



ETSIA

Escuela Técnica
Superior
de Ingeniería
Agronómica



ESCUELA
INTERNACIONAL DE
DOCTORADO

WiA:21



Universidad
Politécnica
de Cartagena

Proceedings of the 10th WORKSHOP ON AGRI-FOOD RESEARCH for young researchers



Proceedings of the
10th WORKSHOP ON
AGRI-FOOD RESEARCH
for young researchers



Acknowledgements

The Organizing Committee acknowledges the Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica -ETSIA- and the Institute of Plant Biotechnology -IBV- of the Universidad Politécnica de Cartagena – UPCT- their assistance in making possible this event. Funding received from the International Doctorate School of the UPCT is also appreciated.

©2021 Programa de Doctorado en TAIDA
©2021, Universidad Politécnica de Cartagena
Ediciones UPCT
Plaza del Hospital,1
30202 Cartagena
968325908
ediciones@upct.es

Primera edición, 2021
ISBN: 978-84-17853-47-1

Cover photo credits: Francisco Artés-Hernández, Juan A. Fernández-Hernández & Josefina Contreras

Technical Editors / Organizing and Scientific Committee

Dr. Francisco Artés-Hernández (Convener)
Dr. Juan A. Fernández-Hernández
Dr. Raúl Zornoza Belmonte
Dra. María Dolores de Miguel Gómez
Dr. José Miguel Molina Martínez
Dr. Juan José Alarcón Cabañero
Dr. José Enrique Cos Terrer

Doctorate Program in Advanced Techniques for Research and Development in Food and Agriculture (TAIDA). International Doctorate School (EINDOC). Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT)

<https://estudios.upct.es/doctorado/3470/inicio>



Esta obra está bajo una licencia de Reconocimiento-NO comercial-SinObraDerivada (by-nc- nd): no se permite el uso comercial de la obra original ni la generación de obras derivadas. http://es.creativecommons.org/blog/wp-content/uploads/2013/04/by-nc-nd.eu_petit .png

Prefaces

As Convener of the Organizing and Scientific Committee of the 10th Workshop on Agri-food Research for young researchers (WIA2021), and Coordinator of the Doctoral Program in Advanced Techniques for Research and Development in Food and Agriculture (TAIDA), I feel very proud of the excellent scientific progress of our PhD students, based on the high quality of the presentations made.

The WIA2021 was virtually held on June 21st 2021, with more than 50 participants from the Agri-food sector who presented their advances in the research activities during the last year. It was an international event connecting our young researches from several countries. The oral presentations showed a great scientific interest and revealed the outstanding potential of the Research Teams involved in the Program. We believe that it is particularly necessary that PhD candidates acquire the skills to summarize and disseminate their results to a diverse audience in a limited time, as usually happens in the presentations at scientific meetings. PhD candidates had their opportunity to briefly present their Thesis topic, trying to interact with other researchers looking for synergies and possible cooperation among research groups.

The world, and in particular the companies, will have to rebuild itself after this COVID-19 pandemic by developing and applying technology, so the investment in R&D and innovation will surely grow in order to progress. Agri-food development is of particular interest, where without continuous R&D we will not be able to supply the needs of the world population. Therefore, the PhD training offered in this program is very important to undertake this 'Technological Revolution' that awaits us in the coming years.

Prof. Francisco Artés-Hernández, PhD

Convener of the 10th Workshop on Agri-food Research (WIA2021)

Universidad Politécnica de Cartagena, Spain

Once again, the "Doctoral Program in Advanced Techniques for Research and Development in Food and Agriculture (TAIDA)" has demonstrated its ability to attract the attention of pre-doctoral researchers by participating in the "Workshop on Agri-food Research for young researchers (WIA)", thus providing the doctoral students with a fantastic tool to, not only transmit the progress of their thesis work to the scientific community, but also to contribute to the transversal training that is so important in university education, and even more so in doctoral studies. One of the skills that doctoral students must acquire is to be able to communicate to the academic and scientific community, and to society in general, the progress made in their fields of knowledge. At the same time, they must be able to criticize and defend proposed solutions. The ability to transmit research results is as important as the research itself. There is no point in having great results if you are not able to pass them on to the scientific community so that each contribution is one of those cogs in the complex machinery of scientific and technological progress. To be able to keep this congress alive for ten consecutive years is an achievement whose merit goes first and foremost to its organisers. But it is also an achievement on the part of the doctoral students without whose contribution, an event of these characteristics would not have been sustained over time. I would like to thank the Committee of the TAIDA Program, the PhD students and their supervisors, and the staff of the Agronomical Engineering School of the Universidad Politécnica de Cartagena for their hard work, which has made it possible to organise a new edition of this workshop. I encourage them all to continue to work so successfully for the benefit of our PhD students in the future.

Prof. Pedro Sánchez Palma, PhD

Director of the International Doctoral School- EINDOC

Universidad Politécnica de Cartagena, Spain

As Vice-Rector for Research, Transfer and Dissemination it is a pleasure to be able to dedicate a few words to the Proceedings of the 10th Workshop on Agri-food Research for young researchers (WIA2021). Firstly, I would like to congratulate the Committee of the TAIDA Program led by Prof. Francisco Artés-Hernández for having reached the tenth edition of this event, an anniversary still marked by the pandemic but that despite the adverse circumstances has turned out to be a success. Conferences like this allow young researchers to show part of the results of their theses to other PhD colleagues and other senior researchers. They are essays for their future presentations at national and international congresses. In fact, this year the presentation format for students in their first PhD year has been changed from a poster to a 3-minute oral presentation of the doctoral thesis, which is much more dynamic although it means a greater effort for the doctoral candidate, but which results in the training of some of the skills they must acquire as PhD students. But in addition to demonstrating the ability of the PhD students to summarize and oral exposition, the purpose of the WIA is to open the discussion on the thesis projects they are carrying out. The discussion allows incorporating other points of view, correcting faults, or contributing ideas that can lead to reorienting the lines of work and establishing synergies between groups, which undoubtedly contributes to an enrichment and a higher quality of the thesis.

The TAIDA PhD program is one of the most competitive in the whole of UPCT, where more theses are presented per year and where the scientific production for each of them is higher, and that is thanks to the effort and dedication of the doctoral students and their supervisors. This is a model for excellence in research and we should carry out working in this way.

The UPCT management team is working hard to meet the objectives set out in the European University of Technology (EUt+) project and we believe that initiatives such as this can be exported to the consortium partners. In addition, we consider that in the Agri-food sector we are one of the pillars of the consortium so we must continue working in this line to position the UPCT as a benchmark in Agri-food research for the consortium and lead a future European Institute of Research along these lines. I am sure that we will achieve this with the enthusiasm and work of all PhD students, supervisors, and collaborators of the TAIDA doctoral program.

Prof. Catalina Egea Gilabert PhD

Vice-Rector for Research, Transfer and Dissemination

Universidad Politécnica de Cartagena, Spain

INDEX

ORAL SESSION I: Food Technology and Agri-food Economy

Effect of essential oil vapors on the shelf life of packaged fresh sliced mushrooms	
A. Navarro-Martínez*, G.B. Martínez-Hernández, A. López-Gómez.....	10
Sustainable food production and the importance of food labeling for consumer	
J.M. Donate-Hernandez*, M.D. de-Miguel	14
Quality and microbiological safety of microwave-cooked broccoli	
E. Paulsen*, D.A. Moreno, P.M. Periago, P. Lema	17
Effect of postharvest LED lighting in the phenolic content and scavenging free radicals in broccoli sprouts	
N. Castillejo*, L. Martínez-Zamora, P.A. Gómez, J.L. Pedreño-Molina, F. Artés, F. Artés-Hernández	21
Evaluation of technologies for the extraction of phenolic compounds of cocoa	
E. Acosta*, J.C. Mazo-Rivas, C. García-Viguera	25
Influence of microencapsulated extra virgin olive oil on quality and shelf life of refrigerated breaded meat products	
M. Barón-Yusty*, M. Ros-Chumillas, G.B. Martínez-Hernández, A. López-Gómez.....	29
Comparison of calafate with other native fruits of Chile with biological potential	
ME. Romero-Román*, MD. López, P.S. Fernández, C. García-Viguera	33

ORAL SESSION II: Plant Production Technology and Engineering

Evapotranspiration of lime trees in Mediterranean conditions	
A.B. Mira-García*, W. Conejero, J. Vera, M.R. Conesa, E. Nicolás, M.C. Ruiz-Sánchez.....	38
Developing of a low-cost device to collect data from agricultural sensors	
M. Forcen*, N. Pavón, J.A López, A. Pérez.....	42
Ca, B and Si application determining fruit physical quality in relation to aquaporins in <i>Prunus</i> species	
F.J. Quirante*, M.C. Martínez-Ballesta	46
Water stress preconditioning in melon by using biostimulants	
S. Zapata-García*, P.J. Espinosa-Jimenez, A. Pérez-Pastor.....	50
Estimating stomatal conductance in sweet cherry trees using thermal imaging	
P.J. Blaya-Ros*, R. Torres-Sánchez, V. Blanco, R. Domingo.....	54
Mineral nitrogen fertilization effect on broccoli crop yield and physiology	
P. Berríos*, A. Pérez-Pastor	58
Irrigation protocols in platerine trees according to irrigation water availability	
A. Temnani Rajja*, A. Pérez-Pastor	62

Evaluation of soil salinity indexes based on bulk electrical conductivity	
D. Bañón*, J.J. Alarcón, M.J. Sánchez-Blanco, S. Bañón.....	66
Rootstock-mediated differential responses in the antioxidative metabolism of pepper plants subjected to salinity stress	
A. Gálvez*, A. Albacete, F.M del Amor, J. López-Marín.....	70
ORAL SESSION III: Agri-food Biotechnology and Gardening	
Influence of the starting feedstock materials to obtain suppressive compost	
A. Hernández-Lara*, M. Ros, C. Egea- Gilabert, J.A. Pascual	75
Using legumes as intercropping to improve soil properties	
M. Marcos*, V. Sánchez, R. Zornoza	79
Development of the first standardized panel of microsatellites PCR multiplex for meagre (<i>Argyrosomus regius</i>)	
A. Vallecillos*, M. Soula, M.J. Zamorano, E. María Dolores, G. Ramis, J. Villa, F.M. Rueda, J.M. Afonso, E. Armero	83
A depth study of changed bacterial structure from soil under different cropping systems by co-occurrence network approach	
J. Cuartero*, O. Özbolat, V. Sánchez-Navarro, M. Egea-Cortines, R. Zornoza, JA. Pascual, JM. Vivo, C. Egea, M. Ros.....	87
Aphid-borne viruses infecting cultivated watermelon and squash in Spain: characterization of a variant of cucurbit aphid-borne yellows virus (CABYV)	
M.P. Rabadán*, M. Juárez, C. De Moya-Ruiz, P. Gómez.....	91
Development of ground truth dataset with phenotypic data analysis and their application in agriculture and research	
M.V. Díaz-Galián*, P.J. Navarro Lorente, M. Egea-Cortines.....	95
Ability of trees for microclimatic regulation the San Ginés de la Jara park (Cartagena)	98
J.P Toledo*, J.A. Ros, P. Calaza, J. Ochoa	
Development of a vertical pot for urban gardening.....	102
A. Navarro*, J.A. Ros, J. Suardiaz, J. Ochoa	

Organizers



Universidad
Politécnica
de Cartagena



Collaborators



ORAL SESSION I:
Food Technology and
Agri-food Economy

Effect of essential oil vapors on the shelf life of packaged fresh sliced mushrooms

Efecto de vapores de aceites esenciales sobre la vida útil del champiñón laminado envasado refrigerado

A. Navarro-Martínez*, G.B. Martínez-Hernández, A. López-Gómez

Grupo de Ingeniería del Frío y la Seguridad Alimentaria, Departamento de Ingeniería Agronómica, ETSIA, Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Murcia. Spain.

*alejandra.navarro@upct.es

Abstract

The packaged fresh sliced mushroom (*Agaricus bisporus*) stored in refrigeration has a short shelf life that can be reduced due to browning. Tissue oxidation and browning can be reduced through essential oils (EOs) treatment, even at low concentrations. In this work, the effect of essential oils vapors treatment on fresh sliced mushroom preservation has been studied. The sliced mushroom treated with EOs vapors showed better control of the spoilage microbiology, mainly of *Pseudomonas* spp. (approximately 1.7 log unit lower), less browning, greater firmness (30% higher) during the shelf life and a good sensory evaluation by the panelists. The product treated with EOs was highly appreciated by the panelists, without detecting significant alteration of the taste due to the EOs.

Keywords: *Agaricus bisporus*; browning; microbiology; firmness; eugenol.

Resumen

El champiñón (*Agaricus bisporus*) laminado, envasado y conservado en refrigeración, tiene una vida útil corta que puede verse reducida debido al pardeamiento. La oxidación de los tejidos y pardeamiento puede verse reducida mediante el tratamiento con aceites esenciales (AEs), incluso a bajas concentraciones. En este trabajo se ha estudiado el efecto de la aplicación de vapores de AEs en la conservación del champiñón fresco laminado. El champiñón laminado tratado con vapores de AEs presentó mejor control de la microbiología alterante (principalmente de *Pseudomonas* spp. con 1,7 unidades logarítmicas menos), menor pardeamiento y mayor firmeza (30% superior) durante la vida útil. El producto tratado con AEs fue muy apreciado por los panelistas, que no detectaron una alteración significativa del sabor debido a los AEs

Palabras clave: *Agaricus bisporus*; pardeamiento; microbiología; firmeza; eugenol.

1. INTRODUCCIÓN

El champiñón se consume en todo el mundo por su alto valor nutritivo (proteínas, aminoácidos esenciales, minerales, vitaminas del grupo B, etc.). La alta tasa respiratoria del champiñón es una de las principales causas que desencadenan las diferentes reacciones que conllevan a la rápida pérdida de calidad del champiñón, y consecuentemente corta vida útil (de 1 a 3 días a temperatura ambiente, 20-25°C) (1). El pardeamiento de los champiñones, debido fundamentalmente a la actividad de la enzima polifenoloxidasas (usando como sustratos los compuestos fenólicos), es otro parámetro de calidad que limita su vida útil en gran medida. Por otra parte, la pérdida de peso por deshidratación de los champiñones afecta intensamente a su textura "crocante". El crecimiento microbiano es también un importante factor debido a los altos niveles de contaminación de campo de este producto, siendo el principal grupo microbiano

Pseudomonas spp (2). Todos estos procesos de pérdida de calidad se ven incrementados cuando se procesa el champiñón, como es el caso del champiñón laminado. Es por ello por lo que se necesitan técnicas postcosecha eficientes y sostenibles para extender la vida útil de este producto tan perecedero.

Los aceites esenciales (AEs) son extractos naturales de plantas, ampliamente aceptados por el consumidor, los cuales poseen elevadas propiedades antimicrobianas y antioxidantes, entre otras muchas. En concreto, su alto efecto antimicrobiano está vinculado a diferentes compuestos como terpenos, terpenoides y compuestos aromáticos/alifáticos de bajo peso molecular (3). Debido a sus inconvenientes, como la baja solubilidad en agua para aplicarlos como tratamientos postcosecha, la aplicación de vapores de AEs combinado con atmósfera modificada (AM; generada consumiendo O₂ y acumulando CO₂ hasta alcanzar el equilibrio permitido por una difusión a través de un plástico de permeabilidad selectiva) son una excelente solución tecnológica para conseguir una alta difusión de los AEs sobre toda la superficie del producto y usar menores dosis de AEs evitando los indeseados sabores y olores extraños característicos de los AEs (4).

El objetivo de este experimento fue estudiar el efecto de diferentes dosis de vapores de AEs sobre la calidad de champiñón laminado envasado bajo AM. En concreto, se estudió la calidad fisicoquímica y microbiológica del producto durante 15 días de conservación a 4°C.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Material vegetal y tratamientos con vapores de AEs

Se utilizaron champiñones (*Agaricus bisporus*) laminados cedidos por la empresa Champinter (Villamalea, Albacete). El envasado de los champiñones bajo AM con vapores de AEs se realizó usando el equipo patentado por nuestro Grupo de Investigación (4), consistente en una envasadora (Efabind; Murcia) con un sistema vaporizador de AEs. Los vapores de AEs se mezclaron con aire sintético (Praxair; Murcia). Los AEs usados consistieron en una mezcla de eugenol-AE de bergamota-AE de pomelo (E: B: P) en proporción 3:1:1 (v:v:v), basado en el alto poder antimicrobiano de dicha mezcla observado en previos experimentos. Las dosis de vapores estudiadas fueron 75 µL de AEs por L de aire en envase, 100 µL L⁻¹ y 125 µL L⁻¹. Como control (CTRL) se usaron muestras envasadas sin AEs. Las muestras (150 g) se envasaron en tarrinas de 0,5 L de capacidad que se sellaron con la envasadora usando el plástico Cryovac® EOP616B film (Cryovac; Fuenlabrada). Las tarrinas con las muestras se conservaron a 4°C.

2.2 Análisis de calidad de las muestras

La calidad de las muestras se determinó a los 0, 2, 5, 7, 9 y 15 días de conservación. El pH de las muestras (extracto obtenido con 30 g muestra + 20 mL de agua destilada) se analizó con un pHmetro (Crison Basic20; Alella). La textura (máxima fuerza (N) registrada con velocidad de 50 mm min⁻¹) se determinó con un texturómetro tipo Instron (Ibertest eLib-5-W; Madrid) con una celda de Kramer. El color se midió con un colorímetro (Chroma Meter CR-300; Minolta; Ramsey NJ, EE.UU.). El análisis sensorial se realizó mediante un panel de cata formado por 5 catadores, habituados al consumo de champiñones, mediante una escala hedónica del 1-9, siendo 1 la muestra peor valorada y 9 la mejor (5). La carga microbiana de *Pseudomonas* spp. se analizó mediante recuentos en placa de las unidades formadoras de colonias.

2.3. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el programa informático SPSS software (v.19; IBM; Nueva York, EE.UU.) usando un análisis estadístico ANOVA multifactorial (factores: tratamiento y tiempo de conservación) seguido de la prueba Tukey HSD a un nivel de confianza del 95%. Los datos se presentan como valores promedio con su desviación estándar (DE).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El pardeamiento de los champiñones se observa claramente a través del parámetro L^* (luminosidad). En cuanto al valor L^* , en el día 8 de conservación, límite de vida útil establecido por la empresa, los champiñones conservados con vapores de AEs tuvieron mayores valores de L^* mostrando la dosis de 125 el mayor valor (Tabla 1). Durante el resto de la conservación no hubo diferencias significativas entre tratamientos ($p>0,05$).

En cuanto a la firmeza, las muestras conservadas con AEs presentaron una mayor firmeza (30%) en el día 15 comparado con el CTRL en ese mismo día (Tabla 1). Esta mejor textura también fue observada en el análisis sensorial para el atributo de textura (Figura 1).

En el día 8 de conservación, los champiñones conservados con vapores de AEs fueron mejor valorados por su mayor blancura y mejor aspecto de acuerdo con los comentarios y valoración sensorial (Fig. 1). En cuanto al aroma, algunos panelistas detectaron un aroma diferente en los champiñones conservados con la dosis de 125 μ L de vapor de AEs/barqueta, pero no fueron rechazados (datos no mostrados). A partir del día 11, los panelistas rechazaron los champiñones CTRL, pero valoraron como aptos para el consumo los conservados con vapores de AEs, si bien en los días 13 y 15 estos champiñones ya presentaban un aspecto menos fresco y apetecible.

Respecto a los análisis microbiológicos, en el día 11 se registraron menores recuentos de *Pseudomonas* spp. (hasta 1,7 unidades logarítmicas menos) en los tratamientos de AEs (sin diferencias significativas entre ellos ($p>0,05$)) comparado con CTRL (Tabla 1). *Pseudomonas* spp. es una de las bacterias más encontradas en el champiñón y cuyo crecimiento afecta al color de los mismos (6). Así, el control en el crecimiento de estos microorganismos usando la AM con vapores de AEs contribuyó a un mayor control microbiológico del champiñón laminado extendiendo así su vida útil.

4. CONCLUSIONES

Los champiñones laminados envasados con vapores de AEs preservaron mejor la calidad de éstos y alargaron su vida útil debido a:

- Un menor pardeamiento, manteniendo el color blanco más tiempo.
- Mayor firmeza a partir del día 5 de conservación.
- Mayor control del crecimiento microbiano, principalmente de *Pseudomonas* spp.

Con todo ello, se plantea la conservación de champiñón laminado con AM con vapores de AEs como un método eficaz para preservar su calidad y vida útil.

5. AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la empresa Champinter por ceder las muestras para este experimento. La alumna Alejandra Navarro también agradece al Grupo de Ingeniería del Frío y de la Seguridad Alimentaria por la beca predoctoral de la que disfruta.

6. REFERENCIAS

1. Zhang K, Pu YY, Sun DW. Recent advances in quality preservation of postharvest mushrooms (*Agaricus bisporus*): A review. Trends Food Sci. Technol. 2018;78:72–82.
2. Simón A, González-Fandos E, Vázquez M. Effect of washing with citric acid and packaging in modified atmosphere on the sensory and microbiological quality of sliced mushrooms (*Agaricus bisporus* L.). Food Control. 2010 Jun 1;21(6):851–6.
3. Burt S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - A review. Int J Food Microbiol. 2004;94:223–53.
4. López-Gómez A, Ros-Chumillas M, Antolinos V, Buendía-Moreno L, Navarro-Segura L, Sánchez-Martínez MJ, et al. Fresh culinary herbs decontamination with essential oil vapours applied under vacuum conditions. Postharvest Biol Technol. 2019 Oct 1;156:110942.
5. Cliffe-Byrnes V, O'Beirne D. Effects of washing treatment on microbial and sensory quality of modified

atmosphere (MA) packaged fresh sliced mushroom (*Agaricus bisporus*). Postharvest Biol Technol. 2008 May 1;48(2):283–94.

6. Lagnika C, Zhang M, Mothibe KJ. Effects of ultrasound and high pressure argon on physico-chemical properties of white mushrooms (*Agaricus bisporus*) during postharvest storage. Postharvest Biol Technol. 2013 Aug 1;82:87–94.

Tabla 1. Evolución del parámetro L^* (luminosidad), firmeza (N) y *Pseudomonas* spp. (log UFC/g) en champiñones conservados a 4°C hasta 15 días (promedio±DE).

		Día 1	Día 5	Día 8	Día 11	Día 13	Día 15	
L^*	Control	87,75±2,70	87,72±1,44	86,54±1,17	83,66±3,31	81,49±3,18	84,17±1,96	
	LSD A = ns	75	86,09±2,08	85,81±1,65	87,43±1,58	85,37±2,39	85,04±2,49	84,26±2,19
	LSD B = 1,51 ‡	100	88,46±1,76	87,95±1,47	88,39±1,33	83,09±2,29	81,72±2,08	82,71±2,82
	LSD AxB = 3,03 ‡	125	87,57±2,06	86,92±2,55	89,00±1,40	83,79±2,85	83,88±1,92	83,63±2,86
Firmeza	Control	473,6±35,3	478,3±53,1	473,1±17,9	453,2±61,9	419,4±70,7	424,9±56,7	
	LSD A= 34,3 ‡	75	423,7±32,8	535,6±60,3	541,7±89,5	474,5±60,8	482,1±61,1	481,9±70,0
	LSD B = 48,5 ‡	100	460,4±41,4	615,7±90,0	623,8±69,2	471,6±43,5	415,2±55,5	548,7±94,7
	LSD AxB= 49,4 *	125	544,7±76,7	593,6±59,7	585,1±78,2	553,3±49,4	456,3±25,2	510,0±62,4
<i>Pseudomonas</i> spp.	Control	3,36±0,28	2,04±0,66	2,97±0,18	5,83±0,14	4,87±0,64	5,10±1,13	
	LSD A= 0,55 ‡	75	3,09±0,19	2,68±0,80	2,99±0,23	4,28±0,07	3,72±0,22	4,39±0,12
	LSD B = 0,40 *	100	3,20±0,28	2,47±0,25	2,52±0,30	4,08±0,15	3,93±0,42	6,15±0,19
	LSD AxB= 0,69 *	125	2,91±0,14	2,27±0,33	2,58±0,21	3,88±0,36	3,73±0,75	5,73±0,30

LSD: *least significant difference*; A: factor tratamiento; B: factor tiempo; ns: no significancia ($p>0,05$); *, †, ‡ significancia para $P \leq 0,05$, 0,01 y 0,001, respectivamente.



Figura 1. Evaluación sensorial en champiñones conservados 8 y 15 días a 4°C bajo diferentes tratamientos: control (azul), dosis 75 mg AEs (naranja), dosis 100 mg AEs (gris) y dosis 125 mg AEs (amarillo).

Sustainable food production and the importance of food labeling for consumer

Producción de alimentos sostenibles e importancia del etiquetado de alimentos frente al consumidor

J.M. Donate-Hernandez*, M.D. de-Miguel

Departamento de Economía de la Empresa, ETSIA, Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Murcia. Spain.

*chemadonate@gmail.com

Abstract

This paper exposes the need for a change in food production. The way of producing has changed under pressure from the policies of the European Union and The Green Deal, produce-use-throw away, it is not sustainable, the consumer wants food produced by companies that respect the environment, that their way of producing is through Circular Economy strategy and this change is perceived by the consumer as a positive attitude. Consumers also concerned about their health, look for foods that are as healthy as possible, since the relationship between a good diet and good health has been proven

Keywords: Circular Economy; healthy food; ecolabel; environmental awareness.

