones mayores a diez hectáreas (GAD Zapotillo, 2020). En los cantones de Celica, Pindal y Zapotillo llevan a cabo un proceso productivo que se estructura de una cadena de valor con tres centros de

actividad: *Siembra, Labores culturales y Cosecha*, compuestas por actividades principales y auxiliares que constituyen los generadores de costo y consumen los recursos del agricultor (Celi et al., 2022), definen a estos centros de actividad como:

1. En el centro de actividad *Siembra* se desarrollan actividades auxiliares como el desbroce de monte, quema de maleza y la actividad principal es la siembra, de acuerdo a las observaciones técnicas de agronomía se debería labrar y preparar la tierra (Zambrano et al., 2021, p.33), en las zonas de influencia se restringe el uso de maquinaria debido al relieve irregular y caminos de herradura, procediendo a sembrar directamente sin labrar la tierra con la primera lluvia de invierno dando como resultado la disminución del costo de mano de obra en esta actividad.
2. En el centro de actividad *Labores culturales* se llevan a cabo las actividades auxiliares de fertilización y fumigación.
3. En la *Cosecha*, se realizan las actividades auxiliares de recolección, amontonado y desgranado de las mazorcas de maíz.

En los centros de actividad se emplea el trabajo manual para desarrollar las actividades agrarias que tienen afectación directa en el costo de mano de obra.

En las labores de agricultura se establece un costo de USD20,00 por jornal que corresponde a la mano de obra del pequeño, mediano y gran productor, lo que encarece en forma significativa los procesos de producción del maíz duro en los centros de actividad de: (1) Siembra, que se desarrolla en un ciclo corto, y emplea semilla certificada y se utiliza dos días de costo de mano de obra por el número de hectáreas; (2) Labores culturales, la más extensa en tiempo, de siete días de mano de obra por el número de hectáreas y, por ende, la que acumula mayores costos por concepto de mano de obra ya que corresponde al desarrollo y mantenimiento del cultivo; (3) Cosecha, tres días de costo de mano de obra por el número de hectáreas, aquí se presenta el secado de las mazorcas en la planta y su recolección debe realizarse en un tiempo corto para asegurar un buen producto, obtener utilidades y disminuir las pérdidas, el número de hectáreas dependerá si es pequeño (5 ha), mediano (10 ha) o gran productor (15 ha) de maíz duro (ver Tabla 1).

Para lograr ganancias económicas a partir del cultivo, se debe partir de la maximización de los rendimientos con la reducción del costo, que se puede lograr desarrollando una buena planificación de las labores y costos incurridos. (Antúnez et al, 2013). Con el objetivo de disminuir el impacto del costo monetario de la mano de obra, nace el *brazo* como un trabajo agrario utilizado durante el proceso agrícola en la zona de influencia y constituye una ayuda entre vecinos, familiares y amigos sin generar costo alguno porque si se recibe la ayuda, se devuelve con trabajo cuando el vecino lo necesita.

Al contrastar las labores agrarias colaborativas entre vecinos y familiares realizadas en la producción de maíz duro denominado *brazo* y el análisis del Código del Trabajo ecuatoriano referente a las modalidades de trabajo, la legislación debería modificarse y reconocer al *brazo* como trabajo agrario, ya que al momento no se encuentra en este

cuerpo legal.

Incentivar al trabajo colaborativo permitirá establecer acuerdos entre pequeños, medianos y grandes productores; práctica que garantizaría la continuidad y permanencia del cultivo de maíz duro en la zona en estudio.

Centros de actividad	Actividades agrarias	Número de días	Costo unitario	Costo por hectárea	Número de hectáreas		
					Pequeño productor (5 ha)	Mediano productor (10 ha)	Gran productor (15 ha)
SIEMBRA	Desbroce de monte	1	20,00	20,00	100,00	200,00	300,00
	Quema de maleza	1	20,00	20,00	100,00	200,00	300,00
	Labranza de tierra	0	20,00	0,00	0,00	0,00	0,00
LABORES CULTURALES	Fertilizaciones	3	20,00	60,00	300,00	600,00	900,00
	Fumigaciones	4	20,00	80,00	400,00	800,00	1.200,00
COSECHA	Recolectado	1	20,00	20,00	100,00	200,00	300,00
	Amontonado	11	20,00	20,00	100,00	200,00	300,00
	Desgranado	1	20,00	20,00	100,00	200,00	300,00
Ahorro del costo de mano de obra				240,00	1.200,00	2.400,00	3.600,00

Tomado de: encuestas aplicadas a los agricultores de maíz duro de Celica, Pindal y Zapotillo.

Tabla 1

Ahorro del costo de mano de obra con el uso del brazo en la producción de maíz duro en Celica, Pindal y Zapotillo año 2022

La concentración del ahorro en los centros de actividad con el uso del brazo, se establece por medio de la cadena de valor para la producción de maíz duro en la provincia de Loja, comprende las actividades principales (costos primos) y actividades de apoyo (costos indirectos), estos se utilizan en los centros de actividad de siembra con una duración de 63 días, labores culturales 177 días y cosecha 5 días, el ahorro de la producción en los costos de mano de obra son de 12 días en el proceso de cultivo de maíz duro de la provincia de Loja.

Se puede establecer la teoría de general aplicación de la concentración de los costos en la producción de maíz duro que propone que la aplicación de la teoría del brazo permite que las labores culturales relacionadas con el proceso fenológico y la cadena de valor sean optimizadas de manera que se estandarice los costos de mano de obra, teniendo un ahorro significativo.

DISCUSIÓN

En la producción de maíz duro en la provincia de Loja por sus características productivas se establecieron tres centros de actividad: *Siembra, Labores culturales y*

Cosecha, compuestas a su vez por labores principales y auxiliares que requieren el uso de mano de obra, lo que influye directamente en la acumulación de los costos por el pago de los jornales que estas actividades agrarias requieren.

El *brazo* rompe la teoría y el principio del costo en razón que son trabajos agrarios sin registro de valor monetario. En la zona de influencia se utiliza el *brazo* como forma de trabajo. Bajo la premisa de intercambio de trabajo por trabajo, se realiza un compromiso entre vecinos para realizar labores agrarias, que deberían estar tipificadas en el artículo 11 del Código del Trabajo, que fomente el trabajo colaborativo dentro de los sectores agrarios, en especial, aquellos de difícil acceso y geografía accidentada.

Camacho et al. (1998), realizaron estudio en México donde establecieron que al involucrar colaboradores locales: (1) se reduce el costo de mano de obra, lo que optimiza y motiva la producción de maíz; (2) se requiere un seguimiento permanente sobre los costos de producción; (3) es importante mejorar las cantidades para la satisfacción de las necesidades en los mercados; (4) debe existir ganancia para mejorar la calidad de vida de los productores. Investigación que, guardando las distancias, bien podría ser el caso de la producción que se realiza en Loja.

Por otro lado, en el estudio citado, las divergencias se encontraron en los elementos que participan en la disminución del costo en el proceso de producción de maíz duro, donde media la tecnificación y el uso de maquinaria con arado mecánico y tracción animal reduciendo el número de jornales; en contraposición, en la zona de influencia donde los terrenos son irregulares y escarpados, se requiere del trabajo manual de un mayor número de personas, el que se mejora cuando se organiza como el trabajo colaborativo denominado *brazo*, generando una disminución en los costos de producción.

CONCLUSIONES

Para que los productores de maíz duro de la provincia de Loja que poseen cultivos: pequeño productor (5 ha), mediano productor (10 ha) y gran productor (≥ 15 ha), disminuyan sus costos de producción en la mano de obra agrícola, en un 54%: en los centros de actividad en la Siembra, 9%; en Labores culturales, 31,5%; y en la Cosecha, 13,5%; deberían aplicar el trabajo colaborativo. En el Código del Trabajo ecuatoriano no se tipifica la labor agraria denominada *brazo* a sabiendas de que en la actualidad se emplea en la producción de maíz duro.

Para que el productor disminuya los costos de producción en la mano de obra o no tenga problemas contractuales en el ámbito laboral se tendría que reformar el artículo 3 referente a la excepcionalidad de pagar una remuneración, ya que tiene la finalidad de contribuir a la producción no solo en lo particular sino a todos los integrantes del *brazo* y así el cultivo de maíz podría ser sostenible al generar ganancias que mejoren la calidad de vida de los productores.

REFERENCIAS

Antúñez B., Vidal S., Morales J., Fuentes F., & Fouilloux P. (2013). **Estructura de Costos de la Producción de Maíz grano en la Región de O'Higgins. Capítulo 1.**

Bravo, M., & Ubidia, C. (2013). **Contabilidad de Costos (3ª ed.)**. Escobar Impresores.

Camacho, R., Turrent, A., Cortés, J., & Díaz, H. (1998, octubre-diciembre). **Uso y productividad de la mano de obra en unidades familiares de producción del trópico húmedo de México, con productores participantes y no participantes en el desarrollo y adaptación de innovaciones tecnológicas.** *Terra Latinoamericana*, 16(4), 337-349. <https://bit.ly/3Bp2FLs>

Celi, F., Miranda, E., Pineda, D., & Cobos, N. (2022). **Costos agrarios y cadena de valor del maíz duro en la provincia de Loja - Ecuador.** En Memorias del V Congreso Internacional de Investigación en Educación, Empresa y Sociedad.

Coloque, A., & Poma, E. (2015). **Contabilidad agropecuaria.** Puno.

GAD Zapotillo. (2020). *Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial (PDOT) del Cantón Zapotillo 2019-2023* [Resumen Ejecutivo]. GAD Zapotillo. <https://bit.ly/3SbslfX>

H. Congreso Nacional. (2005). **Código del trabajo. Registro Oficial Suplemento 167**, 16 de diciembre de 2005. <https://bit.ly/3S9sKF5>

Porter, M. (2006). **Ventaja competitiva.** México: CECSA.

Zambrano, J.L., Velásquez, J., Peñaherrera, D., Sangoquiza, C., Cartagena, Y., Villacrés, E., Garcés, S., Ortiz, R., León, J., Campaña, D., López, V., Asaquibay, C., Nieto, M., Sanmartín G., Pintado, P., Yáñez, C., Racines, M. (2021). **Guía para la producción sustentable de maíz en la Sierra ecuatoriana.** INIAP, Manual No. 122. Quito, Ecuador.

TRANSICIÓN AGROECOLÓGICA, NARANJA ORGÁNICA CON BASES AGROECOLÓGICAS Y LUCHA CONTRA EL GLIFOSATO EN MÉXICO

Data de aceite: 02/10/2023

Manuel Ángel Gómez Cruz

Centro de Investigaciones Interdisciplinarias para el Desarrollo Rural Integral/ Universidad Autónoma Chapingo.
Dirección: Carretera México-Texcoco km 38.5. Chapingo, México. C.P. 56230.

Laura Gómez Tovar

Departamento de Agroecología/
Universidad Autónoma Chapingo/
Profesor-Investigador UACH/ Carretera Federal México-Texcoco Km 38.5,
Universidad Autónoma de Chapingo,
56230 Texcoco, México

Con el arribo de López Obrador a la Presidencia de la República, hay una serie de cambios en las políticas públicas orientadas al campo; dentro de esta estrategia adquiere gran importancia lo relacionado con transitar de un modelo de revolución verde a uno de transición agroecológica.

El 31 de diciembre de 2020, se expidió un decreto presidencial, para sustituir el uso de glifosato, dicho decreto tiene una actualización el 13 de febrero del 2023, y presenta fecha para la eliminación de dicho herbicida, el día 31 de marzo del 2024 (Diario Oficial de la Federación, 2023). En este documento se presenta lo que está ampliamente documentado, con relación a que el Glifosato es un herbicida altamente peligroso para la salud humana y el medio ambiente, considerado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como “probable cancerígeno en humanos” (Bejarano, 2017).

En dicho contexto el Centro de Investigaciones Interdisciplinarias para el Desarrollo Rural Integral (CIIDRI), en 2021

1 | INTRODUCCIÓN

La transición agroecológica implica no una transición, sino varias transiciones simultáneas de índole social, biológica, económica, cultural, institucional y política. El tránsito hacia la agroecología implica una transición a nivel de los subsistemas productivos, una transición socio-ecológica a nivel de la familia rural, su comunidad y su paisaje y una transición político-institucional a nivel de territorios (Titonell, 2019, Tiftonell, s/p).

inicia un proceso de discusión con el CONACyT (Ahora CONAHCyT) para contribuir en la encomienda nacional contra el glifosato. Dicho centro de investigación es seleccionado por su experiencia y continuidad de trabajo en la región Norte de Estado de Veracruz en un proceso de investigación acción participativa (Méndez et. al., 2018).

Los antecedentes se remontan a 2004 cuando se inicia la transición en una huerta de naranja convencional en el municipio de Papantla, Veracruz, en una hectárea de terreno, lo cual 8 años después se escaló a 16ha bajo un manejo orgánico del cultivo. En 2012 la innovación tecnológica de naranja orgánica generada en dicha huerta, obtiene su certificación. Entre 2012 y 2018 se trabajó en la difusión de dicha tecnología con pequeños productores organizados, pasando a 10 organizaciones de productores, a las cuales se les apoyó en los procesos de certificación y comercialización. Para 2018 ya se trabajaba con casi mil productores que visitaban la huerta, conocida en la región como Huerta Madre Grupo Los Gómez y que estaban interesados en producir de forma distinta a los esquemas de revolución verde; sin embargo, no se lograba incorporar a un mayor número de productores. Es hasta 2022 con la intervención de CONACYT y los proyectos CONACyT N.º 321118 (2022) y CONAHCYT 322600 (2023) que se logra llegar a miles de productores en un proceso de transición agroecológica y de sustitución de Glifosato y otros agrotóxicos. A todo este proceso que se ha seguido a partir de 2004, puede claramente mostrarse como un ejemplo concreto de escalamiento o masificación agroecológica.

El documento aborda las siguientes temáticas, saber: 1) La transición agroecológica en México; 2) La experiencia de la Huerta Madre Grupo “Los Gómez” en el desarrollo de la innovación de naranja orgánica con principios agroecológicos; 3) Las Fases de desarrollo de la innovación; 4) El proceso de escalonamiento o masificación agroecológico en la Zona Norte de Veracruz; 5) Los problemas de la transición agroecológica en México y finalmente se esbozan algunas 6) conclusiones.

2 | TRANSICIÓN AGROECOLÓGICA EN MÉXICO

2.1 Participación gubernamental

En México, las secretarías que participan en este proceso de transición agroecológica, principalmente, son:

- a) La Secretaría del Bienestar con su programa Sembrando Vida con 4 mil 700 técnicos que atienden aproximadamente a 445 mil productores en 22 estados del país y cuenta, además, con un programa de apoyo de hasta 54 mil becarios de Jóvenes Construyendo el Futuro.
- b) La Subsecretaría de Competitividad y de Autosuficiencia Alimentaria de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER) con su programa de Estrategia de Acompañamiento Técnico (EAT) con 850 técnicos que cubre aproximadamente a 80 mil productores.

c) La Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) con su Programa Nacional de Transición Agroecológica y Patrimonio Biocultural, cuyo objetivo es proteger la salud de los mexicanos ante el embate de alimentos producidos con pesticidas y agroquímicos y revertir el modelo agronómico de los últimos 60 años.

d) El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), con 6 temas estratégicos de investigación para la sustitución del glifosato (bioherbicidas, herramientas y maquinaria agrícola, faros agroecológicos, coberturas a base de leguminosas, experiencias regionales y de control biológico) en el manejo de arvenses (CIIDRI-CONACYT, 2022), instancia a quien el Presidente de la República encomendó hacerse cargo, junto a otras dependencias, de un proceso de transición, iniciado el 31 de diciembre de 2020 hasta la eliminación total del glifosato el 31 de marzo de 2024 (DOF, 2023). También el CONACYT apoya proyectos como el de Pies Ágiles y la revista Manejo Ecológico Integral de Arvenses (MEIA), a la fecha con 23 publicaciones bajo la misma orientación; y en total se trabaja en 62 proyectos de investigación con 160 millones de pesos, y posiblemente el CONACYT cubre a 50 mil productores.

2.2 Participación Estatal y Municipal

Se suman a estas acciones otras iniciativas como las que promueven algunos gobiernos de los estados. Por ejemplo, en el caso de Colima con el proceso ya concluido en su Congreso con la aprobación de la Ley Estatal de Fomento Agroecológico (Primera Ley Agroecológica del país), el estado de Tlaxcala con 10 mil hectáreas en transición a lo orgánico para la producción de maíz y el estado de Veracruz con 600 técnicos en la Secretaría de Fomento Agropecuario bajo el esquema que denominan “Escuelas Campesinas”, entre otras actividades.

También algunos municipios están fomentando la agroecología a partir de la contratación de técnicos o de programas específicos promoviendo esta nueva agricultura (por ejemplo: Álamo, Tihuatlán, Ixhuatlán de Madero, Tecolutla, Castillo de Teayo, en Veracruz y Pantepec y Francisco Z. Mena en Puebla, etc.), finalmente, dos municipios se han declarado como agroecológicos, en Jalisco y Colima (El Limón y Coquimatlán).

2.3 Papel del Congreso de la Unión

Todo el proceso anterior está acompañado por 3 iniciativas recientes de la Cámara de Diputados, la primera para la prohibición y regulación del uso de plaguicidas altamente peligrosos aprobada el 17 de febrero, 2022 y pasó al Senado para su discusión (Cámara de Diputados, 2022). La segunda iniciativa anunciada el 5 de abril de 2022 donde por unanimidad (495 votos) fue aprobada para promover la agroecología y en donde los agricultores que hagan usos productivos de tierras deben utilizar preferentemente técnicas agroecológicas (Cámara de Diputados, 2022) y la tercera, se refiere a la aprobación de la reforma al artículo 55 de la Ley de Desarrollo Rural Sustentable, que busca fomentar

las prácticas agronómicas sustentables en materia de uso de biofertilizantes, plaguicidas orgánicos y bioestimulación de cultivos (422 votos), misma que fue anunciada el 12 de abril de este año (2023). (Cámara de Diputados, 2023).

2.4 Otras iniciativas

No podemos ignorar y es muy motivante que la agroecología ha adquirido una fuerza inusitada en el país, pues además de que en las universidades ya existen licenciaturas de agroecología (San Luis Potosí, Yucatán, Chapingo, Veracruz, etc) y maestrías (Ecosur, COLPOS) se promueven también infinidad de acciones e iniciativas regionales y locales sostenidas por diferentes grupos académicos, grupos de la Sociedad Civil, organizaciones campesinas, ONG'S y el movimiento orgánico nacional respaldado por 215 mil productores en más de 700 mil hectáreas agrícolas y 1 millón 200 mil hectáreas de recolección y pecoreo de abejas (Gómez y Gómez, 2017) sin utilizar glifosato y ningún agrotóxico.

Con las iniciativas ya mencionadas se augura que en los próximos años se continúe desarrollando un gran movimiento en pro de la agroecología en la agricultura mexicana, y posiblemente en un proceso muy corto represente una sólida y real alternativa para la producción de alimentos en el país. Decimos lo anterior porque el movimiento orgánico con miles de productores y alrededor de 700 mil hectáreas, ha estado creciendo a tasas del 17% anual del 2000 a la fecha, en esencia sin tener un respaldo decidido de las políticas públicas hacia dicho sector y sin contar con el respaldo de los centros de investigación y de las universidades, consolidándose solo con el apoyo fundamental de los mismos productores y con sus mismos saberes e intercambios de cursos y talleres entre ellos.

Ahora para el movimiento agroecológico en nuestro país existen mejores condiciones pues hay una política pública, como se demuestra en párrafos anteriores, que está orientada a apoyar que la agricultura mexicana transite hacia la agroecología.

3 | LA EXPERIENCIA DE LA HUERTA MADRE GRUPO “LOS GÓMEZ” EN EL DESARROLLO DE LA INNOVACIÓN DE NARANJA ORGÁNICA CON PRINCIPIOS AGROECOLÓGICOS

El Faro Agroecológico “Huerta Madre Grupo Los Gómez”, donde se desarrolla una innovación con manejo agroecológico, se encuentra ubicado en el ejido de San Pablo, Papantla, Ver. Se entiende como Faro Agroecológico porque es una experiencia que irradia luz, conocimiento, basada en los principios agroecológicos y sirve de guía para otros productores interesados en producir de forma diferente.

La transición a la producción de naranja orgánica empezó hace 19 años en una hectárea y nueve años después se incorporaron 16 has más, una vez que se fue encontrando respuesta alternativa a la utilización de agrotóxicos. Los rendimientos se ubican en 36t/ha en promedio, o sea 200% más que el rendimiento nacional de 12t/ha (SIAP, 2021). La innovación tecnológica fue desarrollada en un proceso de ensayo-

investigación-acción participativa y con la asesoría de campesinos e investigadores del Centro de Investigaciones Interdisciplinarias para el Desarrollo Rural Integral (CIIDRI) de la Universidad Autónoma Chapingo.

Para avanzar en las acciones de divulgación, que antes se había experimentado y ensayado en el faro agroecológico, la innovación se reprodujo y extendió a otras huertas a nivel local y regional.

La idea central fue transferir los logros de la innovación tecnológica de la UACH a los citricultores, organizaciones y grupos de productores de la región Norte de Veracruz, con los cuales se tienen convenios institucionales, relaciones de trabajo o se ha impactado en su producción con algunas de las prácticas agroecológicas que se han difundido por el CIIDRI-UACH. Algunas de las organizaciones mencionadas son; Productores Ecológicos del Norte de Veracruz, Citricultores Tihuatecos Asociados, Citricultores Orgánicos de Chicontepec, Asociación Agrícola Local de Productores de Cítricos del Municipio de Tuxpan, Sociedad de Productores Orgánicos de la Huasteca Veracruzana, Taracuan S.P.R de R.L. de C.V., Compromiso Agroecológico S.P.R. de R.L. de C.V., Orgánicos de Totonacapan, Productores Orgánicos del Llano Papanteco, etc.