Resumen

Este trabajo expone la necesidad de un cambio en la producción de alimentos. La forma de producir ha cambiado, presionado por las políticas de la Unión Europea y El Pacto Verde, producir-usar-tirar, ya no es sostenible, el consumidor quiere alimentos manufacturados por empresas respetuosas con el medio ambiente, que su manera de producir sea mediante la estrategia de la Economía Circular y este cambio es percibido por el consumidor como un valor positivo. El consumidor también preocupado por su salud, busca alimentos lo más sanos posibles, ya que se ha comprobado la relación de una buena alimentación con la buena salud.

Palabras clave: Economía Circular; alimentación saludable; ecoetiqueta; conciencia medioambiental.

1. INTRODUCCIÓN

La producción económica del ser humano ha demostrado su repercusión negativa en el medio ambiente mediante el incremento de la emisión de gases de efecto invernadero. La acción de la agricultura y ganadería intensiva también contribuye a este hecho. La producción de alimentos está unida a la producción de gases efecto invernadero, en concreto el metano, producido por la ganadería y el óxido nitroso, que es un producto indirecto de fertilizantes nitrogenados y minerales, pero también se produce en todo proceso que lleva el alimento de la granja hasta llegar a nuestra mesa: producción, almacenaje, elaboración, envasado, etiquetado, transporte, etc. En los últimos años las pautas del cambio de consumo han favorecido el incremento de estos gases de efecto invernadero, especialmente en los países en vías de desarrollo debido mayor poder adquisitivo y mayor demanda de alimentos.

Una disminución de CO₂ se podría conseguir por un lado disminuyendo los residuos y por otro reduciendo el consumo de alimentos, en particular los que emitan mayor número de

emisiones en la producción alimentaria. Pero la agricultura es uno de los sectores que más afecta al medio ambiente. Europa tiene un importante reto, proveer un aumento de alimentos de un 70% en los próximos años y reducir el impacto ambiental por la fabricación y consumo de estos (1).

En 2021 la presidenta de la Comisión Europea anunció que para el año 2050 quería que Europa sea el primer continente climáticamente neutro. Por ello nace El Pacto Verde Europeo, para conseguir una transición climática. Entre los objetivos están el paso a una **economía circular**, reducir la contaminación, apoyar tecnologías respetuosas con el medio ambiente, así como el uso de la energía en el transporte, alimentación y agricultura, para apoyar los asuntos del sector agrícola surge en 2020 la estrategia “de la granja a la mesa” (2).

El etiquetado de alimentos es el medio por el cual el consumidor obtiene la única información del producto que está adquiriendo en el momento de compra, y está regido por el Reglamento (UE) 1169/2011 sobre la información facilitada al consumidor. En el año 1992 se crea la **ecoetiqueta**, orientada a implicar una relación las empresas y consumidores con el medio ambiente, y de esta manera conseguir que la producción de las empresas sea más sostenible. La reducción de envases de un solo uso, la disminución del desperdicio alimentario y la pérdida de alimentos también influye en que el alimento sea más sostenible y es medible mediante la huella ecológica de los alimentos (3).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Para la elaboración de este trabajo se ha examinado etiquetas de productos convencionales y ecológicos más habituales en la cesta de la compra.

Se ha desarrollado una encuesta en la que han participado unos 500 consumidores. Las encuestas se han realizado tanto de manera online como de modo presencial en los alrededores de los supermercados.

Esta encuesta disponía de un total de 27 preguntas con diferentes apartados:

1. Proceso de compra de productos alimentarios
2. Acción de compra de alimentos
3. Preocupación del consumidor por la salud
4. Hábitos de compra
5. Información de las etiquetas alimentarias
6. Desperdicio alimentario
7. Reciclado en el hogar

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tras leer y comprobar las etiquetas de alimentos más habituales en la cesta de la compra y comprobar con las encuestas, se han obtenido los siguientes resultados:

- 1) Que más del 80% de los encuestados demandan más información en las etiquetas referentes a un mayor compromiso medioambiental por parte de las empresas, pero menos del 1% de los productos la contienen en sus etiquetas.
- 2) Respecto a los envases, un 50% de los encuestados quiere saber qué hacer con su envase, un 5% de las etiquetas te da una solución breve de que uso darle.
- 3) Un 95% prefiere que le indiquen en las etiquetas la ración por persona, un 60% indican las raciones pero no de manera clara.

4. CONCLUSIONES

Se ha determinado que no existe una actitud clara de los fabricantes a la hora de apostar por una producción sostenible en la producción de alimentos.

El consumidor valora la producción sostenible y está dispuesto a premiar esta iniciativa, con la compra de estos productos fidelizándose con la marca.

En el momento del reciclaje, el consumidor apuesta por reciclar, pero la mayoría de los envases no especifica claramente cuál debe ser el destino del envase una vez se haya consumido.

5. AGRADECIMIENTOS

A las personas que han contribuido en realizar la encuesta.

6. REFERENCIAS

1. Bruyninckx, H. Señales de la AEMA 2015. Vivir en un clima cambiante. Agencia Europea de Medio Ambiente. [Internet]. 2015. Available from: <https://www.eea.europa.eu/es/publications/senales-de-la-aema-2015/download>.
2. De la granja a la mesa: alimentos sanos y seguros para todos. In: COM(2014) [Internet]. 2014. p. 16. Available from: http://europa.eu/pol/index_es.htm
3. Parlamento Europeo. REGLAMENTO (CE) No 66/2010 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 25 de noviembre de 2009 relativo a la etiqueta ecológica de la UE. D Of la Unión Eur. 2010;2009:1-19.

Quality and microbiological safety of microwave-cooked broccoli

Calidad y seguridad microbiológica del brócoli cocinado en microondas

E. Paulsen^{1*}, D.A. Moreno², P.M. Periago³, P. Lema¹

¹Instituto de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de la República. Julio Herrera y Reissig 565, Montevideo. Uruguay.

²Laboratorio de Fitoquímica y Alimentos Saludables, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, CEBAS-CSIC, Campus Universitario de Espinardo, 25, 30100 Espinardo, Murcia. Spain.

³Departamento de Ingeniería Agronómica, ETSIA, Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Murcia. Spain.

*erikap@fing.edu.uy

Abstract

Cooking vegetables in microwave-bags has become a popular cooking method; however, information about effect of this emerging cooking method on quality parameters of vegetables is limited. The aim of this work was to study the effect of microwave-bag cooking vs. conventional microwaving on microbiological and nutritional quality of broccoli florets. The influence of cooking time on these quality parameters was also evaluated. Broccoli florets were placed into microwaveable bags and cooked in a microwave oven for 3 and 5 min. Product cooked under the same conditions, without using bag, was used as a control. Samples were taken before and after cooking. Microbial count and antioxidant capacity (AOC) were analyzed. For both cooking time, microwave-bag cooking showed higher reduction of mesophilic bacteria than conventional microwaving. For cooking time of 5 min, microwave-bag cooked broccoli retained AOC to a greater extent than conventional microwaved. Microwave-bag cooking is a novel method that showed to be microbiologically safe and preserved healthy potential of broccoli floret. Furthermore, this option is fast, easy and clean cooking option to fulfill modern consumers' needs.

Keywords: microwave cooking; microwaveable bag; microbiological quality; antioxidant capacity.

Resumen

Cocinar verduras en bolsas para microondas se ha convertido en un método muy utilizado por consumidores modernos, pero existen escasos reportes de su efecto en la calidad de estos productos. Este trabajo estudió el efecto de la cocción en bolsa versus cocción convencional en microondas en la calidad microbiológica y nutricional de floretes de brócoli. El efecto del tiempo de cocción en estos parámetros de calidad también fue evaluado. Floretes de brócoli se cocinaron en bolsas para microondas, en un horno de microondas, durante 3 y 5 minutos. Floretes cocinados en las mismas condiciones, sin bolsa, se usaron como controles. Antes y después de la cocción se analizó: carga microbiana y capacidad antioxidante (AOC). La cocción en bolsa mostró mayor reducción de bacterias mesófilas respecto a la cocción convencional, para los dos tiempos de cocción evaluados. Para tiempos de 5 min, la cocción en bolsa retuvo en mayor medida la AOC respecto a la cocción convencional. La cocción en bolsas de microondas es un método novedoso que demostró ser microbiológicamente seguro y preservó el potencial saludable de floretes de

brócoli. Además, es una opción de cocción rápida, fácil y limpia que satisface las necesidades de los consumidores modernos.

Palabras clave: cocinado por microondas; bolsas para microondas; calidad microbiológica; capacidad antioxidante.

1. INTRODUCCIÓN

El brócoli es un vegetal del género *Brassica* altamente valorado debido a su importante contenido de fitoquímicos promotores de la salud, principalmente glucosinolatos y compuestos fenólicos (1,2). Los métodos de cocción inducen importantes cambios en la composición fisicoquímica del vegetal, influyendo en la concentración y biodisponibilidad de estos componentes de interés. Esto puede comprometer las cualidades funcionales del brócoli, por lo que resulta relevante determinar los efectos de los métodos y condiciones de cocción en el contenido de compuestos bioactivos (3).

El actual estilo de vida ha convertido el cocinado de vegetales en bolsas para microondas en un método de cocción muy utilizado. Este método se caracteriza por ser rápido, fácil y limpio, ajustándose a las necesidades de los consumidores modernos. Son varios los estudios que han evaluado los efectos del hervido, escaldado, cocción al vapor, salteado, horno convencional y horno microondas sobre el contenido de fitoquímicos en brócoli (3,4). Sin embargo, son escasos los reportes acerca del efecto del cocinado en bolsas de microondas sobre parámetros de calidad de este producto. Además, muchos de los resultados reportados son contradictorios y difíciles de comparar, debido a la cantidad de parámetros que se pueden variar dentro de un método de cocción y también por los métodos de extracción y determinación utilizados (5).

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la cocción en bolsas versus cocción convencional en horno microondas en la calidad microbiológica y nutricional de floretes de brócoli. Además, se evaluó el efecto del tiempo de cocción en estos parámetros de calidad.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Material vegetal y diseño experimental

Las pellas de brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica* cv. Parthenon) se compraron en un supermercado local, se trasladaron al laboratorio y se procesaron inmediatamente. Los brócolis se cortaron en floretes y se lavaron con agua corriente. Aproximadamente 200 g de floretes de brócoli se colocaron en bolsas aptas para microondas y se cocinaron en un horno de microondas doméstico (MW 213 INOX, TEKA) durante 3 (MWB3) y 5 (MWB5) minutos a una potencia de 800 W. Producto cocinado en las mismas condiciones pero sin bolsa se utilizaron como controles (3 min: MW3; 5 min: MW5). Las muestras fueron tomadas antes y después de la cocción.

2.2 Análisis microbiológico

Diez gramos de muestra se colocaron asépticamente en bolsa estéril con 90 mL de agua peptonada tamponada (Scharlab, Barcelona) y se homogeneizó en Stomacher. Se analizaron bacterias aeróbicas mesófilas y psicrotóricas usando agar para recuento en placa (PCA) (Scharlab, Barcelona) y se incubaron durante 24-48 h 30°C y durante 7 días a 5°C, respectivamente. Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonia por gramo de muestra (UFC/g).

2.3 Capacidad antioxidante (AOC)

La extracción se realizó según Baenas et al. (6). Para ello, 100 mg de muestra liofilizada en polvo se extrajo en 1,5 mL de metanol al 70% (v/v) durante 60 min en baño de ultrasonido (8891 model, Cole-Parmer, USA). Los extractos se almacenaron en oscuridad y refrigerados durante 16

h. Tras el almacenamiento se sonicaron durante 1 h y se centrifugaron a 10500 g (3–16KL model, Sigma, Germany) durante 5 min.

La AOC se determinó mediante el uso de radicales libres de DPPH• según Brand-Williams et al. (7). Los cambios en la absorbancia a 515 nm después de 50 min de reacción se midieron usando microplacas de 96 pocillos (Nunc, Roskilde, Dinamarca) y un lector de microplacas Infinite® M200 (Tecan, Grodig, Austria). Se preparó una curva de calibración con Trolox (Sigma-Adrich, Alemania) para un rango de concentraciones de 0 a 200 µM. Los resultados se expresaron como µmol equivalentes de Trolox por gramo de peso seco (µmol/g).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los recuentos de bacterias mesófilas mostraron diferencias significativas según tiempo de cocción y método aplicado. Tiempos de cocción más largos (5 min) mostraron menores recuentos. La cocción en bolsa mostró una mayor reducción de bacterias mesófilas (no se detectaron colonias después de la cocción) respecto a la cocción convencional (de $1,5 \cdot 10^4$ a $1,6 \cdot 10^3$ UFC/g). Para 3 min de cocción, no hubo diferencias significativas en el recuento de bacterias psicrófilas entre métodos de cocción (MW3 y MWB3). Para 5 min de cocción, el brócoli cocido en bolsa (MWB5) mostró menores recuentos de bacterias psicrófilas (no se detectaron colonias) en comparación con la cocción convencional (MW5) ($4,0 \cdot 10^1$ UFC/g). Por lo tanto, para tiempos largos (5 min), la cocción en bolsas mostró una mayor reducción en la carga microbiana de floretes de brócoli. Esto podría deberse a las mayores temperaturas alcanzadas por el producto durante la cocción en bolsa. Tiempos de cocción más largos mostraron una mayor reducción, lo que podría estar relacionado con una mayor temperatura del producto y mayor tiempo de proceso.

Se encontraron diferencias significativas en la AOC de floretes de brócoli según el método de cocción aplicado. En floretes de brócoli cocinados de forma convencional, la AOC se redujo en un 41% y un 75% durante 3 y 5 minutos de cocción, respectivamente. En el brócoli cocido en bolsa, la AOC disminuyó en un 50%, independientemente del tiempo de cocción aplicado. Por lo tanto, para tiempos de cocción de 5 min, cocinar en bolsa para microondas permitió retener la AOC de floretes de brócoli en mayor medida que en la cocción convencional. Estos resultados coinciden con los de Zhong et al. (8), quienes reportaron que el brócoli cocido en bolsa presentó mayor AOC en comparación con una cocción convencional (5 min). Sin embargo, nuestros hallazgos muestran una disminución significativa de la AOC durante la cocción, mientras que Zhong et al. (8) reporta un incremento. En este sentido, los resultados del presente estudio concuerdan con los reportados por Pellegrini et al. (9), quienes concluyen que el uso de microondas tiene un efecto perjudicial en la AOC.

Además de la calidad microbiológica y la capacidad antioxidante, se evaluó el efecto del cocinado en bolsa en el contenido de glucosinolatos de floretes de brócoli, principales compuestos bioactivos de este vegetal. Se observó que la cocción en bolsas mantuvo el contenido total de glucosinolatos en comparación con el brócoli cocinado convencionalmente en microondas, y que el perfil de glucosinolatos no se modificó durante la cocción (10).

4. CONCLUSIONES

La cocción en bolsa de microondas es un método novedoso para cocinar hortalizas que, para tiempos de 5 minutos, mostró preservar el potencial saludable de floretes de brócoli y fue seguro desde el punto de vista microbiológico. Los floretes de brócoli cocidos en bolsa preservaron la capacidad antioxidante y presentaron menores recuentos microbianos en comparación con el brócoli cocinado convencionalmente. Este estudio mostró que la cocción de brócoli en bolsas de microondas puede contribuir a mejorar su calidad nutricional y microbiológica, a la vez que resulta un método de cocción rápido, fácil y limpio, que satisface las necesidades de los consumidores modernos.

5. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue apoyado por la Comisión Sectorial de Investigación Científica, Universidad de la República, Uruguay. Los autores agradecen a la Agencia Nacional de Innovación e Investigación por otorgarle a Erika Paulsen una beca de doctorado y una pasantía en el Laboratorio de Fitoquímica y Alimentos Saludables del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos del CEBAS-CSIC, Murcia, España (referencia de la beca: POS_EMHE_2018_1_1007740).

6. REFERENCIAS

1. Jia C, Xu C, Wei J, Yuan J, Yuan G, Wang B, et al. Effect of modified atmosphere packaging on visual quality and glucosinolates of broccoli florets. *Food Chem.* 2009;114:28–37.
2. Moreno DA, Carvajal M, Garc C. Chemical and biological characterisation of nutraceutical compounds of broccoli. *J Pharm Biomed Anal.* 2006;41:1508–22.
3. Hennig K, Verkerk R. Food science meets plant science : A case study on improved nutritional quality by breeding for glucosinolate retention during food processing. *Trends Food Sci Technol* [Internet]. 2014;35(1):61–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2013.10.006>.
4. Tabart J, Pincemail J, Kevers C, Defraigne JO, Dommès J. Processing effects on antioxidant, glucosinolate, and sulfuraphane contents in broccoli and red cabbage. *Eur Food Res Technol.* 2018;244(12):2085–94.
5. Barakat H, Rohn S. Effect of different cooking methods on bioactive compounds in vegetarian, broccoli-based bars. *J Funct Foods.* 2014;11(C):407–16.
6. Baenas N, Moreno DA, Garc C. Selecting Sprouts of Brassicaceae for Optimum Phytochemical. *J. Agric. Food Chem.* 2012;60:11409–11420.
7. Brand-William W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Leb u-Technol.* 1995;30:25–30.
8. Zhong X, Dolan KD, Almenar E. Effect of steamable bag microwaving versus traditional cooking methods on nutritional preservation and physical properties of frozen vegetables: A case study on broccoli (*Brassica oleracea*). *Innov Food Sci Emerg Technol.* 2015;31:116–22.
9. Pellegrini N, Chiavaro E, Gardana C, Mazzeo T, Contino D, Gallo M, et al. Effect of different cooking methods on color, phytochemical concentration, and antioxidant capacity of raw and frozen brassica vegetables. *J Agric Food Chem.* 2010;58(7):4310–21.
10. Paulsen E, Moreno DA, Periago PM, Lema P. Influence of microwave bag vs . conventional microwave cooking on phytochemicals of industrially and domestically processed broccoli. *Food Res Int* [Internet]. 2021;140:110077. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110077>.

Effect of postharvest LED lighting in the phenolic content and scavenging free radicals in broccoli sprouts

Efecto de una iluminación LED postrecolección en el contenido de compuestos fenólicos y radicales libres de germinados de brócoli

N. Castillejo^{1,2*}, L. Martínez-Zamora^{1,2}, P.A. Gómez², J.L. Pedreño-Molina³, F. Artés^{1,2}, F. Artés-Hernández^{1,2}

¹Grupo de Postrecolección y Refrigeración, Departamento de Ingeniería Agronómica, ETSIA, Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Murcia. Spain.

²Instituto de Biotecnología Vegetal, Edificio I+D+I, Universidad Politécnica de Cartagena, Campus Muralla del Mar, 30202 Cartagena, Murcia. Spain.

³Departamento de Tecnologías de la Información y las Comunicaciones, ETSIT, Universidad Politécnica de Cartagena, Campus Muralla del Mar, 30202 Cartagena, Murcia. Spain.

*noelia.castillejo@upct.es

Abstract

The objective was to evaluate phytochemical content changes in minimally processed broccoli sprouts illuminated for 15 days at 5°C with white, blue, green, red and far red LEDs. darkness and fluorescent light (FL) were used as controls. Sprouts under white, blue, green, red, and far red LED lighting improved the free radical scavenging after 8 days at 5°C by 61, 58, 54, 68, and 36%, respectively, compared to darkness. All LED treatments maintained these increases in the percentage of radical scavenging after 15 days at 5°C. Such results agree with the increase in phenolic compounds, where sprouts illuminated with LEDs for 15 days at 5°C showed an increase compared to FL and darkness. In conclusion, our results suggest that minimally processed sprouts can benefit from LED illumination during their shelf life in terms of their nutraceutical compounds, especially under red illumination.

Keywords: *Brassicaceae*; bioactive compounds; sinapic acid; shelf life.

Resumen

El objetivo fue evaluar el contenido de compuestos fitoquímicos en brotes de brócoli mínimamente procesados iluminados durante 15 días a 5°C con LEDs blancas, azules, verdes, rojas y rojas lejanas. Se utilizaron tratamientos de oscuridad y luz Fluorescente como controles. Los germinados bajo iluminación LED blanca, azul, verde, roja y roja lejana mejoraron la captación de radicales libres tras 8 días a 5°C en un 61, 58, 54, 68 y 36%, respectivamente, en comparación con la oscuridad. Todos los tratamientos LED mantuvieron dichos incrementos en el porcentaje de captación de radicales tras 15 días a 5°C. Estos resultados están en concordancia con el aumento de los compuestos fenólicos, en los que los brotes iluminados con LEDs durante 15 días a 5°C mostraron un aumento respecto a la luz fluorescente y la oscuridad. En conclusión, nuestros resultados sugieren que los germinados mínimamente procesados pueden beneficiarse de la iluminación LED durante su vida útil en términos de sus compuestos nutracéuticos, especialmente bajo iluminación roja.

Palabras clave: *Brassicaceae*; compuestos bioactivos; ácido sinápico; vida útil.

1. INTRODUCCIÓN

El brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*), es un reconocido alimento nutritivo rico en antioxidantes naturales, incluyendo vitaminas, minerales, glucosinolatos, isotiocianatos y compuestos fenólicos (1). Los brotes y los microgreens de brócoli se valoran como alimentos nutraceuticos y funcionales por mayor contenido en compuestos bioactivos con alto potencial antioxidante, antiinflamatorio y anticancerígeno, en comparación con la planta adulta (2,3). En los últimos años, se ha sugerido el uso de luz artificial durante el almacenamiento como una forma de preservar o incluso mejorar las propiedades nutricionales de los productos hortícolas (1,4). Además, luces LED son caracterizadas por su limitada disipación térmica, sus bajos requisitos energéticos y la posibilidad de personalizar con precisión la intensidad de la luz y las propiedades espectrales (5). El objetivo del presente estudio fue evaluar el contenido de compuestos fitoquímicos en germinados de brócoli mínimamente procesados cultivados bajo un fotoperiodo de 16 h de luz + 8 h de oscuridad que fueron iluminados tras su recolección con LEDs blancas, azules, verdes, rojas y rojas lejanas durante 15 días a 5°C.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Las semillas de brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*), adquiridas en Intersemillas S.A. (Valencia, Spain), fueron sumergidas en agua durante 12 h y se germinaron según Castillejo et al. (1). Los 3 primeros días permanecieron en oscuridad a 25°C para favorecer el inicio de la germinación. Posteriormente, estuvieron 7 días bajo un fotoperiodo de luz/oscuridad de 16 h / 8 h. Tras los 10 días de germinación, los germinados fueron recolectados y procesados mínimamente, realizando su desinfección con 100 ppm de hipoclorito sódico. Se envasaron bajo atmósfera modificada mediante un film de polipropileno orientado de 40 µm (Plásticos del Segura SL, Murcia; permeabilidad a 23°C y 0% HR fue 800 cm³ m⁻² d⁻¹ atm⁻¹ para ambos gases O₂ y CO₂) y se dispusieron para su vida comercial a 5°C bajo diferentes luces LED (blanco, azul, verde, rojo y rojo lejano). Como controles se utilizaron luz fluorescente y oscuridad. Los días de muestreo fueron a los 0 (recolección), 4, 8 y 15 días de conservación a 5°C.

2.1 Porcentaje de captación de radicales libres

La capacidad antioxidante total (CAT) fue analizada por espectrofotometría siguiendo los métodos de DPPH y ABTS (1). El porcentaje de captación de radicales libres fue calculado según la siguiente fórmula: $[(\text{Abs (promedio(DPPH + ABTS))} - \text{Abs Muestra}) / \text{Abs promedio(DPPH + ABTS)}] \times 100$.

2.2 Contenido de fenoles individuales

El extracto se filtró mediante filtros PTFE de 0,2 µm. El análisis y la identificación de los compuestos fenólicos individuales se realizaron según Moreira-Rodríguez et al. (2). Los ácidos fenólicos se cuantificaron como equivalentes de ácido clorogénico, ácido sinápico y ácido gálico. Los resultados se expresaron en mg kg⁻¹ de peso fresco (pf).

2.3 Análisis estadístico

El experimento fue un diseño de dos factores (tratamiento de luz × tiempo de almacenamiento) sometido a un análisis de varianza (ANOVA) utilizando el SPSS 15.0 (IBM, Armonk, Nueva York, EE.UU.). La significación estadística se evaluó a $p < 0,05$, y se utilizó la prueba de rango múltiple de Tukey para separar las medias.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los germinados bajo luces LED blanca, azul, verde, roja y roja lejana mejoraron la captación de radicales libres tras 8 días a 5°C en un 61, 58, 54, 68 y 36%, respectivamente, en comparación con el tratamiento de oscuridad (Fig. 1). Además, la luz LED roja mostró el mayor porcentaje tras 8 y 15 días con respecto al resto de luces LED, incrementando el 67% tras 15 días

a 4°C con respecto a la oscuridad. Pennisi et al. (5) mostraron que combinaciones del 30% rojo y 58% azul disminuían el contenido de la CAT y fenoles totales mientras que un mayor porcentaje de luz roja (>70%) incrementó el contenido de flavonoides y fenoles totales. A partir del día 8, la iluminación LED incrementó los compuestos fenólicos individuales. Los compuestos mayoritarios fueron los derivados del ácido sinápico. La luz roja incrementó un 47% el contenido del 1,2,2-trisinapoylgentiobiose. Estos incrementos también fueron observados por Kopsell et al. (3), concluyendo que la aplicación de luces LED con un ratio azul-rojo, incluyendo un 80% de rojo, estimula las rutas metabólicas primarias y secundarias asociadas a los compuestos fenólicos.

4. CONCLUSIONES

La iluminación LED incrementó los compuestos fenólicos individuales. Además, los germinados conservados bajo luces rojas obtuvieron un mayor porcentaje de captación de radicales libres, mejorando sus compuestos nutraceuticos.

5. AGRADECIMIENTOS

Se agradece la financiación a la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia a través del Programa Regional de Fomento de la Investigación Científica y Técnica de la Fundación Séneca-Agencia de Ciencia y Tecnología de la Región de Murcia (Proyecto Ref 20849/PI/18) y al Ministerio de Economía y Competitividad la concesión de un contrato predoctoral a Noelia Castillejo (FPU/04763).

6. REFERENCIAS

1. Castillejo N, Martínez-Zamora L, Gómez PA, Pennisi G, Crepaldi A, Fernández JA, et al. Postharvest LED lighting: effect of red, blue and far red on quality of minimally processed broccoli sprouts. *J Sci Food Agric*. 2021;101(1):44–53.
2. Moreira-Rodríguez M, Nair V, Benavides J, Cisneros-Zevallos L, Jacobo-Velázquez DA. UVA, UVB light doses and harvesting time differentially tailor glucosinolate and phenolic profiles in broccoli sprouts. *Molecules*. 2017;22(7):1065.
3. Kopsell DA, Sams CE, Barickman TC, Morrow RC. Sprouting broccoli accumulate higher concentrations of nutritionally important metabolites under narrow-band light-emitting diode lighting. *J Am Soc Hortic Sci*. 2014;139(4):469–77.
4. Martínez-Zamora L, Castillejo N, Artés F. Postharvest UV-B and Photoperiod with Blue + Red LEDs as Strategies to Stimulate Carotenogenesis in Bell Peppers. *Appl Sci*. 2021;11(9):3736.
5. Pennisi G, Orsini F, Blasioli S, Cellini A, Crepaldi A, Braschi I, et al. Resource use efficiency of indoor lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivation as affected by red:blue ratio provided by LED lighting. *Nat Sci Reports*. 2019;9(1):1–11.

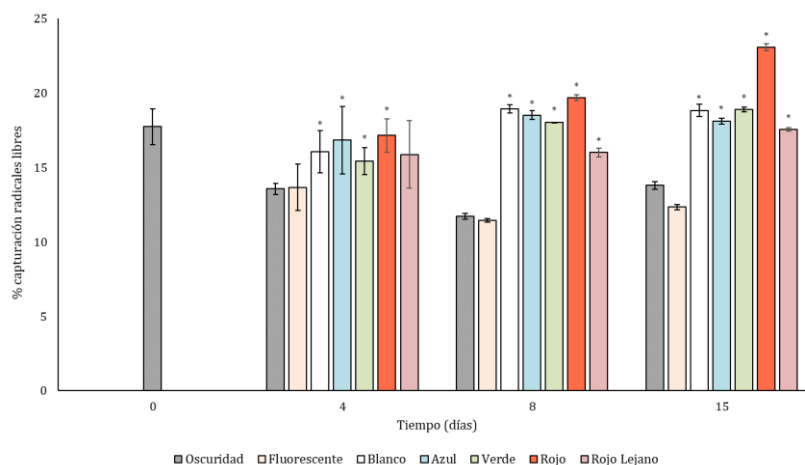


Figura 1. Porcentaje de captación de radicales libres en germinados de brócoli tras 15 días a 4°C bajo diferentes condiciones de iluminación LED, fluorescente y oscuridad.

Tabla 1. Contenido de compuestos fenólicos individuales (mg kg⁻¹ pf) de germinados de brócoli tras 15 días a 4°C bajo diferentes condiciones de iluminación LED, fluorescente y oscuridad (promedio ± desviación estándar) (n=3).

Día de análisis	Tratamientos	Ácido sinápico	1-sinapoyl-2-feruloylgentiobiose	1,2,2-trisinapoylgentiobiose	1,2-disinapoyl-1'-feruloylgentiobiose	Ácido gálico	Ácido clorogénico	Ácido neoclorogénico
Recolección		0,84 ± 0,07	3,23 ± 0,21	6,12 ± 0,81	1,19 ± 0,14	0,08 ± 0,01	3,86 ± 0,56	0,41 ± 0,05
4	Oscuridad	0,79 ± 0,08	3,37 ± 0,37	6,88 ± 1,05	1,13 ± 0,24	0,07 ± 0,01	2,74 ± 0,27	0,47 ± 0,21
	Fluorescente	0,18 ± 0,02	3,13 ± 0,38	6,18 ± 0,40	0,99 ± 0,22	0,07 ± 0,01	1,97 ± 0,25	0,43 ± 0,17
	Blanco	0,64 ± 0,10	3,75 ± 0,14	7,55 ± 0,39	1,25 ± 0,14	0,07 ± 0,05	3,01 ± 0,61	0,45 ± 0,11
	Azul	0,48 ± 0,00	2,91 ± 0,34	6,83 ± 0,35	0,97 ± 0,16	0,07 ± 0,00	3,03 ± 0,23	0,25 ± 0,09
	Verde	1,20 ± 0,13*	2,53 ± 0,02	6,27 ± 0,66	0,82 ± 0,12	0,04 ± 0,03	2,40 ± 0,53	0,32 ± 0,12
	Rojo	0,89 ± 0,04	3,59 ± 0,21	8,08 ± 1,00	1,15 ± 0,11	0,03 ± 0,04	3,20 ± 0,43	0,28 ± 0,00
	Rojo lejano	0,75 ± 0,01	3,20 ± 0,10	6,61 ± 0,21	0,95 ± 0,10	0,03 ± 0,03	3,19 ± 0,53	0,31 ± 0,10
8	Oscuridad	0,20 ± 0,01	3,07 ± 0,02	5,95 ± 0,10	1,17 ± 0,01	0,07 ± 0,00	1,73 ± 0,03	0,42 ± 0,11
	Fluorescente	0,12 ± 0,03	3,09 ± 0,39	6,11 ± 0,48	1,17 ± 0,15	0,07 ± 0,00	1,55 ± 0,25	0,30 ± 0,11
	Blanco	1,35 ± 0,06*	3,89 ± 0,33*	8,13 ± 1,07*	1,36 ± 0,13*	0,09 ± 0,01*	4,06 ± 0,49*	0,46 ± 0,05
	Azul	1,01 ± 0,34*	4,29 ± 0,58*	8,19 ± 0,30*	1,27 ± 0,25	0,06 ± 0,03	3,79 ± 0,06*	0,36 ± 0,08
	Verde	0,89 ± 0,17*	4,03 ± 0,42*	8,10 ± 0,71*	1,35 ± 0,08*	0,09 ± 0,00*	3,03 ± 0,07*	0,46 ± 0,11
	Rojo	0,78 ± 0,34*	4,12 ± 0,33*	7,96 ± 0,07*	1,38 ± 0,06*	0,08 ± 0,03	2,88 ± 0,09*	0,27 ± 0,21
	Rojo lejano	1,17 ± 0,02*	3,61 ± 0,25*	8,32 ± 0,61*	1,25 ± 0,22*	0,06 ± 0,04	3,46 ± 0,01*	0,42 ± 0,02
15	Oscuridad	0,27 ± 0,05	3,15 ± 0,31	6,12 ± 0,43	1,14 ± 0,10	0,07 ± 0,02	1,88 ± 0,60	0,31 ± 0,08
	Fluorescente	0,20 ± 0,09	3,26 ± 0,65	6,55 ± 0,69	1,07 ± 0,18	0,07 ± 0,02	1,77 ± 0,48	0,34 ± 0,02
	Blanco	0,87 ± 0,27*	4,00 ± 0,05*	7,89 ± 1,02*	1,47 ± 0,14*	0,08 ± 0,03	3,27 ± 0,27*	0,40 ± 0,08
	Azul	0,56 ± 0,11*	3,36 ± 0,15	6,42 ± 0,72	1,20 ± 0,27	0,07 ± 0,00	2,26 ± 0,09	0,35 ± 0,07
	Verde	0,87 ± 0,18*	3,27 ± 0,24	7,24 ± 0,33*	1,19 ± 0,12	0,07 ± 0,01	2,20 ± 0,56	0,39 ± 0,08
	Rojo	0,87 ± 0,27*	4,72 ± 0,27*	9,00 ± 0,48*	1,26 ± 0,07	0,10 ± 0,01*	3,03 ± 0,62	0,48 ± 0,17
	Rojo lejano	0,44 ± 0,13*	4,08 ± 0,51*	8,15 ± 0,99*	1,26 ± 0,10	0,09 ± 0,02	1,72 ± 0,14	0,45 ± 0,05

*: diferencias significativas entre tratamientos para un mismo día de análisis con respecto al tratamiento de oscuridad (p < 0,05).

Evaluation of technologies for the extraction of phenolic compounds of cocoa

Evaluación de tecnologías para la extracción de compuestos fenólicos de cacao

E. Acosta^{1*}, J.C. Mazo-Rivas¹, C. García-Viguera²

¹Compañía Nacional de Chocolates S.A.S. Centro de Investigación, Desarrollo y Calidad (CIDCA), Km 2 Vía Belén Autopista Medellín-Bogotá, Medellín. Colombia.

²Laboratorio de Fitoquímica y Alimentos Saludables, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, CEBAS-CSIC, Campus Universitario de Espinardo, 25, 30100 Espinardo, Murcia. Spain.

*eacosta@chocolates.com.co

Abstract

The cocoa antioxidants are mainly flavan 3-ols ((+)-catechin, (-)-epicatechin) and procyanidins, which are reduced during the bean industrialization process. For this reason, there are several methods to concentrate these compounds for the enrichment of functional products. The objective of this work was to find the best technology for the extraction of cocoa phenolic compounds, mainly flavan-3-ols. For this analysis, unfermented cocoa powder was obtained and subjected to different extraction technologies: supercritical fluids, ultrasound-assisted extraction, hydrothermal treatments (Phytoclean™), high-performance purification system (Reveleris®), and solvent extraction, to obtain the highest possible content of (+)-catechin and (-)-epicatechin. It was found that the best extraction was by solvent extraction as it concentrated the flavan 3-ols (20% a.c.) in a superior way compared to the initial content of these compounds in the cocoa powder.

Keywords: flavan 3-ols; solvent extraction; (+)-catechin; (-)-epicatechin.

Resumen

Los antioxidantes del cacao son principalmente flavan 3-oles ((+)-catequina, (-)-epicatequina) y procianidinas, los cuales se reducen durante el proceso de industrialización de los granos. Por esta razón se buscan métodos que permitan concentrar dichos compuestos para el enriquecimiento de productos funcionales. El objetivo de este trabajo fue encontrar la mejor tecnología para la extracción de los compuestos fenólicos del cacao, principalmente los flavan 3-oles. Para este análisis se obtuvo un polvo de cacao sin fermentar el cual fue sometido a diferentes tecnologías de extracción: fluidos supercríticos, extracción asistida por ultrasonido, tratamientos hidrotérmicos (Phytoclean™), sistema de purificación de alto rendimiento (Reveleris®) y extracción por solventes, con el fin de obtener el mayor contenido posible de (+)-catequina y (-)-epicatequina. Se encontró que la mejor extracción fue con solvente ya que concentra de forma superior los flavan 3-oles (20% c.a.) en comparación con el contenido de inicial de estos compuestos en el polvo de cacao.

Palabras clave: flavan 3-oles; extracción con solvente; (+)-catequina; (-)-epicatequina.

1. INTRODUCCIÓN

Los polifenoles de cacao están compuestos principalmente por flavan 3-oles ((+)-catequinas, (-)-epicatequinas) y procianidinas (1). Existe un gran interés de la industria alimentaria en buscar diferentes tecnologías que permitan la extracción y concentración de estos compuestos bioactivos con el fin de incorporarlos en diferentes productos para ofrecer al consumidor beneficios que puedan contribuir a su salud y bienestar. En el caso del cacao, los flavanoles presentes en él, tienen una reducción significativa desde etapas tempranas del proceso de industrialización (fermentación y secado), donde se pierden alrededor del 60% de su contenido (2). Es por esta razón que se deben buscar estrategias que permitan mejorar la calidad nutricional del cacao. Tales estrategias están enfocadas en realizar diferentes pretratamientos a los granos de cacao después de su cosecha, con el fin de preservar la mayor cantidad posible de estos compuestos. Se tienen evidencias de que realizar pre-tratamientos en los granos de cacao contribuyen con la conservación de los antioxidantes y, por ende, con su calidad nutricional (1, 3). Muchas de estas técnicas están acompañadas de otras tecnologías de extracción con el fin de aumentar y concentrar aún más el contenido de estos compuestos. Dentro de las más comunes se encuentran la extracción por solventes, asistida por ultrasonido, fluidos supercríticos, tratamientos hidrotérmicos y el aislamiento y purificación de compuestos usando cromatografía. Este trabajo tuvo como objetivo la evaluación de cada una de las tecnologías mencionadas anteriormente y comparar su desempeño en términos del contenido de (+)-catequina y (-)-epicatequina ya que son los principales compuestos fenólicos del cacao en términos de su beneficio funcional (4).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Obtención de polvo de cacao

Las muestras de cacao fueron tomadas aleatoriamente de la granja experimental de Compañía Nacional de Chocolates S.A.S (CNCH) ubicada en el departamento de Támesis, Antioquia. Posterior a la cosecha, el cacao fue deshidratado a condiciones controladas en un deshidratador FBA_GFD1850 (Gourmia, Brooklyn, NY) a 45°C, hasta alcanzar una humedad de 8% aproximadamente, seguidamente la cascarilla fue retirada en un descascarillador cocoawinnow 240-1-150 (Capco test equipment, Ipswich, UK), desgrasado mediante extrusión, empleando una prensa de tornillo (screw) (CNCH, Medellín, Colombia). Finalmente, se realizó una reducción de tamaño de partícula en un molino (Capco test equipment, Ipswich, UK).

2.2 Evaluación de tecnologías para la extracción de compuestos fenólicos de cacao

El polvo de cacao obtenido fue sometido a un proceso de extracción y concentración de los compuestos fenólicos mediante las siguientes tecnologías: fluidos supercríticos, extracción asistida por ultrasonido, tratamientos hidrotérmicos (*Phytoclean™*), sistema de purificación de alto rendimiento (*Reveleris®*), extracción por solventes.

2.3 Análisis por HPLC de (+)-catequina y epicatequinas

Para el análisis por HPLC se empleó un cromatógrafo líquido de alta resolución Agilent 1260 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA), con automuestreador automático y detectores de Fluorescencia y red de diodos (FLD y DAD) y un Computador equipado con el software Agilent OpenLAB CDS, ChemStation Edition. Las muestras de los extractos obtenidos mediante cada tecnología, se prepararon siguiendo el método propuesto por T-sanova-Savova, (2005) (5) con algunas modificaciones. Así, 0,5 g de cada una de las muestras de cada tratamiento se extrajeron con 10 mL de una solución isopropanol/agua 60:40 pH 9,0, durante 60 min en un baño de ultrasonidos Elma E30H (Elma Schmidbauer GmbH, Singen, Alemania) a temperatura ambiente. Posteriormente estas muestras se agitaron en vortex durante, 1min, dejando en reposo a -20°C, en un ultracongelador (Thermo) durante 60 min. Seguidamente se centrifugaron a 4000 rpm

durante 8 min en una centrifuga Rotofix 32 A (Andreas Hettich GmbH & Co.KG, Föhrenstraße, Almenania). Un mililitro del sobrenadante resultante se filtró por una membrana de 0,45µm (Nylon membrane filter, Millipore). Una alícuota de este filtrado se mezcló con la fase móvil (ácido acético al 0,1%), con un factor de dilución (FD) dependiendo de la coloración de la solución, (muestras oscuras: FD=5 ó 10, muestras menos oscuras: FD=4) Esto se definió para garantizar que las mediciones de las muestras no se salieran de la curva de calibración. Esta disolución se realizó en un vial de cromatografía ámbar y se inyectó en el HPLC/DAD/FLD. Se usó una columna Zorbax bonus C18 (HPLC Column, 5 µm particle size, L×I.D. 25 cm×4,6 mm). La detección se realizó a 280 nm y los valores procesados se analizaron mediante el uso del software OpenLab CDS Chemstation Edition. Para la cuantificación de los flavanoles y xantinas en las muestras se usó un estándar (mezcla de (+)-catequina, (-)-epicatequina, teobromina y cafeína. Los análisis se realizaron por triplicado para cada muestra y se reportaron en mg/g.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El polvo de cacao sin fermentar tuvo un contenido de 0,84 mg/g de (+)-catequina y 20 mg/g de (-)-epicatequina, es necesario indicar la importancia de establecer este punto de partida para los compuestos de interés, ya que se pretendía evaluar con cuál de las tecnologías se podía llegar al mayor rendimiento de los compuestos fenólicos. El contenido de (+)-catequina y (-)-epicatequina para cada uno de los ensayos realizados se presenta en la Fig. 1. Tras comparar las diferentes tecnologías se observó que la extracción mediante fluidos supercríticos no es viable para la obtención de un extracto de cacao concentrado en flavan 3-oles. Esto ocurrió por alto contenido de grasa presente en los granos de cacao y no pueden llevarse al equipo desgrasados, ya que esto requiere la molienda de estos y llevar muestras con un tamaño de partícula reducido al equipo de fluidos supercríticos, podía ocasionar taponamientos en las líneas de flujo del mismo. Por lo tanto, el tratamiento evaluado solo funciona como un método de desgrasado, sin obtenerse algún lixiviado con los compuestos de interés. Sin embargo, se realizó una cuantificación a la muestra con el fin de establecer la concentración alcanzada de estos compuestos posterior a su proceso de “desgrasado” en el equipo, encontrándose valores de (-)-epicatequina de 12,76 mg/g, inferiores a los del polvo de cacao inicial. Por lo tanto, al obtenerse valores inferiores de los compuestos de interés, y al ser una técnica con un costo elevado, sólo para lograr una eliminación de la grasa en el grano, se procedió a descartarla como una alternativa para la obtención del extracto de cacao.

La extracción asistida por ultrasonido fue la que presentó los menores valores de (+)-catequina y (-)-epicatequina (0,09 y 1,36 mg/g, respetivamente), ya que, probablemente, las condiciones de temperatura y amplitud empleadas pudieron causar alguna degradación de los compuestos de interés, al igual que el proceso posterior de eliminación del solvente y secado de la muestra. Por esta razón dicho método también fue descartado. Las técnicas con las que se obtuvo un contenido de flavan 3-oles ((+)-catequina y (-)-epicatequina) superior al del polvo de cacao sin fermentar, fueron Phytoclean™ (12,36 y 29,432 mg/g), Reveleris® (0,76 y 41,5 mg/g) y la extracción por solventes (3,38 y 97,45 mg/g), siendo esta última la que arrojó el mayor contenido de (-)-epicatequina. Debido a este resultado se seleccionó esta técnica para la obtención de un extracto de cacao con alto contenido de compuestos bioactivos (Fig. 1). La obtención de este alto contenido de (-)-epicatequina en el extracto obtenido con solvente es muy relevante, ya que incluso es superior a muchos de los valores encontrados en la literatura y algunos extractos comerciales (1). Esto puede deberse también al contenido de estos compuestos presentes en los granos de cacao con los que se obtuvo el polvo de cacao sin fermentar.

4. CONCLUSIONES

De todas las tecnologías de extracción analizadas (fluidos supercríticos, tratamientos hidrotérmicos, ultrasonido y extracción hidroalcohólica), la extracción hidroalcohólica al 70% es

la que presenta mejores rendimientos en cuanto a las concentraciones de compuestos fenólicos. A su vez es económicamente la más rentable para la industria.

5. AGRADECIMIENTOS

Agradecimiento a Compañía Nacional de Chocolates S.A.S por la financiación de este proyecto.

6. REFERENCIAS

1. Schinella G, Mosca S, Cienfuegos-Jovellanos E, Pasamar MÁ, Muguerza B, Ramón D, et al. Antioxidant properties of polyphenol-rich cocoa products industrially processed. *Food Res Int.* 2010 Jul;43(6): 1614–23.
2. Gil J. Estabilidad y actividad antioxidante de catequinas presentes en cacaos colombianos durante los procesos de pre industrialización. UdeA [Internet]. 2012 [cited 2019 Jan 1]. Available from: <https://bibliotecadigital.udea.edu.co/handle/10495/1621>.
3. Toro-Uribe S, Montero L, López-Giraldo L, Ibáñez E, Herrero M. Characterization of secondary metabolites from green cocoa beans using focusing-modulated comprehensive two-dimensional liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta.* 2018 Dec; 1036: 204-13.
4. García-blanco T, Dávalos A, Visioli F. Tea, cocoa, coffee, and affective disorders: vicious or virtuous cycle?. *J Affect Disord.* 2016 Dec; 224: 61-8.
5. Tsanova-savova S, Ā FR, Gerova M. (+)-Catechin and (-)-epicatechin in Bulgarian fruits. *J Food Compos Anal.* 2004 Jun;18:691–8.

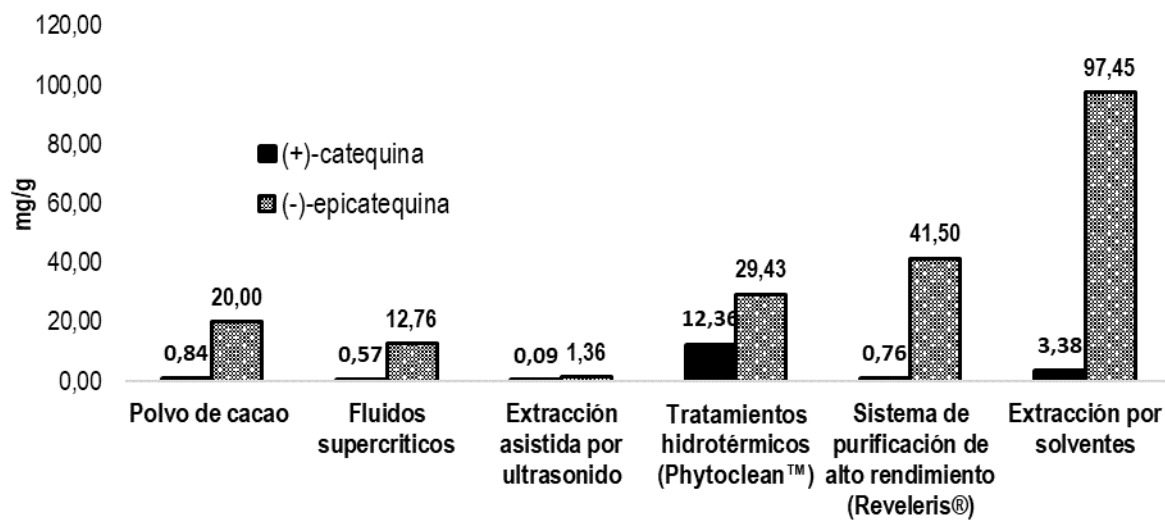


Figura 1. Contenido de flavan 3-oles del polvo de cacao sometido a las diferentes tecnologías de extracción.

Influence of microencapsulated extra virgin olive oil on quality and shelf life of refrigerated breaded meat products

Influencia del aceite de oliva virgen extra microencapsulado sobre la calidad y vida útil de productos cárnicos empanados refrigerados

M. Barón-Yusty*, M. Ros-Chumillas, G.B. Martínez-Hernández, A. López-Gómez

Grupo de Ingeniería del Frío y la Seguridad Alimentaria, Departamento de Ingeniería Agronómica, ETSIA, Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Murcia. Spain.

*marta.baron@edu.upct.es

Abstract

This research has developed an innovative technology for manufacturing refrigerated baked breaded meat products that eliminates the deep-frying operation and incorporates extra virgin olive oil (EVOO) microcapsules in the breadcrumbs. EVOO microencapsulation has been studied using two kinds of cyclodextrins (α - and γ -CD) for obtaining inclusion complex by the kneading method. The results of this study fulfill today's consumer's needs, as the new technology developed on a laboratory scale (without using deep-frying) obtains a healthier product with the same sensory characteristics that a fried breaded meat product. This innovative technology of adding microencapsulated EVOO in α -CD and γ -CD achieves a reduction of 88.5% and 87.7% of total fat content in the product, respectively, comparing to the same deep-fried breaded meat product.

Keywords: cyclodextrins; deep-frying; baking; fat content; microbiology.

Resumen

Esta investigación ha desarrollado una tecnología innovadora para la fabricación de productos cárnicos empanados horneados y refrigerados que elimina la operación de fritura e incorpora microcápsulas de aceite de oliva virgen extra (AOVE) en el pan rallado. La microencapsulación de AOVE se ha estudiado utilizando dos tipos de ciclodextrinas (α - y γ -CD) para la obtención de complejos de inclusión mediante el método de amasado. Los resultados de este estudio satisfacen las necesidades del consumidor actual, ya que la nueva tecnología desarrollada a escala de laboratorio (sin utilizar fritura) consigue un producto más saludable con las mismas características sensoriales que un producto cárnico empanado frito. Esta innovadora tecnología de adición de AOVE microencapsulado en α -CD y γ -CD logra una reducción del 88,5% y 87,7%, respectivamente, del contenido total de grasa en el producto, en comparación con el mismo producto cárnico empanado frito.