4 I FASES DE LA INNOVACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE NARANJA ORGÁNICA CON BASES AGROECOLÓGICAS

La innovación tecnológica ha seguido un camino que hemos denominado escalamiento de varias fases en un mismo proceso, a saber:

4.1 Fase productiva: manejo orgánico y agroecológico de la naranja

La producción de naranja orgánica con enfoque agroecológico que se ha venido impulsando en el Norte de Veracruz, en su fase productiva, comprende: 1) Diagnóstico de las huertas, 2) manejo de arvenses (realizándose con técnica manual, equipos motorizados, coberturas, coberturas muertas y/o manejo de arvenses seleccionadas); 3) poda (poda de formación, poda de árboles en producción, poda de rejuvenecimiento y poda de amarillamiento); 4) nutrición orgánica de los árboles (las prácticas de conservación, remineralización y mejoramiento de los suelos y las prácticas de nutrición foliar); 5) manejo ecológico de plagas y enfermedades (preparación de caldos minerales, uso y reproducción de microorganismos benéficos y extractos vegetales); 6) fomento de la biodiversidad en las huertas (al interior y en las barreras de amortiguamiento); 7) Trabajos especiales (Gómez Cruz, et. al; 2017).

4.2 Fase de orientación agroecológica

La agricultura orgánica es un sistema de producción que mantiene y mejora la salud de los suelos, los ecosistemas y las personas; se basa fundamentalmente en los procesos ecológicos, la biodiversidad y los ciclos adaptados a las condiciones locales, sin

usar insumos que tengan efectos adversos (Gómez y Gómez, 2022). En la producción de naranja orgánica con orientación agroecológica, hay un mayor ingreso directo al productor por la venta de sus productos; los trabajadores laboran en un ambiente sano al no utilizar insumos de síntesis química; hay un trabajo permanente; hay una mejora en la dieta familiar del productor al poder producir frutas orgánicas y quelites; y se promueve el consumo de alimentos sanos en todos los sentidos. Actualmente, el consumidor global es cada vez más consciente de la importancia del cuidado del medio ambiente y que el consumo de alimentos libres de agrotóxicos beneficia la salud.

Los principios agroecológicos más importantes son: conservación y mejoramiento de los suelos, uso de recursos locales, fomento de la biodiversidad, reciclaje de nutrientes e intercambio de saberes.

4.3 Fase colectiva: organización de productores

La innovación tecnológica no solo involucra la cuestión productiva del cultivo, sino que también comprende la organización jurídica de los productores, la certificación orgánica y su organización para comercializar a un mejor precio la naranja orgánica. Por medio de cursos y talleres de capacitación a productores sobre el proceso de producción de naranja orgánica y agroecológica, se apoya a pequeños productores en: la conformación de organizaciones, recorridos de inspección interna a los integrantes de las organizaciones, capacitación a personal del sistema de control interno de las organizaciones certificadas como orgánicas, reuniones con organizaciones orgánicas y empresas jugueras para buscar la comercialización de naranja orgánica. Así mismo, se integran a estas actividades y se capacita a nuevos productores o grupos de productores interesados.

4.4 Capacitación a técnicos

Durante el proceso de capacitación, constantemente se analiza y se discute sobre la revisión del material bibliográfico, las prácticas que se realizan en campo para percibir el avance en el plan de capacitación y para proponer nuevos temas en los que hiciera falta reforzar conocimientos, habilidades, actitudes y valores. La importancia de las reuniones de análisis y discusión radica en que las técnicas/os se involucran más, asimilan mejor la información, y son más críticos. Simultáneamente se enfatiza en el desarrollo de habilidades para sintetizar información para elaborar informes, trípticos, carteles, fichas técnicas de bioinsumos, etc. Durante el proceso también existen intercambio de experiencias entre los compañeros técnicas y técnicos y con los productores. Lo/as técnicas/os comunitarios aportan en la formación de los técnicos/as agroecólogos pues conocen muy bien la región, el manejo del cultivo de la naranja, conocen la idiosincrasia de los productores, y los recursos locales, etc.

4.5 Fase de extensionismo: difusión y capacitación

El éxito obtenido en la innovación de la producción de naranja orgánica con enfoque agroecológico en la fase productiva, social y colectiva o comercialización dio paso a la búsqueda de la masificación de producción de naranja orgánica en el Norte de Veracruz.

La fase de extensionismo, difusión y masificación de la producción de naranja orgánica se realizan mediante: pláticas de inducción a la agricultura orgánica, visitas al Faro Agroecológico “Huerta Grupo Los Gómez” y a otras huertas de avanzada en lo agroecológico, recorridos de campo, cursos, talleres, seguimiento técnico, difusión en diversos medios, entre otros.

5 | ESCALONAMIENTO AGROECOLÓGICO O MASIFICACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE NARANJA ORGÁNICA-AGROECOLÓGICA EN EL NORTE DE VERACRUZ

Se utiliza este concepto de masificación, escalonamiento o escalamiento agroecológico, para dar a entender que trabajamos con más de 1000 productores/as. A continuación se presentan los resultados de estudio de caso: los Proyectos CONACyT N.º 321118 (2022) y CONAHCYT 322600 (2023-2024)

5.1 El proyecto 321118

“Plan de manejo integral para la sustitución de glifosato en el cultivo de naranja valencia (*Citrus sinensis* L. Osbeck) en el Norte de Veracruz”, financiado por el CONACYT, tuvo por objetivo contribuir en la cruzada nacional donde las nuevas políticas hacia el campo son propicias para promover alternativas para el manejo de arvenses que coadyuven en el proceso de transición agroecológica hacia la sustitución del glifosato.

Uno de los objetivos del CONACYT es contar con un ejemplo exitoso de producción libre de Glifosato a través de las acciones que se están llevando a cabo en el Centro de Investigaciones Interdisciplinarias para el Desarrollo Rural Integral (CIIDRI) de la Universidad Autónoma Chapingo. El proyecto planteó el trabajo con 2 587 productores de naranja tardía, con superficies menores de 10 ha por productor, de los municipios de Álamo Temapache, Tihuatlán, Papantla, Castillo de Teayo, Cazonces de Herrera, Ixhuatlán de Madero y Chicontepec. Estos municipios son los más importantes ya que representan el 62% de la producción de naranja en la Zona Norte de Veracruz. Y este estado aporta más del 50% de la producción de naranja valencia del país (SIAP, 2021).

La esencia del proyecto es transitar a la agroecología utilizando prácticas agroecológicas con productores interesados en dejar de emplear agroquímicos, en especial los herbicidas con ingrediente activo “Glifosato”. Los productores participantes se han comprometido a no usar herbicidas en por lo menos el 20% de su parcela, sembrar alguna leguminosa como cobertura para el manejo de arvenses en por lo menos el 5% de su unidad de producción y utilizar una de las 25 prácticas agroecológicas propuestas por

el proyecto en un esquema de eco-condicionalidad.

El trabajo de vinculación y extensionismo se realizó con 20 compañeras y técnicos agroecológicos egresados de las universidades, y 10 técnicos y técnicas comunitarias (productores líderes) quienes trabajan de la mano con grupos de productores promoviendo las practicas agroecológicas para la sustitución de los herbicidas. Los técnicos agroecológicos fueron capacitados por 3 meses en la Huerta Madre “Grupo Los Gómez” bajo la metodología de investigación-acción participativa propuesta por (Méndez, *et. al.*, 2018), sobre todo haciendo énfasis en la generación de habilidades prácticas en el cultivo de naranja y prácticas agroecológicas, así como en los valores de humildad, sencillez y compromiso social. La importancia de la capacitación de los técnicos es hacerla en contacto directo con la realidad, coincide con lo mencionado por (Caporal y Costabeber, 2009) como elementos imprescindibles en la extensión rural con enfoque agroecológico de acuerdo con la experiencia de Brasil, uno de los países líderes en este campo.

También se instrumentó un esquema de asistencia técnica virtual complementaria con un teléfono 911 agroecológico con apoyo de varios catedráticos expertos en la agroecología. Adicionalmente, se tiene contemplado el monitoreo y evaluación del efecto de las prácticas agroecológicas en la remediación del entorno y analizar la validez del proyecto para hacerlo replicable en otras regiones y también en otros cultivos del país, todo ello llevado a cabo por el CIATEJ A.C. perteneciente a CONACYT.

	Huerta Madre Grupo “Los Gómez”	Papantla	Tehuacán, Caxtle y Castille de Teayo	Chicontepec e Ixhuatlán de Madero	Álamo Tempapache, zona 1 y 2	Total
Número de comunidades y ejidos sensibilizados.	-----	74	73	76	76	299
Número de productores sensibilizados.	2025	859	1,761	915	1815	7375
Número de productores validados o seleccionados.	-----	566	516	516	989	2587
Número de hectáreas comprometidas a no utilizar glifosato.	-----	793	890	677.32	1,180.43	3540.75
Número de hectáreas sembradas con leguminosas.	-----	15	447	12	49.45	523.45
Número de hombres y mujeres validados o seleccionados.	-----	406 hombres 160 mujeres	403 hombres 113 mujeres	425 hombres 91 mujeres	795 hombres 194 mujeres	2029 hombres 558 mujeres

Número de productores indígenas.	-----	215	137	501	102	955
Asistencia virtual (911 agroecológico) Cel: 232 123 8998	-----	-----	-----	-----	-----	1953 productores Atendidos
Porcentajes de productores indígenas.	-----	37%	26%	97%	10%	37%

Cuadro 1. Resultados proyecto Conacyt No. 321118 en el Norte de Veracruz 2022.

Fuente: Elaboración propia, 2022.

Los productores que participan activamente en el proyecto son 2586 con una superficie promedio de 5 ha por productor. Los datos nos indican que, para el primer año del proyecto, el 27% de su superficie de naranja está comprometida para no utilizar Glifosato, no sólo este insumo, pues las prácticas agroecológicas en las cuales se les está capacitando incluyen también una reducción drástica de otros agrotóxicos.

La atención consiste principalmente en el trabajo mano a mano de productores, técnicos agroecólogos y técnicos comunitarios en 299 comunidades y ejidos. Los datos del cuadro 1, ilustran que el 35% de los citricultores productores de naranja tardía del Norte de Veracruz están interesados en dejar de utilizar agrotóxicos, por lo que se requiere especial atención para su formación en las prácticas agroecológicas.

El proyecto mantiene un enfoque eminentemente social y de género, pues se trabaja con pequeños productores(as) y el 37% del total pertenecen a un grupo indígena (nahuas, totonacos y otomís). Y también se trabaja con el 21.5% del total que son mujeres que están al frente de sus unidades de producción.

Es importante comentar que para finales del 2022 ya existía en el Norte de Veracruz una superficie de siembra de leguminosas, que no es despreciable, y que corresponde al 14.7% de la superficie incluida en el proyecto.

Al utilizar la soya forrajera (*Glycine sp*) para el manejo de arvenses en parcelas entre 2 y 16 años de establecida se encontró que representa sólo \$1,017 pesos de costos en promedio, en comparación con el uso del glifosato que tiene una erogación de \$3,760 pesos. Es posible que la utilización de leguminosas en el cultivo de naranja, cítricos y otros frutales sea más económica en comparación con el glifosato para el manejo de las arvenses como demuestra la experiencia en 7 huertas analizadas. Cabe resaltar que el uso de Glifosato trae efectos nocivos al suelo, al medio ambiente y a la salud humana, como está científicamente y repetidamente demostrado. Por el contrario, las leguminosas, además de ser más económicas, representan 27% del costo si se utilizara glifosato, proporcionan una gran diversidad de bondades y ventajas que se sintetizan en apoyar la nutrición del cultivo, conservación de la humedad, brindan un mejor hábitat para los microorganismos benéficos, en lugares de laderas se evita la erosión de los suelos y mejora su estructura, y por si

fuera poco, tienen usos múltiples para forraje de bovinos, ovinos y aves. También algunas leguminosas juegan un papel importante para la alimentación humana.

5.2 El Proyecto 322600

En los primeros 4 meses del año 2023 presenta los siguientes resultados (Ver cuadro 2).

Se atienden actualmente 253 comunidades con un total de 2771 productores/as, cabe mencionar que de los productores incorporados al proyecto 2022 se tiene una ausencia del 14% (enfermos, fallecidos, participan en otros programas, tienen trabajos fuera de la comunidad, migrantes, errores en la selección de productores, etc). Sin embargo, se han acercado otros productores para participar en su capacitación de prácticas agroecológicas y representan 22% de los participantes del año 2022.

La capacitación agroecológica se está cubriendo con la impartición de 203 talleres, en solo 4 meses de operación del proyecto.

Como se aprecia en el Cuadro 2 se ha avanzado en la selección de productores y grupos de productores para instalar 454 parcelas demostrativas y 48 laboratorios artesanales de las 900 parcelas planteadas para comprobar en 2024, y de un total de 60 laboratorios que se tienen contemplados.

Para septiembre de 2024, el avance de la sustitución del herbicida Glifosato en el manejo de arvenses es lograr la meta de 10 mil hectáreas.

	Región I Y II Álamo	Región III Papantla	Región IV Tihuatlán, Cazones y Castillo de Teayo	Región V Chicontepec e Ixhuatlán de Madero	Región VI Ixhuatlán de Madero- Francisco Z. Mena- Pantepec	Total
Número de comunidades y ejidos sensibilizados	65	75	55	32	26	253
Número de productores de seguimiento	802	527	420	245	217	2211
Nuevos productores sensibilizados	52	124	16	127	241	560
Impartición de talleres sobre elaboración de bioinsumos (Agua de vidrio, magro, microorganismos de montaña, caldo sulfocálcico, caldo de ceniza, etc)	78	29	39	20	37	203

Taller de poda	1	28	13	2	3	47
Taller de manejo y mantenimiento de desbrozadora		26	5	1	2	34
Sensibilización y pláticas de Difusión del proyecto 322600	9	10	-----	-----	14	33
Productores interesados en establecer parcelas demostrativas	197	80	81	46	50	454
Número de laboratorios artesanales definidos	16	8	8	8	8	48

Cuadro 2. Resultados 2023 proyecto CONACYT No. 322600: “Manejo agroecológico para la sustitución de glifosato y otros agrotóxicos en naranja valencia, cítricos y sus cultivos asociados en el norte del estado de Veracruz y noreste de Puebla.”

Fuente: Elaboración propia, 2023.

5.3 Asistencia Técnica y difusión virtual

Se da un espacio especial al teléfono que hemos llamado *911 Agroecológico y Asistencia Técnica y Difusión Virtual*, por ser una de las estrategias del proyecto, que consiste en brindar asistencia técnica y difusión a los productores mediante las redes sociales, como complemento a la capacitación para la transición agroecológica, apoyando y dando seguimiento a sus dudas.

En cuanto a difusión, por WhatsApp se enviaron 62 materiales a un total de 760 productores; en Facebook se compartieron 7 boletines informativos, compendios de casos exitosos y actividades en las regiones, con un total de 86,832 visualizaciones. Esta estrategia, permitió a los productores, recibir información y complementar las actividades del proyecto. La difusión de información científica debe ser acorde al nivel cultural de los productores para que puedan comprenderla; resulta interesante la participación de productores de la tercera edad, que utilizaron y se interesaron en participar en las redes sociales.

Al respecto se concluye: 1.- Aprovechar la importancia de las redes sociales como herramienta para apoyar la difusión de la información, el intercambio de conocimientos, la asistencia técnica y la entrega oportuna de las recomendaciones e innovaciones a los citricultores. 2.- La asistencia técnica y difusión virtual funcionaron como puente de acercamiento directo con las y los citricultores del norte del estado de Veracruz, implementando un lenguaje sencillo, difundiendo material de manera continua y oportuna. 3.- Es importante que las instancias de gobierno, programas y proyectos públicos y/o privados, potencialicen el uso de estos medios para comunicar su información a los productores logrando así que el conocimiento generado por los centros de investigación pueda llegar a otros espacios y no únicamente a los investigadores y técnicos. 4.- Resulta interesante la exploración de un proyecto técnico con productores campesinos, con un

promedio de 60 años de edad, que además de participar en forma exitosa en las redes sociales, incorporaron el intercambio de experiencias y saberes entre ellos, es decir, las utilizaron y se apropiaron de estas. 5.- La incorporación de las redes sociales permitieron masificar la información porque nuestro proyecto, en forma tradicional, antes llegaba a menos de 1, 000 personas, y ahora en solo tres meses, al utilizar las redes sociales, se rebasaron las 82, 000 visualizaciones, no solo llegando la información a los productores de la región, sino también a otras regiones y a otras personas, aunque no estén incorporadas en el proyecto.

6 | PROBLEMAS DE LA TRANSICIÓN AGROECOLÓGICA EN MÉXICO

Existen una serie de problemas a los cuales se enfrentan los cambios que propone la Cuarta Transformación para el campo, en un proceso de transitar de la Revolución Verde hacia la agroecología, a saber:

1) El arraigo de la utilización de agrotóxicos por los agricultores. 2) El segundo problema se refiere al tiempo asignado para la instrumentación del decreto presidencial contra el glifosato. 3) El tercer problema es la falta de capacitación agroecológica de los técnicos involucrados en los programas federales, estatales y municipales. 4) El cuarto problema se refiere a los excesivos procedimientos burocráticos en los programas gubernamentales. Y el quinto problema es la oposición de la agricultura industrial al cambio.

7 | CONCLUSIONES

1. A pesar de los grandes problemas que significa el cambio, hoy en México existen mejores condiciones que en cualquier otro momento histórico para promover y desarrollar un gran movimiento exitoso en pro de la agroecología. Lo anterior se fundamenta en que existen programas oficiales, estatales, municipales y miles de iniciativas que están participando actualmente en una transición agroecológica en el país.

2. Existen problemas plenamente identificados que están frenando el proceso de transición agroecológica y deben ser resueltos en forma pronta para no entorpecer el cambio de la transición de la Revolución Verde hacia la Revolución Agroecológica en marcha.

3. Si nuestros abuelos sin los agrotóxicos lograron que nuestro país fuera autosuficiente en la producción de alimentos durante muchas décadas, ahora también se podrá lograr, dado que existe una política oficial de transición agroecológica, utilizando los saberes campesinos, y los nuevos conocimientos de la ciencia.

REFERENCIAS

Bejarano, F. (2017). Los plaguicidas altamente peligrosos en México. RAPAM. Texcoco, Estado de México.

Cámara de Diputados (2022). Disponible en: <https://comunicacionsocial.diputados.gob.mx/index.php/boletines/aprueban-reforma-para-que-quienes-hagan-uso-productivo-de-tierras-seleccionen-tecnicas-agroecologicas#gsc.tab=0>

Cámara de Diputados (2023). Boletín No. 4183. 12 de abril del 2023. Disponible en: <http://comunicacionsocial.diputados.gob.mx/index.php/boletines/por-consenso-la-camara-de-diputados-aprobo-reforma-que-busca-fomentar-practicas-agronomicas-sustentables>

Caporal F. y Costabeber J. A. (2009). La experiencia de la extensión rural agroecológica para la agricultura familiar, en Brasil. En: Morales Hernández J. 2009. La Agroecología en la construcción de alternativas hacia la sustentabilidad rural. Editorial Siglo XXI. México, D.F.

CIIDRI-CONACYT (2022). Plan de manejo integral para la sustitución de glifosato en el cultivo de Naranja Valencia (*Citrus sinensis* L. Osbeck) en el Norte de Veracruz. Informe técnico CIIDRI-UACH. Edo. De México.

CONACYT-PRONAI. (2020). Suspensión escalonada al uso del Glifosato y construcción de alternativas ecológicas y de baja toxicidad para el manejo agrícola integrado. Grupo de trabajo CONACYT. Documento de trabajo. Ciudad de México. México.

Concha M. (2022). Hacia una transición agroecológica. En: La Jornada. Ciudad de México. 23 de julio.

Diario Oficial de la Federación. (2020). Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. 31 de diciembre. http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5609365&fecha=31%2F12%2F2020

Diario Oficial de la Federación. (2020). Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural.(2023). 13 abril 2023. Disponible en: https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5679405&fecha=13/02/2023

Gómez C. M. A., Gómez T. L., Schwentesius R. R., Rodríguez N. O., Reyes R. R, Villatoro López M. O. (2017). Guía Agroecológica para la producción de Naranja Orgánica. Universidad Autónoma Chapingo-CIIDRI-PEVU-CLAC-Fair Trade-Centro de Investigación Tierra Prieta. México.

Gómez Cruz M. A. y Gómez Tovar L. (2017). Propuesta de políticas públicas para el apoyo y fomento de la agricultura orgánica y ecológica. En: Soberanía alimentaria y desarrollo del campo. Consejo Nacional de Universitarios-Juan Pablos Editor. Volumen 9, pp. 307-330.

Gómez Cruz, M.A.; Gómez Tovar, L. (2022). Proyecto para la masificación de la producción de naranja libre de glifosato en el Norte de Veracruz. En: Memoria X Congreso Internacional y XXIV Congreso Nacional de Ciencias Agronómicas. Chapingo, Estado de México, pp. 134-135.

Gómez Cruz, M.A.; Gómez Tovar, L.; (2022). Proyecto para la masificación de la producción de naranja libre de glifosato en el Norte de Veracruz. En: Memoria del Segundo Congreso Mexicano de Agroecología. Tomo II. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Edo. De México. pp. 13-14.

Gómez Cruz, M.A.; Gómez Tovar, L.; Hernández Andrade M. A. (2022). Políticas públicas y transición agroecológica en México. En: Memoria X Congreso Internacional y XXIV Congreso Nacional de Ciencias Agronómicas. Chapingo, Estado de México, pp. 129-130.