Palabras clave: ciclodextrinas; pre-fritura; horneado; contenido en grasa; microbiología.

1. INTRODUCCIÓN

Con la evolución actual de la sociedad, el estilo de vida ha evolucionado hacia una menor dedicación de tiempo en la preparación de la comida. Como consecuencia, y esto es una tendencia que se observa a nivel mundial, la demanda de platos preparados es cada vez mayor. Al mismo tiempo, existe una clara tendencia del mercado alimentario hacia el desarrollo de platos preparados más saludables y nutritivos, debido al incremento de la concienciación de la relación

entre alimentación más sana y salud. Dentro de los platos preparados, el consumo de productos cárnicos empanados refrigerados ha aumentado en los últimos años debido a su elevada popularidad y facilidad de preparación. No obstante, su alto contenido en grasa, provocado por la pre-fritura en aceite, que es la forma de precocinado que actualmente se usa a nivel industrial, amenaza la demanda de estos productos (1,2). Por lo tanto, la necesidad de limitar el consumo de grasa (aceite) que contienen estos productos o la búsqueda de una nueva tecnología que reduzca el contenido de grasa se ha convertido actualmente en un desafío para esta industria. En este sentido, la encapsulación del aceite de oliva en ciclodextrinas (CDs) y su uso mínimo en el producto ofrece la posibilidad de reducir su contenido graso.

Este trabajo ha tenido por objetivo el desarrollo de una nueva tecnología de fabricación industrial de productos cárnicos empanados refrigerados basada en: (a) la eliminación de la fritura en aceite hirviente en el precocinado, sustituyéndola por un horneado, y (b) la incorporación del aceite de oliva virgen extra (AOVE) encapsulado en el pan rallado. De esta manera, se trataba de conseguir el objetivo de añadir la cantidad mínima, y estrictamente necesaria, de AOVE para obtener unas adecuadas características sensoriales en el producto empanado, similares a las del mismo producto frito.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Microencapsulación de AOVE en CDs y realización de la etapa de empanado

El proceso de encapsulación del AOVE, obtenido de un supermercado local, se realizó mediante la técnica de mezcla, de acuerdo con el método descrito por Mourtzinos et al. (4). Esta microencapsulación se llevó a cabo mezclando enérgicamente en mortero el AOVE con CDs durante 45 min. Las proporciones AOVE:CDs (*p:p*) estudiadas fueron 1,3:3,4 para AOVE: α -CD y 1,8:4,6 para AOVE: γ -CD.

Seguidamente, se realizó el empanado de filetes de pollo con una mezcla de pan rallado de maíz y complejo AOVE-CDs, utilizando una relación de mezcla en este caso de 2:1 (*p:p*). El producto así empanado se horneó para obtener un aspecto dorado similar al que se obtiene mediante prefritura en aceite. Esta nueva tecnología se comparó con un tratamiento control donde los filetes de pollo se empanaron solamente con el mismo tipo de pan rallado, pero sin adición de AOVE encapsulado, y después sufrieron una prefritura en aceite a 180°C durante 1,5 min. Finalmente, los filetes de pollo empanados, tanto los prefritos como los horneados se conservaron a 4°C durante 11 días.

2.2 Comparación de la calidad y vida útil de los productos elaborados con la nueva tecnología frente a los obtenidos mediante fritura tradicional

Se realizó un estudio de calidad y vida útil de las muestras después de 1, 3, 5, 8 y 11 días de conservación refrigerada. En cada muestra se analizaron los recuentos microbianos (aerobios mesófilos totales, mohos, levaduras, *Pseudomonas* y psicrófilos; expresando los resultados en Log UFC/g) en producto fresco antes del cocinado, y para el estudio de calidad del producto, se analizó el color, aceptación sensorial y contenido en grasa del producto tras su cocinado para su consumo (10 min a 180°C en horno de aire caliente y convección forzada). El color del producto cocinado se determinó mediante colorímetro (Chroma Meter CR-400, Konica, USA) con el sistema CIELab (L^* , a^* y b^*). El contenido en grasa del producto, antes y después de cocinar, se analizó mediante extractor sólido-líquido Soxhlet con n-hexano (a 69°C, 4 h) seguida de evaporación en rotavapor para obtener finalmente el peso de residuo graso. En el análisis sensorial del producto se determinó la aceptación global, en base a la valoración conjunta de apariencia, color, sabor, textura y aroma, en una escala 1-5 donde 5 era la puntuación máxima y 1 la puntuación mínima (5).

2.3 Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el programa informático Rstudio usando un análisis estadístico unidireccional de ANOVA seguido de la prueba Tukey HSD a un nivel de confianza del 95%. Los datos se presentan como valores promedio con su desviación estándar (sd).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se hallaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en la valoración sensorial global de los productos elaborados con la nueva tecnología, respecto de la fritura convencional. Esto significa que se obtienen las características organolépticas del producto frito, pero sin realizar una fritura previa en aceite (Tabla 1). En lo referente al color, con la nueva tecnología se obtuvo un color más amarillo ($-a^*$, $+b^*$) frente al color marrón-dorado ($+a^*$, $+b^*$) característico obtenido con la fritura tradicional. No obstante, según Rosell (6), la gama de colores amarillos en los productos fritos se asocia a productos más atractivos que los que presentan una gama de colores marrones, que es más característica de una fritura tradicional.

En cuanto a la evaluación del recuento de aerobios mesófilos totales, se pone de manifiesto que con la nueva tecnología se mejora la calidad microbiológica, obteniendo recuentos de 2 Log UFC/g menos que en los empanados tradicionales, con lo que se prolonga su vida útil más allá de los 11 días (Fig. 1). El resto de microorganismos estudiados (mohos, levaduras, *Pseudomonas* y psicrófilos) estuvieron por debajo del límite de detección experimental (datos no mostrados).

En lo referente al contenido de grasa, con la nueva tecnológica se consigue una reducción del 88,5% cuando se usa el complejo AOVE: α -CD, y del 87,7% con el complejo AOVE: γ -CD (sin diferencias significativas entre ambos complejos; $p > 0,05$), en comparación con el control frito.

4. CONCLUSIONES

Se ha podido demostrar en este estudio que la tecnología que implica el uso de AOVE microencapsulado en la elaboración de productos cárnicos empanados precocinados y refrigerados, realizando el precocinado en horno de aire caliente de convección forzada, constituye una excelente alternativa frente al uso de la fritura tradicional en aceite, ya que se obtiene un producto de mayor vida útil y con mejor calidad como producto cocinado (mejor color y menor contenido graso). Por todo ello, resultará interesante seguir investigando sobre el interés de la encapsulación del AOVE con otras combinaciones de ciclodextrinas y otros agentes de encapsulación, y el uso de otros tipos de hornos, como son los hornos de infrarrojos, para optimizar esta nueva tecnología.

5. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la empresa FRIPOZO S.A. a través del Proyecto CDTI IDI-20190627, y del contrato correspondiente con la Universidad Politécnica de Cartagena, que también ha financiado la beca predoctoral de la autora de este trabajo Marta Barón.

6. REFERENCIAS

1. Tuorila H, Hartmann C. Consumer responses to novel and unfamiliar foods. *Curr Opin Food Sci.* 2020;33:1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.09.004>.
2. Soto-Jover S, Boluda-Aguilar M, Esnoz-Nicuesa A, Iguaz-Gainza A, López-Gómez A. Texture, oil adsorption and safety of the European style croquettes manufactured at industrial scale. *Food Eng Rev.* 2016;8(2):181–200. <https://doi.org/10.1007/s12393-015-9130-2>.
3. Thienhirun S, Sulin C. Consumer attitudes and preferences toward cross-cultural ready-to-eat (RTE) food. *J Food Prod Mark.* 2018;24(1),5679. <https://doi.org/10.1080/10454446.2016.1266544>.
4. Mourtzinis I, Salta F, Yannakopoulou K, Chiou A, Karathanos VT. Encapsulation of olive leaf extract in β -cyclodextrin. *J Agric Food Chem.* 2007;55(20):8088–94. <https://doi.org/10.1021/jf0709698>.

5. Jiménez-Martín E, Pérez-Palacios T, Carrascal J, Antequera Rojas T. Enrichment of chicken nuggets with microencapsulated omega-3 fish oil: Effect of frozen storage time on oxidative stability and sensory quality. Food Bioproc Tech. 2016;9,285-97. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1621-x>.
6. Rossell JB (Ed.). *Frying: Improving quality*. 2001. 1^a edición. Editorial Woodhead.

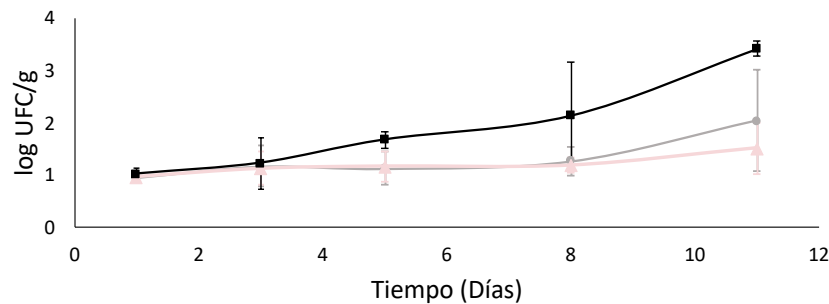


Figura 1. Evolución del recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales a lo largo de la vida útil del producto cárnico empanado refrigerado (a 4°C), según la tecnología de elaboración (■ Control, ● AOVE:α-CD, ▲ AOVE:γ-CD) (promedio±sd)

Tabla 1. Evaluación sensorial (valoración global, después de cocinado) del producto cárnico empanado refrigerado conservado a 4°C (promedio±sd).

Tratamiento	Días de consevación refrigerada					Promedio durante los 11 días
	1	3	5	8	11	
Control	4,30±0,39	3,87±0,31	3,71±0,20	3,63±0,47	3,47±0,67	3,80±0,32 ^a
AOVE:α-CD	4,28±0,06	3,69±0,61	3,83±0,72	3,81±0,48	4,48±0,35	4,02±0,34 ^a
AOVE:γ-CD	4,25±0,26	4,15±0,34	4,06±0,37	3,89±0,37	3,82±0,50	4,03±0,18 ^a

Valores con diferentes superíndices indican diferencias significativas (p<0,05)

Tabla 2. Contenido de grasa del producto cárnico empanado (después de su cocinado) conservado a 4°C (promedio±sd).

Atributo	Control (frito)		AOV:α-CD		AOV:γ-CD	
	A.H.	D.H.	A.H.	D.H.	A.H.	D.H.
Grasa total (g/100 g)	19,9±7,55 ^a	17,9±3,46 ^a	2,29±0,497 ^b	4,37±1,42 ^c	2,45±0,559 ^b	2,26±0,494 ^b

A.H. = Antes del horneado final; D.H. = Después del horneado final

Valores con diferentes superíndices indican diferencias significativas (p<0,05)

Comparison of calafate with other native fruits of Chile with biological potential

Comparación de calafate con otros frutos nativos de Chile con potencial biológico

ME. Romero-Román^{1,3*}, MD. López¹, P.S. Fernández², C. García-Viguera³

¹Departamento de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción. Chile.

²Departamento de Ingeniería Agronómica, ETSIA, Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Murcia. Spain.

³Laboratorio de Fitoquímica y Alimentos Saludables, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, CEBAS-CSIC, Campus Universitario de Espinardo, 25, 30100 Espinardo, Murcia. Spain.

*mariaeugeromero@udec.cl

Abstract

Red fruits from central and southern Chile have great potential in the food industry thanks to their high content of polyphenols, compounds that have been associated with clear benefits for human health. Three native berries were compared: myrtle, murtilla and calafate. The antioxidant capacity was determined in vitro by two methods * DPPH and FRAP and chemical profile by HPLC-DAD. Of the three berries, calafate registered the highest value in terms of total polyphenols and excellent reducing power (11279.2±2027.4 μmol Trolox 100 g⁻¹ FRAP assay and 5235.0±445.9, μmol 100g⁻¹ in DPPH). The anthocyanin chemical profile showed delphinidin, cyanidin, malvidin, petunidin and peonidin in the three berries. These results contribute to highlighting the potential use of these berries as functional foods.

Keywords: red fruits; native; antioxidant capacity; HPLC-DAD.

Resumen

Los frutos rojos del centro y sur de Chile tienen un gran potencial en la industria alimentaria gracias a sus altos contenidos de polifenoles, compuestos que han sido relacionados con claros beneficios en la salud humana. Se comparó tres bayas nativas: arrayán, murtilla y calafate. Se determinó in vitro la capacidad antioxidante por dos métodos *DPPH y FRAP y perfil químico por HPLC-DAD. De los tres berries, calafate registró el valor más alto en cuanto a polifenoles totales y excelente poder reductor (11279,2±2027,4 μmol Trolox 100g⁻¹ ensayo FRAP y 5235,0±445,9, μmol 100g⁻¹ en DPPH). El perfil químico de antocianinas mostró delfinidina, cianidina, malvidina, petunidina y peonidina en los tres berries. Estos resultados contribuyen a confirmar el uso potencial de estos berries como alimentos funcionales.

Palabras clave: frutos rojos; nativos; capacidad antioxidante; HPLC-DAD.

1. INTRODUCCIÓN

Los frutos rojos o “berries” poseen colores característicos que van del rojo al púrpura. Estos llamativos colores son gracias a algunos de los metabolitos secundarios que estas plantas producen como mecanismo de protección frente a estrés abiótico (1). En diversos estudios se ha determinado que estos compuestos pueden ofrecer beneficios claros en la salud humana, ya que

tienen la capacidad de evitar el estrés oxidativo asociado a enfermedades crónicas y degenerativas (2).

Considerando el contenido de compuestos bioactivos, a la presente fecha, la promoción del consumo de frutos rojos es creciente, en especial el consumo de frutos nativos ya que los compuestos químicos que ellos producen, están asociados con la protección frente a enfermedades degenerativas (3), crónicas (4), inflamatorias (5), entre otras. En Chile, existe una amplia diversidad de bayas que crecen bajo distintas condiciones ecológicas (6), sin embargo, algunas como el arrayán (*Luma apiculata*) (7), calafate (*Berberis microphylla* G. Forst) (8) y murtila (*Ugni molinae*) (9), por su condición silvestre o de semi-domesticación, su valor a nivel agronómico y en la industria alimentaria aún está siendo investigado. Con estos antecedentes el presente trabajo busca destacar el potencial de tres berries nativos chilenos del centro y sur de Chile, para promoción de futuros trabajos y generación de alimentos funcionales en relación con los compuestos bioactivos de murtila, arrayán y calafate.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Material vegetal y extracción

Los frutos en estado óptimo de maduración fueron colectados de la zona centro y sur de Chile. arrayán (*Luma apiculata*) de Mulchén, Región de Bio-Bio, murtila (*Ugni molinae*) de Temuco y calafate (*Berberis microphylla* G. Forst) de la región de Aysén y se mantuvieron a -80°C antes de los ensayos. La extracción polifenólica se realizó agua:metanol:ácido fórmico (24:25:1), sonicación por 1 h y 24 h de maceración a temperatura ambiente, una sonicación posterior de 1 h y filtración antes del análisis por cromatografía.

2.2 Características físico-químicas y preparación de extractos

La determinación de las propiedades fisicoquímicas se realizó a partir de frutos elegidos al azar. Se midieron diámetros ecuatorial y polar de 20 berries por especie y el peso en 100 frutos de cada una de las muestras. El pH, sólidos solubles y acidez se obtuvieron a partir de frutos triturados, utilizando el pHmetro digital marca INOLAB serie PH7110 para pH y la medición de sólidos solubles en °Brix utilizando un refractómetro SPER SCIENTIFIC serie 300010. La acidez se determinó por titulación con NaOH 0,1M a partir de 0,5 g de muestra triturada y diluida en 150 mL de agua destilada.

2.3 Identificación y cuantificación de antocianos y capacidad antioxidante

La determinación de los antocianos de los tres frutos nativos de Chile se realizó por HPLC-DAD (HPLC Merck-Hitachi, Darmstadt, Alemania). Se usó malvidina 3-galactósido como estándar a 520 nm. Se realizaron 3 réplicas de cada muestra para posteriormente comparar los resultados mediante un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel significativo de $p \leq 0,05$.

El valor de capacidad antioxidante FRAP se obtuvo con 30 μ L de cada extracto, 300 μ L de agua destilada y la adición de 3000 μ L del reactivo FRAP ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20mM, TPTZ10mM y tampón acetato 0,3 mM) incubados a 37°C durante 30 min y medidos a 595 nm de absorbancia en el espectrofotómetro UV/vis Thermo Scientific. Los resultados se enunciaron como μ mol trolox 100 g^{-1} de muestra peso fresco. Respecto a la capacidad antioxidante DPPH, se utilizó 100 μ L del extracto y 2,9 mL de la solución DPPH agitados constantemente y posterior incubación en oscuridad durante 1 h. Finalmente se realizó la lectura a 515 nm. Los resultados se expresaron en μ mol trolox 100 g^{-1} de muestra peso fresco.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El pH de los frutos analizados estuvo entre 3,7 y 4,2. siendo murtila la más ácida y arrayán la más alcalina. Respecto a los azúcares totales, calafate presentó valores superiores a respecto a los otros dos frutos (Tabla 1). En cuanto a capacidad antioxidante, (Tabla 2) calafate posee el más

alto poder reductor de radicales libre mediante método FRAP ($11279,2 \pm 2027,4 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1}$); similares a reportes de otros investigadores (10). Para el radical DPPH, los mejores resultados se obtuvieron para calafate ($5235,0 \pm 445,9 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1}$) seguido por arrayan ($4401,7 \pm 493,9$).

En el presente estudio para los tres frutos nativos chilenos mediante HPLC-DAD se identificaron 9 antocianinas a partir de extractos, todas ellas variantes glucosiladas de cianidina, delphinidina, malvidina, peonidina, petunidina y pelargonidina. Estos resultados son similares a los reportados en otras investigaciones donde se menciona que los compuestos predominantes en todos los frutos rojos comestibles son malvidina-3-glucósido, cumarato de malvidina-3-glucósido y la delphinidina-3-glucósido (11,12) y se destaca este último presente en calafate (Fig. 1) que se encuentra en mayor cantidad respecto a las otras bayas (8).

4. CONCLUSIONES

Calafate (*B. microphylla*) es la baya que mostró los niveles más altos de compuestos polifenólicos y actividad antioxidante por el método FRAP y DPPH seguida de arrayan. Estos frutos ricos en compuestos polifenólicos tienen un futuro prometedor para ser incorporados como ingredientes funcionales, por lo que es meritorio continuar con el estudio de estas bayas.

5. AGRADECIMIENTOS

Gratitud y reconocimiento a FONDECYT, que financia el proyecto 1160899 (CONICYT, Chile) y SENESCYT por la beca de estudios doctorales de ME. Romero-Román. Especial distinción a las Universidades de Concepción, Chile y Politécnica de Cartagena que permitieron la realización de la Tesis de la Doctoranda bajo el régimen de Cotutela.

6. REFERENCIAS

1. Fernandes de Oliveira A, Mercenaro L, Del Caro A, Pretti L, Nieddu G. Distinctive Anthocyanin Accumulation Responses to Temperature and Natural UV Radiation of Two Field-Grown *Vitis vinifera* L. Cultivars. *Molecules*. 2015 Jan 27;20(2):2061–80.
2. Ćujić N, Savikin K, Miloradovic Z, Ivanov M, Vajic U-J, Karanovic D, et al. Characterization of dried chokeberry fruit extract and its chronic effects on blood pressure and oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. *J Funct Foods*. 2018;44:330–9.
3. Spagnuolo C, Moccia S, Russo GL. Anti-inflammatory effects of flavonoids in neurodegenerative disorders. *Eur J Med Chem*. 2018 Jun 10;153:105–15.
4. Tsuda T. Recent progress in anti-obesity and anti-diabetes effect of berries. *Antioxidants*. 2016;5(2):13.
5. Sarkar D, Shetty K. Metabolic stimulation of plant phenolics for food preservation and health. *Annu Rev Food Sci Technol*. 2014;5:395–413.
6. Romero-Román ME, Schoebitz M, Bastías RM, Fernández PS, García-Viguera C, López-Belchi MD. Native Species Facing Climate Changes: Response of Calafate Berries to Low Temperature and UV Radiation. *Foods*. 2021 Jan 19;10(1).
7. Simirgiotis MJ, Quispe C, Mocan A, Villatoro JM, Areche C, Bórquez J, et al. UHPLC high resolution orbitrap metabolomic fingerprinting of the unique species *Ophryosporus triangularis* Meyen from the Atacama Desert, Northern Chile. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2017;27(2):179–87.
8. Lopez MD, Romero ME, Vera B. El calafate. Su industrialización abre nuevas perspectivas. *Indualimentos* [Internet]. 2018 Apr;110. Available from: <http://www.indualimentos.cl/edic.html>
9. Junqueira-Gonçalves MP, Yáñez L, Morales C, Navarro M, A. Contreras R, Zúñiga GE. Isolation and Characterization of Phenolic Compounds and Anthocyanins from Murta (*Ugni molinae* Turcz.) Fruits. Assessment of Antioxidant and Antibacterial Activity. *Molecules*. 2015 Mar 31;20(4):5698–713.
10. Mariangel E, Reyes-Díaz M, Lobos W, Bensch E, Schalchli H, Ibarra P. The antioxidant properties of calafate (*Berberis microphylla*) fruits from four different locations in southern Chile. *Ciencia e investigación agraria*. 2013 Apr;40(1):161–70.

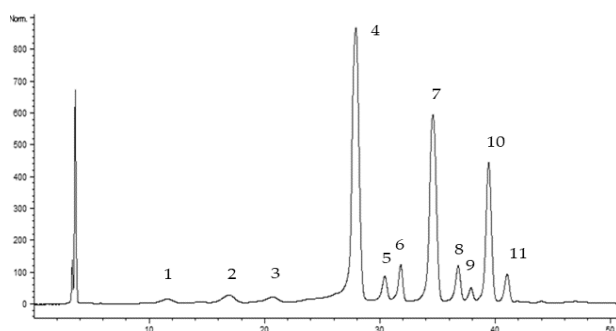
11. Brito A, Areche C, Sepúlveda B, Kennelly EJ, Simirgiotis MJ. Anthocyanin Characterization, Total Phenolic Quantification and Antioxidant Features of Some Chilean Edible Berry Extracts. *Molecules*. 2014 Jul 28;19(8):10936–55.
12. Burin B, Falcao L, Valdemoro L. Color, contenido fenólico y actividad antioxidante del jugo de uva. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2010;30(4):1–6.

Tabla 1 Comparación de características fisicoquímicas de calafate (*B. microphylla* G. Forst), murtila (*U. molinae*) y arrayan (*L. apiculata*), del centro y sur de Chile.

Fruta	pH	°Brix	Azúcares Totales (g azúcar/100g)	Peso	Diámetro Ecuatorial	Diámetro Polar
Calafate	3,69±0,06 ^b	27,1±1,7 ^a	13,89±0,45 ^a	11,4±0,6 ^b	10,00±0,67 ^{ab}	7,81±2,48 ^b
Murtilla	3,67±0,04 ^b	13,1±0,6 ^b	8,24±0,57 ^b	12,5±0,6 ^b	9,93±0,61 ^b	8,87±0,47 ^b
Arrayan	4,21±0,08 ^a	9,6±0,4 ^c	5,23±0,46 ^c	20,0±0,4 ^a	12,12±1,68 ^a	12,12±1,51 ^a

Tabla 2. Capacidad antioxidante de calafate (*B. microphylla* G. Forst), murtila (*U. molinae*) y arrayan (*L. apiculata*) por métodos *DPPH y FRAP.

Fruta	DPPH (µmol 100 g ⁻¹)	FRAP (µmol 100 g ⁻¹)
Calafate	5235,0±445,9 ^a	11279,2±2027,4 ^a
Murtilla	2005,8±848,6 ^b	5445,8±316,6 ^b
Arrayan	4401,7±493,9 ^a	2104,2±344,9 ^c



Peak	Antocianos
1	Delfinidina 3,5 -dihexoside
2	Petunidina 3,5 -dihexoside
3	Malvidina 3,5 -dihexoside
4	Delfinidina 3-glucoside
5	Delfinidina 3-rutinoside
6	Cyanidina 3-glucoside
7	Petunidina 3-glucoside
8	Petunidina 3-rutinoside
9	Peonidina 3-glucoside
10	Malvidina 3-glucoside
11	Malvidina 3-rutinoside

Figura 1. Cromatograma HPLC-DAD a 520 nm. Antocianos de calafate.

ORAL SESSION II:
Plant Production
Technology and
Engineering

Evapotranspiration of lime trees in Mediterranean conditions

Evapotranspiración de limeros jóvenes en condiciones mediterráneas

A.B. Mira-García*, W. Conejero, J. Vera, M.R. Conesa, E. Nicolás, M.C. Ruiz-Sánchez

Departamento Riego, CEBAS-CSIC, Campus Universitario de Espinardo, 25, Apartado 164, 30100 Espinardo, Murcia, Spain.

*abmira@cebas.csic.es

Abstract

This study contributes to the knowledge of evapotranspiration of young lime trees under Mediterranean conditions. The novelty of the proposed methodology is that irrigation scheduling is carried out automatically based on the volumetric water content in the soil. In this sense, the main objective of this work was to calculate crop evapotranspiration (ET_c) using the general water balance equation. The plant material used was two-year-old lime trees (*Citrus latifolia* Tan. cv. Bearss) grown in 45 L pots, which were equipped with capacitance and matrix sensors. Irrigation, drainage, and pot weight were also continuously recorded. The irrigation schedule ensured an optimal water status of the plants during the experiment. ET_c values varied between 0.25 and 2.56 L plant⁻¹ day⁻¹ in the winter and summer months respectively, with maximum values in July. In conclusion, pot weight served to validate/determine ET_c when biomass changes were negligible. The results of this study allow to determine the evapotranspiration of lime trees and to make an irrigation management from an automatic approach.

Keywords: lysimeters; precision irrigation, soil water sensors; water balance.

Resumen

Este estudio contribuye al conocimiento de la evapotranspiración de limeros jóvenes en condiciones mediterráneas. La novedad de la metodología propuesta es que la programación del riego se realiza de forma automática en base al contenido volumétrico de agua en el suelo. En este sentido, el objetivo principal de este trabajo fue el de calcular la evapotranspiración del cultivo (ET_c) haciendo uso de la ecuación general del balance hídrico. El material vegetal utilizado fueron limeros de dos años de edad (*Citrus latifolia* Tan. cv. Bearss) cultivados en macetas de 45 L, que fueron equipadas con sensores de capacitancia y matriciales. El riego, el drenaje y el peso de la maceta también fueron registrados continuamente. La programación de riego aseguró un óptimo estado hídrico de las plantas durante el experimento. Los valores de la ET_c variaron entre 0,25 y 2,56 L planta⁻¹ día⁻¹ en los meses de invierno y verano respectivamente, con máximos valores en Julio. En conclusión, el peso de la maceta sirvió para validar/determinar la ET_c cuando los cambios de biomasa fueron despreciables. Los resultados de este estudio permiten determinar la evapotranspiración de limeros y hacer un manejo del riego desde un enfoque automático

Palabras clave: lisímetros; riego de precisión; sensores de estado hídrico del suelo; balance hídrico.

1. INTRODUCCIÓN

El limero (*Citrus latifolia* Tan.) normalmente crece en condiciones climáticas cálidas/húmedas cerca del ecuador y en zonas subtropicales de la cuenca mediterránea. En los próximos años, en estas áreas, como resultado del cambio climático, se prevé un aumento de la evapotranspiración potencial (1), así como una restricción de los recursos hídricos disponibles. Para un uso eficiente del riego, se hace necesario conocer las necesidades hídricas del cultivo, ligadas a su evapotranspiración (ET_c). Existen diversos métodos para calcular la ET_c (2,3), uno de ellos es el método del balance hídrico, que permite determinar con precisión la ET_c a través de las entradas y salidas de agua en el suelo haciendo uso para ello de lisímetros de pesada o drenaje. En este sentido, el objetivo principal del presente trabajo es el de determinar la evapotranspiración de limeros jóvenes en condiciones mediterráneas, usando sensores de registro continuo para la medida de los parámetros de la ecuación general del balance hídrico. La novedad de la metodología propuesta es que la programación del riego se realiza en base a valores umbrales del contenido volumétrico de agua en el suelo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se lleva a cabo en una parcela experimental de limeros de 1 ha de superficie situada en Santomera, Murcia a 110 m s.n.m. El material vegetal utilizado fueron limeros (*Citrus latifolia* Tan.) de la variedad Bearss de 2 años de edad injertados sobre *Citrus macrophylla* L. Un total de 15 árboles fueron plantados en macetas de polietileno de 45 L. Cada árbol contaba con dos goteros autocompensantes de 2 L h⁻¹ y el suelo utilizado fue de textura arcillo-limosa.

La programación del riego se realizó en base al contenido volumétrico de agua en el suelo (θ_v) para lo que se instalaron sondas de capacitancia en 4 macetas con un porte vegetativo similar. Cada sonda contenía 2 sensores instalados a 0,20 y 0,30 m de profundidad. Al inicio del experimento, los valores umbrales de θ_v para programar el riego fueron testeados, fijando un valor del 30% del agotamiento permisible para iniciar riego y capacidad de campo (CC) para detenerlo.

Estas mismas macetas se equiparon con sensores matriciales que se instalaron a 0,3 m de profundidad. Ambos sensores, matricial y capacitivo estaban conectados a una unidad de radiotransmisión que lee valores cada 5 min y registra valores promedios cada 15 min.

La evapotranspiración de los limeros (ET_c) fue calculada con la ecuación general del balance hídrico:

$$ET_c = R + P - E - D \pm \Delta S \quad [\text{Ec. 1}]$$

En donde, la ET_c se produce a expensas de las variaciones del contenido de agua en el suelo (ΔS), la cual proviene del riego (R) y la lluvia (P), descontando la que se pierde por drenaje (D) y escorrentía (E). La escorrentía durante el período experimental fue 0 y se comprobó que la programación automática del riego de alta frecuencia generó valores despreciables de variación del contenido de agua del suelo.

En las macetas objeto de estudio, el riego se midió con caudalímetros de pulsos mientras que el drenaje se determinó haciendo uso de sensores de goteo. La precipitación se registró en la estación meteorológica de la propia finca. Las macetas se colocaron en balanzas para el control en continuo del peso.

A fin de confirmar el adecuado estado hídrico del cultivo durante el ensayo, se realizaron medidas frecuentes del potencial hídrico de tallo (Ψ_{tallo}) y del intercambio gaseoso (conductancia estomática, g_s , y fotosíntesis neta, F_n). El Ψ_{tallo} se midió con una cámara de presión en hojas maduras localizadas en la cara sombreada del árbol, las cuales fueron tapadas al menos dos horas antes de la medida (4). El intercambio gaseoso se determinó con un medidor portátil de fotosíntesis en hojas maduras situadas en la cara soleada del árbol.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el ensayo las condiciones meteorológicas fueron típicamente mediterráneas, con una precipitación anual y una evapotranspiración de referencia (ET_0) de 149,9 mm y 1375,5 mm respectivamente. La temperatura media anual fue de 18,7°C. El contenido volumétrico de agua en el suelo se mantuvo a lo largo de todo el ensayo en torno al 29 y 35%, correspondiendo con el 30% del nivel agotamiento permisible y CC, que se corresponden con valores del potencial matricial de -25 y -50 kPa respectivamente. La programación del riego en base a valores umbrales de contenido de agua en el suelo aseguró un adecuado estado hídrico del cultivo, con valores medios de Ψ_{tallo} por encima de -0.8 MPa y una fotosíntesis neta y conductancia estomática media próxima a 7 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y 80 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente.

La ET_c incluye las pérdidas de agua por evaporación del suelo y por la transpiración de la planta a través de los estomas. En las condiciones ensayadas, la evaporación del suelo supuso el 20% de la ET_c en los meses de máxima demanda evaporativa. La ET_c del cultivo tal y como se puede observar en la Fig. 1A aumenta progresivamente desde enero (0,25 L planta⁻¹ día⁻¹) hasta mediados de julio cuando registró el valor máximo de 2,56 L planta⁻¹ día⁻¹. Desde este momento, la ET_c gradualmente decrece hasta registrar el valor de 0,2 L planta⁻¹ día⁻¹ en diciembre. Resultados similares se han observado en estudios recientes (5) en los que la ET_c máxima también se registró en los meses de verano. El hecho de que nuestros datos sean ligeramente mayores a los de este estudio, podría ser debido a una mayor transpiración de la planta como consecuencia del mayor desarrollo vegetativo de los árboles.

Además de las condiciones meteorológicas (6), la evapotranspiración también depende del estado fenológico del cultivo (Fig. 1A). En este ensayo se observó que la ET_c aumentó progresivamente desde la floración (0,39 L planta⁻¹ día⁻¹) hasta el estado II de crecimiento del fruto (2,5 L planta⁻¹ día⁻¹), decreciendo progresivamente después de la cosecha hasta la fase de reposo invernal. Los máximos valores de ET_c se observaron durante la fase II de crecimiento del fruto, similar a lo observado en otras especies cítricas (7). Esto podría ser resultado de un mayor consumo de agua en los procesos de división y expansión celular de los frutos.

A lo largo del ensayo, el peso de la maceta permaneció prácticamente constante durante la noche y descendió durante las horas de sol coincidiendo con el consumo de agua por la planta. El peso puede ser considerado como un indicador global del balance de agua y por eso puede ser usado para determinar/validar la ET_c cuando los cambios en la biomasa son despreciables, tal y como demuestra el ajuste ($R^2=0.92^{***}$) (Fig. 1B).

4. CONCLUSIONES

La automatización del riego en base al contenido volumétrico de agua en el suelo aseguró un adecuado estado hídrico de las plantas.

Un simple y robusto lisímetro de drenaje/pesada ha resultado ser una manera práctica y económica de medir la evapotranspiración de limeros jóvenes.

Los valores propuestos de ET_c permiten determinar las necesidades hídricas del cultivo y automatizar el riego desde un enfoque práctico.

El peso de la maceta puede ser una medida directa de la evapotranspiración de cultivo en momentos en los que los cambios de biomasa sean despreciables.

El uso combinado de sensores de potencial matricial y de contenido de agua en el suelo permite una mayor precisión en el manejo del riego.

5. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado con proyectos del Plan Nacional AEI-Fondos FEDER-UE (AGL2016-77282-C03-1R y PID2019-106226RB-C2 1/AEI/10.13039/501100011033) y de la Fundación Séneca de la Región de Murcia (19903/GERM/15). Conesa M.R. agradece la financiación postdoctoral recibida por el programa Juan de la Cierva (FJCI -2017 -32045).

6. REFERENCIAS

1. IPCC .Intergovernmental Panel on Climate Change. Special Report: Global Warming of 1.5°C. 2018. Available from: <https://www.ipcc.ch/sr15/>
2. Eliades G. Irrigation of greenhouse-grown cucumbers. *J Hortic Sci.* 1988;63(2):235–9.
3. Allen RG, Pereira LS, Raes D, Smith M, Ab W. Crop evapotranspiration: Guidelines for computing crop water requirements. FAO Irrigation and Drainage Paper No. 56. Rome; 1998:300. Available from: <http://www.kimberly.uidaho.edu/water/fao56/fao56.pdf>
4. Turner NC. Measurement of plant water status by the pressure chamber technique. *Irrig Sci.* 1988;9(4):289–308.
5. Alves J, Folegatti M V., Parsons LR, Bandaranayake W, Da Silva CR, Da Silva TJA, et al. Determination of the crop coefficient for grafted “Tahiti” lime trees and soil evaporation coefficient of Rhodic Kandudalf clay soil in Sao Paulo, Brazil. *Irrig Sci.* 2007;25(4):419–28.
6. Yang SL, Aydin M, Yano T, Li X. Evapotranspiration of orange trees in greenhouse lysimeters. *Irrig Sci.* 2003;21(4):145–9.
7. Peddinti SR, Kambhammettu BVNP, Rodda SR, Thumaty KC, Suradhaniwar S. Dynamics of Ecosystem Water Use Efficiency in Citrus Orchards of Central India Using Eddy Covariance and Landsat Measurements. *Ecosystems.* 2020;23(3):511–28.

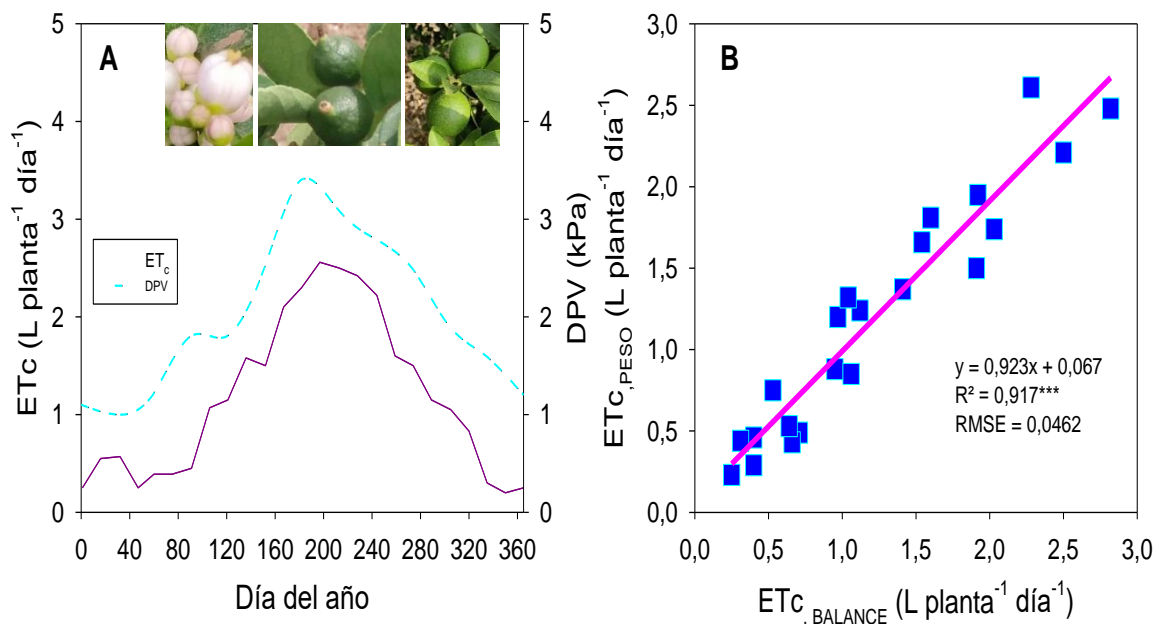


Figura 1. Evolución anual de la ETC de limeros jóvenes cultivados en condiciones mediterráneas y del déficit de presión de vapor (DPV)(A); Correlación entre la ETC_{PESO} y ETC_{BALANCE} durante el periodo experimental. Cada punto es la media de 4 repeticiones, ***p≤0,001, RMSE=error cuadrático medio (B).

Developing of a low-cost device to collect data from agricultural sensors

Desarrollo de un dispositivo de bajo coste para la recopilación de datos procedentes de sensores agrarios

M. Forcen^{1*}, N. Pavón², J.A López², A. Pérez¹

¹Departamento de Ingeniería Agronómica, ETSIA, Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT). Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Murcia. Spain

²Departamento de Automática, Ingeniería Eléctrica y Tecnología Electrónica, ETSII, UPCT. Campus Muralla del Mar, Calle Doctor Fleming S/N, 30202 Cartagena, Murcia. Spain.

*manuel.forcen@edu.upct.es

Abstract

Soil sensors are used in a wide variety of agricultural experiments in order to get information about the environment of the plants under investigation. Nevertheless, the installation of these sensors might be complicated. To determine if the installation was successful, it is useful to monitor the evolution of the sensor measurements. The solution proposed in this work allows to integrate the data logger device and all the required accessories in the same device, in addition to offering an external storage medium such as an MicroSD card.

Keywords: measurement device; datalogger; persistency; sensor.

Resumen

En un gran número de estudios agrarios se utilizan sensores instalados en el suelo para poder conocer el estado en el que se encuentran los cultivos. Sin embargo, la instalación de estos sensores puede ser bastante complicada. Para determinar si la instalación ha sido exitosa, es interesante monitorizar a pie de campo la evolución de las medidas del sensor. La solución propuesta en este trabajo permite integrar el registrador de datos y todos los elementos accesorios en el mismo dispositivo, además de ofrecer un soporte de almacenamiento compatible con todos los sistemas informáticos, como es una tarjeta MicroSD.

Palabras clave: dispositivo de medida; registrador de datos; persistencia; sensor.

1. INTRODUCTION

La sensorización ha entrado a jugar un importante papel en la agricultura, ya que permite incrementar la eficiencia productiva y el ahorro de recursos, como el agua utilizada para el riego. Este punto es clave para convertir a la agricultura en un proceso sostenible, no sólo medioambiental sino también económicamente. Existen sensores que permiten conocer el estado hídrico del suelo (contenido volumétrico y potencial matricial de agua en el suelo), la temperatura foliar, y otros en tiempo casi-real, permitiendo a los técnicos una rápida toma de decisiones (1).

Pese a los diferentes tipos de sensores existentes, la mayor parte de ellos usan señales eléctricas para poder ser recolectadas y procesadas por un sistema informatizado. Éstas se pueden clasificar en dos grupos: las señales analógicas y las señales digitales. En este caso se utilizarán señales digitales, enmarcadas dentro de un protocolo ampliamente utilizado en agricultura, el protocolo *SDI12*(2-4). La mayor ventaja de este protocolo es que permite que en

un mismo cable coexistan varios sensores. Esto se consigue asignando una dirección a cada dispositivo, y que éste sólo responda cuando la dirección pedida coincida con la suya propia.

Dada la importancia de estos sensores, es importante comprobar que después de ser instalados, están funcionando correctamente. Realizar estas tareas de configuración y mantenimiento puede ser complicado, ya que los sensores no tienen una interfaz directa y requieren de un dispositivo que permita configurarlos, por ejemplo, un adaptador para usarlo con un PC mediante USB, o una consola independiente diseñada para ese fin.

En la actualidad existen dispositivos que permiten interactuar al usuario con un sensor SDI12, ya en forma de adaptadores (5), en forma de registradores de datos autónomos (6,7) o consolas de configuración (8). Sin embargo, las soluciones mostradas tienen defectos, ya en su alto precio, su escasa disponibilidad (productos sin soporte o antiguos), o que requieren de otros dispositivos adicionales como un ordenador.

Este dispositivo ofrece una solución integral, ya que incorpora todos los elementos necesarios para poder interactuar con los sensores SDI12, como una pantalla, una batería, botones, una tarjeta SD para almacenar datos y un programa que lo orquesta todo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El dispositivo resultante deberá tener todos los elementos necesarios para su funcionamiento, tal y como se ha mencionado anteriormente, además de ser compatible con dispositivos SDI12 y con soporte para tarjetas MicroSD.

2.1 Diseño electrónico

Para la alimentación se usará una batería de Ion Litio de 8.5Wh y un circuito de carga (*TP4056*) y otro de protección de batería (*DW01A*) y un puerto para conectarlo a un cargador (*MicroUSB*). Además, requerirá de un elevador de voltaje para convertir los 4.2 voltios de la batería a los 12 voltios que requiere el *SDI12*. Para ello, se hace uso de un elevador *HX3242*, y para el microcontrolador y la señal de 5 voltios del *SDI12*, se usa un *HX3001*. Se usa una pantalla de 128x64 píxeles y un microcontrolador *ATmega328P-AU* como procesador central.

2.2 Programación e integración

El dispositivo integra una serie de comandos *SDI12*, considerados los más comunes y útiles. Estos son:

1. Detección de dispositivos en el bus.
2. Cambiar de dirección *SDI12* a un dispositivo del bus.
3. Realizar la medida de los valores de un sensor.

2.3 Persistencia

Además de permitir la medida puntual de un sensor, este dispositivo permite recolectar datos y almacenarlos en una tarjeta externa. Para ello, se configura un temporizador interno que cada periodo de medida usa el comando correspondiente y al obtener el valor lo almacena en un fichero.

La tarjeta utiliza el formato *FAT32*, que es compatible con la mayoría de los dispositivos del mercado, por lo que permite una gran interoperabilidad con otros dispositivos. El fichero sigue un formato *csv*(2), que permite ser abierto por programas de análisis de datos estadísticos como *R Studio* o de cálculo como *Excel*.

2.4 Pruebas en campo

Se han realizado distintos experimentos de medición y configuración de dos tipos de sensores con el dispositivo, una sonda de potencial matricial de tipo *MPS6/TEROS21* de Decagon y una sonda de perfil de humedad, salinidad y temperatura de suelo *Drill&Drop* de Sentek. Dado

que estos sensores son digitales, se asume que, si el dispositivo es capaz de leer información del sensor, los valores recibidos son válidos.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se han realizado dos experimentos. El primero consiste en realizar medidas de forma manual con un sensor de potencial matricial MPS6, de forma que se demuestre la capacidad del dispositivo de comunicarse con el sensor, procesar los datos y mostrarlos en pantalla, así como la de configurar el dispositivo. El segundo experimento consiste en utilizar la capacidad de persistencia del dispositivo para guardar un evento de riego, de forma que se demuestre su capacidad de persistencia.

Como resultado del primer experimento se puede observar el menú de configuración del dispositivo en la Figura 1. Una vez en este menú, se puede utilizar los botones para navegar por las distintas opciones, entre las que se encuentra realizar una medida puntual. Al realizar la medida, se muestra la pantalla de la Figura 2, donde se observan los valores medidos por el sensor.

En el segundo experimento se muestra el aparato conectado a un sensor *Drill&Drop*. En la Figura 3 se puede ver el valor de las medidas de una sonda en suelo, mientras que en la Figura 4 se puede observar la información recogida por el sensor durante un evento de riego.

4. CONCLUSIONES

Se ha diseñado un producto de bajo coste que puede servir tanto para el diagnóstico de redes de sensores como para la monitorización puntual de los mismos. Dicho dispositivo se basa en componentes abiertos, por lo que se puede modificar para extender sus capacidades, incluyendo la interpretación de datos de nuevos tipos de sensores y la adición de nuevas interfaces.

Los resultados obtenidos mediante el uso del dispositivo son similares a los obtenidos con equipos comerciales (CR1000, Procheck), pero con un coste muy inferior, ofreciendo además capacidades extendidas, como el registro de datos en soporte de almacenamiento y la posibilidad de personalizarlos dada su naturaleza libre.

5. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Investigación e Innovación del Gobierno de España (PCIN-2017-091, WaterWorks2015 ERA-NET) y Manuel Forcen agradece la financiación del contrato predoctoral recibido de la Fundación Séneca (20767/FPI/18).

6. REFERENCIAS

1. Aqeel-ur-Rehman, Abbasi AZ, Islam N, Shaikh ZA. A review of wireless sensors and networks' applications in agriculture. *Comput Stand Interfaces*. 2014 feb 1;36(2):263-70.
2. Blanco V, Domingo R, Pérez-Pastor A, Blaya-Ros PJ, Torres-Sánchez R. Soil and plant water indicators for deficit irrigation management of field-grown sweet cherry trees. *Agric Water Manag*. 2018 sep 30;208:83-94.
3. SDI-12 Support Group [Internet]. [citado 21 de octubre de 2019]. Available from: <http://sdi-12.org/>
4. Low-power wireless sensor network for frost monitoring in agriculture research | IEEE Conference Publication | IEEE Xplore [Internet]. [cited 24 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/6868546>
5. USB a SDI-12 protocolo trampa convertidor de depuración SDI12 prueba del sensor [Internet]. Grandado. [cited 7 de junio de 2021]. Available from: <https://esp.grandado.com/products/usb-a-sdi-12-protocolo-trampa-convertidor-de-depuracion-sdi12-prueba-del-sensor?variant=UHJvZHVjdFZhcmllhbnQ6MTkzNTEwMDE3>
6. Hund SV, Johnson MS, Keddie T. Developing a Hydrologic Monitoring Network in Data-Scarce Regions Using Open-Source Arduino Dataloggers. *Agric Environ Lett*. 2016;1(1):160011.

7. Jiménez-Buendía M, Soto-Valles F, Blaya-Ros PJ, Toledo-Moreo A, Domingo-Miguel R, Torres-Sánchez R. High-Density Wi-Fi Based Sensor Network for Efficient Irrigation Management in Precision Agriculture. Appl Sci. 2021 jan;11(4):1628.
8. METER Legacy Handheld Devices [Internet]. METER. [cited 7 de junio de 2021]. Available from: https://www.metergroup.com/meter_knowledgebase/buy-browse-meter-legacy-handheld-devices/



Figura 1. Medida MPS6



Figura 2. Pantalla de configuración



Figura 3. Medida Drill&Drop en campo

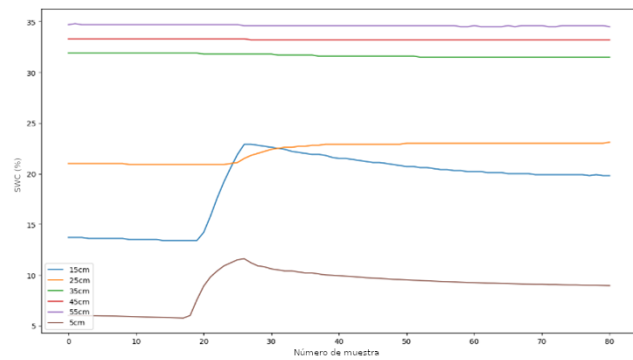


Figura 4. Evolución contenido volumétrico de agua durante riego

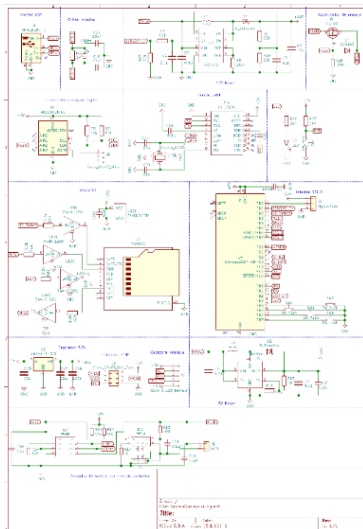


Figura 5. Esquemático del dispositivo

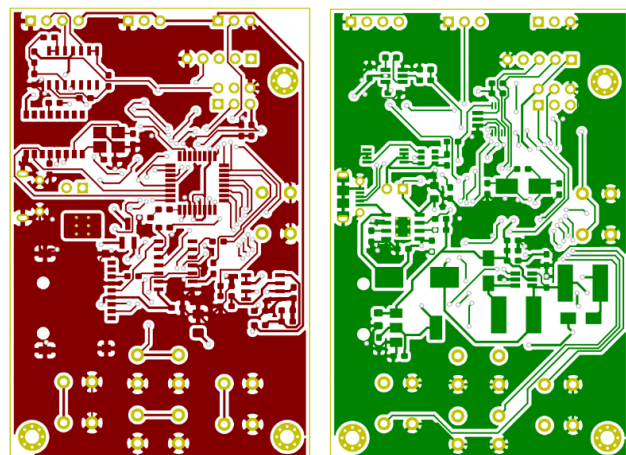


Figura 6. Placa de circuito impreso del dispositivo (rojo frontal, verde trasero)

Ca, B and Si application determining fruit physical quality in relation to aquaporins in *Prunus* species

La aplicación de Ca, B y Si determinan la calidad física de la fruta en relación con las acuaporinas en especies de *Prunus*

F.J. Quirante^{1,2*}, M.C. Martínez-Ballesta²

¹Grupo Aquaporinas, Departamento de Nutrición Vegetal, CEBAS-CSIC. Campus Universitario de Espinardo, 25, 30100 Espinardo, Murcia. Spain.