Gómez Tovar L. (2022). ¿México, un país sin glifosato?. En: Memoria del Segundo Congreso Mexicano de Agroecología. Tomo II. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Edo. De México. pp. 11

Gómez Tovar L. y H. Morales (2022). Alternativas de comercialización agroecológica y de comercio justo en tiempos de pandemia. En: Memoria del Segundo Congreso Mexicano de Agroecología. Tomo II. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Edo. De México. pp. 5.

Gómez Tovar, L. y Manuel Á. Gómez Cruz (2022): "Sustitución de glifosato en la producción de naranja orgánica en el Norte de Veracruz, México", *Studies in Environmental and Animal Sciences*, vol. 3, núm. 1 (Curitiba, 16 de marzo), pp. 103-117. Doi: <https://doi.org/10.54020/seasv3n1-007>

Gómez Tovar, L.; Gómez Cruz, M.A.; Gálvez Mendoza A.; Vicencio Nolasco M. (2022). Las fases de la innovación de naranja orgánica y agroecológica CIIDRI-UACH en el Norte de Veracruz, México. En: Memoria del Segundo Congreso Mexicano de Agroecología. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Edo. De México. pp. 79-80.

Gómez Tovar, L.; Gómez Cruz, M.A.; Gálvez Mendoza A.; Vicencio Nolasco M. (2022). Capacitación a técnicos con compromiso agroecológico por el CIIDRI-UACH en la lucha vs glifosato. En: Memoria del Segundo Congreso Mexicano de Agroecología. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Edo. De México. pp. 174-175.

Hernández Andrade M. A.; Vitervo-Martínez G.; Gómez Cruz, M.A.; Gómez Tovar, L.; y Estrada-Medina H. (2022). Valoración del uso de glifosato y leguminosas en naranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck), en el Norte de Veracruz: Estudio de caso. En: Memoria del Segundo Congreso Mexicano de Agroecología. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Edo. De México. pp. 170-171.

Méndez V. E., Caswell M., Gliessman S. R., Cohen R., Putnam H. (2018). Agroecología e Investigación-Acción Participativa (IAP). Principios y Lecciones de Centroamérica. Agroecología, 13 (1).

Perez-Perez W. J.; González-Cabrera J.; y L. Gómez-Tovar. (2022). producción del parasitoide *Tamarixia radiata* (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) bajo la técnica agroecológica conocida como augmentorium, en unidades de producción familiar en Misantla, Veracruz. En: Memoria del Segundo Congreso Mexicano de Agroecología. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Edo. De México. pp. 214-215.

Rossi, E. M. (2020). Antología Toxicológica del Glifosato. +1000 evidencias científicas publicadas sobre los impactos del glifosato en la salud, ambiente y biodiversidad. Naturaleza de Derechos <http://www.naturalezadederechos.org/antologia5.pdf>.

SIAP. 2021.

Tittonell, P. (2019). Las transiciones agroecológicas: múltiples escalas, niveles y desafíos. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo, 51(1), 231-246. Recuperado en 27 de junio de 2023, de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S185386652019000100017&lng=es&tlng=es.

Tittonell, P. (s/a). Las transiciones agroecológicas: múltiples escalas, niveles y desafíos. Grupo Interdisciplinario de Agroecología, Ambiente y Sistemas de Producción (GIAASP). Río Negro, Argentina.

USO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS NO TRATAMENTO DE DESMITES E TENDINITES EM EQUINOS - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Data de submissão: 03/08/2023

Data de aceite: 02/10/2023

Beatriz Del Rey Bombem

Universidade Estadual do Norte do Paraná
– Centro de Ciências Agrárias – Campus
Luiz Meneghel
Bandeirantes – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/5447227592315691>

Gabrielle Sousa Sales

Universidade Estadual do Norte do Paraná
– Centro de Ciências Agrárias – Campus
Luiz Meneghel
Bandeirantes – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/5923620371746122>

Catarina Coradi Corbe

Universidade Estadual do Norte do Paraná
– Centro de Ciências Agrárias – Campus
Luiz Meneghel
Bandeirantes – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/6452612291228813>

Ana Júlia Rossato

Universidade Estadual do Norte do Paraná
– Centro de Ciências Agrárias – Campus
Luiz Meneghel
Bandeirantes – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/3182834408644221>

Gabriela Briganti Silva

Universidade Estadual do Norte do Paraná
– Centro de Ciências Agrárias – Campus
Luiz Meneghel
Bandeirantes – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/0589921596749888>

Vitor Bruno Bianconi Rosa

Universidade Estadual do Norte do Paraná
– Centro de Ciências Agrárias – Campus
Luiz Meneghel
Bandeirantes – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/2813371525432257>

Ana Paula Millet Evangelista dos Santos

Universidade Estadual do Norte do Paraná
– Centro de Ciências Agrárias – Campus
Luiz Meneghel
Bandeirantes – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/3766558738366221>

Mariza Fordellone Rosa Cruz

Universidade Estadual do Norte do Paraná
– Centro de Ciências Agrárias – Campus
Luiz Meneghel
Bandeirantes – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/5308615937693528>

Flávia Debiagi

Universidade Estadual do Norte do Paraná
– Centro de Ciências Agrárias – Campus
Luiz Meneghel
Bandeirantes - Paraná
<http://lattes.cnpq.br/1743105190261738>

RESUMO: Sabe-se que as células-tronco representam um enorme avanço na ciência e que atualmente são utilizadas para o tratamento de diversas patologias de uma

maneira mais rápida e eficiente. Células-tronco são células indiferenciadas, podendo se diferenciarem em uma vasta gama de células. Atentando-se a isso, os avanços na medicina veterinária tornaram possível a utilização de células-tronco para o tratamento de lesões em equinos. Pela grande importância econômica desses animais, principalmente os dedicados ao esporte, o desenvolvimento de pesquisas a respeito da utilização de células-tronco em patologias recorrentes nesses animais como a desmíte e a tendinite tornam-se extremamente relevantes. O objetivo deste trabalho foi reunir informações e revisar artigos científicos visando esclarecer dúvidas a respeito desta utilização e suas aplicações. A pesquisa tem caráter informativo e qualitativo. Os resultados apontam um grande potencial na utilização de células-tronco provenientes do tecido adiposo no tratamento de injúrias referentes ao sistema articular e esquelético.

PALAVRAS-CHAVE: células-tronco; equinos; tendinite; laminite

USE OF MESENCHYMAL STEM CELLS IN THE TREATMENT OF DESMITIS AND TENDINITIS IN HORSES - A BIBLIOGRAPHIC REVIEW

ABSTRACT: It is known that stem cells represent a huge advance in science and that they are currently used for the treatment of various pathologies in a faster and more efficient way. Stem cells are undifferentiated cells that can differentiate into a wide range of cells. Bearing this in mind, advances in veterinary medicine have made it possible to use stem cells to treat injuries in horses. Due to the great economic importance of these animals, especially horse athletes, the development of research on the use of stem cells in recurrent pathologies such as desmitis and tendinitis become extremely relevant. The objective of this work was to gather information and review scientific articles in order to clarify doubts about its use and applications. This research is informative and qualitative. The results point to a great potential in the use of stem cells from adipose tissue in the treatment of injuries related to the joint and skeletal system.

KEYWORDS: stem cells; horses; tendinitis; laminitis

1 | INTRODUÇÃO

As células-tronco mesenquimais (CTMs) representam uma rara subpopulação das células-tronco da medula óssea com capacidade de expansão mitótica *in vitro*, sendo consideradas multipotenciais e podendo se diferenciar em diversos tipos de tecidos com origem mesodérmica (LIMA NETO, 2010). As CTMs apresentam como característica atividade imunossupressora, evitando assim efeitos adversos relacionados a rejeição entre o material infundido e o hospedeiro (SOUZA et al., 2010). Ademais, podem ser encontradas em diversos tecidos, como medula óssea, tecido adiposo, sangue do cordão umbilical, fluido amniótico, placenta, polpa dentária, tendões, membrana sinovial e músculo esquelético (GADE et al., 2012).

Na medicina equina, os estudos com CTMs estão restritos ao tratamento de alguns tecidos como tendão, ligamento, além de fraturas e lesões articulares (MAIA et al., 2013). Segundo o Complexo do Agronegócio do Cavalo no Brasil esses animais ao serem

utilizados como atletas movimente cerca de 5,84 bilhões de reais. Desse modo, é esperado um desempenho superior desses animais que aumenta consideravelmente o aparecimento de patologias e lesões relacionadas às atividades esportivas pela rigidez dos treinos a que são submetidos (RESENDE, 2005). Tais lesões possivelmente podem ser tratados através da utilização de células-tronco mesenquimais, se mostrando uma estratégia promissora (BORJESSON; PERONI, 2011).

Dado o exposto o presente trabalho objetiva apresentar uma revisão de literatura referente a utilização de células-tronco no tratamento de afecções locomotoras desses animais, já que condições como essas são recorrentes em equinos atletas que representam um segmento de grande importância econômica.

2 | CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS

Existem, de modo sucinto, dois tipos de células-tronco; as extraídas de tecido embrionário e as retiradas de tecidos adultos, mais usualmente da medula óssea, que são fontes de CTMs (BYDLOWSKI et al., 2009). As células-tronco mesenquimais, apresentam potencial regenerativo, proliferativo e de diferenciação, fatos que geram interesse de pesquisadores por seu potencial na aplicabilidade médica e baixo risco de rejeição (ALVES et al., 2017).

A medula óssea é a principal fonte para a obtenção de CTM, porém o tecido adiposo vem ganhando grande destaque em função de uma série de vantagens, como a possibilidade de ser extraído em quantidades abundantes, por meio de cirurgias que apresentam baixos índices de mortalidade (FUOCO et al., 2016). Ademais, segundo Bravo et al (2012), o uso de células-tronco mesenquimais do tecido adiposo se mostrou uma opção confiável para utilização na terapia celular em equinos para o tratamento de injúrias no sistema locomotor.

Em vista do exposto, reforça-se mais uma vez que o transplante de CTM surge como uma nova opção terapêutica com grande potencial de aplicabilidade no reparo e regeneração de órgãos e tecidos lesados (FUOCO et al., 2016). Sendo assim, é necessário pontuar que a falta de estudos mais aprofundados sobre os métodos de expansão em cultura e marcadores específicos para o acompanhamento de células-tronco que visam avaliar o sucesso da terapia ainda é um problema que precisa ser solucionado (BRAVO et al., 2012).

3 | APLICAÇÃO EM EQUINOS

A indústria equina é um setor de grande importância econômica, sendo as condições musculoesqueléticas de uma grande relevância nesses animais (CEQUIER et al., 2021). A medicina esportiva equina obteve um considerável avanço nas últimas duas décadas, com destaque em diferentes áreas de atuação veterinária, principalmente na inovação

de conhecimentos acerca do condicionamento físico de equinos preparados para provas esportivas (WILSON et al., 2018). Essas condições, que predispõem frequentemente a circunstâncias de esforço excessivo, principalmente em solo inadequado, culminam em graves lesões locomotoras, muitas das quais são de caráter irreversível (JÚNIOR, 2015).

A perda da função fisiológica do tecido musculoesquelético pode ser o fim da carreira e, potencialmente, da vida dos cavalos (LOPEZ; JARAZO, 2014). A capacidade limitada de cicatrização de ligamentos, tendões e cartilagens levou ao interesse em terapias alternativas que buscam restaurar a estrutura e função desses tecidos utilizando os próprios mecanismos do corpo (CEQUIER et al., 2021). É nesse contexto que vem surgindo diversas pesquisas que buscam tratar de forma eficiente as lesões ocasionadas pelo uso excessivo do sistema locomotor, tendo um grande destaque a terapia celular. Entretanto, ainda segundo Lopez e Jarazo (2014), é necessário abordagens padronizadas para necessidades clínicas específicas que são validadas com procedimentos estabelecidos que contribuirão para avançar no progresso no campo da medicina regenerativa equina.

4 | DESMITE

A desmíte é uma das doenças do sistema musculoesquelético que mais interfere na performance esportiva do equino, representando uma das principais causas de claudicação. Resumidamente consiste em uma inflamação dos ligamentos, sendo a mais comum no ligamento suspensor do boleto (GARBIN, 2012). A função dos ligamentos é conduzir carga com mínima deformação e perda de energia. Quando o tecido é submetido a uma força apresenta uma resposta linear, entretanto, quando a força é contínua gera a formação de micro lesões das fibras, podendo evoluir para lesões maiores e mais graves (GARBIN, 2012).

As lesões ligamentares são causadas por diversos fatores, incluindo hipertermia, resultante da dispersão de parte da energia do movimento em calor, podendo ou não causar danos na matriz (RICHTER, 2010). Os sinais clínicos contam com o aumento da temperatura local, edema, dor na palpação e claudicação, podendo variar de acordo com o estágio evolutivo da lesão (SCHWARZBACH et al., 2008). Para seu diagnóstico, exames clínicos e ultrassonográficos se mostram eficientes nesse contexto (HAWKINS et al., 2021).

Segundo Garbin (2012), apesar de cicatrizado, o tendão desenvolve um tecido inferior com estrutura e composição anormal. Com isso, a terapia celular vem sendo bem aceita em tratamentos de lesões ligamentares e tendineas (GARBIN, 2012). Ainda segundo Garbin (2012), a implantação de células-tronco tem como objetivo reduzir a inflamação, formar o mínimo de tecido cicatricial possível e restaurar a estrutura funcional do tecido. O tecido adiposo é uma fonte abundante e acessível de células-tronco, fator que justifica a relevância da utilização de terapia celular envolvendo essa fonte, em casos de patologias como a desmíte (CARVALHO et al., 2011).

5 | TENDINITE

Os tendões são constituídos de tecido conjuntivo denso modelado composto por fibras colágenas (MÜLLER, 2013). São tecidos resistentes e flexíveis que unem os músculos aos ossos, fornecendo força de contração muscular e promovendo a locomoção (THOMASSIAN, 2005).

A tendinite é a inflamação do tecido tendíneo e acomete equinos que são submetidos a esforços exagerados, causando distensões nas fibras e podendo apresentar rupturas (THOMASSIAN, 2005). Essa inflamação causa diminuição do desempenho, afastamento do animal de suas atividades e em casos mais graves, a eutanásia (GOODSHIP, 1992). As principais preocupações associadas a estas doenças são os prejuízos econômicos, o longo período de recuperação, ocorrência de recidivas e, em alguns casos, a impossibilidade do retorno à atividade física do equino (PINTO, 2015).

As terapias convencionais têm demonstrado um processo de cicatrização lento e pouco resistente, o que levou ao desenvolvimento de novas terapias que promovem a regeneração do tecido em menor tempo (PINTO, 2015). Desse modo, o uso de células-tronco no tratamento tem reduzido o período de recuperação, e em alguns casos têm eliminado a necessidade de cirurgias, além de resultar em reparações de melhor qualidade (SOUZA; REGINA, 2009; TEIXEIRA, 2019).

Quando introduzidas no local da lesão se diferenciam e produzem matriz apropriada para a reparação do tecido lesionado (TEIXEIRA, 2019), promovendo maior alinhamento das fibras e maior percentual de redução da área lesada (OLIVEIRA et al., 2011).

No entanto, apesar dos diversos benefícios, mais estudos controlados são necessários para mostrar eficácia no que diz respeito à otimização do reparo de tendões e ligamentos para permitir o uso dessas células com sucesso (ALVES et al., 2011).

6 | CONCLUSÃO

Em conclusão, pode-se afirmar que a crescente expansão do mercado esportivo utilizando equinos abriu caminhos para pesquisas sobre a manipulação de células-tronco no tratamento de lesões tendo ligamentares e osteoarticulares nesses animais, já que o surgimento de patologias em cavalos atletas é comum, pelo grande esforço físico e estresse à que são submetidos, e se revelaram promissoras, tornando o tratamento de medicina regenerativa com células-tronco mesenquimais uma estratégia próspera para curar doenças ortopédicas comuns em equinos. A importância do estudo das células-tronco se dá pela capacidade de auto renovação e diferenciação destas, dando potencial regenerativo à tecidos lesionados e conferindo um leque de possibilidades quanto à sua aplicabilidade médica. Contudo, é fato que ainda faltam estudos e aprofundamentos científicos sobre a utilização de células-tronco mesenquimais, visto que maior parte do investimento e interesse foca na medicina humana, sendo o conhecimento veterinário

ainda muito limitado sobre este assunto.

REFERÊNCIAS

- ALVES, A. G. L.; STEWART, A. A.; DUDHIA, J.; KASASHIMA, Y.; GOODSHIP, A. E.; SMITH, R. K. W. **Cell-based Therapies for Tendon and Ligament Injuries**. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice, v. 27, n. 2, p. 315–333, 2011.
- ALVES, E. G. L.; SERAKIDES, R.; ROSADO, I. R.; BOELONI, J. N.; OCARINO, N. M.; REZENDE, C. M. F. **Isolamento e cultivo de células tronco mesenquimais extraídas do tecido adiposo e da medula óssea de cães**. Ciência Animal Brasileira, Goiânia, v. 18, p. 1-14, 2017.
- BORJESSON, D. L.; PERONI, J. F. **The regenerative medicine laboratory: facilitating stem cell therapy for equine disease**. Clinics in Laboratory Medicine, v. 31, n. 1, p. 109–123, 2011.
- BRAVO, M. O.; MORAES, J. M.; DUMMONT, C. B. S.; FILGUEIRAS, R. R.; HASHIMOTO H. H.; GODOY, R. F. **Isolamento, expansão e caracterização de células-tronco do tecido adiposo de equinos**. Ars Veterinária, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p. 66-74, 2012.
- BYDŁOWSKI, S. P.; DEBES, A. A.; MASELLI, L. M. F.; JANS, F. L. **Características biológicas das células-tronco mesenquimais**. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, v. 31, p. 25-35, 2009. Supl. 1.
- CARVALHO, A. M.; ALVES, A. L. G.; OLIVEIRA, P. G. G.; ALVAREZ, E. C.; AMORIM, R. L.; HUSSNI, C. A.; DEFFUNE, E. **Use of Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells for Experimental Tendinitis Therapy in Equines**. Journal of Equine Veterinary Science, New York, v. 31, n. 1, p. 26-34, 2011.
- CEQUIER, A.; SANZ, C.; RODELLAR, C.; BARRACHINA, L. **The Usefulness of Mesenchymal Stem Cells beyond the Musculoskeletal System in Horses**. Animals, v. 11, n. 4, p. 931, 2021.
- FUOCO, N. L.; MARCELINO, M. Y.; STESSUK, T.; RUIZ, M. A.; DEFFUNE, E.; INÁCIO, J. C.; PAES, J. T. R. **Proposição de uma nova metodologia para isolamento e cultivo de células-tronco mesenquimais derivadas do tecido adiposo**. Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais, v. 8, n. único, p. 7-14, 2016.
- GADE, N. E.; PRATHEESH, M. D.; NATH, A.; DUBEY, P. K.; AMARPAL.; SHARMA, G. T. **Therapeutic potential of stem cells in veterinary practice**. Veterinary World, v. 5, n. 8, p. 499-507, 2012.
- GARBIN, Livia Camargo. **Avaliação histológica e imunoistoquímica de dois protocolos de terapia celular no reparo do ligamento suspensório equino**. 2012. 50 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.
- GOODSHIP, A. E. **The pathophysiology of flexor tendon injury in the horse**. Equine Veterinary Education, v. 5, n. 1, p. 23-29, 1992.
- HAWKINS, A.; O'LEARY, L.; BOLT, D.; FISKE-JACKSON, A.; BERNER, D.; SMITH, R. **Retrospective analysis of oblique and straight distal sesamoidean ligament desmitis in 52 horses**. Equine Veterinary Journal, Hatfield, v. 54, p. 312-322, 2022.

JÚNIOR, José Wilson Mendes. **Ocorrências de osteoartrite társica em equinos atendidos no hospital veterinário/UFCG/Patos – PB, no período de 2004-2013.** 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Patos, 2015.

LOPEZ, M. J.; JARAZO, J. **State of the art: Stem cells in equine regenerative medicine.** Equine Veterinary Journal, v. 47, p. 145-154, 2014.

MAIA, L.; VITA, B.; MORAES, C. N.; DESTRO, F. C.; ALVARENGA, F. C. L.; AMORIM, R. M. **Considerações sobre a obtenção, processamento, caracterização e aplicação terapêutica das células-tronco mesenquimais em medicina equina.** Veterinária e Zootecnia, v. 20, n. 3, p. 359-373, 2013.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. **Revisão do complexo do agronegócio do cavalo.** Brasília: Assessoria de Comunicação e Eventos, 2016.

MÜLLER, Vanessa Souza. **Células-tronco na regeneração muscular e nervosa.** 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

NETO, João Ferreira de Lima. **Isolamento, caracterização e diferenciação de células tronco embrionárias e mesenquimais de equinos.** 2010. 108 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária, Departamento de Reprodução Animal, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

OLIVEIRA, P. G. G.; ALVES, A. L. G.; CARVALHO, A. M.; HUSSNI, C. A.; WATANABE, M. J.; AMORIM, R. L.; RODRIGUES, M. M. P.; MOTA, L. S. **Uso de células mononucleares da medula óssea no tratamento de tendinites induzidas experimentalmente em equinos.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 63, n. 6, p. 1391-1398, 2011.

PINTO, J. M. F. L. **Estudo da tendinopatia do tendão flexor digital superficial em equinos na modalidade de saltos de obstáculos: tratamento à base de plasma rico em plaquetas (PRP).** 2015. 106 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Lusófana de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2015.

RESENDE, A. M. **Miosites no cavalo atleta.** In: II Simpósio do Cavalo Atleta – IV SEMANA DO CAVALO, 2005, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: UFMG, 2005, p. 56-75.