²Departamento de Ingeniería Agronómica, ETSIA, Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Murcia. Spain.

*fjquirante@cebas.csic.es

Abstract

The fruits of the genus *Prunus* sp. follow a climacteric pattern of ripening, producing a quick deterioration of the fruit quality and causing the shortening of their shelf life. Firmness is considered one of the most important features both, commercially and in the fruit management. It is one of the quality parameters most affected by this ripening decay. Some minerals such as Ca, B and Si have been shown to be involved in the structure and function of the cell wall, favouring the maintenance of firmness. On the other hand, Ca, applied in spray, has been shown to be able to regulate the activity of aquaporins under stressful situations for the plant. In this work, the application of combined treatments (Ca+B and Ca+Si) was carried out in four *Prunus* species, determining the relation between their firmness and the activation of nutrient transport through the aquaporins. Both treatments were effective in activating aquaporins, firmness showed to have a more important genetic component.

Keywords: electrolyte leakage; foliar nutrition; fruit firmness; mineral content.

Resumen

Los frutos del género *Prunus* sp. siguen un patrón climatérico de maduración, produciendo un rápido deterioro de la calidad del fruto y causando el acortamiento de la vida útil del producto. Uno de los parámetros de calidad que más afectados se ve por este decaimiento es la firmeza, la cual está considerada como uno de los más importantes tanto a nivel mercantil como de manejo de los frutos. Algunos minerales como Ca, B y Si han demostrado ser claves para la estructura y función de la pared celular, favoreciendo el mantenimiento de la firmeza. Por otro lado, el Ca, aplicado en spray, ha demostrado ser capaz de regular la actividad de las acuaporinas en situaciones de estrés para la planta. En este trabajo se realizaron aplicaciones de tratamientos combinados (Ca+B y Ca+Si) en cuatro especies de *Prunus*, determinando la relación de su firmeza con la activación del transporte y mantenimiento de nutrientes en los frutos a través de las acuaporinas. Ambos tratamientos resultaron efectivos en la activación de acuaporinas, la firmeza mostró tener un componente genético más importante.

Palabras clave: contenido mineral; firmeza; fuga electrolítica; nutrición foliar.

1. INTRODUCCIÓN

El género *Prunus* sp. engloba agronómicamente varias variedades de frutales de hueso como: almendros (*Prunus dulcis*), albaricoques (*Prunus armeniaca*), cerezas (*Prunus avium* L.),

nectarinas y melocotones (*Prunus persica* L.), paraguayos (*Prunus persica* L. var. *platycarpa*) y ciruelas (*Prunus domestica*). La maduración de estos conlleva un rápido decaimiento de sus propiedades físicas, bioquímicas, fisiológicas y organolépticas. Entre los numerosos parámetros de calidad que se encuentran afectados por este proceso encontramos la firmeza, que está considerada como uno de los principales atributos de calidad (1,2).

El turgor celular es uno de los principales factores que afectan a la firmeza, ya que se encuentra íntimamente relacionada con el transporte celular de agua. Este transporte se produce a través de proteínas que funcionan como canales de agua, las acuaporinas (3). Además, estas proteínas son capaces de transportar otros solutos, entre los que podemos encontrar, boro (B) y silicio (Si) en forma de ácido bórico y silícico (4-6). Tanto B como Si son vitales en la estructura y función de la pared celular (7,8), mientras que el Ca, ha mostrado ser importante para la firmeza de la cereza (9,10). Además, un aporte extra de Ca en situaciones de estrés ha demostrado ser efectivo para disminuir los daños del estrés a través de la regulación de la actividad de las acuaporinas (11).

El principal objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de diferentes tratamientos minerales combinados de Ca, B y Si, (Ca+B y Ca+Si) sobre la firmeza de los frutos de albaricoque, cereza, paraguayo y nectarina, determinando la relación de este parámetro con la activación del transporte y mantenimiento de nutrientes en los frutos a través de las acuaporinas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó sobre árboles de albaricoque, cereza, paraguayo, y nectarinas. El diseño experimental consistió en un bloque aleatorio, con 3 sub-bloques. Cada sub-bloque consistía en dos filas de 10 árboles. Los seis árboles centrales de la segunda fila fueron utilizados para, posteriormente, analizar sus frutos. Los tratamientos se aplicaron 3 veces durante el periodo de fructificación. La cosecha fue en el momento comercial. Cinco frutos por árbol (24 por bloque) se recolectaron para su análisis y procesamiento. Las réplicas biológicas se dividieron en 3 réplicas técnicas equitativamente.

2.1 Medición de firmeza

La firmeza se determinó de manera no destructiva, utilizando un penetrómetro digital superficial y realizando dos mediciones por fruto, cada una de ellas se realizó en caras opuestas del fruto.

2.2 Transporte mineral por acuaporinas (fuga de electrolitos)

Para determinar el transporte realizado por estas proteínas se sumergieron cubos (de 5 mm) de fruta, en 35 mL de agua destilada. Se tomaron dos muestras de 5 mL de extracto tras 30 min de incubación, a temperatura ambiente y otra después de 30 min con 10 µL de HgCl₂ 0,5 mM agitando en vortex cada 10 min, para bloquear las acuaporinas, manteniendo la mitad de los tubos como control. La composición de iones en los extractos se analizó por espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inducido (ICP-MS). La diferencia de concentración entre las dos muestras (sin Hg y con Hg) determinará la actividad de las acuaporinas y su implicación en la fuga de electrolitos.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La firmeza de las cerezas aumentó de forma significativa con ambos tratamientos, elevando su valor a un 30% frente al 17% observado en el control (Fig. 1). En albaricoques, el tratamiento más eficaz fue el Ca+B, detectando en él valores de firmeza alrededor de un 10% mayor que el control. No obstante, existen resultados contradictorios ya que el uso de sprays únicamente de Ca en cereza incrementó la firmeza (12). Ni en nectarinas, ni en paraguayos se observó influencia del tratamiento aplicado, dato que contrasta con lo observado en melocotón tras la aplicación foliar de Ca+Mg+Ti (13).

Hasta la fecha no se han realizado estudios de la influencia de la aplicación de estas formulaciones en spray sobre el transporte de nutrientes a través de las acuaporinas. Para ello, se usó Hg, un inhibidor de la actividad de las acuaporinas. Nuestros resultados (Fig 2) indican que Ca+B y Ca+Si mantuvieron una fuga menor de nutrientes en comparación con los frutos control. Estos resultados podrían indicar que, en estos frutos, las acuaporinas son activas en el transporte y mantenimiento de nutrientes en el mesocarpio, lo cual estaría respaldado por las deficiencias en el transporte de B y Si observadas en otros vegetales (14,15)

4. CONCLUSIONES

1. La firmeza se ve afectada por los tratamientos las características varietales.
2. La aplicación de Ca+B, aumentó la firmeza y la activación de acuaporinas, permitiendo un mayor mantenimiento de electrolitos, en cereza y albaricoque.
3. Los tratamientos combinados de Ca+B y Ca+Si, favorecen una mayor participación en la adquisición y mantenimiento de nutrientes por parte de las acuaporinas en estas especies.

5. AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la empresa Fénix Fresh su implicación en el proyecto y envío de frutos para su análisis.

6. REFERENCIAS

1. Valero C, Crisosto CH, Slaughter D. Relationship between nondestructive firmness measurements and commercially important ripening fruit stages for peaches, nectarines and plums. *Postharvest Biol Technol.* 2007;44(3):248–53.
2. García-Gómez BE, Salazar JA, Nicolás-Almansa M, Razi M, Rubio M, Ruiz D, et al. Molecular bases of fruit quality in prunus species: An integrated genomic, transcriptomic, and metabolic review with a breeding perspective. *Int J Mol Sci.* 2021;22(1):1–38.
3. Maurel C, Boursiac Y, Luu DT, Santoni V, Shahzad Z, Verdoucq L. Aquaporins in plants. *Physiol Rev.* 2015;95(4):1321–58.
4. Flexas J, Ribas-Carbó M, Hanson DT, Bota J, Otto B, Cifre J, et al. Tobacco aquaporin NtAQP1 is involved in mesophyll conductance to CO₂ in vivo. *Plant J.* 2006 Nov;48(3):427–39.
5. Bienert GP, Møller ALB, Kristiansen KA, Schulz A, Møller IM, Schjoerring JK, et al. Specific aquaporins facilitate the diffusion of hydrogen peroxide across membranes. *J Biol Chem.* 2007 Jan;282(2):1183–92.
6. Mitani N, Yamaji N, Ma JF. Identification of maize silicon influx transporters. *Plant Cell Physiol.* 2009;50(1):5–12.
7. Sheng H, Chen S. Plant silicon-cell wall complexes: Identification, model of covalent bond formation and biofunction. *Plant Physiol Biochem* [Internet]. 2020 March;155:13–19. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.07.020>
8. Zdunek A, Pieczywek PM, Cybulska J. The primary, secondary, and structures of higher levels of pectin polysaccharides. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2021;20(1):1101–17.
9. Correia S, Queirós F, Ribeiro C, Vilela A, Aires A, Barros AI, et al. Effects of calcium and growth regulators on sweet cherry (*Prunus avium* L.) quality and sensory attributes at harvest. *Sci Hortic (Amsterdam).* 2019;248:231–40.
10. Dong Y, Zhi H, Wang Y. Cooperative effects of pre-harvest calcium and gibberellic acid on tissue calcium content, quality attributes, and in relation to postharvest disorders of late-maturing sweet cherry. *Sci Hortic (Amsterdam)* [Internet]. 2019;246:123–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.10.067>
11. Martínez-Ballesta MC, Cabañero F, Olmos E, Periago PM, Maurel C, Carvajal M. Two different effects of calcium on aquaporins in salinity-stressed pepper plants. *Planta.* 2008;228(1):15–25.
12. Michailidis M, Karagiannis E, Tanou G, Karamanoli K, Lazaridou A, Matsi T, et al. Metabolomic and physico-chemical approach unravel dynamic regulation of calcium in sweet cherry fruit physiology. *Plant Physiol Biochem* [Internet]. 2017;116:68–79. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.05.005>
13. Serrano M, Martínez-Romero D, Castillo S, Guillén F, Valero D. Effect of preharvest sprays containing calcium, magnesium and titanium on the quality of peaches and nectarines at harvest and during postharvest storage. *J*

Sci Food Agric. 2004;84(11):1270–6.

14. Yoshinari A, Takano J. Insights into the mechanisms underlying boron homeostasis in plants. *Front Plant Sci*. 2017;8:1–8.
15. Ma JF, Yamaji N. A cooperative system of silicon transport in plants. *Trends Plant Sci* [Internet]. 2015;20(7):435–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2015.04.007>

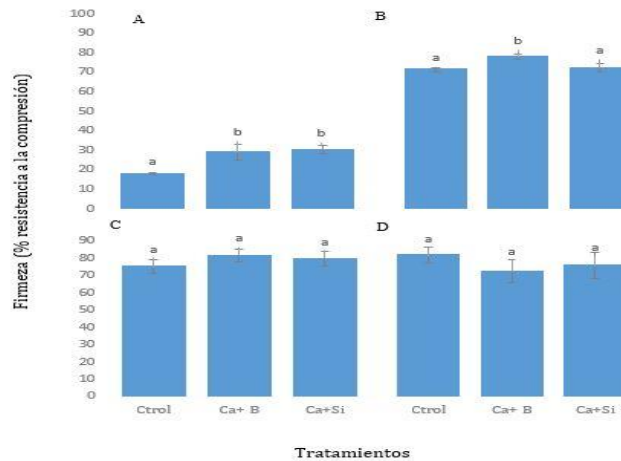


Figura 1. Firmeza (% resistencia a la compresión) en (A) cereza, (B) albaricoque (C) paraguayo y (D) nectarina después de la aplicación de fertilización foliar: Control (Ctrl), Ca + B; Ca + Si. (n=24 ±S.E). Las diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas entre los tratamientos (P<0,05).

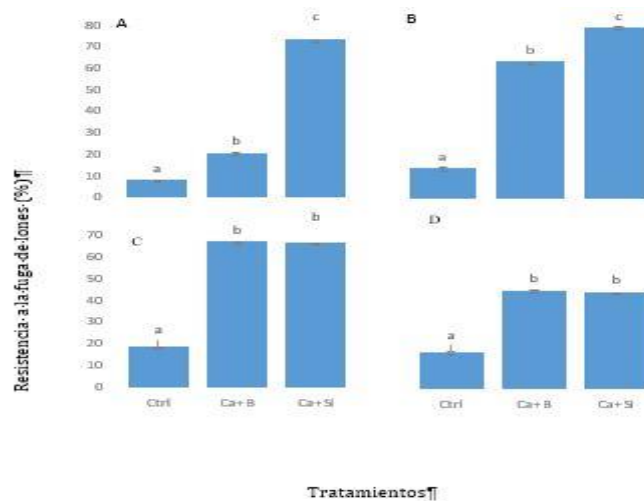


Figura 2. Resistencia a la pérdida de electrolitos en (A) cereza, (B) albaricoque (C) paraguayo y (D) nectarina tras la aplicación foliar de: Control (Ctrl), Ca + B; Ca + Si. (n=24 ±S.E). Las diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas entre los tratamientos (P<0,05).

Water stress preconditioning in melon by using biostimulants

Preacondicionamiento al estrés hídrico mediante el uso de bioestimulantes en melón

S. Zapata-García^{1*}, P.J. Espinosa-Jimenez², A. Pérez-Pastor¹

¹Departamento de Ingeniería Agronómica, ETSIA, Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Murcia. Spain.

²FMC Corporation. Madrid. Spain.

*susana.zapata@upct.es

Abstract

The use of biostimulants to enhance radicular growth is a common practice for all kinds of crops. These products are widely applied in order to prevent the effects of water scarcity on the crops. In this study, we analyze the agronomical and physiological responses of a seaweed-extract biostimulated melon growing under field conditions. First, plants were treated with two drip applications of the biostimulant. Later, at the fruit-setting stage, a severe water stress was imposed. Biostimulated plants showed a better hydric status in comparison with non-treated ones. Harvest productivity and quality were both enhanced when compared to well-watered plants.

Keywords: seaweed extract; *Ascophyllum nodosum*; Seamac® Rhizo.

Resumen

El uso de bioestimulantes es una práctica cada vez más habitual, a través de la cual se trata de fortalecer el crecimiento radicular de todo tipo de cultivos, ante las numerosas incertidumbres a las que se enfrenta la agricultura de hoy día, relativas sobre todo a la escasez de recursos hídricos. Por ello, se analiza la respuesta agronómica y fisiológica del cultivo del melón ante la aplicación de un bioestimulante, y la aplicación posterior de un período de estrés hídrico severo. El bioestimulante, formulado con extractos de algas, se aplicó al inicio del ciclo de cultivo antes del cuaje del fruto. Las plantas bioestimuladas mostraron un mejor estado hídrico que el resto de tratamientos, con incremento en la productividad y calidad de la cosecha respecto al control no sometido a estrés hídrico.

Palabras clave: extracto de algas; *Ascophyllum nodosum*; Seamac® Rhizo.

1. INTRODUCCIÓN

Los bioestimulantes han sido definidos por el Consejo Europeo para la industria de los bioestimulantes (EBIC) como “sustancias y/o microorganismos cuya función cuando se aplican a las plantas o a la rizosfera es estimular los procesos naturales para mejorar/beneficiar la absorción de nutrientes, la eficiencia de los nutrientes, la tolerancia al estrés abiótico y la calidad de los cultivos.” Los extractos de algas componen un importante grupo dentro de los bioestimulantes (1). De acuerdo a diferentes publicaciones científicas se conoce que los extractos de algas pueden promover el crecimiento de las plantas (2), incrementando la eficiencia en la absorción de agua y nutrientes, estimulando el metabolismo del carbono y nitrógeno, y mitigando los efectos adversos de estreses abiótico, como la sequía (3,4).

El objetivo de este trabajo fue analizar en condiciones de campo, la respuesta agronómica y fisiológica del cultivo del melón ante la aplicación de un bioestimulante, y la aplicación posterior de un período de estrés hídrico severo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Este ensayo se desarrolló en el Término Municipal de Torre Pacheco, en una finca comercial (37°45'58" N 0°58'03" W), de melón tipo Piel de sapo (*Cucumis melo* L.) cv. 'Cordial', entre los meses de mayo y julio de 2020, a un marco de plantación de 1,6 m x 1,8 m (3.472 plantas ha⁻¹).

Se ensayaron dos tratamientos no bioestimulados: i) un control, **CTL**, regado para satisfacer las necesidades hídricas del cultivo durante todo el ciclo del cultivo, a partir de la información generada por el estado hídrico del suelo medido con sensores; y ii) otro **CTLs**, regado como CTL excepto entre los días 43 y 56 después del trasplante (DDT), durante el cual se suprimió el riego; y un tratamiento bioestimulado, iii) **PB**, regado como CTLs y que recibió dos aplicaciones del bioestimulante, a los 7 y 21 DDT, antes del cuaje del fruto, a través del sistema de riego. El bioestimulante aplicado Seamac® Rhizo, está compuesto fundamentalmente de extractos de algas (*Ascophyllum nodosum*), y vegetales.

El diseño experimental consistió en tres repeticiones por tratamiento distribuidas al azar, con un total de 24 plantas por tratamiento. Todas las técnicas culturales fueron llevadas a cabo por el agricultor.

La cosecha se realizó en dos cortes, en los días 84 y 90 DDT (23 y 29 de julio, respectivamente). En ellos, se determinó el peso total y el número de frutos recolectados por repetición (alrededor de 20 plantas) para determinar la producción total. Asimismo, la carga frutal se expresó como el número de frutos por m lineal de cultivo. La eficiencia en el uso del agua de riego (EUAr) se calculó a partir de la relación entre la producción y el agua de riego aplicada en cada tratamiento. La calidad de los frutos se determinó a partir de 5 frutos por repetición, a los que se les evaluó el diámetro ecuatorial y longitudinal, el espesor de pulpa y corteza con un pie de rey, el porcentaje de pulpa, la acidez a través de titulación por NaOH, la firmeza de la pulpa con un penetrómetro y los sólidos solubles mediante un refractómetro. Asimismo se evaluó en el fruto, la capacidad antioxidante por el método de ABTS (5), su contenido en compuestos fenólicos totales, utilizando el método de Folin-Ciocalteu (6). La determinación de ácido ascórbico se realizó siguiendo el protocolo descrito por Cakmak y Marschner (7).

Los datos obtenidos se analizaron mediante el programa Infostat (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina) realizando un análisis de varianza ANOVA, seguido de la prueba de Duncan, a un nivel de significancia de 0,05.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El preacondicionamiento al que fueron sometidos las plantas del tratamiento bioestimulado (PB), a partir de las dos aplicaciones de Seamac® Rhizo antes del cuaje del fruto, ha suministrado una mayor resistencia de estas plantas al estrés hídrico aplicado, mostrando un incremento de un 51 y 53% de carga frutal y eficiencia en el uso del agua de riego, respectivamente, no sólo con respecto al tratamiento CTLs, sometido al mismo período de estrés hídrico que PB, sino también respecto a las plantas CTL, no estresadas (Tabla 1). Estos resultados indican un fomento de la absorción de agua y nutrientes por parte de la planta bioestimulada, tal como ocurre en estudios previos (4,8).

Atendiendo a la calidad fisicoquímica del fruto no se observaron cambios en el contenido de azúcar, acidez del fruto, y proporción de su parte comestible por efecto de los tratamientos, aunque la firmeza del melón se vio afectada por los tratamientos sometidos a supresión hídrica (Tabla 2). Analizando los compuestos funcionales del fruto, podemos observar que la supresión hídrica también causó un incremento en el contenido de ácido ascórbico del fruto (Fig. 1C).

Aunque la actividad antioxidante no se vio significativamente afectada por los tratamientos analizados (Fig. 1B), el contenido en compuestos fenólicos solubles aumentó significativamente (Fig. 1A), de forma similar a lo observado en la bibliografía para distintos cultivos (9–11).

4. CONCLUSIONES

La aplicación del bioestimulante Seamac® Rhizo en el cultivo del melón antes del cuaje, indujo a las plantas sometidas a un estrés hídrico severo a un mejor comportamiento agronómico que el resto de los tratamientos, manifestado en un notable incremento de la eficiencia en el uso del agua de riego, y unos frutos con un mayor contenido en compuestos funcionales tales como Vitamina C y compuestos fenólicos.

5. AGRADECIMIENTOS

Este estudio forma parte de los trabajos realizados en el marco de la Cátedra Universitaria FMC-UPCT “Agricultural Sciences”, y del convenio suscrito con el Sindicato Central de Regantes del Acueducto Tajo-Segura.

6. REFERENCIAS

1. du Jardin P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*. 2015 Nov 30;196:3–14.
2. Khan W, Rayirath UP, Subramanian S, Jithesh MN, Rayorath P, Hodges DM, et al. Seaweed Extracts as Biostimulants of Plant Growth and Development. *J Plant Growth Regul*. 2009 Dec 1;28(4):386–99.
3. Goñi O, Quille P, O’Connell S. *Ascophyllum nodosum* extract biostimulants and their role in enhancing tolerance to drought stress in tomato plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2018 May 1;126:63–73.
4. Conesa MR, Espinosa PJ, Pallarés D, Pérez-Pastor A. Influence of Plant Biostimulant as Technique to Harden Citrus Nursery Plants before Transplanting to the Field. *Sustainability*. 2020 Jan;12(15):6190.
5. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 1999 May 1;26(9):1231–7.
6. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am J Enol Vitic*. 1965 Jan 1;16(3):144–58.
7. Cakmak I, Marschner H. Magnesium Deficiency and High Light Intensity Enhance Activities of Superoxide Dismutase, Ascorbate Peroxidase, and Glutathione Reductase in Bean Leaves. *Plant Physiology*. 1992 Apr 1;98(4):1222–7.
8. Abd El-Mageed TA, Semida WM, Rady MM. Moringa leaf extract as biostimulant improves water use efficiency, physio-biochemical attributes of squash plants under deficit irrigation. *Agricultural Water Management*. 2017 Nov 1;193:46–54.
9. Paradiković N, Vinković T, Vrčeka IV, Žuntar I, Bojić M, Medić-Šarić M. Effect of natural biostimulants on yield and nutritional quality: an example of sweet yellow pepper (*Capsicum annuum* L.) plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2011;91(12):2146–52.
10. Trejo Valencia R, Sánchez Acosta L, Fortis Hernández M, Preciado Rangel P, Gallegos Robles MÁ, Antonio Cruz R del C, et al. Effect of Seaweed Aqueous Extracts and Compost on Vegetative Growth, Yield, and Nutraceutical Quality of Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Fruit. *Agronomy*. 2018 Nov;8(11):264.
11. Khan AS, Ahmad B, Jaskani MJ, Ahmad R, Malik AU. Foliar Application of Mixture of Amino Acids and Seaweed (*Ascophyllum nodosum*) Extract Improve Growth and Physico-chemical Properties of Grapes. *Int J Agric Biol*. 2012;14(3):7.

Tabla 1. Parámetros productivos y eficiencia del uso del agua de riego (EUAr) en cultivo de melón para los distintos tratamientos.

DDT	Trat.	Producción t ha ⁻¹		Carga frutal frutos por m		Peso fruto kg		EUAr --	
	CTL	5,55±1,94	A	0,30±0,10	A	3,43±0,17	A		
84	CTL _s	5,48±3,44	A	0,31±0,20	A	3,17±0,25	A		
	PB	5,25±1,89	A	0,27±0,10	A	3,43±0,17	A		
	CTL	17,07±1,39	AB	1,28±0,13	B	2,42±0,12	A		
90	CTL _s	14,18±2,55	B	1,11±0,21	B	2,32±0,08	A		
	PB	23,07±0,58	A	2,11±0,26	A	2,01±0,12	A		
	CTL	22,62±3,06	A	1,58±0,22	B	2,60±0,11	A	9,90±1,34	B
Total	CTL _s	19,66±1,79	A	1,42±0,06	B	2,49±0,13	A	10,54±0,96	B
	PB	28,32±2,22	A	2,39±0,32	A	2,18±0,17	A	15,18±1,19	A

DDT: Días después de trasplante. Letras distintas para una misma columna y DDT señalan diferencias significativas según ANOVA y la prueba de Duncan ($p < 0,05$). $n=3$.

Tabla 2. Parámetros de calidad de frutos de melón recolectados 84 días después del trasplante.