RICHTER, Gabriela. **Problemas Ligamentares Distais ao Carpo em Equinos.** 2010. 35 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

SOUZA, C. F.; NAPOLI, P.; HAN, S. W.; LIMA, V. C.; CARVALHO, A. C. C. **Células-Tronco Mesenquimais: Células Ideais para a Regeneração Cardíaca?** Revista Brasileira de Cardiologia Invasiva, v. 18, n. 3, p. 344-53, 2010.

SOUZA, W. A. Z. D. F.; REGINA, S. S. **Uso de células-tronco como tratamento de tendinite e ruptura de tendão em equinos – Revisão bibliográfica.** Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, Garça, v. 12, p. 1-5, 2009.

SCHWARZBACH, S. V.; PAGLIOSA, G. M.; ROSCOE, M. P.; ALVES, G. E. S. **Ligamento suspensório da articulação metacarpo/metatarso falangianas nos equinos: aspectos evolutivos, anatômicos, histofisiológicos e das afecções.** Ciência Rural, Santa Maria, v. 38, n. 4, p. 1193-1198, 2008.

TEIXEIRA, Daniel Dantas. **Uso de Células Tronco e reabilitação no tratamento de tendinite em equino – Relato de caso**. 2019. 31 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2019.

THOMASSIAN, Armen. **Enfermidades dos cavalos**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2005. Cap. 06, p. 139-142.

WILSON, J. M.; MCKENZIE, E.; DUESTERDIECK-ZELLMER, K. **International Survey Regarding the Use of Rehabilitation Modalities in Horses**. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 5, 2018.

VALORIZATION OF AGRI-FOOD BY-PRODUCTS TO PRODUCE HIGH ANIMAL PROTEIN QUALITY, ARTEMIA BIOMASS AT LAB SCALE

Data de submissão: 13/09/2023

Data de aceite: 02/10/2023

Andrés Salgado-Ismodes

Agricultural and Aquaculture Sciences
Dpt., Natural Resources Faculty,
Universidad Católica de Temuco, Chile

Italo Salgado-Leu

Agricultural and Aquaculture Sciences
Dpt., Natural Resources Faculty,
Universidad Católica de Temuco, Chile

Patricio De Los Ríos-Escalante

Biological and Chemical Sciences Dpt.,
Natural Resources Faculty, Universidad
Católica de Temuco, Chile

ABSTRACT: Human being developing in all society models has generated a variety of by-products that can still be useful into circularity framework. Agro-industrial activity produces huge volumes of by-products. In this regard, poultry feather, grape pomace, rice husk and wheat middling are good examples. For this reason, they were tested as monodiet on *Artemia* biomass production. They were grinded, dehydrated up to 10% wet and then micronized (38 microns). In case of feather, it was prepared as hydrolysed and non-hydrolysed way. A simple quasi-experimental design completely randomized was proposed.

Four treatments with three replicates were performed. Ten thousand hatched nauplii were seeded into one liter bottle with filtered seawater aerated constantly. Feeding suspension (50 g/L) were prepared with each monodiet. *Artemia* was fed on keeping 15 cm of turbidity in each unit. Best biomass increase production, specific grow rate, survival and feed conversion rate were obtained in general by poultry feather and in specific by hydrolysed feather with significant differences. As a consequence, it can be concluded, that agri-food by-product specially poultry feather can be converted in high animal protein quality with easy digestibility through *Artemia* biomass production.

KEYWORDS: *Artemia* biomass, agri-food by-products, high animal protein quality

VALORIZACIÓN DE SUBPRODUCTOS AGROALIMENTARIOS PARA PRODUCIR PROTEÍNA ANIMAL DE ALTA CALIDAD, BIOMASA DE ARTEMIA A ESCALA DE LABORATORIO

RESUMEN: El desarrollo humano en cualquier modelo de sociedades ha

generado variados tipos de sub-productos que pueden ser utilizables en el marco de la economía circular. Un grupo de ellos son originados en grandes cantidades por la actividad agroindustrial. En el marco del presente estudio, se trabajó con plumas de la crianza de pollos, orujo de vino, harinilla de cáscara de trigo y de cáscara de arroz. En este contexto, se planteó evaluar la producción de biomasa de *Artemia*, alimentadas con estos subproductos agroindustriales. Primero, se deshidrataron hasta alcanzar 10% de humedad y luego micronizaron. Se propuso un diseño cuasi-experimental simple completamente al azar. Se trabajaron cuatro tratamientos con tres réplicas cada uno. Se colocaron diez mil nauplios en botellas con un litro de agua de mar filtrada y con aire permanente. Se preparó una suspensión con cada monodieta (50 g/L) y se suministró manteniendo 15 cm de turbiedad en cada unidad. En general, ambas monodietas de plumas obtuvieron los mejores aumentos de biomasa, tasa de crecimiento específico, supervivencia y conversión alimenticia; y en específico la monodieta de plumas hidrolizada con diferencias significativas. En consecuencia, se concluye, que los sub-productos de la agro-industria pueden ser convertidos en proteínas animales de alta calidad, de fácil digestibilidad, mediante la producción de biomasa de *Artemia*.

PALABRAS CLAVE: *Artemia* biomasa, subproductos agroalimentarios, proteína animal

1 | INTRODUCTION

Traditionally, *Artemia* spp. is known by their cyst products. Its hatched nauplii has been used by Seale since 1933. For many years, nauplii were used as food for initial larvae phase of many species, mostly fish and crustaceans. However, because shortage of cyst supply and its increasing demand, many users have changed to *Artemia* biomass produced mostly outdoor environments (Baert et al., 1996; Baert et al., 1997; Zmora et al., 2002; Van Hoa et al., 2011) and also in indoors (Zmora and Shpigel, 2006). Additionally, since several years ago, *Artemia* biomass started to use inducing ovarian maturation of shrimp, mostly by China, Southeast Asian countries and then, some Latin-American countries (Naessens et al., 1997; Wouster et al., 1998; Balachandar and Rajaram, 2019).

To produce *Artemia* biomass, live feed is used as several species of microalgae, yeasts and bacteria (single-cell protein) as well different types of inert monodiets coming from agricultural by-products like brans (from rice, wheat, corn, soybean, etc) (Sorgeloos and Persoone, 1975; Sorgeloos, et al., 1980; Sorgeloos et al., 1986; Ownagh, 2015). Production on microalgae has high costs and laborious tasks (Coutteau et al., 1992; Lavens and Sorgeloos, 1996; Naegel, 1999), while inert diets are cheaper. Ogburn et al., 2023 has made a review on agriculture wastes for brine shrimp *Artemia* production, where it is mentioned a variety of inert raw ingredients used as mono or mixed diets. In this sense, there are several other agricultural by-products that are not used yet, as poultry feather or grape pomace which represent huge quantities of agri-food by-products all over the world.

Related to poultry feather could be represented up 10% of the total bird weight according to Jamdar and Harikumar, 2005 and Lasekan et al., 2013 (Martinez et al., 2015). This ingredient has been rarely incorporated in aqua feeds. Feather is a protein source of

poor quality, containing about 85,09% of crude protein as keratin, and is deficient in essential amino acids (lysine, methionine, histidine and tryptophan). Keratin is poorly digestible when raw. This highly polymerized protein contains about 8% cysteine, a sulphur amino acid that makes strong disulphur bonds between each other within the primary structure and contributes to the folding of the chain into secondary structures (alpha-helix and beta-sheet in a ratio of 2:1). While this makes raw feathers light, durable, and unable to stretch (unlike hair), it also makes feather keratin undigestible (digestibility < 5%) (Papadopoulos, 1985; Kornilowicz-Kowalska et al., 2011) (Heuzé, 2020). Nevertheless, protein hydrolysates have been reported as a source of short peptides and certain amino acids that can be absorbed easily, contributing to enhance animal growth. (McCalla et al., 2010). Thanks to hydrolysis process, feathers can be incorporated up levels of 8%. Higher of this value, there is no better results. (Tacon, 1989)

For those reasons described, it is necessary to hydrolyze feather meal in order to transform it into a valuable source of protein in animal feeding (El Boushy et al., 1990). A thorough hydrolysis under controlled conditions under pressure cooking destroys disulphur bonds between amino acids and convert feathers into hydrolysed feathers.

Only in Chile is generated 20 248 tons of poultry feather/year (APA, 2020). In the case of grape pomace, in 2019, it was produced 620 815 tons/year (SAG, 2021; FEDNA, 2019). For ricehulk, among 32 and 40 ton/year (Mundoagro, 2020) and for wheat middling, 240 mil ton/year (ODEPA, 2018). The non-utilization of those by-products not only produce loss of potentials revenue but also leads to increasing its cost of disposal.

Based in all reviewed, in order to profit discarded agri-food by-products and considering that *Artemia* is a very primitive animal, it is proposed to valorize comparing poultry feather, ricehusks, grape pomace and wheat middling, transforming them into a very high-quality protein, easy to digest and with a good amino acid profile through *Artemia* biomass production at lab scale.

2 | MATERIALS Y METHODS

Artemia GSL strain was used for all treatments. They were incubated using standard techniques (Sorgeloos et al., 1986). After hatch, nauplii were transferred to twelve inverted plastic bottles, with cut-off bottom at a stocking density of 10000 individuals. Each bottle contained 1 liter of aerated and filtered seawater (salinity: 35 g/L). Water was renewed (0,5L) every three days and water temperature was kept constant at 25°C. For this purpose, all bottles were set into thermal bath tanks. Cultures were exposed to continuous light and aeration. Dissolved Oxygen concentration was averaged 6,87 +/-0,22 mg/L and pH 8,26+/-0,05.

Quasi-Experimental design proposed was a simple completely randomized. Five treatments were done: rice hulk (RH), hydrolysed feather (HF), non-hydrolysed feather

(NHF), Grape pomace (GP) and wheat middling (WM). Each one with three replicates.

All monodiets were prepared from raw agri-food by products: rice husk, poultry feather, grape pomace and wheat middling (Table 1). All of them was set into oven(60°C) until moisture reach 10%. Only feather was grinded and pre-treated under steam pressure for 30 minutes at 143°C under 3 atm; then dried for 5 hours at 60 °C. Each ingredient was micronized into a centrifuged mill (Retsch ZM200) and then sieved under 38 microns (Dobbeleir et al., 1979). Feed powder of each ingredient was suspended-50 g/L- into distilled water and kept under aeration and refrigeration. Feed suspension was supplied with graduated pipet until 15 cm of turbidity of culture water and quantity was registered (Bossuyt and Sorgeloos, 1980). After three days, turbidity was checked every hour.

Nutrients	Rice husk	Poultry feather	Grape pomace	Wheat middling
Dry matter	94,06	95,07	94,37	89,55
Protein	3,06	87,86	14,47	16,78
Lipid	0,17	3,18	6,08	4,41
Carbohydrate	34,26	3,69	60,38	67,82
Fiber	30,88	1,09	9,69	5,79
Ash	31,63	4,18	9,38	5,20

Table 1.- Composition of monodiets (%) used as feed

Wet Biomass (g/L) was weighed at beginning and after ten days, final wet biomass was measure again. Calculations of biomass increasing (mg/L and %) was done by differences between final and initial biomass wet weight. Specific growth rate was obtained as Lavens and Sorgeloos, 1991.

$$SGR = (\ln \text{ Final weight} - \ln \text{ initial weight}) / \text{culturing period}$$

Density (ind/L) was measure at initial and end of culturing period. These data were used for survival calculation. Survival (%) = [(Final density – Initial density) / initial density]* 100.

Feed conversion rate (FCR) = Food (g/L dry weight inert diet) / Artemia biomass increasing (g/L)

Normality test (Kolmorov-Smirnoff) was applied. Then, data were analyzed by one-way ANOVA and media comparison test (Tukey) with a probability of 0,05. Minitab v.19 statistical software was employed.

3 I RESULTS

In this study, from five monodiets, (Table 2) the best result was obtained by Hydrolysed feather (HF), in biomass increase (%), survival (%) and feed conversion rate. These comparisons result in a very high statistical difference. Additionally, under means comparison Tukey tests between treatments, in variable biomass increasing (%), all

monodiets presented differences between them, one each other. The best results were for HF (3416,7±33,33) and NHF (1191±45,5), observing three folded in favor of HF. Both were highest on the other monodiets tested (wheat middling-WM, grape pomace-GP and rice hulk-RH) showing from 4 to 37-fold for HF and 1,5 to 13-fold for NHF.

Best Specific growth rate (SGR) were obtained by feather, both Hydrolysed (0,31±0,01) and non-hydrolysed (0,30±0,01) without significant differences among them. All the other treatments have significant differences with feathers.

Regarding on survival, HF obtained the highest rate (62,22%), with significative differences in front of the followings (GP: 45,64%; WM: 38,95% and NHF: 30,50%); the lesser value was obtained by RH (22,22%).

The Feed conversion rate also presented the best value for HF (1,48±0,07) without significant differences with NHF (2,55) and WM (3,62) followed by GP (7,9) and in last position, RH (29,41).

4 | DISCUSSION

In all monodiet feed used in this study, it is shown that *Artemia* biomass production can be performed at different values after 10 days trails. Evidences can be observed in Biomass increase, SGR, survival and feed conversion rate.

In regards of Biomass increase, it is evident that HF obtained the highest value with 3416.7 % (=4,1 g/L). It could be said that exist a positive effect to hydrolyse the feather before ingested over non-hydrolysed feather (1191 % = 1,31 g/L). This effect was doubled in front of non-hydrolysed, so hydrolysalation process is playing a role of amino acid disponibility for *Artemia*, considering that *Artemia* has a very primitive digestive tract.

Variable	Rice husk (RH)	Hydrolysed feather meal (HF)	Non-hydrolysed feather meal (NHF)	Grape pomace (GP)	Wheat middling (WM)
Initial biomass (g/L)	0,12 ± 0,00	0,12 ± 0,00	0,11	0,16	0,173 ± 0,00
Final biomass (g/L)	0,23±0,01	4,22±0,04	1,42±0,05	0,51±0,08	1,53±0,08
Biomass increase (g/L)	0,11±0,01 ^d	4,1±0,04 ^a	1,31±0,05 ^b	0,35±0,08 ^c	1,36±0,08 ^b
Biomass increase (%)	91,67±8,33 ^e	3416,7±33,33 ^a	1191±45,5 ^b	227,78±12 ^d	800±47 ^c
Specific growth rate (SGR)	0,16589±0,01 ^{c,d}	0,31±0,01 ^a	0,30±0,01 ^a	0,15±0,02 ^d	0,25±0,013 ^b

Initial density (ind/L)	10000	10000	10000	10000	10000
Final density (ind/L)	2222±192	6222±509	3000±205	4764±222	3999±133,5
Survival (%)	22,22±1,92 ^c	62,22±5,09 ^a	30,50±2,28 ^{b,c}	45,64±5,01 ^b	38,95±0,93 ^{b,c}
Food supply (g/L)	3,26±0,11 ^c	6,07±0,23 ^a	3,34±0,3 ^{b,c}	2,79±0,8 ^c	4,87±0,89 ^{a,b}
Conversion factor	29,41±1,23 ^a	1,48±0,07 ^c	2,55±0,13 ^c	7,9±0,68 ^b	3,62±0,87 ^c

Tabla 2.- Comparative variable results according monodiets fed on *Artemia*

Naegel (1999) presented biomass production of 0,397 g/L with Nestum and 0,488 g/L for Nestum enriched; Also, Cisneros and Vinatea, 2009 experimented with meals of different sources as soybean, freshwater shrimp, ricebran, alfalfa, fishmeal and a mix of them (20% each). Their best result was obtained with soybean meal (0,37 g/L). Comabella et al., (2004) obtained 0,3 g/L using yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). From all monodiets tested in the present experiment, only grape pomace and ricehusk are below of them. As it can be seen, all these results have very lower values in comparison with the result here obtained by HF (4,1 g/L), NHF (1,31 g/L) and WB (1,36 g/L).

There are some experimental works done with different agriculture by-products and different microalgae species, as well. As far as it is known, *Artemia* is a continuous and non-selective feeder, so it can be fed on any particle, live or inert, below 35 microns (Lavens and Sorgeloos, 1996). In this regard, there are experiments fed on micronized ricebran, wheat bran, corn bran and also with microalgae like *Dunaliella*, *Tetraselmis*, *Chaetoceros*, *Isochrysis*, etc. Vanhaecke and Sorgeloos, (1989) already showed that *Artemia franciscana* performed better with ricebran than microalgae *Dunaliella*. Balchandar, (2018) reported that monodiets are more deficitaries in nutritional contents than a combination diets. In this sense, Lavens and Sorgeloos (1991) suggested that a mixture of two or more ingredients would fill nutritional deficiency. In this issue, presented results of this research observed that highest values can be obtained with HF which three folded over NHF and both are significative higher than WM, GP and RH.

Balachandar (2018) tested growing of *A. franciscana* during 12 days fed on different microalgae (*Tetraselmis*, *Isochrysis*, *Chaetoceros*, *Nannochloropsis*, *Thalassiosira*) and also ricebran, soybean meal and combination of *Tetraselmis* + *Chaetoceros* + rice bran, obtaining the best growing rate with combination (microalgae + rice brand), followed by rice bran alone. Ownagh, 2015, showed results on *Artemia urmiana* y *A. parthenogenetica* biomass production fed on *Dunaliella salina* as control (1,16 g/L and 1,09 g/L), wheatbran (0,92 and 0,83 g/L), soybean (0,76 and 0,9 g/L) and wheatbran (50%) + soybean (50%)

(0,88 and 1,08 g/L), all these figures corresponding for *A. urmiana* and *A. parthenogenetica*, respectively; and *D. salina* was presented in all treatments, combined with all types of inert food. As it can be seen, our results with HFM (4,22 g/L), NHFM (1,31 g/L) and WB (1,36 g/L) surpass Ownagh results.

It is necessary to take into our knowledge that present study was performed with monodiets=only one ingredient, so there are no possibilities to change nutritional contents of each one. Biomass increase results showed a tendency to diminish according to protein content: HF/NHF (87,86%), WM (16,78%), GP (14,47%) and RH (3,06%). This could explain the values produced and again, the objective is to produce high quality protein based on subproducts; it means to profit residual nutrients and energy content in them and its disposal represent a cost besides organic pollution.

Taking into account that feather does not have essential amino acids: lysine, methionine, histidine and tryptophan, the amino acid sequence of a chicken feather is very similar to that of other feathers and also has a great deal in common with reptilian keratins from claws. The sequence is largely composed of cystine, glutamine, proline, and serine (Lasekan et al., 2013).

In this context, it could be that *Artemia* synthesize their amino acids from new, based on it is a primitive animal with this capacity or its essential amino acids requirements can be supplied by bacteria in the culture medium.

SGR is little analyzed in this type of experiments on *Artemia* biomass production. Highest SGR was recorded for soybean meal in *A. urmiana* (0,34) without significant differences with other treatments (*D. salina*, WB, SM WB/SM) varying from 0,31 to 0,33. (Ownagh et al., 2015). In present study, feather (HF: 0,31 and NHF: 0,30) can be compare with those of Ownagh results. Other treatments WM, GP and RH had below values.

Survival is more consistent for HF (62,22) than others. The following survival rate is for GP with 39,51%, the NHF (33,33%), WM (27,78%) and finally, RH (22,22%); all of them are significantly rather below than HF. Naegel, (1999) obtained survival of 72% fed on Nestum and 79% Nestum + microalgae *Chaetoceros* during 11 days being superior to HF (62%), but considering that Nestum is a feeding formula prepared with special nutrients with highest cost. Balachandar (2018) found best significant survival with microalgae and combined diets mentioned before (from 42,3 to 73,7%). These survival rates are comparable with HF (62,22%). In any case, our HF survival is rather better than *Tetraselmis*, *Isochrysis*, *Nannochloropsis*, *Thalassiosira*, rice bran and soybean meal. It is not the case in comparison with *Chaetoceros* (73,3%) and Tetra+Chaeto+ricebran (73,7%). Ownagh et al., (2015) obtained survivals between 58 to 86% for *A. urmiana* and 66 to 76% for *A. parthenogenetica*. These figures compared with the obtained in this study, only HF can compete with 62,22%.

Respect on Feed Conversion rate, Naegel, (1999) showed a FCR of 1,64:1 for Nestum and 1,17:1 for Nestum enriched in 14 days. Vanhaecke and Sorgeloos (1989), using *D. tertioleca* reached 2,4:1 in 9 days. For this study, it is performed the best FCR of

1,48 for HF followed by 2,55 for NHF, without significant difference. Based on these results, it can be said that feather offers good feed conversion rate. Ownagh et al., 2015 observed very good values of FCR less than 1 (0,17 to 0,23) but they do not offer any explanation about those figures rather impossible to get them. For sure there were another internal generation or supply of some ingredient not controlled.

These results can contribute to a real use of feather meals to transform in a high-quality animal protein and easy digestion for aquatic predators in their larvae, juvenile or adult stages. According to Lavens and Sorgeloos (1996), *Artemia* biomass are used as nursery diets. This means when large *Artemia* biomass is offered instead of freshly-hatched nauplii, predators need to chase and ingest less prey organisms per unit of time to fill their food requirements. There are reports on advantages of using *Artemia* biomass as for instance considerable saving of cyst up to 60% and consequently, a significant reduction of costs. Moreover, *Artemia* biomass can be consumed directly as omelette as several asian community members (Van Hoa and Sorgeloos, 2020).

REFERENCES

- Anh, NTN., Van Hoa, N., Van Stappen, G. and Sorgeloos, P. 2009. **Effect of different supplemental feeds on proximate composition and Artemia biomass production in salt ponds.** Aquaculture, Vol. 286, (3–4) 217-225.
- Asociación de Productores Avícolas de Chile A.G. - APA. 2020. **Informe Enero 2019.**
- Baert, P., Bosteels, T. and Sorgeloos, P. 1996. **Pond production.** In: Lavens, P and P. Sorgeloos. (Eds) Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO fisheries technical paper, vol. 361, FAO, Rome, pp 196-251.
- Baert, P., Anh, NTN., Quynh, VD. And Hoa, NV. 1997. **Increasing cyst yields in Artemia culture ponds in Vietnam: the multi-cycle system.** Aquac. Res. 28 (10): 809-814.
- Balachandar, S. and Rajaram, R. 2019. **Influence of different diets on the growth, survival, fecundity and proximate composition of brine shrimp Artemia franciscana (Kellog, 1906).** Aquac. Res. 50: 376-389. <https://doi.org/10.1111/are.13882>
- Bossuyt, E. and Sorgeloos, P. (1980). **Technological aspects of the batch culturing of Artemia in high densities.** In: Persoone, G. et al. (Ed.) The brine shrimp Artemia: Proceedings of the International Symposium on the brine shrimp Artemia salina, Corpus Christi, Texas, USA, August 20-23, 1979: 3. Ecology, culturing, use in aquaculture. pp. 133-152. Universa Press: Wetteren.
- Cisneros, R. and Vinatea, E. 2009. **Producción de biomasa de Artemia franciscana Kellog 1906 utilizando diferentes dietas.** Ecol. Apl. 8 (1) 9-14.
- Comabella, Y., Garcia-Galano, T., Carrillo, O. y Mauri, Y. 2004. **Empleo de fracciones celulares de la levadura Saccharomyces cerevisiae como aditivo alimentario para Artemia franciscana.** Rev. Invest. Mar. 25(1): 65-72.

Coutteau, P., Brendonck, I., Lavens, P. and Sorgeloos, P. 1992. **The use of manipulated baker's yeast as an algal substitute for the laboratory culture of Anostraca.** Journal of Hydrobiologia, 234, 25-32.

Dobbeleir, J., Adam, N., Bossuyt, E., Bruggeman, E. and Sorgeloos, P. 1980. **New aspects of the use of inert diets for high density culturing of brine shrimp.** In: The brine shrimp *Artemia*. Vol. 3. (Eds). Persoone, G., P. Sorgeloos, O. Roels and E. Jaspers. Wetteren, Belgium, Universa Press. Pp. 165-174.

El Boushy, A. R., van der Poel, A: F. B. and Walraven, O. E. D. 1990. **Feather meal—A biological waste: Its processing and utilization as a feedstuff for poultry.** Biological Wastes. Volume 32 (1), 39-74.

FEDNA, 2012. **Orojo de uva.** Fundación Española para el desarrollo de la nutrición animal. Consultado el 18-11-21 en http://www.fundacionfedna.org/ingredientes_para_piensos/orujo-de-uva

Heuzé V., Tran G., Nozière P., Bastianelli D. and Lebas F., 2020. **Feather meal.** Feedipedia, a programme by INRAE, CIRAD, AFZ and FAO. <https://www.feedipedia.org/node/213> Last updated on September 4, 2020, 17:10

Lasekan, A., Abu Bakar, F. and Hashim, D. 2013. **Potential of chicken by-products as sources of useful biological resources.** Waste management, 33(3), 552-565.

Laval, E y García, A. 2018. **Cereales: producción, precios y comercio exterior de trigo, maíz y arroz.** ODEPA, Boletín de cereales, Julio 2018.

Lavens, P. and Sorgeloos, P. 1991. **Production of Artemia in culture tanks.** In: *Artemia Biology*, Chapter 13. (Eds). Browen, R. A., P. Sorgeloos and C. M. A. Trotina. CRC Press, Florida, USA. Pp. 317-350.

Lavens, P. and Sorgeloos, P. (1996). **Manual on the production and use of live food for aquaculture.** University of Ghent, Ghent.

Martinez-Alvarez, O, Chamorro, S. and Brenes, A. 2015. **Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: A review.** Food research International 73: 204-212.

McCalla, J., Waugh, T., Lohry, E., Pasupuleti, V. K. and Demain, A. I. 2010. **Protein hydrolysates/peptides in animal nutrition.** In: V. K. Pasupuleti and A. I. Demain (Eds.), Protein hydrolysates in biotechnology (pp. 179-190). New York. Elsevier.

Mundoagro, 2020. **Presente y perspectivas futuras del cultivo de arroz en Chile.** Consultado el 18-11-21, en <https://www.mundoagro.cl/presente-y-perspectivas-futuras-del-cultivo-del-arroz-en-chile/>

Naegel, L. (1999). **Controlled production of Artemia biomass using an inert commercial diet, compared with the microalgae Chaetoceros.** Aquacultural Engineering 21 (1): 49-59.

Naessens, E., Lavens, P., Gomez, L., Browdy, C.L., McGovern-Hopkins, K., Spencer, A.W., Kawahigashi, D. and Sorgeloos, P. 1997. **Maturation performance of Penaeus vannamei co-fed Artemia biomass preparations.** Journal of Aquaculture, 155, 87-101.

Ogburn, N., Duan, L., Subashchandrabose, S., Sorgeloos, P., O'Connor, W., Megharaj, M. and Naidu, R. 2023. **Agricultural wastes for brine shrimp Artemia production: A review.** In: Reviews in Aquaculture, 15(3): 1159-1178.

Ownagh, E., Agh, N. and Noori, F. (2015). **Comparison of the growth, survival and nutritional value of *Artemia* using various agricultural by-products and unicellular algae *Dunaliella salina*.** Iran J. Fish Sci. 14 (2): 358-368.

Servicio agrícola ganadero (SAG), 2021. **Informe ejecutivo. Producción de vinos 2020.** División Protección Agrícola y Forestal: Subdepartamento de Viñas, Vinos y Bebidas alcohólicas. 8 pp.

Sorgeloos, P. and Persoone, G., 1975. **Technological improvements for the cultivation of invertebrates as food for fishes and crustaceans. II. Hatching and culturing of the brine shrimp, *Artemia salina* L.** Aquaculture, 6: 303-317.

Sorgeloos, P. (1980). **The use of brine shrimp *Artemia* in Aquaculture.** In: The brine shrimp *Artemia*. Vol. 3. Ecology, Culturing and Use in Aquaculture (Eds). Persoone, G., P. Sorgeloos, O. Roels and E. Jaspers. Wetteren, Belgium, Universa Press. pp. 25-46.

Sorgeloos, P., Baeza-Mesa, M., Bossuyt, E., Bruggeman, E., Dobbeleir, J. and Versichele, D. and Bernardino, A. (1980). **Culture of *Artemia* on ricebran: The conversion of a waste-product into highly nutritive animal protein.** Journal of Aquaculture, 214(4): 393-396.

Sorgeloos, P., Lavens, P., Leger, P., Taeckert, W. and Versichele, D. (1986). **Manual for the culture and use of brine shrimp *Artemia* in aquaculture.** Laboratory of Mariculture, State University of Ghent, Belgium.

Tacon, A. G. 1989. **Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. Manual de capacitación.** Proyecto AQUILA II. Documento de Campo no.4. FAO. 1989. 592 p.

Van Hoa, N., Thu, TA, Anh, NTN and Toi, HT. (2011). ***Artemia franciscana* Kellog, 1906 (Crustacea: Anostraca) production in earthen pond: improved culture techniques.** Int. J. *Artemia* Biol 1: 13-28.

Van Hoa, N. and Sorgeloos, P. 2020. **Brine Shrimp *Artemia* as a Direct Human Food.** In: www.was.org.

Vanhaecke, P. and Sorgeloos, P. 1989. **International study of *Artemia*, XLVII. The effect of temperature on cyst hatching, larval survival and biomass production for different geographical strains of brine shrimp *Artemia* spp.** Annals of Society of Royal Zoology, 118, 7-23

Wouster, R., Gomez, L., Lavens, P. and Calderon, J. 1998. **The role of *Artemia* biomass and its enrichment on *P. vannamei* broodstock.** In: World Aquaculture Society Book of Abstract, Aquaculture '98 15-19 February, Las Vegas, USA, p.588

Zmora, O. Avital, E. and Gordin, H. (2002). **Results of an attempt for mass production of *Artemia* in extensive ponds.** Aquaculture 213 (1-4): 395-400.

Zmora, O. and Shpigel, M., (2006). **Intensive mass production of *Artemia* in a recirculated system.** Aquaculture 255 (1-4): 488-494.

UTILIZAÇÃO DO SISTEMA DE DUAS FASES AQUOSAS PARA EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE FITASES APLICADA À NUTRIÇÃO ANIMAL

Data de submissão: 27/07/2023

Data de aceite: 02/10/2023

Júlio César dos Santos Nascimento

Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Departamento de Zootecnia
Recife-PE
<https://orcid.org/0000-0003-3107-5876>

Apolônio Gomes Ribeiro

Universidade Federal da Paraíba,
Departamento de Zootecnia
Areia-PB
<https://orcid.org/0000-0001-6730-0209>

Dayane Albuquerque da Silva

Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Departamento de Zootecnia
Recife-PE
<https://orcid.org/0000-0001-6243-3969>

José António Couto Teixeira

Universidade do Minho, Departamento de
Engenharia Biológica
Braga-Portugal
<https://orcid.org/0000-0002-4918-3704>

Tatiana Souza Porto

Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Departamento de Morfologia
e Fisiologia Animal
Recife-PE
<https://orcid.org/0000-0002-1571-8897>

Ana Lúcia Figueiredo Porto

Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Departamento de Morfologia
e Fisiologia Animal
Recife-PE
<https://orcid.org/0000-0001-5561-5158>

RESUMO: A redução dos custos de produção tem sido uma questão amplamente discutida no contexto da produção animal atualmente. As formulações de dietas frequentemente utilizam alimentos que possuem fatores antinutricionais, como fitato e inibidores de proteases, que diminuem a biodisponibilidade dos nutrientes e dificultam a digestão por parte dos animais monogástricos. Diante disso, têm-se buscado alternativas tecnológicas para a extração e purificação de enzimas exógenas, como as fitases, a fim de melhorar a qualidade dos alimentos, reduzir os custos e aprimorar a digestibilidade dos nutrientes, eliminando parcial ou totalmente os fatores antinutricionais presentes na alimentação de aves e suínos. Nesse sentido, esta revisão de literatura tem como objetivo, trazer um artigo de revisão de literatura que aborde os avanços nos

métodos de separação e purificação de enzimas, com destaque para o sistema de duas fases aquosas (SDFA), o qual tem sido amplamente utilizado na separação de enzimas devido ao seu baixo custo em comparação com outros processos de purificação.

PALAVRAS-CHAVE: enzima exógena, fitato, fósforo fítico, sistemas de duas fases aquosas.

USE OF THE AQUEOUS TWO-PHASE SYSTEM FOR EXTRACTION AND PURIFICATION OF PHYTASES WITH APPLICATION TO ANIMAL NUTRITION

ABSTRACT: The reduction of production costs has been a widely discussed issue in the context of animal production currently. Diet formulations often use feed ingredients that contain antinutritional factors, such as phytate and protease inhibitors, which decrease nutrient bioavailability and hinder digestion in monogastric animals. In light of this, technological alternatives have been sought for the extraction and purification of exogenous enzymes, such as phytases, in order to improve food quality, reduce costs, and enhance nutrient digestibility by partially or completely eliminating the antinutritional factors present in the diets of poultry and swine. In this regard, this literature review aims to present an article that addresses advances in methods for enzyme separation and purification, with emphasis on the aqueous two-phase system (ATPS), which has been widely used for enzyme separation due to its low cost compared to other purification processes.

KEYWORDS: exogenous enzyme, phytate, phytic phosphorus, aqueous two-phase systems.

1 | INTRODUÇÃO

A utilização do Sistema de Duas Fases Aquosas (SDFA) tem se destacado como uma abordagem promissora para a extração e purificação de enzimas de interesse biotecnológico, como as fitases (Neira-Vielma et al., 2020). As fitases são enzimas que desempenham um papel crucial na hidrólise do ácido fítico (Pramitha et al., 2021), um anti-nutriente presente em alimentos vegetais, principalmente grãos e sementes, e que interfere na absorção de minerais essenciais pelos animais (Samtiya et al., 2020). Nesse contexto, a aplicação do SDFA na extração e purificação de fitases apresenta-se como uma alternativa eficiente e sustentável para a produção de aditivos nutricionais destinados à alimentação animal.

O sistema de duas fases aquosas é composto por duas soluções imiscíveis (Campos et al., 2018), geralmente uma solução aquosa e outra contendo um sal ou um polímero (Iqbal et al., 2016; Buarque et al., 2023). Essas soluções formam duas fases líquidas distintas, sendo uma fase rica em componentes hidrofóbicos e outra fase rica em componentes hidrofílicos. A formação dessas fases ocorre devido às interações entre as moléculas presentes nas soluções, como a hidrofobicidade e a polaridade. Essa característica do SDFA permite a separação seletiva de biomoléculas, como as enzimas, a partir de uma mistura complexa, facilitando sua extração e purificação (Buarque et al., 2023).

Estudos têm demonstrado o potencial do SDFA na extração e purificação de fitases. Um exemplo é o trabalho realizado por Bhavsar et al. (2012), onde ao avaliar o

processamento downstream da fitase extracelular de *Aspergillus niger*, utilizando um processo de cromatografia em comparação ao SDFA, demonstraram que mesmo permitiu uma maior recuperação da fitase (98,5%) em um curto período de tempo (3 h), bem como uma melhor termoestabilidade em comparação com a recuperação de 20% em 96 h por um processo cromatográfico regular, o que revela que O SDFA é uma alternativa interessante para particionamento e purificação simultâneos de fitases (Neira-Vielma et al., 2020).

Outro estudo relevante é o de Salmon et al. (2014), que avaliaram a purificação parcial de fitase produzida por *Schizophyllum commune*, utilizando um SDFA de polietilenoglicol (PEG)/citrato de sódio sob fermentação em estado sólido (FSS), concluíram que a extração da fitase pelo método SDFA no PEG forneceu um coeficiente de partição (K) de 2,63, rendimento (Y) de 367% e Fator de purificação (FP) de 5,43. Com isso, demonstraram que a SDFA no sistema PEG/citrato pode ser uma boa alternativa para reduzir os custos operacionais e as etapas de purificação para extração de fitase.

A utilização do SDFA na extração e purificação de fitases apresenta diversas vantagens em relação aos métodos tradicionais. Além da simplicidade de operação e baixo custo, o SDFA é uma abordagem amigável ao meio ambiente, pois não envolve a utilização de solventes orgânicos tóxicos. Além disso, a possibilidade de ajuste das condições do sistema, como a escolha das soluções e a otimização de parâmetros, permite um controle preciso do processo, resultando em uma maior eficiência e seletividade.

Diante do exposto, buscou-se com esta revisão discutir a importância do sistema de duas fases aquosas para extração e separação de fitases, por conta do seu baixo custo quando comparado a outros processos de purificação, com o intuito da inclusão em dietas de animais não-ruminantes, principalmente aves, suínos e peixes.

2 | SISTEMAS DE DUAS FASES AQUOSAS

Os processos utilizados para a separação e purificação de enzimas geralmente são responsáveis por cerca de 50% a 90% do custo total de produção. Os métodos convencionais utilizados para purificação de proteínas geralmente são dispendiosos, pois envolvem várias etapas de operação, alto custo dos reagentes e são difíceis de dimensionar. Nos últimos anos tem surgido um interesse no setor da biotecnologia para o desenvolvimento de métodos de separação e purificação inovadores que sejam eficientes, econômicos e que atinjam altos graus de recuperação e pureza, mantendo a atividade biológica da molécula. Uma promissora técnica de extração e purificação, que se enquadra nestes critérios, e já vem sendo utilizada industrialmente, envolve a partição de biomoléculas entre duas ou mais fases imiscíveis nos sistemas aquosos (BOERIS, 2009; ANTOV et al., 2006).

Avanços na biotecnologia têm oferecido numerosas possibilidades para o aumento da escala de produção de muitas biomoléculas que são importantes para pesquisas, principalmente para aplicações industriais. O desenvolvimento de técnicas e métodos

de separação e purificação de proteínas, entre outras moléculas tem sido de grande importância para muitos desses avanços na biotecnologia (MAZZOLA et al., 2008).

Métodos tradicionais para a purificação de biomoléculas compreendem várias etapas, tais como diálise, cromatografia de troca iônica e de afinidade, entre outros. Entretanto, a extração líquido-líquido consiste de uma alternativa de purificação interessante, pois vários processos podem ser combinados em uma simples operação. Extração líquido-líquido é a transferência de massa de certos componentes de uma fase para outra, quando fases líquidas parcialmente solúveis imiscíveis são colocadas em contato. Este processo é grandemente empregado na indústria química devido a sua simplicidade, baixo custo e facilidade no aumento da escala de produção. A purificação de biomoléculas tem sido bem sucedidamente realizada por mais de uma década. As vantagens deste tipo de sistema são baixa viscosidade, menor custos com reagentes e menor tempo de separação das fases (SIMON e OTTO, 2005).

A extração líquido-líquido trata-se de um processo bem estabelecido na indústria química, incluindo várias aplicações na indústria bioquímica tradicional, sendo largamente utilizada para substâncias lábeis, uma vez que muitas técnicas de separação sólido-líquido usado nos processos industriais bioquímicos, tais como filtração e centrifugação, são fortemente dependentes do tamanho da partícula e são limitadas quando se trata de processamento de células bacterianas ou de resíduos celulares. A extração líquido-líquido com solventes orgânicos tem apresentado aplicação limitada no processamento de bioprodutos sensíveis como proteínas e ácidos nucleicos devido às suas baixas solubilidades no solvente orgânico e pelo efeito desnaturante deste último (COSTA et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2001).

Os sistemas de duas fases aquosas foram primeiramente descritos na literatura por Beijerick (1896), quando ele descobriu que ao se misturar gelatina, ágar e água, em certas concentrações formava um sistema de duas fases, sendo a fase superior rica em gelatina e a fase inferior rica em ágar. Posteriormente, nos anos 50, Per-Ake Albertsson descobriu que o polietileno glicol (PEG), fosfato de potássio e água, e assim como o PEG, dextrana e água formam sistemas de duas fases. Os sistemas PEG/Dextrana/Água e PEG/Sal/Água têm sido, desde então, os mais frequentemente investigados e utilizados para purificação de um grande número de biomoléculas (COSTA et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2001).

As duas fases imiscíveis em sistemas de duas fases aquosas (SDFA) são geralmente formadas pela mistura das fases acima da concentração crítica dos componentes os quais descrevem diagramas de fases para cada sistema específico (OOI et al., 2011). SDFA são aplicáveis a purificação de células, devido ao alto conteúdo aquoso, baixa tensão interfacial e biocompatibilidade ambiental. O cultivo de células microbianas em SDFA tem sido demonstrado para a extração de enzimas, tais como glicosidases, proteases alcalinas, enzimas do complexo celulolítico, enzimas fibrinolíticas, α -amilase e β -galactosidase. Os SDFA são compostos principalmente por PEG e dextrana de alto peso molecular, ou

sistemas compostos por sais e polímeros, tal como PEG/fosfato e PEG/citrato (CANALES et al., 2009; ZHU et al., 2007; LING e LYDDIATT, 2005).

Os processos de separação, purificação e partição de biomoléculas que promovam bons níveis de recuperação em atividade e alto grau de pureza dos produtos biotecnológicos tem sido demandados pela indústria. Partição em SDFA têm se mostrado como um eficiente processo para a purificação de misturas de proteínas (NALINANON et al., 2009; BENSCH et al., 2007). Quando ocorre a separação das fases, um polímero é encontrado predominantemente em uma fase (superior) e o outro polímero, ou de sal em outra fase (inferior). Isso proporciona um ambiente adequado para a preservação da atividade biológica da molécula, devido ao alto teor aquoso de cada fase (entre 80% e 90%). Purificação de proteínas utilizando SDFA é influenciada por diversos parâmetros, tais como o pH do sistema, o tipo e a concentração de sais no sistema, a massa molecular e a concentração do polímero e as propriedades da proteína (por exemplo, a estrutura, a hidrofobicidade, a massa molecular) (AZEVEDO et al., 2009).

SDFA apresenta o potencial para produzir uma biomolécula concentrada e purificada em uma única etapa, quando comparado ao número de etapas envolvidas nos processos de separação convencionais, promovendo a recuperação, clarificação, filtração, concentração e purificação do bioproduto. Esta característica é altamente favorável para a purificação de proteínas. É importante saber que a extração de uma proteína-alvo em SDFA é uma opção antecedente a outros processos de separação, buscando uma separação e recuperação ótima (NASCIMENTO et al., 2010; ROSA et al., 2007).

Sistemas de duas fases aquosas, principalmente os sistemas com polietileno glicol (PEG) e sal, têm sido amplamente usados para biosseparação de enzimas e proteínas por conta do seu baixo custo. Além do mais o tipo do polímero e do sal, força iônica e pH do meio, juntamente com as características da molécula alvo (tamanho carga e hidrofobicidade), são as variáveis que mais influenciam a partição das moléculas. SDFA tem também sido empregado em diversos campos na indústria biotecnológica para purificação de enzimas, interferon, anticorpos, e na bioconversão extrativa. Esta técnica é considerada potencialmente atrativa para obter enzimas industriais, com fácil aumento de escala e minimização da desnaturação das proteínas, entre outras vantagens. Com o objetivo de obter alto rendimento e também bom fator de purificação para a proteína-alvo, uma composição adequada para o SDFA deve ser selecionada para se extrair de forma quantitativa a proteína desejável para uma das fases do sistema com a mínima contaminação possível, sendo a purificação o resultado de uma partição diferenciada da molécula-alvo e impurezas entre as duas fases líquidas (PORTO, 2004; PESSOA e KILIKIAN, 2005).