Trat.	SST °Brix		AT g L ⁻¹		pH		Firmeza kg cm ⁻²		Espesor pulpa mm		Pulpa + corteza %	
CTL	12,98±0,21	A	1,08±0,04	A	6,08±0,04	A	5,07±0,15	A	50,30±0,91	A	93,2±0,24	A
CTL _s	14,19±0,50	A	1,16±0,04	A	6,11±0,05	A	4,18±0,01	B	48,03±2,94	A	93,4±0,13	A
PB	14,05±0,55	A	1,12±0,03	A	6,20±0,09	A	4,19±0,13	B	52,17±1,32	A	92,9±0,12	A

SST: sólidos solubles totales; AT: acidez titulable. Letras distintas para una misma columna y parámetro señalan diferencias significativas según ANOVA y el test de Duncan ($p < 0,05$). $n=6$.

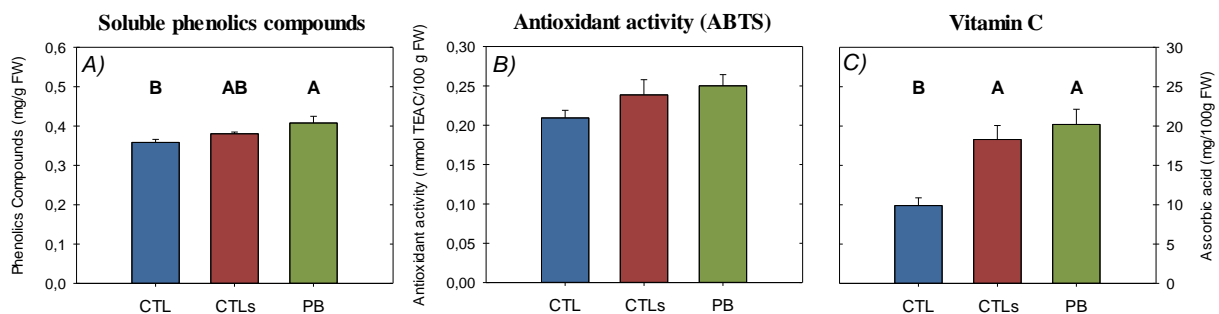


Figura 1. Calidad bioquímica del fruto. A) Compuestos fenólicos totales. B) Actividad antioxidante. C) Contenido en ácido ascórbico. Letras distintas para una misma columna y parámetro señalan diferencias significativas según ANOVA y prueba de Duncan ($p < 0,05$). $n=6$.

Estimating stomatal conductance in sweet cherry trees using thermal imaging

Estimación de la conductancia estomática en cerezos a partir del uso de imágenes térmicas

P.J. Blaya-Ros^{1*}, R. Torres-Sánchez², V. Blanco¹, R. Domingo¹

¹Departamento de Ingeniería Agronómica, ETSIA, Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Murcia. Spain.

²Departamento de Automática, Ingeniería Eléctrica y Tecnología Electrónica, ETSII, Universidad Politécnica de Cartagena. Campus Muralla del Mar, Calle Doctor Fleming S/N, 30202 Cartagena, Murcia. Spain.

*pedro.blaya@upct.es

Abstract

An experiment of withholding and resuming irrigation was carried out in young cherry trees (*Prunus avium* L.) during the summer of 2019. The aim of this experiment was to assess the use of infrared thermography to detect water stress and estimate stomatal conductance based on canopy temperature. Three irrigation treatments were evaluated: a control treatment, irrigated to ensure non-limiting soil water conditions, and two deficit irrigation treatments. Both deficit treatments were subjected to two withholding and resuming irrigation cycles of different duration and intensity, up to reach moderate water stress (MS) and severe water stress (SS). The trees submitted to MS and SS resulted in different response, however, both deficit treatments decreased stomatal conductance (gs), and increased canopy temperature (Tc), canopy-air temperature difference (ΔT) and crop water stress index (CWSI). gs estimation based on ΔT and CWSI indices was more accurate than the one based on Tc.

Keywords: water stress; leaf temperature; water stress indices; stomatal conductance.

Resumen

Durante el verano de 2019 se realizó un ensayo de supresión-reanudación del riego en cerezos jóvenes (*Prunus avium* L.), con el objetivo de evaluar el uso de la termografía infrarroja para detectar estrés hídrico y estimar el nivel de conductancia estomática a partir de medidas de temperatura de copa. Para ello, se ensayaron tres tratamientos de riego: un control, regado para asegurar condiciones no limitantes de agua en el suelo, y dos tratamientos de riego deficitario. Ambos tratamientos deficitarios se sometieron a dos ciclos de supresión-reanudación del riego con diferente duración e intensidad de modo que uno alcanzase un nivel de estrés moderado (MS) y otro de estrés severo (SS). Los árboles sometidos a MS y a SS respondieron diferente, aunque en ambos casos disminuyeron la conductancia estomática (gs), y aumentaron la temperatura de copa (Tc), la diferencia de temperaturas copa-aire (ΔT) y el índice de estrés hídrico del cultivo (CWSI). La estimación de gs fue más precisa al realizarla a partir de los índices ΔT y CWSI que de la variable Tc.

Palabras clave: estrés hídrico; temperatura foliar; índices de estrés, conductancia estomática.

1. INTRODUCCIÓN

La escasa disponibilidad hídrica, acentuada como consecuencia del cambio climático, es uno de los principales factores limitantes del desarrollo vegetativo y productivo de los cultivos. En las

zonas áridas y semiáridas, donde los cultivos se encuentran sometidos a altas demandas evaporativas, la regulación estomática juega un papel crucial en el balance de agua y CO₂ de las plantas, controlando procesos fisiológicos como la transpiración y fotosíntesis (1). La regulación estomática es una de las respuestas de las plantas al déficit hídrico, lo que conlleva una reducción de la tasa transpirativa y con ella de la disipación de energía, con lo que la temperatura de la copa, T_c, tiende a aumentar (1). Siguiendo este principio, la termografía infrarroja surgió como una técnica para evaluar el estado hídrico de un cultivo de forma rápida y no destructiva (2). Por todo ello, la finalidad del presente experimento fue estudiar el potencial de la termografía infrarroja para detectar estrés hídrico y determinar la conductancia estomática en cerezos a partir de dos ciclos de sequía-recuperación del estrés hídrico.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo fue llevado a cabo durante el periodo junio – septiembre de 2019 (día del año, DDA, 170 – 268) en una parcela ubicada a la Estación Experimental Agroalimentaria ‘Tomás Ferro’ (ETSIA-UPCT), Cartagena. Los cerezos (*Prunus avium* L. ‘Lapins’/Mirabolano), de 3 años de edad, estaban dispuesta a marco de 3,5 m x 2,25 m. El sistema de riego consistió en un único lateral con tres emisores por árbol (2,2 L h⁻¹). El ensayo constó de 3 tratamientos según un diseño de bloques al azar con 3 repeticiones y 4 árboles por repetición. Los tratamientos de riego fueron: i) CTL, control, regado para asegurar condiciones no limitantes de agua en el suelo, ii) MS, déficit moderado, regado como CTL hasta finales de junio, momento a partir del cual se alternaron 2 ciclos consecutivos de supresión-reanudación del riego. El riego se reanudó tras alcanzar un potencial hídrico de tallo, Ψ_{stem}, de -1,3 MPa en el primer ciclo y de -1,6 MPa en el segundo ciclo; y iii) SS, déficit severo, similar a MS, pero con recuperaciones a -1,6 MPa y -2,3 MPa. Los periodos de recuperación se dieron por finalizados cuando los valores de Ψ_{stem} de los tratamientos deficitarios alcanzaron valores de Ψ_{stem} similares a los de los árboles CTL. La dosis de riego aplicada fue calculada semanalmente según la metodología FAO (3).

El estado hídrico de la planta fue determinado a partir de la conductancia estomática, g_s, y de la temperatura de la copa, T_c, medidos a mediodía solar (11:00–13:00 UT) cada 3-7 días. g_s fue medida con un intercambiador de gases portable (CIRAS2, PPSsystem, USA) en 2 hojas soleadas y adultas por repetición. T_c se obtuvo con una cámara térmica (Flir One, Flir Systems, Wilsonville, OR, USA). Las imágenes fueron tomadas a una distancia de 1,5 m de la copa y en la zona soleada del árbol (4). Una vez obtenida T_c, y para mitigar el efecto de las variables meteorológicas, dos índices térmicos fueron calculados: (i) la diferencia entre la temperatura de la copa y la del aire circundante (ΔT; 1); y ii) el índice de estrés hídrico del cultivo (CWSI; 2) (5):

$$\Delta T = T_c - T_a \quad (1)$$

$$CWSI = \frac{\Delta T - \Delta T_{wet}}{\Delta T_{dry} - \Delta T_{wet}} \quad (2)$$

donde, T_a es la temperatura del aire circundante, obtenida a partir de 3 sensores ATMOS-14 (METER Group Inc., Pullman, WA, USA); T_c es la temperatura de la copa; ΔT_{wet} es la diferencia entre la temperatura de la copa-aire circundante cuando el cultivo tiene los estomas completamente abiertos y ΔT_{dry} cuando están completamente cerrados. ΔT_{wet} y ΔT_{dry} fueron obtenidos a partir de las líneas límite inferior (LLI) y superior (LLS) (6). Se realizó el análisis de varianza de los datos obtenidos con el programa estadístico IBM SPSS Statistics v.24 (Statistical package, USA), y las gráficas se realizaron con Sigmaplot Plus v.12.5 (Systat Software, USA).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los periodos de supresión del riego generaron una clara regulación estomática en los tratamientos deficitarios (Fig. 1a), provocando una caída de los valores de conductancia estomática, g_s. Esta regulación estomática causó una reducción de la tasa transpirativa y de la

disipación de calor al disminuir la evaporación de agua (1). La reducción de g_s provocó, a su vez, un aumento de la temperatura de copa, T_c , en los tratamientos deficitarios (Fig. 1b), lo que se tradujo en valores ΔT superiores a los de CTL (Fig. 1c). Sin embargo, el estrés al que fueron sometidos los árboles de MS y SS no fue suficiente para provocar un cierre estomático total (Fig. 1a), debido a lo cual los valores ΔT obtenidos fueron inferiores al valor límite ΔT_{dry} propuesto por Jones (1) para climas Mediterráneos ($\Delta T_{dry} \approx 5^\circ\text{C}$) y por Blaya-Ros et al. (6) en cerezos ($\Delta T_{dry} \approx 6^\circ\text{C}$). Del mismo modo, el cierre estomático incrementó los valores de CWSI (Fig. 1d), alcanzando valores cercanos a 0,5 durante el primer ciclo de supresión y de 0,8–0,9 durante el segundo periodo de supresión en ambos tratamientos de riego deficitario. Por otro lado, los árboles del tratamiento CTL mantuvieron valores inferiores a la temperatura del aire ($\Delta T_{media} = -0,72^\circ\text{C}$) durante todo el periodo experimental. Sin embargo, los árboles CTL mostraron un valor medio de CWSI de 0,16 durante el experimento, lo que puede ser indicativo de que su apertura estomática no se correspondiese con la máxima teórica, posiblemente debido a un aumento de la resistencia al flujo del agua, aun cuando el agua del suelo no fuera un factor limitante (7).

Las relaciones lineales obtenidas entre g_s y las diferentes variables térmicas obtenidas durante el experimento, T_c , ΔT y CWSI, presentaron coeficientes de determinación más altos para g_s vs ΔT y g_s vs CWSI que para g_s vs T_c (Fig. 2). Relaciones similares fueron observadas por García-Tejero et al. (8) en almendros, donde T_c mostró un menor coeficiente de correlación con g_s que con los índices térmicos derivados de esta, debido a que ΔT y CWSI reducen la influencia de las variables meteorológicas (9).

4. CONCLUSIONES

La termografía infrarroja puede considerarse una técnica interesante para estimar la conductancia estomática de cerezos jóvenes. Además, T_c y, más específicamente, los índices térmicos derivados de ella, ΔT y CWSI, son indicadores apropiados para evaluar el estado hídrico de la planta de forma rápida y sencilla y realizar el seguimiento indirecto del nivel de conductancia estomática del cultivo.

5. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad del Gobierno de España, MICIIN (Ref. AGL2016-77282-C3-3-R) y la Fundación Séneca de la Región de Murcia (Grupo de excelencia 2016-2019, Ref. 19895/GERM/15).

6. REFERENCIAS

1. Jones HG. Thermal imaging and infrared sensing in plant ecophysiology. In A. M. Sánchez-Moreiras, A. M., Reigosa, M. J. (Eds.), *Advances in Plant Ecophysiology Techniques*. 2018:135-51.
2. García-Tejero IF, Gutiérrez-Gordillo S, Ortega-Arévalo C, Iglesias-Contreras M, Moreno JM, Souza-Ferreira L, et al. Thermal imaging to monitor the crop-water status in almonds by using the non-water stress baselines. *Sci Hortic (Amsterdam)*. 2018;238:91–7.
3. Allen RG, Pereira LS, Raes D, Smith M. Crop evapotranspiration. Guidelines for computing crop water requirements. FAO Irrigation and Drainage paper No. 56. Rome, Italy, 1998:15–27.
4. García-Tejero IF, Rubio AE, Viñuela I, Hernández A, Gutiérrez-Gordillo S, Rodríguez-Pleguezuelo CR, et al. Thermal imaging at plant level to assess the crop-water status in almond trees (cv. Guara) under deficit irrigation strategies. *Agric Water Manag*. 2018;208:176–86.
5. Jackson R., Idso S., Reginato R., Pinter P. Canopy temperature as a Crop Water Stress Indicator. *Water Resour Res*. 1981;17(4):1133–8.
6. Blaya-Ros PJ, Blanco V, Domingo R, Soto-Valles F, Torres-Sánchez R. Feasibility of low-cost thermal imaging for monitoring water stress in young and mature sweet cherry trees. *Appl Sci*. 2020;10(16):5461.
7. Jackson RD, Kustas WP, Choudhury BJ. A reexamination of the crop water stress index. *Irrig Sci*. 1988;9(4):309–17.
8. García-Tejero IF, Costa JM, Egipto R, Durán-Zuazo VH, Lima RSN, Lopes CM, et al. Thermal data to monitor crop-water status in irrigated Mediterranean viticulture. *Agric Water Manag [Internet]*. 2016;176:80–90. Available

from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.agwat.2016.05.008>

9. Jones HG. Use of infrared thermometry for estimation of stomatal conductance as a possible aid to irrigation scheduling. *Agric For Meteorol.* 1999 Jun 23;95(3):139–49.

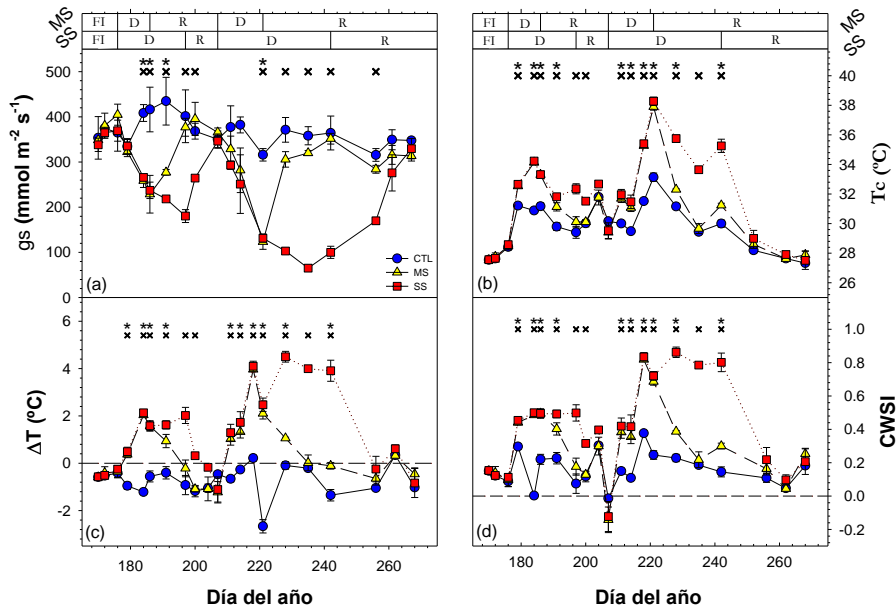


Figura 1. Evolución de (a) la conductancia estomática (g_s), (b) temperatura de la copa (T_c), su diferencial con respecto al aire (ΔT) y (c) del índice de estrés hídrico del cultivo (CWSI) durante el periodo de estudio. Cada punto es la media \pm error estándar (ES) de 6 medidas por tratamiento. Los asteriscos y cruces indican diferencias significativas entre CTL y MS y CTL y SS, respectivamente, según el test de Rango Múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Las barras horizontales superiores indican periodos de los ciclos supresión-recuperación del riego que definieron a los tratamientos MS y SS: 'FI' es el periodo previo al inicio de los ciclos de supresión-recuperación, en el que ambos tratamientos fueron regados como CTL; 'D', periodo de supresión de riego; 'R', periodo de recuperación de los árboles.

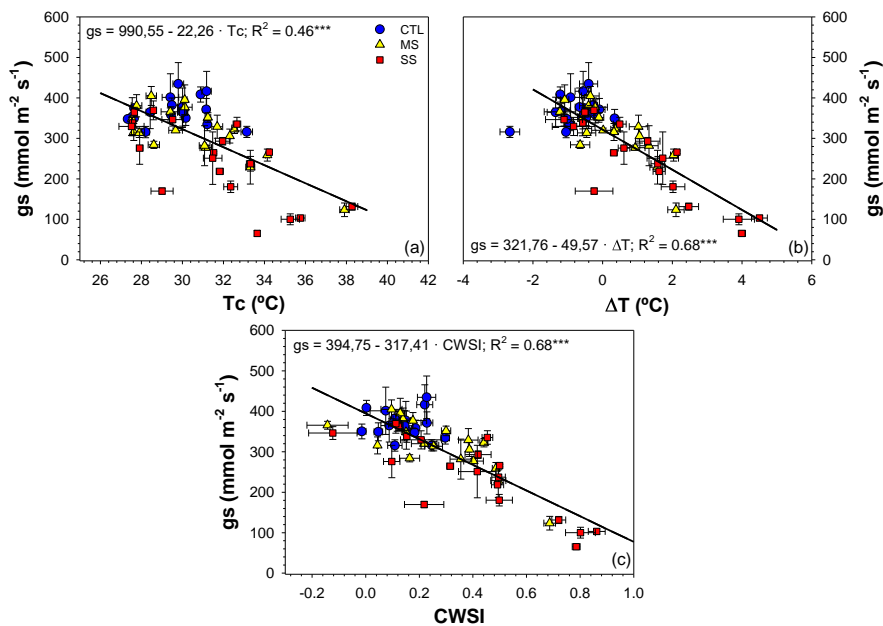


Figura 2. (a) Relación entre la temperatura de copa (T_c) y la conductancia estomática (g_s). (b) Relación entre la diferencia de temperatura copa-aire (ΔT) y g_s . (c) Relación entre el índice de estrés hídrico del cultivo (CWSI) y g_s . Cada punto es la media \pm ES de 6 medidas por tratamiento.

Mineral nitrogen fertilization effect on broccoli crop yield and physiology

Efecto de la fertilización mineral de nitrógeno sobre la fisiología y rendimiento de brócoli

P. Berríos*, A. Pérez-Pastor

Departamento de Ingeniería Agronómica, ETSIA, Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Murcia. Spain

*pablo.berrios@edu.upct.es

Abstract

Broccoli is considered a crop that requires high amounts of nitrogen (N) to reach its productive potential, since N is the most determining macronutrient for the development and performance of agricultural production. Moreover, N use can have a negative impact on the environment, even under efficient fertigation strategies. Therefore, the main objective of this work was to determine the most adequate N dose to maximize the efficient use of N by the crop, with the least possible impact on the environment. Three treatments were established based on different N extraction coefficients for the crop: 9.0, 7.3, and 5.7 kg of N per t harvested, and the effect on leaf gas exchange and yield was determined. The most restrictive extraction coefficient did not significantly affect plant physiological activity, yield or physical characteristics of the harvested heads.

Keywords: N; fertigation; *Brassica*

Resumen

El brócoli es considerado un cultivo que requiere altas cantidades de nitrógeno (N) para alcanzar su potencial productivo, puesto que el N es el macronutriente más determinante para el desarrollo y rendimiento de la producción agrícola. Asimismo, el uso del N puede presentar un impacto negativo sobre el medioambiente, incluso bajo estrategias eficientes de fertirrigación. Por ello, el objetivo principal de este trabajo fue determinar la dosis más adecuada de N para maximizar el uso eficiente del N por el cultivo, con el menor impacto posible en el medioambiente. Se establecieron 3 tratamientos basados en diferentes coeficientes de extracción de N por el cultivo: 9,0, 7,3 y 5,7 kg de N por t recolectada y se determinó el efecto sobre el intercambio gaseoso foliar y rendimiento. El coeficiente de extracción más restrictivo no afectó significativamente la actividad fisiológica de las plantas, producción ni características físicas de las pellas recolectadas.

Palabras clave: N; fertirrigación; *Brassica*.

1. INTRODUCCIÓN

El nitrógeno (N) es el macronutriente más determinante para el desarrollo y rendimiento en el cultivo de *Brassicaceae* (1), asimismo el brócoli es considerado un cultivo con elevados requerimientos de N necesarios para alcanzar su máximo potencial productivo (2). Incluso bajo estrategias eficientes de fertirrigación el N puede presentar efectos negativos sobre el medio ambiente, tales como, degradación de suelo, lixiviación de nitratos e incremento en la emisión de gases de efecto invernadero (3). Por ello, el objetivo principal de este trabajo fue determinar la dosis más adecuada de N para maximizar el uso eficiente del N por el cultivo, con el menor impacto

posible en el medioambiente, comparando distintos coeficientes de extracción del cultivo de brócoli en el Campo de Cartagena.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se estableció un cultivo de brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) cv. Parthenon durante otoño-invierno en una parcela de 800 m² ubicada en Cartagena (Región de Murcia) a una densidad de plantación de 4,4 plantas por m². El cultivo fue regado por un sistema de goteo con una lateral por caballón y emisores distanciados a 0,2 m con un caudal de 0,8 L h⁻¹. El suelo entre 0 y 0,3 m presentó una clase textural franco arcillosa y se consideró un aporte de 43,3 kg por ha de N al cultivo, basada en el N mineral en suelo al momento del trasplante (11,29 kg N ha⁻¹), la mineralización de la materia orgánica del suelo (29,5 kg N ha⁻¹) y el aporte de 2.000 m³ ha⁻¹ de agua de riego (2,54 kg N ha⁻¹) (4). De esta forma, se establecieron 3 tratamientos de fertirrigación nitrogenada distribuidos al azar con 4 repeticiones, considerando diferentes coeficientes de extracción de N por el cultivo: 9,0, 7,3 y 5,7 (kg N por t recolectada) para T1, T2 y T3, respectivamente. El requerimiento de N para cada tratamiento se calculó como la diferencia entre los aportes anteriormente mencionados y el coeficiente de extracción por el rendimiento esperado de 20 t ha⁻¹, siendo para T1, T2 y T3 un requerimiento de 137,2, 103,6 y 70,2 kg N por ha, respectivamente. La fuente fertilizante utilizada correspondió a sulfato de amonio en formato líquido. El resto de macro y micronutrientes no se incluyeron en el programa de fertirrigación debido a que las concentraciones en el suelo sobrepasaban los requerimientos del cultivo.

El contenido volumétrico del agua, temperatura y salinidad del suelo se midieron a partir de sondas (una por repetición) compuestas por un sensor cada 10 cm de profundidad y hasta 60 cm. A partir de estos datos, el riego se programó para mantener el sensor ubicado a 30 cm de profundidad con un agotamiento máximo del agua en suelo de un 10-12% respecto a la capacidad de campo.

La actividad fisiológica de las plantas se determinó mediante un seguimiento quincenal de la fotosíntesis neta (Pn) y conductancia foliar (Lc) mediante un equipo de intercambio gaseoso portable CIRAS2® (PP Systems, Hitchin, Hertfordshire, UK) a dos hojas maduras por repetición. El rendimiento se calculó mediante la recolección de 20 plantas por repetición, a las que se midió el peso fresco aéreo total y la proporción de la pella respecto a éste. Las pellas se recolectaron según el criterio comercial para consumo en fresco dejando un tallo de alrededor de 10 cm, a las se les evaluó el perímetro, peso fresco y seco. Los datos se analizaron mediante un ANDEVA (p > 0,05) con el software estadístico InfoStat (U. Nacional de Córdoba, Arg.)

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El ciclo de cultivo tuvo una duración de 15 semanas desde el trasplante (30 de octubre 2020) hasta la recolección, que se llevó a cabo entre los días 101 y 105 después de trasplante, no observándose efecto alguno de los tratamientos sobre la fecha de recolección. El déficit de presión de vapor (DPV) promedió valores en torno a 0,56 kPa, oscilando en un rango entre 0,3 a 0,8 kPa. El volumen de riego aplicado fue de 1.439 m³ ha⁻¹, siendo un 28% inferior al mayormente empleado en el Campo de Cartagena, que se sitúa en torno a 2.000 m³ ha⁻¹, muy próximo al recomendado por la FAO (Fig. 1, A). Se realizaron 20 riegos durante todo el ciclo del cultivo, con un tiempo de riego que promedió 80 minutos, y una frecuencia de 4 días a partir de la tercera semana, y así, de esta forma se incrementó la eficiencia en el uso del agua y de los nutrientes aportados, al reducirse en gran medida su lixiviación.