3 | A UTILIZAÇÃO DE ENZIMAS NA NUTRIÇÃO ANIMAL

O grande dinamismo da produção animal brasileira, dentre outros fatores, está diretamente relacionado à excelente capacidade dos profissionais da nutrição animal de formular dietas de qualidade e a custo reduzido, como também a um setor empresarial empreendedor, eficiente e, portanto, bastante competitivo. Para tanto, a utilização de modernos compostos, advindos da biotecnologia, é primordial, pois podem aumentar a produtividade, desta forma reduzindo os custos de produção (ARAÚJO, 2005).

Segundo o decreto lei nº 76.896 de 06 de janeiro de 1976, atualmente em vigor, define-se como aditivo alimentar toda a substância intencionalmente adicionada ao alimento, com a finalidade de conservar, intensificar ou modificar as suas propriedades, desde que não prejudique o seu valor nutricional. Os aditivos enzimáticos não possuem função nutricional direta, mas auxiliam o processo digestivo melhorando a digestibilidade dos nutrientes presentes na dieta animal. (CAMPESTRINI et al., 2005).

Inserida dentre o grupo dos aditivos alimentares estão as enzimas exógenas que são definidas como proteínas globulares, de estrutura terciária ou quaternária, que agem como catalisadores biológicos, aumentando a velocidade das reações químicas no organismo, sem serem elas próprias alteradas nesse processo. São altamente específicas para os substratos e dirigem todos os eventos metabólicos. As enzimas digestivas têm um sítio ativo que permite que elas atuem na ruptura de determinada ligação química sob condições favoráveis de temperatura, pH e umidade. A utilização de enzimas exógenas como aditivo alimentar tem por objetivo aumentar a disponibilidade dos nutrientes presentes nos alimentos. Os aditivos enzimáticos não possuem função nutricional direta, mas auxiliam o processo digestivo, melhorando a digestibilidade dos nutrientes presentes na dieta (YIN et al., 2001).

Nesse sentido, as enzimas são excelentes alternativas para reduzir os custos de produção de animais não-ruminantes, uma vez que há uma melhora significativa na digestibilidade dos alimentos, permitindo alterações nas formulações das rações de forma a minimizar os gastos, maximizando o uso de ingredientes energéticos e protéicos nas rações. Mathlouthi et al. (2003) obtiveram *in vitro*, uma diminuição da viscosidade dos grãos de trigo, centeio, milho e soja com o uso de uma combinação de xilanase e β -glucanase. Esse efeito positivo, segundo os autores, foi o responsável pela melhora no índice de conversão alimentar das poedeiras que receberam dietas suplementadas com essas enzimas.

Considerando o aumento da digestibilidade dos nutrientes da ração após a adição de um complexo enzimático, será possível fazer um ajuste adequado dos nutrientes na formulação e atender as exigências nutricionais dos animais não ruminantes em diferentes categorias, sendo também possível reduzir o custo da ração. A adição de enzimas exógenas em rações contendo ingredientes com alta porcentagem de polissacarídeos não-amiláceos

e fatores anti-nutricionais melhora a digestibilidade dos nutrientes e, conseqüentemente, exerce um efeito positivo sobre o desempenho de suínos e aves (HANNAS e PUPA, 2007).

4 | FITATO

O ácido fítico é definido quimicamente como éster hexafosfórico do álcool cíclico hexaídrico *mio*-inositol, sendo também conhecido como hexafosfato de inositol (IP_6), ou fitato, quando está na forma de sal, sendo o IP_3 , IP_4 e IP_5 também designados como fitato (Figura 2). Apresenta-se como uma estrutura de baixo peso molecular, formada por seis grupos fosfatos ligados a um álcool ciclohexanopoliol, o inositol. O fitato é a principal forma de armazenamento do fósforo em tecidos vegetais, apresentando fórmula molecular $C_6H_{18}O_{26}P_6$ e massa molecular $660,04 \text{ g.mol}^{-1}$ (KUMAR et al., 2010).

O ácido fítico é um complexo orgânico que ocorre em abundância nos grãos de cereais e oleaginosas, e sua principal função fisiológica nos vegetais é o armazenamento de nutrientes, principalmente de fósforo, que serão liberados pela ação de fitases endógenas à medida que ocorre a germinação da semente. Em média, 70% do fósforo total contido nos grãos de cereais e oleaginosas estão sobre a forma de fitato (CONSUEGRO, 1999). A concentração de fitato nos vegetais varia conforme o estágio de maturação, grau de processamento, tipo de cultivar, clima, disponibilidade de água, localização geográfica e quantidade de fósforo no solo, o qual a planta absorve e armazena complexando-o com o inositol para formar o ácido fítico (SEBASTIAN et al., 1998).

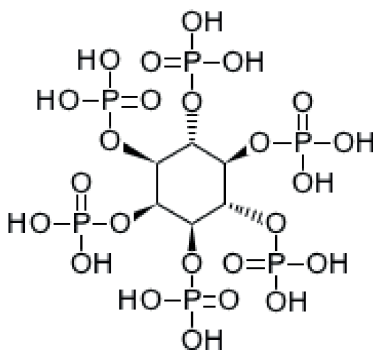


Figura 2. Estrutura molecular do ácido fítico (*mio*-inositol-1,2,3,4,5,6 hexafosfato) (COSGROVE, 1969).

A sociedade e os regulamentos estão cada vez mais exigentes com relação ao controle da poluição agrícola, particularmente na excreção do fósforo inorgânico, fato esse, que tem levado a intensificação das pesquisas sobre a utilização das fitases. O foco tem sido principalmente sobre a produção de fitase e sua utilização como um meio de reduzir a suplementação de fosfato inorgânico na alimentação dos animais não-ruminantes e consequente redução na excreção fecal de fósforo. A poluição ambiental, devido ao

estrume com muito fosfato, tem resultado na acumulação de fosfato em várias localizações, especialmente em corpos de água (VATS e BANERJEE, 2004).

O fósforo é um macro-mineral essencial para todos os animais. Este é necessário para várias funções no organismo, fundamental para manutenção e reparo de todos os tecidos, e juntamente com o cálcio e outros minerais são indispensáveis para o crescimento e mineralização do tecido ósseo, assim como desenvolvimento muscular. O consumo de fósforo em níveis adequados é propício para o balanço de minerais essenciais, para o controle do apetite e eficiência alimentar. Aproximadamente 80% do fósforo do organismo animal ocorre como constituinte dos ossos, e os 20% restantes encontrados em vários compostos orgânicos que desempenham função no metabolismo (transferência de energia – ATP, creatinina e enzimas), em ácidos nucleicos, e fosfolipídios de membranas celulares. O fosfato inorgânico participa no tampão de pH dos fluidos biológicos e também apresenta função no transporte de gordura e na síntese de aminoácidos e proteínas (FRANCE et al., 2010).

O ácido fítico possui a habilidade de se ligar à proteína (Figura 3). A interação com a proteína é dependente das condições de pH, pois a mesma se dá por ligação iônica. Em condições de acidez, o ácido fítico possui carga negativa podendo se ligar a resíduos básicos através de uma forte interação eletrostática, resultando em um complexo insolúvel. Em pH neutro a proteína não irá se ligar ao ácido fítico, pois sua carga é neutra. Com o pH básico, o ácido fítico forma complexo com a proteína na presença de cátions bivalentes, os quais irão agir como ponte entre o grupo carboxila carregado negativamente e o ácido fítico (COUSINS, 1999).

Três terminologias são usadas na literatura para descrever os substratos da fitase. O termo mais comumente utilizado é o ácido fítico. Já a denominação fitato refere-se à mistura de sais do ácido fítico. No entanto, a fitina, descreve especificamente ao complexo depositado de IP6 com potássio, magnésio e cálcio. Devido ao fitato ser um fator anti-nutricional nos alimentos de origem vegetal para os não-ruminantes, as fezes excretadas por estes animais apresentam altos teores de fósforo fítico e, também, nitrogênio, pois estes nutrientes presentes na molécula do fitato, somado à fonte inorgânica (fósforo) e ao aumento do nível de proteína na ração acima da exigência do animal, serão excretados (SELLE e RAVINDRAN, 2007).

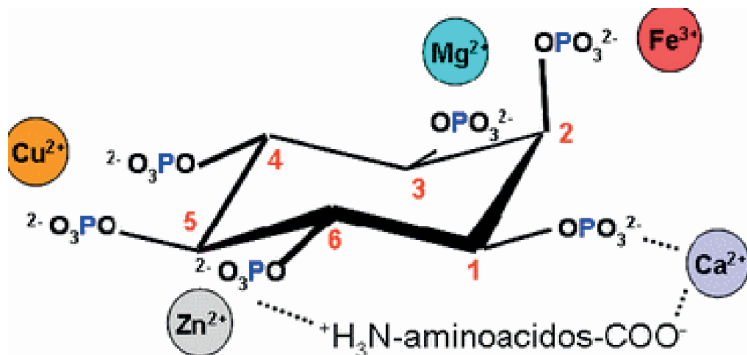


Figura 3. Interação química entre o ácido fítico, cátions e aminoácidos (BROZ et al., 1994).

A desfosforilação do fitato é um pré-requisito para o aumento do valor nutricional dos alimentos através da remoção dos grupamentos ortofosfatos do anel inositol, diminuindo assim o seu poder quelante, ou seja, a força de ligação com os minerais dietéticos, em consequência disso, ocorre um aumento na disponibilidade de minerais essenciais (KUMAR et al., 2010). Esta ligação ocorre naturalmente em ingredientes de origem vegetal e podem ser formados na porção inicial do trato gastrointestinal. Vários estudos demonstraram que proteínas da soja, milho, trigo, farelo de girassol e de arroz formam complexos com ácido fítico. Outra possível interação do ácido fítico é com as enzimas endógenas, como a tripsina, quimiotripsina e amilase do trato gastrointestinal, inibindo a atividade dessas enzimas com conseqüente decréscimo da digestibilidade de carboidratos e proteínas (RAVINDRAN et al., 2001).

LIMA et al. (2007), em uma revisão, mostram que a redução da digestibilidade protéica pode ser explicado pela formação de complexos entre o fitato e as proteínas da dieta, ou ainda, se complexar com enzimas proteolíticas (tripsina e pepsina), inibindo as suas atividades. Na digestão de lipídeos dietéticos, o complexo cálcio-fitato pode reagir com ácidos graxos formando sabões insolúveis no lúmen intestinal. Na digestão de carboidratos, liga-se diretamente ao amido ou inibe a ação catalítica da amilase.

5 | FITASES

Diversos tipos de processamento de alimentos e técnicas de preparação requerem a adição de enzimas exógenas, cujo objetivo é promover a redução do teor de fitato nos alimentos. A hidrólise do fitato durante o processamento dos alimentos é um resultado da degradação química pela atividade fitásica. Entretanto, as fitases têm importante aplicação na nutrição animal, tanto na degradação do fitato, tanto no processamento de alimentos, como no trato gastrointestinal. No entanto, a capacidade de desfosforilação do fitato (Figura 1) difere grandemente entre diferentes espécies de microorganismos e vegetais, devido à diferença nas suas propriedades bioquímicas em relação ao processo de hidrólise do ácido

fítico (EGLI et al., 2002).

As fitases formam um grupo de enzimas que são quimicamente definidas como *mio*-inositol (1,2,3,4,5,6) hexafosfato fosfoidrolases que catalisam a liberação sequencial do fósforo oriundo da molécula de ácido fítico. As fitases retiram os grupamentos ortofosfatos do anel inositol do ácido fítico para produzir fósforo inorgânico livre (Pi) (DEBNATH et al., 2005). O fitato possui seis grupos que podem ser liberados, dependendo da fitase utilizada, em velocidades e ordem diferentes. As fitases sintetizadas por fungos filamentosos e pela bactéria *Escherichia coli* conseguem liberar somente cinco dos seis grupos, sendo que os produtos finais são *mio*-inositol 2-monofosfato (WYSS et al., 1999).

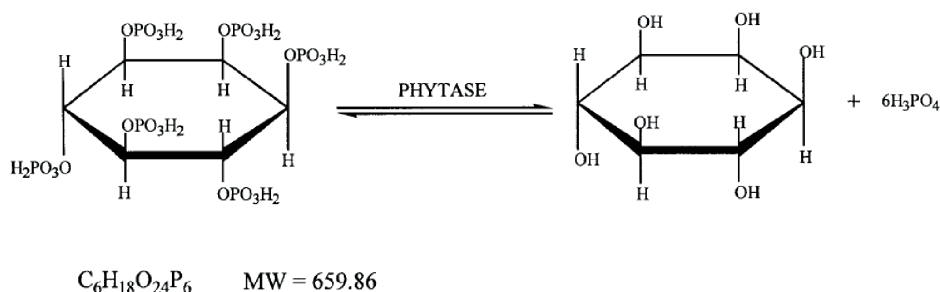


Figura 1. Hidrólise enzimática catalisada pela fitase na molécula do ácido fítico (KRISHNA e NOKES, 2001).

Fitases não somente liberam o fósforo de materiais dietéticos de origem vegetal, mas também tornam mais disponível o cálcio, magnésio, proteínas e lipídeos. Desta maneira, pela liberação do fósforo ligado em ingredientes de origem vegetal, tornam o fósforo mais disponível para o crescimento ósseo e protege o meio ambiente contra a contaminação pelo excesso de fósforo livre (BARUAH et al., 2007).

A fitase microbiana tornou-se disponível comercialmente em 1991 (Natuphos[®], produzida por *A. niger*), quando a legislação introduzida nos Países Baixos para controlar a poluição de fosfatos em unidades de criação de suínos e aves amplificou seu desenvolvimento e aceitação. O que antes era mais restrito aos países que adotavam essa legislação tornou-se globalmente utilizado com o reconhecimento do perigo ecológico da eutrofização, especialmente na última década. Além disso, essa proliferação das fitases no mercado gerou redução de preços e facilidades na aplicação da criação de animais não-ruminantes (KUMAR et al., 2010).

Com a proibição da adição de farelos de carne e ossos de animais na criação de não-ruminantes, houve um novo incentivo. Esses farelos, que foram proibidos na União Europeia em 2000, forneciam 57% do fósforo adicionado às rações. Essa proibição teoricamente gerou uma demanda de 110 mil toneladas de fósforo excedente, mas a utilização da fitase microbiana reduziu essa demanda para 26 mil toneladas (SELLE e RAVINDRAN, 2007). Seguindo a trajetória da fitase comercial no mercado, a sua aceitação como suplemento

na alimentação animal começou a ganhar atenção mundial (YI et al., 1996). Contudo, seu potencial na nutrição humana (SILVA et al., 2005) e em outras áreas, tais como aquicultura (YOO et al., 2005) estão também sendo extensamente explorados.

A União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (IUBMB) lista dois tipos de fitases, as quais tem sido classificadas em dois grupos, dependendo do local onde a hidrólise da molécula do fitato é iniciada e também, no pH da atividade (SELLE et al., 2007). Podem ser categorizadas em 3-fitases e 6-fitases. As 3 fitases (EC 3.1.3.8) são denominadas sistematicamente como *mio*-inositol hexaquis fosfato-3-fosfoidrolase atuando na hidrólise da ligação éster na terceira posição do IP₆ em IP₅ e ortofosfato livre (VATS e BANERJEE, 2004). No entanto, as 6-fitases (EC 3.1.3.26) são designadas quimicamente como *mio*-inositol hexaquis fosfato-6- fosfoidrolase, promovendo a catálise hidrolítica da ligação éster na sexta posição do IP₆. Recentemente, isto foi reportado para fitase produzida por *A. niger* que mostra atividade 3-fitásica, enquanto *Peniophora lycii* e *Escherichia coli* apresentam uma atividade 6-fitase (SELLE et al., 2007).

As fitases também podem ser categorizadas dentro de duas classes de acordo com o perfil de pH ótimo: fosfatases ácidas histidinas e fitases alcalinas. Fosfatases ácidas histidinas mostram uma atividade de pH ótimo na faixa de 5,0, enquanto as fosfatases alcalinas se mostram mais ativas na faixa de pH próximo a 8,0 (BARUAH et al., 2007). Exceto as fitases produzidas pelo gênero *Bacillus*, a maioria das enzimas degradadoras de fitato, tais como fitases vegetais, pertencem ao tipo acidófilo (SELLE et al., 2007). Além disso, o maior foco tem sido nas fitases ácidas devido a sua aplicabilidade na nutrição animal e possuir uma maior especificidade quanto ao substrato quando comparadas as fitases alcalinas (KUMAR et al., 2010).

De acordo com Kumar et al. (2010), em geral, as enzimas fitases são encontradas de quatro fontes possíveis: fitases vegetais, fitases microbianas (oriundas de bactérias, leveduras e fungos filamentosos), fitase de mucosa, a qual é produzida pelas células da mucosa do intestino delgado, e a fitase microbiana visceral-associada, produzida pela microflora no intestino grosso.

A fitase já foi encontrada em várias fontes vegetais, como trigo, milho, algumas ervas, arbustos, alfaces, centeio e sementes oleaginosas, sendo que a atividade mais alta foi encontrada no trigo (*Triticum aestivum*), no centeio (*Secale cereale*) e na cevada (*Hordeum vulgare*). As fitases obtidas de sementes em germinação e pólen têm sido purificadas e caracterizadas. Fitase alcalina também tem sido identificada no pólen de *Lilium longiflorum*, *Typha latifolia* e em sementes de legumes (ROOPESH et al., 2006). Aos vegetais, geralmente, atribuem-se baixos valores de fitase, mas Jongbloed e Kemme (1994) demonstraram que a fitase do trigo pode melhorar a digestibilidade do fósforo de 27 para 50%. Além disso, Kornegay (1996) demonstrou que a fitase do trigo atua em um limite de pH bem menor do que a fitase fúngica e ressaltou algumas vantagens, tais como maiores especificidades quanto ao substrato, portanto uma menor constante de afinidade

da fitase fúngica quando comparada a origem vegetal (FIREMAN e FIREMAN, 1998).

Apesar das fontes animais e vegetais representarem avanços científicos importantes, sua aplicação prática para produção de fitase é limitada. Em compensação, fontes microbianas apresentam características que permitem um alto rendimento e ampliação de escala, tornando-se amplamente utilizadas de maneira efetiva na indústria de rações animais. Várias espécies de fungos, bactérias e leveduras têm sido utilizadas na produção de fitases, geneticamente modificadas ou não (KIM et al., 2006).

6 | CONCLUSÃO

A utilização do sistema de duas fases aquosas para extração e purificação de fitases apresenta-se como uma técnica promissora para a obtenção de fitase com atividade hidrolítica, e potencial para aplicação na indústria de nutrição animal. A técnica é vantajosa por ser sustentável, econômica e não tóxica, contribuindo para a redução de resíduos e poluição ambiental. Com o desenvolvimento contínuo dessa técnica, é possível esperar avanços significativos na produção e aplicação de fitases na nutrição animal.

REFERÊNCIAS

ANTOV, M.G.; PERICIN, D.M.; DASIC, M.G. **Aqueous two-phase partitioning of xylanase produced by solid-state cultivation of *Polyporus squamosus***. Process Biochemistry, v.41, n.1, p. 232-235, 2006. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.06.010>

ARAÚJO, D.M. **Avaliação do farelo de trigo e enzimas exógenas na alimentação de frangos e poedeiras**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal da Paraíba, 66p., 2005.

AZEVEDO, A.M.; GOMES, A.G.; ROSA, P.A.J.; FERREIRA, I.F.; PISCO, A.M.M.O.; AIRES-BARROS, M.R. **Partitioning of human antibodies in polyethylene glycol - sodium citrate aqueous two-phase systems**. Separation and Purification Technology, v. 65, n.1, p.14-21, 2009. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2007.12.010>

BARUAH, K.; SAHU, N.P.; PAL, A.K.; JAIN, K.K.; DEBNATH, D.; YENGKOKPAM, S. **Interactions of dietary microbial phytase, citric acid and crude protein level on mineral utilization by Rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), Juveniles**. Journal of World Aquaculture Society, v. 38, n. 2, p. 238-249, 2007. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2007.00092.x>

BENSCH, M.; SELBACH, B.; HUBBUCH, J. **High throughput screening techniques in downstream processing: preparation, characterization and optimization of aqueous two-phase systems**. Chemical Engineering Science, v. 62, n.7, p.2011-2021, 2007. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ces.2006.12.053>

BHAVSAR, K; KUMAR, V.R; KHIRE, J.M. **Downstream processing of extracellular phytase from *Aspergillus niger*: Chromatography process vs. aqueous two phase extraction for its simultaneous partitioning and purification**. Process Biochemistry, v.47, n.7, p.1066-1072, 2012. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.03.012>

BOERIS, V.; SPELZINI, D.; FARRUGGIA, B.; PICO, G. **Aqueous two-phase extraction and polyelectrolyte precipitation combination: A simple and economically technologies for pepsin isolation from bovine abomasum homogenate.** *Process Biochemistry*, v.44, n. 11, p.1260-1264, 2009. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.07.001>

BROZ, J.; OLDALE, P.; PERRIN-VOLTZ, A.H. **Effects of supplemental phytase on performance and phosphorus utilization in broiler chickens fed a low phosphorus diet without addition of inorganic phosphates.** *British Poultry Science*, v.35, n.2, p.273-280, 1994. Doi: <https://doi.org/10.1080/00071669408417691>

BUARQUE, F.S.; GAUTÉRIO, G.V.; COELHO, M.A.Z.; LEMES, A.C. AND RIBEIRO, B.D. **Aqueous Two-Phase Systems Based on Ionic Liquids and Deep Eutectic Solvents as a Tool for the Recovery of Non-Protein Bioactive Compounds—A Review.** *Processes*, v.11, n.1, p.31, 2023. doi: <https://doi.org/10.3390/pr11010031>

CAMPESTRINI, E.; SILVA, V.T.M.; APPELT, M.D. **Utilização de enzimas na alimentação animal.** *Revista Eletrônica Nutritime*, v. 2, n.6, p.259-272, 2005.

CAMPOS, R.A.; PATRÍCIO, P.R.; VARGAS, S.J.R.; SILVA, L.H.M.; AND HESPANHOL, M.C. **Green speciation of iron using aqueous two-phase system.** *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v.90, n.2, p.1929-1944, 2018. Doi: <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201820170631>

CANALES, M.; BALLESTEROS, C.; MORENO-CID, J.A.; ESPINOSA, A.M.; VILLAR M, DE LA FUENTE. **Extractive bioconversion to produce the Aedes albopictus akirin in an aqueous two-phase system supporting Pichia pastoris growth and protein secretion.** *Biochemical Engineering Journal*, v. 46, n. 2, p.105-114, 2009. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.04.014>

CONSUEGRO, J.P. **Uso de fitase microbiana em dietas para avicultura.** *Indústria Avícola*, v. 46, n.1, p.27-28, 1999.

COSGROVE, D.J. **Ion-exchange chromatography of inositol polyphosphates.** *New York Academy of Science*, v. 165, n. 2, p. 677-686, 1969. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1970.tb56434.x>

COSTA, S.A.; PESSOA JR, A.; ROBERTO, I.C. **Partitioning of xylanolytic complex from Penicillium janthinellum by an aqueous two-phase system.** *Journal of Chromatography B*, v. 743, n. 1-2, p. 339-348, 2000. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(00\)00212-7](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(00)00212-7)

COUSINS, B. **Enzimas na nutrição de aves.** In: *Simpósio Internacional ACAV – Sobre Nutrição de Aves*. Anais, p.118-130, 1999.

DEBNATH, D.; SAHU, N.P.; PAL, A.K.; BARUAH, K.; YENGKOKPAM, S.; MUKHERJEE, S.C. **Present scenario and future prospects of phytase in aqua feed – Review.** *Asian-Australian Journal of Animal Science*, v. 18, n.12, p.1800-1812, 2005. Doi: <https://doi.org/10.5713/ajas.2005.1800>

EGLI, I.; DAVIDSSON, L.; JUILLERAT, M.A.; BARCLAY DANDHURRELL, R.F. **The influence of soaking and germination on the phytase activity and phytic acid content of grains and seeds potentially useful for complementary feeding.** *Journal of Food Science*, v.67, n.9, p.3484-3488, 2002. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb09609.x>

FIREMAN, A.K.B.A.T.; FIREMAN, F.A.T. **Fitase na alimentação de poedeiras;** *Revista Ciência Rural*, v. 28, n.3, p.529-534, 1998. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0103-84781998000300029>

FRANCE, J.; DIAS, R.S.; KEBREAB, E.; VITTI, D.M.S.S.; CROMPTON, L.A.; LOPEZ, S. **Kinetic models for the study of phosphorus metabolism in ruminants and monogastric. Phosphorus and calcium utilization and requirements in farm animals.** Piracicaba: Cabi, Chap. 3, p. 18-44, 2010. Doi: <https://doi.org/10.1079/9781845936266.00>

HANNAS, M.I.; PUPA, J.M.R. Enzimas: uma alternativa viável para enfrentar a crise na suinocultura. Capturado em 26 setembro de 2007. Disponível em <http://www.engormix.com/enzimas_uma_alternativa_viavel_p_artigos_26_POR.htm> Acesso: 29 de junho de 2023.

IQBAL, M.; TAO, Y.; XIE, S.; ZHU, Y.; CHEN, D.; WANG, X.; HUANG, L.; PENG, D.; SATTAR, A.; SHABBIR, M.A.B.; HUSSAIN, H.I.; AHMED, S. AND YUAN, Z. **Aqueous two-phase system (ATPS): an overview and advances in its applications.** *Biol Proced Online*, v.18, n.18 (2016). <https://doi.org/10.1186/s12575-016-0048-8>

JONGBLOED, A.W., KEMME, P.A. **Apparent digestibility and retention of nutrients bound to phytate complexes as influenced by microbial phytase and feeding regimen in pigs.** *Journal of Animal Science*, v.72, n.1, p.126-132, 1994. Doi: <https://doi.org/10.2527/1994.721126x>

KIM, T.; MULLANEY, E. J.; PORRES, J. M. **Shifting the pH profile of *Aspergillus niger* phytase to match the stomach pH enhances its effectiveness as an animal feed additive.** *Applied and Environmental Microbiology*, v.72, n.6, p.4397-4403, 2006. Doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.02612-05>

KORNEGAY, E.T. **Effect of phytase on the bioavailability of phosphorus, calcium, amino acids, and trace minerals in broilers and turkeys.** BASF, Technical Symposium. World Congress Center, p. 39-70, 1996.

KUMAR, V.; SINHA, A.K.; MAKAR, H.P.S.; BECKER, K. **Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review.** *Food and Chemistry*, v.120, n.4, p.945-959, 2010. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.052>

KRISHNA, C.; NOKES, S. E. **Influence of inoculum size on phytase production and growth in solid-state fermentation by *Aspergillus niger*.** *Trans. ASAE*, v.44, n.4, p.1031-1036, 2001.

LIMA, M.R.; SILVA, J.H.V.; ARAUJO, J.A.; LIMA, C.B.; OLIVEIRA, E.R.A. **Enzimas exógenas na alimentação de aves.** *Acta Veterinaria Brasilica*, v.1, n. 4, p.99-110, 2007. Doi: <https://doi.org/10.21708/avb.2007.1.4.485>

LING, T.C.; LYDDIATT, A. **Integration of mechanical cell disruption and fluidised bed recovery of G3PDH from unclarified disrupted yeast: a comparative study of the performance of unshielded and polymer shielded dye-ligand chromatography systems.** *Journal of Biotechnology*, v.119, n.4, p.43-48, 2005. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2005.05.029>

MATHLOUTHI, N.; MOHAMED, M.A.; LARBIER, M. **Effect of enzyme preparation containing xylanase and β -glucanase on performance of laying hens fed wheat/barley or maize/soybean meal-based diets.** *British Poultry Science*, v.44, n.1, p.60-66, 2003. Doi: <https://doi.org/10.1080/0007166031000085374>

MAZZOLA, P.G.; LOPES, A.M.; HASMANN, F.A.; JOZALA, A.F.; PENNA, T.C.V.; MAGALHÃES, P.O.; RANGEL-YAGUI, C.O.; PESSOA JR., A. **Liquid-liquid extraction of biomolecules: an overview and update of the main techniques.** *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v.83, n.2, p.143-157, 2008. Doi: <https://doi.org/10.1002/jctb.1794>

NALINANON, S.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; KISHIMURA, H. **Partitioning of Protease from Stomach of Albacore Tuna (*Thunnus alalunga*) by Aqueous-Two Phase Systems**. Process Biochemistry, v.44, n.4, p.471-476, 2009. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2008.12.018>

NASCIMENTO, K.S.; ROSA, P.A.J.; NASCIMENTO, K.S.; CAVADAB, B.S.; AZEVEDO, A.M.; AIRES-BARROS, M.R. **Partitioning and recovery of *Canavalia brasiliensis* lectin by aqueous two-phase systems using design of experiments methodology**. Separation and Purification Technology, v.75, n.1, p.48-54, 2010. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2010.07.008>

NEIRA-VIELMA, A.A.; ILINÁ, A.; ÁLVAREZ, G.M.; NASCIMENTO, C.O.; AGUILAR, C.N.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, J.L. AND CARNEIRO-DA-CUNHA, M.D.G. **Recovery and purification of *Aspergillus niger* phytase from crude extract using AOT / isooctane reversed micelles**. Biotechnology Reports (Amst). May 20;26:e00471, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00471>.

OLIVEIRA, L.A.; SARUBBO, L.A.; PORTO, A.L.F.; LIMA-FILHO, J.L.; CAMPOSTAKAKI, G.M.; TAMBOURGI, E.B. **Physical and rheological characterization of polyethylene glycol-cashew-nut tree gum aqueous two-phase systems**. Journal of Chromatography B, v.766, n.1, p.27-36, 2001. Doi: [https://doi.org/10.1016/s0378-4347\(01\)00411-x](https://doi.org/10.1016/s0378-4347(01)00411-x)

OOI, C.W.; HII, S.L.; KAMAL, S.M.M.K.; ARIFF, A.; LING, T.C. **Extractive fermentation on using aqueous two-phase systems for integrated production and purification of extracellular lipase derived from *Burkholderia pseudomallei***. Process Biochemistry, v.46, n.1, p.68-73, 2011. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.07.014>

PESSOA JR., A.; KOLIKIAN, B.V. **Purificação de Produtos Biotecnológicos**, Manole: São Paulo, 2005.

PORTO, T.S. **Extração de pró-toxina épsilon em de uma protease de *Clostridium perfringens* em sistemas de duas fases aquosas utilizando PEG/citrato**. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 2004.

PRAMITHA, J.L.; RANA, S.; AGGARWAL, P.R.; RAVIKESAVAN, R.; JOEL, A.J.; MUTHAMILARASAN, M. **Chapter Three - Diverse role of phytic acid in plants and approaches to develop low-phytate grains to enhance bioavailability of micronutrientes**. Advances in Genetics, v.107, n.1, p. 89-120, 2021. Doi: <https://doi.org/10.1016/bs.adgen.2020.11.003>

RAVINDRAN, V.; SELLE, P.H.; RAVINDRAN, G.; MOREL, P.C.H.; KIES, A.K.; BRYDEN, W.L. **Microbial phytase improves performance, apparent metabolizable energy, and ileal amino acid digestibility of broilers fed a lysine-deficient diet**. Poultry Science, v.80, n.3, p.338-344, 2001. Doi: <https://doi.org/10.1093/ps/80.3.338>

ROSA, P.A.J.; AZEVEDO, A.M.; AIRES-BARROS, M.R. **Application of central composite design to the optimisation of aqueous two-phase extraction of human antibodies**. Journal of Chromatography A, v.1141, n.1, p.50-60, 2007. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.11.075>

ROOPESH, K.; RAMACHANDRAN, S.; NAMPOOTHIRI, M.; SZAKACS, G.; PANDEY, A. **Comparison of phytase production on wheat bran and oilcakes in solidstate fermentation by *Mucor racemosus***. Bioresource Technology, v.97, n.3, p.506-511, 2006. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.02.046>

SALMON, D.N.X.; WALTER, A.; PORTO, T.S.; MOREIRA, K.A.; VANDENBERGHE, L.P.S.; SOCCOL, C.R.; PORTO, A.L.F. AND SPIER, M.R. **Aqueous two-phase extraction for partial purification of *Schizophyllum commune* phytase produced under solid-state fermentation.** *Biocatalysis and Biotransformation*, v.32, n.1, p.45–52, 2014. Doi: <https://doi.org/10.3109/10242422.2013.872633>

SAMTIYA, M.; ALUKO, R.E. AND DHEWA, T. **Plant food anti-nutritional factors and their reduction strategies: an overview.** *Food Prod Process and Nutr*, v.2, n.1, p.1-14, (2020). Doi: <https://doi.org/10.1186/s43014-020-0020-5>

SEBASTIAN, S.; TOUCHBURN, S.P.; CHAVEZ, E.R. **Implications of phytic acid and supplemental microbial phytase in poultry nutrition: a review.** *World's Poultry Science*, v.54, n.1, p.27-47, 1998. Doi: <https://doi.org/10.1079/WPS19980003>

SELLE, P.H., GILL, R.J., SCOTT, T.A. **Effects of pre-pelleted wheat and phytase supplementation on broiler growth performance and nutrient utilisation.** *Proceedings of Australian Poultry Science Symposium*, v.19, n.1, p.182-185, 2007.

SELLE, P.H.; RAVINDRAN, V. **Microbial phytase in poultry nutrition.** *Animal Feed Science and Technology*, v.135, n.1-2, p.1-41, 2007. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.06.010>

SILVA, L.G.; TRUGO, L.C.; TERZI, S. C.; COURI, S. **Low phytate lupin flour based biomass obtained by fermentation with a mutant of *Aspergillus niger*.** *Process Biochemistry*, v.40, n.2, p.951-954, 2005. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.02.016>

SIMON, L.; OTTO, H. **Aqueous Two-phase extraction - a case study in process analysis and control.** *AIChE Annual Meeting*, Cincinnati, OH., p. 237, 2005.

VATS, P.; BANERJEE, U.C. **Production studies and catalytic properties of phytases (myo-inositolhexakisphosphate phosphohydrolases): An overview.** *Enzyme and Microbial Technology*, v.35, n.1, p.3-14, 2004. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2004.03.010>

WYSS, M.; BRUGGER, R.; KRONENBERGER, A.; REMY, R.; FIMBEL, R.; OESTERHELT, G. **Biochemical characterization of fungal phytases (myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolase): Catalytic properties.** *Applied and Environmental Microbiology*, v.65, n.2, p.367-373, 1999. Doi: <https://doi.org/10.1128/aem.65.2.367-373.1999>

YIN, Y.-L.; BAIDOO, S.K.; JIN, L.Z. **The effect of different carbohydrase and protease supplementation on apparent (ileal and overall) digestibility of nutrients of five hullless barley varieties in young pigs.** *Livestock Production Science*, v.71, n.2-3, p.109-120, 2001. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(01\)00215-9](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(01)00215-9)

YI, Z., KORNEGAY, E.T., RAVINDRAN, V., DENBOW, D.M. **Improving phytate phosphorus availability in corn and soybean meal for broilers using microbial phytase and calculations of phosphorus equivalency values for phytase.** *Poultry Science*, v.75, n.2, p.240-249, 1996. Doi: <https://doi.org/10.3382/ps.0750240>

YOO, G.Y.; WANG, X.; CHOI, S.; HAN, K.; KANG, J.C.; BAI, S.C. **Dietary microbial phytase increased the phosphorus digestibility in juvenile Korean rockfish *Sebastes schlegelii* fed diets containing soybean meal.** *Aquaculture*, v.243, n.1-4, p.315-322, 2005. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.10.025>

ZHU, J-H.; YAN, X-L.; CHEN, H-J.; WANG, Z-H. **In situ extraction of intracellular Lasparaginase using thermoseparating aqueous two-phase systems**. Journal of Chromatography A, v. 1147, n.1, p.127-134, 2007. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.02.035>

COMPARAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE CRIADOS COM E SEM PROGRAMA DE LUZ

Data de aceite: 02/10/2023

Juliana Silveira Bilenki

Discente do curso de Medicina Veterinária
- Nível IV 2021 Faculdade IDEAU – Passo Fundo/RS.

Jefersson Caetano

Discente do curso de Medicina Veterinária
- Nível IV 2021 Faculdade IDEAU – Passo Fundo/RS.

Bihanca Fontana

Discente do curso de Medicina Veterinária
- Nível IV 2021 Faculdade IDEAU – Passo Fundo/RS.

Giovanna Severo Redante

Discente do curso de Medicina Veterinária
- Nível IV 2021 Faculdade IDEAU – Passo Fundo/RS.

Luiza Helena Parizotto

Discente do curso de Medicina Veterinária
- Nível IV 2021 Faculdade IDEAU – Passo Fundo/RS.

Ronaldo Schmidt Plaine

Discente do curso de Medicina Veterinária
- Nível IV 2021 Faculdade IDEAU – Passo Fundo/RS.

Leonardo Porto Alves

Docente do Curso de Medicina Veterinária
- Faculdade IDEAU – Passo Fundo/RS.

Eduardo Rebelato Sakis

Docente do Curso de Medicina Veterinária
- Faculdade IDEAU – Passo Fundo/RS.

Bárbara Thaisi Zago

Docente do Curso de Medicina Veterinária
- Faculdade IDEAU – Passo Fundo/RS.

RESUMO: Para que as aves tenham seu crescimento adequado é de grande importância que o proprietário esteja atento ao bem-estar das aves, o que engloba o fornecimento de ração, fornecimento de água, iluminação, temperatura, ventilação, nutrição, vacinação e saúde. O objetivo da dieta para frangos de corte é suprir suas necessidades nutricionais durante o seu ciclo de vida. O alimento é o maior custo nessa produção. Sabe-se que além de manejo e nutrição adequados, o uso dos programas de luz tem sido usado para proporcionar condições de ambiente diferentes em busca de obter um maior ganho de peso e uma melhor conversão alimentar. Há três classificações para os programas de luz, são elas a luz intermitente, crescente e contínua. Neste trabalho se objetivou relatar o caso de quatro aves, duas criadas com o programa de luz e as duas outras sem o

uso dessa técnica, para avaliar e comparar o desenvolvimento de cada grupo de aves.

PALAVRAS-CHAVE: Aves, Luz, Intermitente, Peso, Nutrição.

ABSTRACT: For the birds to have their proper growth, it is of great importance that the owner is attentive to the welfare of the birds, which includes the supply of feed, water supply, lighting, temperature, ventilation, nutrition, vaccination and health. The purpose of the diet for broilers is to meet their nutritional needs during their life cycle. Food is the biggest cost in this production. It is known that in addition to proper management and nutrition, the use of light programs has been used to provide different environmental conditions in search of greater weight gain and better feed conversion. There are three classifications for the light programs, they are flashing, increasing and continuous light. This study aimed to report the case of four birds, two created with the light program and the other two without the use of this technique, to evaluate and compare the development of each group of birds.

KEYWORDS: Birds, Light, Intermittent, Weight, Nutrition.

1 | INTRODUÇÃO

De acordo com a Associação Brasileira de Proteína Animal (2022), o Brasil é o maior exportador de carne de frango do mundo, sendo assim, é inegável que se deve ter avanços dentro da nutrição, sanidade e manejo, sendo que a técnica de programa de luz vem se mostrando eficiente para a avicultura. Dentre os benefícios que a técnica apresenta, regular o consumo de alimento das aves, maior ganho de peso de forma rápida e melhor qualidade da carcaça, são alguns exemplos visíveis na prática, além de poder ser uma forma para reduzir os custos em granjas.

Atualmente há artigos, como o Programa de Luz para Frangos de Corte, escrito por Karen Schwean-Lardner e Dr. Hank Classen, escrito em 2010, que relatam o uso de programas de luz contínuas e intermitentes em diversas intensidades, sendo que o programa de luz constante é através de um fotoperíodo durante toda a vida da ave, enquanto o intermitente é com o ciclo repetido de luz e escuro durante 24 horas e também há o programa de luz crescente, em que se aumenta o fotoperíodo de acordo com a idade da ave, sendo através de um fornecimento de uma série de fotoesquemas.

Para que se tenha um alto desempenho é preciso que se tenha um ambiente com termoacústicas e luminosas para os animais, para que supra suas necessidades. Logo, a iluminação nos aviários interferem no aumento da produção, já que em frangos de corte, a luz está relacionada com o crescimento, devido ao estímulo da glândula pituitária que produz hormônios. Então, o objetivo deste trabalho é relatar o caso de duas aves, uma criada com o programa de luz e outra sem o uso dessa técnica, afim de avaliar e comparar o desenvolvimento de cada ave.

2 | DESENVOLVIMENTO

Esta base teórica tem por objetivo mostrar as diferentes ideias e colocações de autores sobre o tema abordado. Nesta parte, serão abordados assuntos como a avicultura nacional e mundial, o ciclo das aves de corte, alimentação e programas de luz.

2.1 Avicultura Nacional e Mundial

Antigamente, a avicultura no Brasil teve início através de produtores que criavam animais com o intuito de utilizá-los para a subsistência, consequentemente, também era uma forma de gerar renda para muitas famílias. Porém, em torno de 1930, rapidamente a avicultura começou a se tornou algo comercial, tendo seu marco nos anos de 1950, quando foi deixado para trás a antiga avicultura comercial, assim, começou os estudos para que houvesse o melhor aproveitamento da atividade (TAVARES et al., 2007; RODRIGUES et al., 2014).

Dessa forma, grandes empresas especializadas na produção de frango cresceram no mercado nos anos de 1970, trazendo uma maior evolução e técnicas para o mercado. No estado de Santa Catarina, por exemplo, foi adotado o sistema de Integração Vertical, uma parceria entre frigoríficos e produtores, onde o avicultor tinha apoio da indústria para receber as principais matérias-primas para a criação das aves (ZEN et al., 2014).

Pouco depois, a região Sul do país ganhou destaque na avicultura, desempenhando um grande papel dentro da exportação agrícola do país, desse modo, o Brasil começou a ganhar destaque no mercado mundial, principalmente devido a técnicas como a Inseminação Artificial e a Transferência de Embriões, que colaboraram para bons resultados na avicultura do país. Em seguida, para atender as expectativas das importadoras, as empresas exportadoras começaram a investir mais em avanços tecnológicos para aumentar a produtividade da cadeia de produção (VOGADO et al., 2016).

Assim, contribuiu para consolidar padrões de manejo, e a preocupação com a biossegurança, sanidade e qualidade da proteína, o que favoreceu o Brasil no mercado competitivo do exterior. Atualmente o Brasil segue sendo o primeiro país exportador de carne de frango no mundo, sendo que em 2021 a produção chegou a 14.329 mil ton, e em exportações foram 4.610 mil ton, como é possível ver na (Figura 1) (ABPA, 2022).

MERCADO MUNDIAL

MERCADO MUNDIAL DE CARNE DE FRANGO (Mil ton)

PRODUÇÃO

Total

2020: 99.063 | 2021: 99.901



EXPORTAÇÕES	2020	2021
Brasil	4.231	4.610
EUA	3.376	3.367
União Europeia (27)	2.033	1.780
Tailândia	941	930
Turquia	440	470
Outros	2.043	1.932

Fonte: USDA/ABPA

IMPORTAÇÕES	2020	2021
Japão	1.005	1.050
México	842	930
China	999	785
União Europeia (27)	663	615
Reino Unido	664	625
Outros	6.538	6.489

Figura 1: Mercado Mundial de Carne de Frango.

Fonte: ABPA, 2022.

2.1.1 Ciclo das Aves de Corte

Para que as aves tenham seu crescimento adequado é de grande importância que o proprietário esteja atento ao bem-estar das aves, o que engloba o fornecimento de ração, fornecimento de água, iluminação, temperatura, ventilação, nutrição, vacinação e saúde. Então, para se ter um bom desempenho comercial é indispensável que se tenha um padrão de bem-estar, visando obter aves que alcancem o peso desejado facilmente, consequentemente terão um bom rendimento e não haverá muitas perdas na unidade de processamento (AVILA et al., 2007).

Uma vez que as aves recebam o manejo inicial de forma adequada, elas conseguem ter uma boa base que é necessária para sua formação, podendo ter 30 a 40 gramas a mais de peso vivo no processamento, se houver um ganho de cinco gramas no peso aos sete dias. Logo, antes de receber os pintos é importante assegurar a limpeza e desinfecção de todo o aviário, e fazer o pré-aquecimento com a temperatura do ar em torno de 30°C e a temperatura na borda da proteção da campânula deve estar com 32°C, enquanto a o

piso deve ter 28 a 30°C e a umidade entre 60 a 70% para garantir o conforto dos mesmos (COBB, 2008).

Com a chegada dos pintos tem que verificar as condições ambientais para que se tenha o desenvolvimento e apetite adequada, certificando a que a taxa mínima de ventilação esteja definida, evitando correntes de ar, a intensidade de luz também deve estar em um nível que seja possível ter a ingestão de ração e água, devendo ser uniforme em todo o alojamento. E em seguida examinar o comportamento dos pintos nas primeiras duas horas, para ter certeza que o alojamento está nas condições corretas, e em seguida fazer a pesagem a granel de uma amostra de pintos, calculando a média de peso corporal (AVIAGEN, 2018).

Com 0-3 dias de vida é necessário fornecer 23 horas de luz e uma hora sem para os primeiros sete dias depois que foram alojados e verificar se os papos estão cheios para saber se eles conseguiram encontrar a ração e água, na (Figura 2) é possível ver o tempo de verificação do papo cheio e a verificação ideal. Enquanto que com 4-6 dias se inicia a mudança de comedouros e bebedouros para automáticos, e aos poucos se retira a ração em papel e em bandejas (AVIAGEN, 2018).

Tempo de verificação do papo cheio	Verificação ideal do papo cheio (% de pintos com papos cheios)
2 horas	75
4 horas	80
8 horas	> 80
12 horas	> 85
24 horas	> 95
48 horas	100

Figura 2: Verificação do papo cheio.

Fonte: Aviagen, 2018.

Aos 7-13 dias começa a passagem da ração inicial para a de engorda, então é necessário verificar a qualidade física da alimentação e ajustar o comedouro de acordo com o crescimento das aves e fornecer a intensidade de luz de 5 a 10 lux durante o período com luz. Enquanto que com 21-27 dias se realiza a transição da ração de engorda para a final, para que a transição seja aos poucos entre as rações, sem que haja interrupção no fornecimento, e deve-se pesar individualmente uma amostra de aves aos 21 dias (AVIAGEN, 2018; ABREU et al., 2021).

E por fim, com 35 dias até o final se faz a pesagem individual de uma amostra de aves semanalmente, e por seguinte, na gestão do pré-processamento se restringe o acesso das aves aos comedouros, mas mantendo o acesso a água, além de que se deve

fornecer 23 horas de luz e uma hora sem durante três dias antes da captura, garantindo para que a intensidade de luz seja restringida durante a captura. Antes da retirada não se deve esquecer de calcular o período da retirada da ração, que inclui o período da ave sem alimento, tempo de captura, tempo de transporte e área de espera, para proporcionar a segurança alimentar (FIGUEIREDO et al., 2007).

2.1.2 Alimentação

O objetivo da dieta para frangos de corte é suprir suas necessidades nutricionais durante o seu ciclo de vida. O alimento é o maior custo nessa produção. As rações de frango são formuladas de acordo com sua fase, para manter o equilíbrio entre proteína, energia, minerais e vitaminas (AVIAGEN, 2018).

No período de incubação a fonte de nutrientes para os pintos é o ovo, após a eclosão sua fonte de nutrientes passa ser a ração, essa deve ser de grande qualidade pois na fase inicial o consumo é menor e também ter a capacidade de desenvolver o apetite dos pintos. Deve ser fornecida em bandejas ou sobre folhas de papel para que os pintos tenham um fácil acesso. Esse papel deve estar localizado próximo aos comedouros e bebedouros automáticos para facilitar a transição, começando a ser removido após o terceiro dia. (AVIAGEN, 2018).

Após 14 dias pode começar a ser fornecida a ração de engorda que além de textura diferente tem densidade diferente de nutrientes, principalmente de aminoácidos e energia, os frangos nessa fase terão um rápido crescimento. Se atenta aos cuidados nessa transição de ração para que não se tenha uma diminuição no consumo. A ração final será fornecida com cerca de 25 dias, é a fase que terá mais consumo e essa ração deve ser pensada no retorno financeiro (AVIAGEN, 2018). Com o melhoramento genético das aves basta ter uma dieta balanceada para ter um bom desenvolvimento, tendo também como aliado a sanidade (HEINZEN, 2006).

2.1.3 Programa de luz

Sabe-se que além de manejo e nutrição adequados, o uso dos programas de luz tem sido usado para proporcionar condições de ambiente diferentes em busca de obter um maior ganho de peso e uma melhor conversão alimentar. Há três classificações para os programas de luz, são elas a luz intermitente, crescente e contínua. No programa com luz intermitente se tem ciclos de luz e escuro repetidos durante as 24 horas, imagina-se que se tenha assim uma sincronia entre o alimento consumido e a passagem pelo sistema digestivo dos frangos (ABREU, 2006).

Em programas de luz crescente o fotoperíodo é aumentado conforme os frangos vão avançando na idade, pelo fotoperíodo ser curto no começo não se tem um consumo de ração e um ganho de peso tão alto, não afetando assim o desenvolvimento esquelético,

se observa que frangos expostos a esse tipo de fotoperíodo tem maior produção de androgênios o que explicaria o ganho compensatório na fase final. Dentro do programa de luz constante se tem o mesmo fotoperíodo durante todo o ciclo, deixando o acesso ao cocho durante o dia todo, crendo que as aves em intervalos regulares acabam consumindo pequenas quantidades (COBB, 2008).

O período escuro tem sua importância para a conversão alimentar, pois é a energia conservada durante o descanso que leva a ela (AVIAGEN, 2012). A variação entre período de luz e escuro induz a produção de melatonina que tem importância imunológica. A melatonina é um potente antioxidante, reduzindo a destruição de células do corpo realizando a baixa dos radicais livres, por tanto ajuda a manter as células saudáveis (COBB, 2008).

O programa de luz deve ser adaptado de acordo com o local e o objetivo do produtor, a má utilização desse programa pode comprometer o ganho de peso diário, a luminosidade e o período de luz influenciam diretamente na atividade dos frangos. É de suma importância observar o desempenho das aves, a dieta e o consumo para se ver a viabilidade do programa de luz (AVIAGEN, 2010).

2.2 Material e Métodos

Devido à natureza dos dados coletados, a pesquisa é de cunho quantitativo, pois buscou-se entender como a influência na luz diária das aves influencia no ganho de peso final, comparando os resultados com a literatura científica.

Para a pesquisa foram utilizados 4 frangos com aptidão de corte, oriundos da cidade de Guaporé-RS, das 4 aves, 2 foram para a instalação 1 (I1), estes com luz natural e 2 foram para a instalação 2 (I2), estes com luz artificial. As instalações foram preparadas antes de sua chegada, com piso forrado de cama de maravalha, o tamanho do ambiente de 30x40cm² para cada instalação, com temperatura ambiente a I2 usou-se de lâmpada LED Luz branca fria 9w, onde a temperatura não modifica, a água foi fornecida por bebedouro de plástico automático com rosca um para cada instalação, foi feita a limpeza e troca de água uma vez por dia (Figura 1).

As aves chegaram com 1 dia de idade no dia 06 de setembro de 2022 (Figura 2), e ficaram alojadas até última pesagem no período de 35 dias, sendo fornecido ração inicial para aves de 1-15 dias de idade, e ração final com 15-35 dias. Este trabalho foi realizado no período de inverno, quando a luz solar atinge a instalação às 6 horas, e se põe 18:30 horas conforme a Figura 1A. As aves da I2 receberam luz artificial, sendo utilizado o programa de luz contínuo, de acordo com Figura 1 B. As aves foram pesadas, a I1 peso inicial frango 1, 0,46kg e frango 2, 0,48kg, na I2 peso inicial frango 1, 0,41kg e frango 2, 0,40kg.

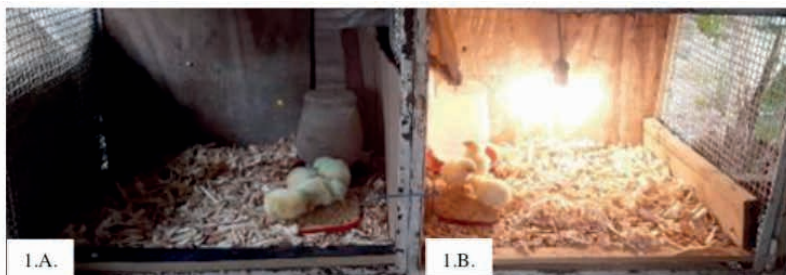


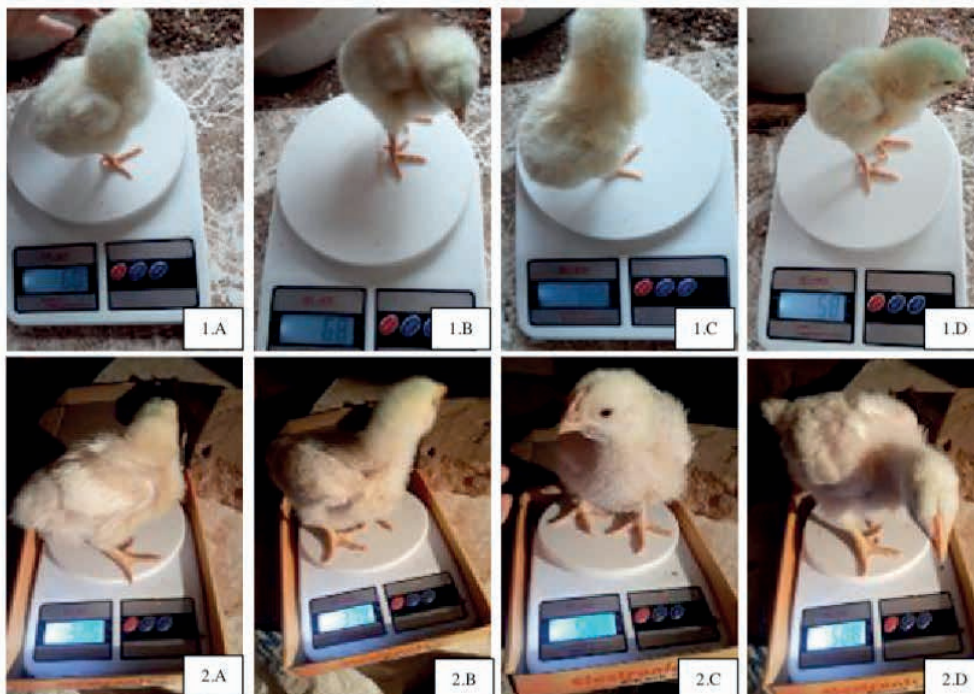
Figura1. 1A: Instalação 1, luz natural. 1B: Instalação 2, luz artificial.

<i>Idade</i>	<i>Luz (horas)</i>	<i>Escuro (horas)</i>
1-35 dias	12:30	11:30

Quadro 1. Horas de luz e escuro conforme a idade, oferecidas na instalação 1.

<i>Idade</i>	<i>Luz (horas)</i>	<i>Escuro (horas)</i>
1 dia	24	0
2-7 dias	23	1
8-35 dias	20	4

Quadro 2. Horas de luz e escuro conforme a idade, oferecidas na instalação 2.





Imagens pesagens frangos:

Foto 1: frangos com 3 dias: 1.A: I1 frango 1, peso 0,60kg. 1B: I1: Frango 2, peso 0,68 kg. 1C: I2 frango 1, peso 0,62 kg. 1D: I2 frango 2, peso 0,58 kg

Foto 2: frangos com 12 dias: 2.A: I1 frango 1, peso 0,325kg. 2B: I1: Frango 2, peso 0,379 kg. 2C: I2 frango 1, peso 0,567 kg. 2D: I2 frango 2, peso 0,508 kg

Foto 3: frangos com 35 dias: 3.A: I1 frango 1, peso 1,337kg. 3B: I1: Frango 2, peso 1,499 kg. 3C: I2 frango 1, peso 2,125. 3D: I2 frango 2, peso 2,074 kg

2.3 Resultados e Discussão

Conforme a pesquisa, obtivemos o resultado de que as aves criadas em luz artificial chegaram ao peso maior nos 35 dias de vida por se alimentarem em períodos luminosos, os frangos da I2 consumiram mais alimento, quando comparadas àquelas criadas em luz natural. Conforme Karen Schwean-Lardner e Dr. Hank Classen o artigo Programa de Luz para Frangos de Corte, propõe que o fotoperíodo apresenta grande efeito no ganho de peso do frango, quando se limita o tempo em que as aves têm acesso visual aos comedouros e bebedouros, usando de fotoperíodos curtos, reduz a taxa de crescimento pelo menor tempo para comer, um fotoperíodo mais prolongado permite acesso praticamente constante ao alimento e a água, favorecendo maior consumo e portanto o desenvolvimento da ave.

Idade	Instalação 1		Instalação 2	
	Frango 1	Frango 2	Frango 1	Frango 2
1 dia	0,46 kg	0,48 kg	0,41 kg	0,40 kg
3 dias	0,60 kg	0,68 kg	0,62 kg	0,58 kg
7 dias	0,100 kg	0,125 kg	0,164 kg	0,146 kg
12 dias	0,325 kg	0,379 kg	0,567 kg	0,508 kg
22 dias	0,774 kg	0,813 kg	1434 kg	1337 kg
30 DIAS	1.102 kg	1175 kg	1889 kg	1761 kg
35 DIAS	1.306 kg	1499 kg	2125 kg	2074 kg

Quadro 3. Pesos das aves obtidos em cada pesagem.

3 | CONCLUSÃO

Conclui-se que o trabalho obteve seus resultados esperados, onde as aves criadas com luz artificial obtiveram mais peso em comparação às aves criadas em luz natural.

A formulação da ração foi a mesma para ambas, o fornecimento de água e calor foram os mesmos também, as aves criadas em luz natural dormiam um período maior, se alimentando no período em que passavam acordadas.

Observou-se que a luz artificial induz as aves a se alimentarem mais e dormirem apenas o necessário, sendo assim ingerem mais alimento e ganham mais peso.

REFERÊNCIAS

ABREU, V. M. N. et al. Influência da Cortina e do Programa de Luz no Desempenho Produtivo de Frangos de Corte e no Consumo de Energia Elétrica. Concórdia-SC, dez./2006.

AVILA, V. S. D. et al. Boas Práticas de Produção de Frangos de Corte. Concórdia, SC, set./2007.

AVIAGEN. Manejo da Fase de Crescimento: Frango de Corte, jan./2012.

AVIAGEN. Frangos de Corte: Manual de Manejo, 2018.

ABREU, V. M. N.; AVILA, V. S. D. Frangos de Corte: Comedouros e Bebedouros, dez./2021.

ABPA. Relatório Anual, 2022.

COBB – VANTRESS BRASIL, LTDA. Manual de manejo de frangos de corte, abr./2008.

EMBRAPA. Recomendações Técnicas para a produção, abate, processamento e comercialização de frangos de corte coloniais, nov./2007.

FIGUEIREDO, E. A. P. D. et al. Recomendações técnicas para a produção, abate, processamento e comercialização de frangos de corte coloniais, nov./2007.

HEINZEN, Leonardo Ferreira. A realidade em uma pequena empresa da avicultura catarinense. Florianópolis, ago./2006.

RODRIGUES, W. O. P. et al. Evolução da Avicultura de Corte no Brasil. Dourados, MS, jul./2014.

SCHWEAN-LARDNER, Karen; CLASSEN, Dr. Hank. Programa de Luz para Frangos de Corte, 2010.

TAVARES, L. D. P; RIBEIRO, K. C. D. S. Desenvolvimento da Avicultura de Corte Brasileira e Perspectivas Frente à Influenza Aviária. Minas Gerais, jun./2007.

VOGADO, G.M.S. Evolução da Avicultura Brasileira, 2016.

ZEN, D.S.D. et al. Evolução da Avicultura no Brasil, 2014.

ARIADNA FARIA VIEIRA - Engenheira Agrônoma pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Mestra em Produção Vegetal pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e Doutora em Genética e Melhoramento de Plantas pela Universidade Federal de Goiás (UFG). Atualmente é docente do curso de Engenharia Agrônoma da Universidade Estadual do Piauí (UESPI). Possui experiência em Genética e Melhoramento de plantas e atua no desenvolvimento de pesquisas na área de melhoramento e fitotecnia.

LEONARDO FRANÇA DA SILVA - Engenheiro Agrônomo pela Universidade Federal De Minas. Mestre em Agronomia pela Universidade Estadual Paulista -UNESP. Atualmente, é pesquisador de Doutorado em Engenharia Agrícola (Construções Rurais e Ambiência) pela Universidade Federal de Viçosa e membro colaborador do Núcleo de Pesquisa em Ambiência e Engenharia de Sistemas Agroindustriais - AMBIAGRO- UFV. Além de ser aluno de pós graduação lato sensu em Engenharia de Segurança do Trabalho, Engenharia de Produção. Possui experiência nas áreas de Engenharia agrícola, com ênfase em Engenharia de Construções Rurais, Desenvolvimento rural, Sustentabilidade em sistemas de produção (Agrícola / Animal), Segurança do trabalho e Ergonomia.

VICTOR CRESPO DE OLIVEIRA - Engenheiro Agrícola pela Universidade Federal de Lavras, especialista em Análise de Dados, mestre em Engenharia Agrícola pela Universidade Federal de Viçosa. Atualmente é pesquisador de doutorado em Engenharia Agrícola na Universidade Estadual Paulista (UNESP), atuando na integração de novas tecnologias da informação no campo. Possui experiência internacional no desenvolvimento de projetos científicos e atua diretamente no desenvolvimento de pesquisas na área de Construções Rurais e Ambiência e Uso de Inteligência Artificial na Agricultura.

A

ABTS 11, 12, 13, 15, 16, 17, 23

Aceptación 84, 89

Açúcar 102, 103, 104, 105, 106, 107, 109, 110, 112, 113

Adsorción 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57

Agri-food by-products 186, 187, 188

Arcilla 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58

Artemia biomass 186, 187, 188, 189, 190, 192, 193, 194, 195

Aves 44, 172, 196, 198, 202, 205, 208, 209, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 221, 222

Azul de metileno 48, 55, 56

B

Banco genômico 60

Biscoito 102, 103, 104, 107, 109, 111, 112

Bovinocultura 25, 26, 37, 38, 46

Brazo 156, 157, 158, 159, 160, 161

C

Calêndula 12

Camuflagem física 1

células-tronco 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184

Células-tronco 178, 179, 180, 184

Cinética 47, 48, 49, 51, 53, 57

Controle biológico 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8

Cor 12, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 109, 111

Costo 49, 115, 157, 159, 160, 161, 171

Cúrcuma 12

Curso Nematologia 116

D

DPPH 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17

E

Enzima exógena 197

Equinos 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184

Ética 26, 28, 29, 32, 34, 37, 38, 46

F

Fermentación 84, 85

Fertilización de cultivos 146

Fitato 196, 197, 202, 203, 204, 205, 206

Fósforo fítico 197, 203

G

Genômica 59, 60, 62, 70

H

High animal protein quality 186

I

Interação predador-presa 1, 6, 7

Intermitente 213, 214, 218

L

Laminite 179

Leche 84, 85, 86, 92

Loja 156, 157, 158, 160, 161, 162

Luz 49, 142, 166, 213, 214, 215, 217, 218, 219, 220, 221, 222

M

Maíz duro 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162

Mano de obra 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162

Marcadores moleculares 59, 60, 61, 62

Médico veterinário 26, 27, 28, 32, 34

Morte 6, 26, 27, 32, 33, 34, 35, 36, 38, 45, 46

N

Nematodos parásitos de plantas 115, 116, 117, 121

Nutrição 7, 104, 196, 201, 204, 206, 207, 208, 213, 214, 216, 218

O

Óleo de linhaça 12

P

Peso 31, 43, 64, 88, 137, 138, 140, 199, 202, 213, 214, 216, 217, 218, 219, 221,

222

Produtor rural 26

Programa analítico 116, 117, 118, 119

Proteína 63, 64, 67, 73, 80, 83, 84, 85, 87, 88, 89, 90, 91, 186, 187, 200, 203, 214, 215, 218

Pseudococcidae 1, 2, 4

S

Sensorial 83, 84, 88, 91, 92, 94, 104, 112

Sistemas de duas fases aquosas 197, 198, 199, 200, 210

T

Tendinite 179, 182, 184, 185

Textura 12, 102, 103, 104, 111, 123, 218

V

Volume 2, 102, 103, 104, 105, 106, 108, 109, 110, 111, 194

AVANCES CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS EN **CIENCIAS AGRÍCOLAS**



www.atenaeditora.com.br



contato@atenaeditora.com.br



[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)



www.facebook.com/atenaeditora.com.br

AVANCES CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

 www.atenaeditora.com.br
 contato@atenaeditora.com.br
 [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)
 www.facebook.com/atenaeditora.com.br

 **Atena**
Editora
Ano 2023