El plan de abonado se realizó desde la tercera semana del cultivo en dosis crecientes y basadas en la acumulación de biomasa del cultivo hasta la duodécima semana, siendo la reducción de N aplicada de manera proporcional entre los tratamientos ensayados, a excepción de los dos primeros eventos de fertirrigación donde se aportaron 5 kg ha⁻¹ en cada uno de ellos (Fig. 1, B). Los parámetros de intercambio gaseoso foliar no se vieron alterados por los tratamientos ensayados durante el ciclo del cultivo. Los valores más elevados de fotosíntesis neta y

conductancia estomática se observaron al inicio del ciclo del cultivo, coincidiendo con hojas más jóvenes y valores más elevados de déficit de presión de vapor. (Fig. 1, C y D).

El rendimiento obtenido y las características físicas medidas durante la cosecha mostraron valores estadísticamente similares entre tratamientos, al igual que la relación entre biomasa aérea total y peso de las pellas. Sin embargo, es de resaltar que los tratamientos con un aporte más restrictivo en N presentaron una tendencia no significativa a reducir su rendimiento (Tabla 1).

El brócoli es un cultivo considerado muy demandante de N y se ha reportado un amplio rango de necesidades nutricionales del cultivo que varían entre 125 y hasta 560 kg de N por ha, de cara a obtener su máximo potencial productivo (5–7). Sin embargo, es importante considerar que estos valores deben de ser contrastados con el N disponible en el suelo en cada momento.

Por todo ello, la incorporación de tecnología como la sensorización, para control del riego y la optimización del coeficiente de extracción para las condiciones del Campo de Cartagena, permitieron ahorros de agua de riego y N, en torno a un 30% respecto del manejo tradicional. Efectivamente, los resultados obtenidos permitieron alcanzar una considerable reducción en el uso de N sin afectar el rendimiento comercial óptimo. De hecho, si se hubiese realizado el balance de N, a través del coeficiente de extracción recomendado para el cultivo de brócoli en el Campo de Cartagena (12 kg de N por t) (4), la dosis de N a aportar en este estudio serían 1,43, 1,89 y 2,80 veces superior para T1, T2 y T3, respectivamente.

4. CONCLUSIONES

El uso del coeficiente de extracción de 5,7 kg de nitrógeno por t de brócoli recolectado no afectó significativamente el rendimiento ni la calidad física de las pellas recolectadas, para un cultivo de otoño-invierno en las condiciones edafoclimáticas del Campo de Cartagena.

5. AGRADECIMIENTOS

Estos resultados se enmarcan en el proyecto “Nuevas técnicas para mejorar la eficiencia de la fertirrigación mediante el uso de inhibidores de la nitrificación en cultivos hortícolas de la Región de Murcia” ejecutado por el Grupo Operativo de Nutrición Vegetal Sostenible (GO-NUVES), financiado por el Programa de Desarrollo Rural de la Región de Murcia y con participación del Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural y el Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente del Gobierno de España. Asimismo, se agradece la colaboración a las empresas participantes y colaboradores integrantes del GO-NUVES.

6. REFERENCIAS

1. Booij R. Yield formation in Brussels sprouts: Effects of nitrogen. In: *Acta Horticulturae*. International Society for Horticultural Science; 2000:377–83.
2. Everaarts AP. STRATEGIES TO IMPROVE THE EFFICIENCY OF NITROGEN FERTILIZER USE IN THE CULTIVATION OF BRASSICA VEGETABLES. *Acta Hortic*. 1993 Aug;(339):161–74.
3. Ball-Coelho BR, Roy RC. Enhanced ammonium sources to reduce nitrate leaching. *Nutr Cycl Agroecosystems* [Internet]. 1999 [cited 2019 Apr 18];54(1):73–80. Available from: <http://link.springer.com/10.1023/A:1009773428011>
4. Consejería de Agua Agricultura y Medio Ambiente. Boletín Oficial de la Región de Murcia N°140. Murcia, España: Región de Murcia; Jun 18, 2016:19504–27.
5. Zebarth BJ, Bowen PA, Toivonen PM. Influence of nitrogen fertilization on broccoli yield, nitrogen accumulation and apparent fertilizer-nitrogen recovery. *Can J Plant Sci* [Internet]. 1995 [cited 2021 May 23];75(3):717–25. Available from: <https://cdnsiencepub.com/doi/abs/10.4141/cjps95-122>
6. Toivonen PMA, Zebarth BJ, Bowen PA. Effect of nitrogen fertilization on head size, vitamin C content and storage life of broccoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*). *Can J Plant Sci* [Internet]. 1994 [cited 2021 May 23];74(3):607–10. Available from: <https://cdnsiencepub.com/doi/abs/10.4141/cjps94-109>
7. Bracy RP, Parish RL, Bergeron PE. Sidedress n application methods for broccoli production. *J Veg Crop Prod* [Internet]. 1995 [cited 2021 May 23];1(1):63–71. Available from:

https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1300/J068v01n01_07

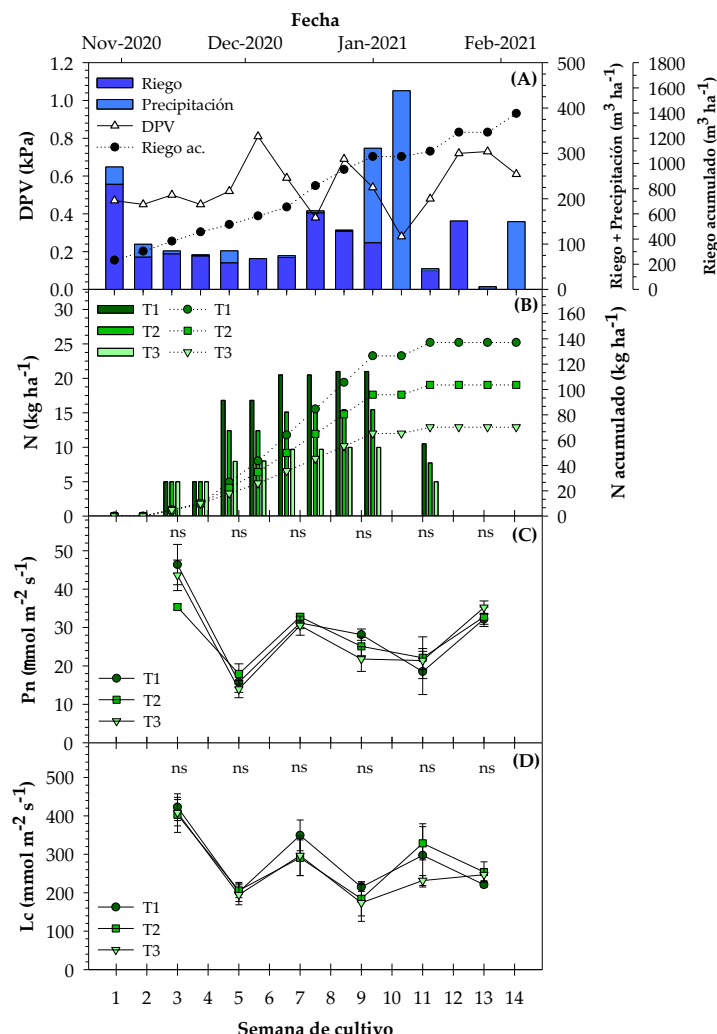


Figura 1. Evolución de las (A) condiciones climáticas y riego aplicado, (B) distribución del aporte de N e intercambio gaseoso foliar: (C) fotosíntesis neta y (D) conductancia foliar, durante el ciclo de cultivo de plantas de brócoli sometidas a distintos aportes de nitrógeno. Medias±error estándar. n=4. ns: sin diferencias significativas, según ANDEVA (p<0,05).

Tabla 1. Rendimiento y características físicas de las pellas recolectadas*.

Tratamiento	Rendimiento (t ha ⁻¹)	Peso (g)	Perímetro (cm)	Pella/Planta (g/g)	Materia seca (%)
T1	21,01±1,90 a	525,2±47,6 a	53,2±1,3 a	0,41±0,02 a	10,08±0,17 a
T2	20,36±0,96 a	509,0±23,9 a	51,1±0,9 a	0,40±0,01 a	10,04±0,34 a
T3	19,69±1,60 a	492,3±40,1 a	51,4±1,0 a	0,41±0,01 a	9,95±0,33 a

* Medias ± error estándar. n=4. Letras distintas señalan diferencias significativas entre tratamientos para una misma columna, según la prueba de Duncan (p<0,05).

Irrigation protocols in platerine trees according to irrigation water availability

Protocolos de riego en paraguayo según disponibilidad de agua de riego

A. Temnani Rajjaf*, A. Pérez-Pastor

Departamento de Ingeniería Agronómica, ETSIA, Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Murcia. Spain.

*abdelmalek.temnani@edu.upct.es

Abstract

The so-called Regulated Deficit Irrigation (RDC) strategies in a given crop are based on the reduction of water inputs in certain non-critical phenological periods, without negatively affecting either the production or the quality of the harvest, significantly increasing the efficiency in the use of irrigation water. Therefore, it is a very useful strategy for the farmer to mitigate the serious shortage of water resources suffered by agriculture, modulating the irrigation applied to the availability of irrigation water and the phenology of the crop. Under this premise, a study was carried out in Carioca platerine crop for 3 consecutive years, to establish irrigation protocols that adjusted to the availability of irrigation water. Likewise, the stem water potential at midday was established as the indicator of the plant water status most sensitive to water deficit, considering a threshold value of -1.5 MPa to optimize deficit irrigation scheduling.

Keywords: RDI; stem water potential; sustainability; water scarcity.

Resumen

Las denominadas estrategias de Riego Deficitario Controlado (RDC) en un cultivo dado, se basan en la reducción de los aportes hídricos en determinados periodos fenológicos denominados no críticos, sin afectar negativamente ni a la producción ni a la calidad de la cosecha, incrementando significativamente la eficiencia en el uso del agua de riego. Por ello, es una estrategia muy útil para que el agricultor pueda mitigar la grave escasez de recursos hídricos que sufre la agricultura, modulando el riego aplicado a la disponibilidad de agua de riego y a la fenología del cultivo. Bajo esta premisa se realizó un estudio en el cultivo del paraguayo Carioca durante 3 años consecutivos, con el fin de establecer protocolos de riego que se ajustaran a la disponibilidad de agua de riego. Asimismo, se estableció el potencial hídrico de tallo a mediodía como el indicador del estado hídrico de planta más sensible al déficit hídrico, considerando un valor umbral de -1,5 MPa para optimizar la programación del riego deficitario.

Palabras clave: RDC; potencial hídrico de tallo; sostenibilidad; escasez hídrica.

1. INTRODUCCIÓN

La zona mediterránea está sujeta a los efectos del cambio climático que se van a agravar durante los próximos años, produciéndose un incremento en la temperatura y una disminución de las precipitaciones, así como a una variación en la distribución de estas últimas, afectando inevitablemente a la disponibilidad de agua para la agricultura (1). Esto, sumado a la ya alta demanda climática propia de la zona, obligan a un esfuerzo por parte de los agricultores para el manejo del agua de riego, con el fin de obtener una óptima producción. Así, a través del riego

deficitario controlado (RDC) se permitiría ahorrar agua sin generar pérdidas en la producción y calidad de las cosechas y así poder incrementar la eficiencia en el uso del agua de riego (2). Por ello se considera una estrategia muy útil para que el agricultor pueda mitigar la grave escasez de recursos hídricos que sufre la agricultura, a través del control del riego aplicado, ajustando la disponibilidad de agua de riego y a la fenología del cultivo. De esta forma, el objetivo principal de este estudio fue la elaboración de protocolos de riego que se puedan ajustar a la disponibilidad de agua en el cultivo de paraguayo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en una finca comercial situada en Molina de Segura entre los años 2015 y 2017 en un cultivo de paraguayo a un marco de plantación de 5,5 x 3,5 m. Se establecieron dos tratamientos de riego con tres repeticiones distribuidas al azar, con 18 árboles cada una de ellas: i) tratamiento control (CTL), sin condiciones limitantes de agua en el suelo (110% ETC) y ii) tratamiento deficitario (RDC), con una reducción de agua aplicada en torno al 34% durante los 3 años respecto a CTL, durante la poscosecha tardía del cultivo.

Para el control del estado hídrico se midió quincenalmente el potencial hídrico de tallo a mediodía solar (Ψ_T) con una cámara de presión tipo Scholander, en 4 hojas por repetición, previamente cubiertas con film aluminizado dos horas antes de la medida (3)(4). Del mismo modo, también se evaluó la fluctuación del diámetro del tronco (FDT) con dendrómetros (1 por repetición). Una vez terminado el ciclo del cultivo, se determinó la producción total ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$), el número de frutos por árbol, y el peso de fruto ($\text{g}\cdot\text{fruto}^{-1}$). Por último, la calidad de la cosecha se evaluó mediante la determinación de la acidez titulable, sólidos solubles totales, índice de madurez y firmeza del fruto.

Se realizó un análisis de varianza y cuando se detectaron diferencias entre tratamientos las medias se separaron mediante la prueba de comparaciones múltiples de Duncan a un 5% de significancia.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El potencial hídrico de tallo (Ψ_t) presentó valores mínimos en torno a -1,2 en CTL y -1,8 MPa en RDC (Fig. 1), siendo estos similares a los encontrados por De la Rosa et al. (5) en nectarino temprano. Este indicador es señalado por diversos autores como uno de los más sensibles para determinar el estado hídrico de la planta (4), por lo que una programación del riego en la que se mantenga los valores de Ψ_t entre los anteriormente mencionados, permitiría incrementar la eficiencia en el uso del agua de riego sin generar mermas en la producción ni en la calidad de la cosecha (Tabla 1). De esta forma se podría simular una disponibilidad de agua para el cultivo que oscilaría entre 7500 y 4500 $\text{m}^3\cdot\text{ha}^{-1}$ por ciclo, es decir, 320 y 120 $\text{m}^3\cdot\text{ha}^{-1}$ semanal, durante la poscosecha final (Fig. 2). Temnani et al. (6) encontraron valores muy similares en uva de mesa.

La producción total y los parámetros productivos evaluados no se vieron alterados por el tratamiento de RDC aplicado durante los tres años estudiados. La producción total presentó un incremento en el segundo ciclo con respecto al primero y al tercero, debido a la mayor carga productiva (Tabla 1), que fue de 547 frutos por árbol, superior a los 360 y 430 frutos por árbol del primero y tercero, respectivamente. En cuanto a los parámetros de calidad físicos y químicos evaluados no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos de riego (Tabla 1).

4. CONCLUSIONES

El potencial hídrico de tallo a mediodía ha mostrado ser un indicador del estado hídrico de la planta muy sensible al déficit hídrico, obteniéndose valores mínimos en torno a -1.2 y -1.8 MPa, para el tratamiento CTL y RDC, respectivamente, y que ha sido útil de cara a simular una disponibilidad de agua para el riego que oscilaría entre 7500 y 4500 $\text{m}^3\cdot\text{ha}^{-1}$ por ciclo, que representarían un riego semanal entre 320 y 120 $\text{m}^3\cdot\text{ha}^{-1}$, respectivamente durante el período de

mayor demanda climática y que coincide con la fase fenológica no crítica de postcosecha final del cultivo.

5. AGRADECIMIENTOS

Proyecto IRRIMAN LIFE+ Implementation of efficient irrigation management for sustainable agriculture LIFE13 ENV/ES/000539, y al Programa de Acción Conjunta 2017 del Ministerio de Economía, Industria y Competitividad, y la Agencia Estatal de Investigación (PCIN-2017-091)

6. REFERENCIAS

1. Rocha J, Carvalho-Santos C, Diogo P, Beça P, Keizer JJ, Nunes JP. Impacts of climate change on reservoir water availability, quality and irrigation needs in a water scarce Mediterranean region (southern Portugal). *Sci Total Environ.* 2020 Sep 20;736:139477.
2. Zhang H, Oweis T. Water-yield relations and optimal irrigation scheduling of wheat in the Mediterranean region. *Agric Water Manag.* 1999 Jan 1;38(3):195–211.
3. Conesa MR, Torres R, Domingo R, Navarro H, Soto F, Pérez-Pastor A. Maximum daily trunk shrinkage and stem water potential reference equations for irrigation scheduling in table grapes. *Agric Water Manag* [Internet]. 2016;172:51–61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.agwat.2016.04.011>
4. Klepper' B. Diurnal Pattern of Water Potential in Woody Plants [Internet]. Vol. 43, *Plant Physiol.* 1968 [cited 2020 Jun 25]. Available from: www.plantphysiol.org
5. De la Rosa JM, Conesa MR, Domingo R, Aguayo E, Falagán N, Pérez-Pastor A. Combined effects of deficit irrigation and crop level on early nectarine trees. *Agric Water Manag.* 2016;170:120-32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.agwat.2016.01.012>.
6. Temnani A, Conesa MR, Ruiz M, López JA, Berríos P, Pérez-Pastor A. Irrigation Protocols in Different Water Availability Scenarios for 'Crimson Seedless' Table Grapes under Mediterranean Semi-Arid Conditions. *Water* 13(1):22. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/w13010022>

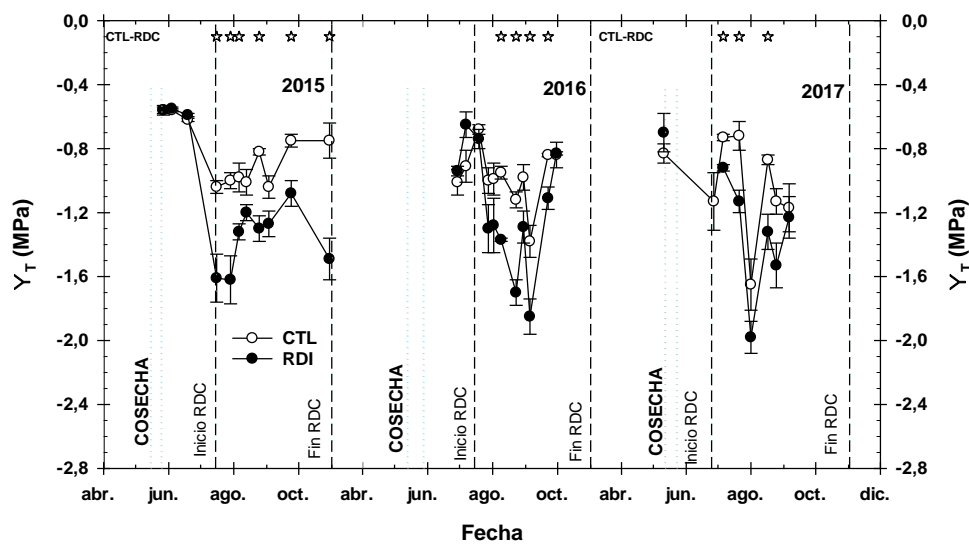


Figura 1. Evolución del potencial de tallo durante los tres años de estudio (2015-2017) de los tratamientos estudiados (control, CTL; Riego deficitario controlado, RDC). Estrellas en la parte superior indican diferencias significativas entre ambos tratamientos.

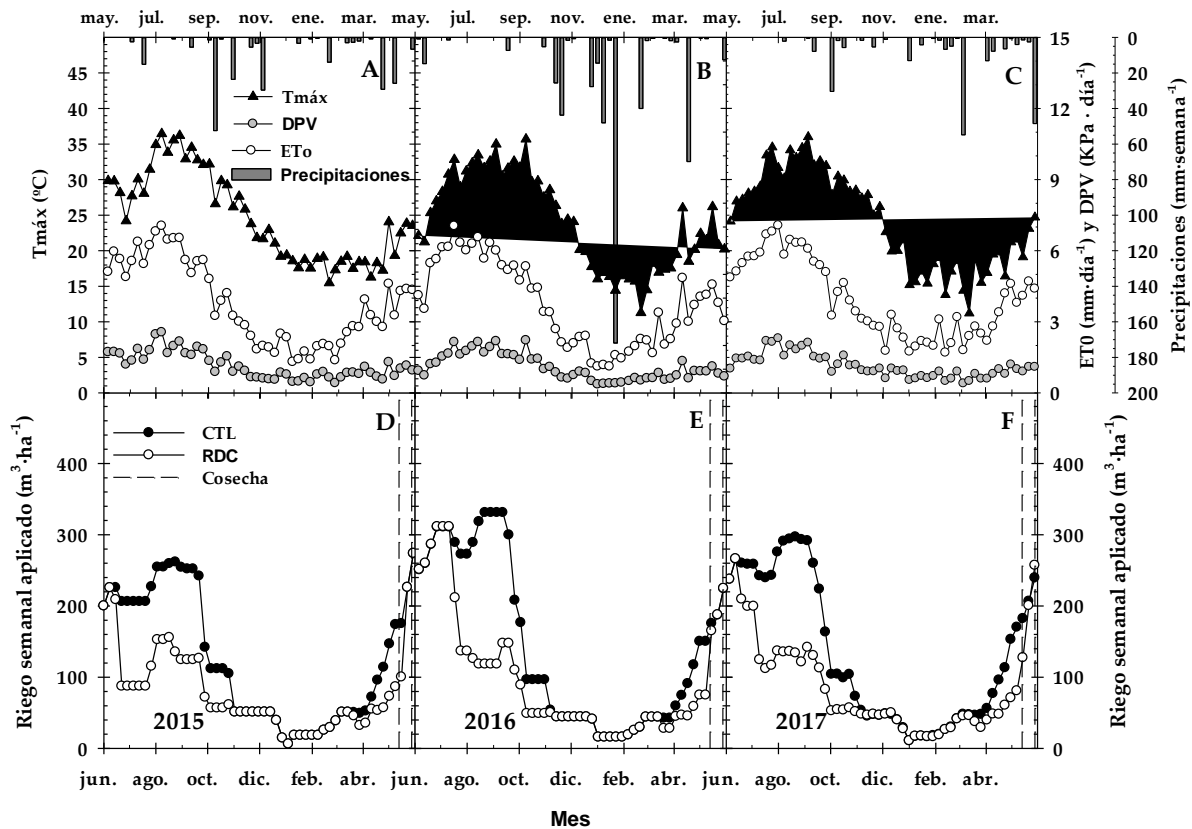


Figura 2. Evolución de los parámetros climáticos (arriba) y del reigo semanal aplicado (abajo) para los años de estudio orientados verticalmente. Tmáx: temperatura máxima; DPV: déficit de presión de vapor; ETo: evapotranspiración de referencia y PP: precipitaciones

Tabla 1. Producción, carga frutal y calidad de la producción para los tratamientos de riego de los años 2016 a 2018.

	kg por árbol	Número de frutos	Peso de fruto	Firmeza (kg·cm ⁻²)	SST (°B)	Acidez (g·L ⁻¹)	Índice de madurez
2016							
CTL	37,0±1,2a	425,1±19,1a	87,47±4,0a	10,24±0,2a	10,0±0,2a	5,27±0,1a	19,0±0,5a
RDC	37,8±1,5a	435,6±27,1a	87,27±2,6a	9,66±0,3a	10,4±0,2a	5,53±0,1b	18,9±0,6a
2017							
CTL	45,4±2,0a	553,5±10,7a	82,3±4,6a	10,06±0,6a	11,2±0,1a	3,2±0,0a	34,9±0,5a
RDI	46,5±4,7a	540,7±44,4a	85,95±2,2a	10,34±0,3a	10,5±0,4a	3,28±0,1a	32,2±2,6a
2018							
CTL	34,0±4,2a	375,6±24,6a	90±7,6a	11,64±0,3a	10,53±0,3a	5,03±0,1a	21,0±0,7a
RDI	28,3±2,6a	349,1±3,3a	81,37±7,9a	11,8±0,4a	10,77±0,3a	4,7±0,1a	31,1±1,1a

Medias para cada columna con letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de comparaciones múltiples de Duncan (P<0,05).

Evaluation of soil salinity indexes based on bulk electrical conductivity

Valoración de índices salinos basados en la conductividad eléctrica del medio

D. Bañón^{1*}, J.J. Alarcón¹, M.J. Sánchez-Blanco¹, S. Bañón²

¹Departamento Riego, CEBAS-CSIC, Campus Universitario de Espinardo, 25, Apartado 164, 30100 Espinardo, Murcia, Spain.

²Departamento de Ingeniería Agronómica, ETSIA, Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Murcia. Spain.

*dbanon@cebas.csic.es

Abstract

Soil sensors that measure electrical conductivity (EC) and moisture play an essential role in monitoring soil salinity. However, the accurate understanding of salinity depends on the development of suitable sensor-based Salinity Indices (SI). This work studied the potential of several SIs based on bulk EC (EC_b), which is the only EC directly measured by sensors. Regression studies were performed to know how these SIs describe soil salinity. The results indicate that EC_b is an efficient SI as long as humidity is constant. Moreover, its accuracy increases with substrate moisture. The slope of the linear regression fit moisture-EC_b is proposed as a novel and reliable SI

Keywords: soil moisture; soil probe; substrate; lysimeter.

Resumen

Los sensores del suelo que miden conductividad eléctrica (CE) y humedad desempeñan un papel esencial en el control de la salinidad del suelo. Sin embargo, la interpretación precisa de la salinidad del suelo depende del desarrollo de Índices de Salinidad (IS) adecuados. Este trabajo se enfoca en el estudio del potencial de varios IS basados en la CE del medio (EC_b), utilizando análisis de regresión para conocer cómo estos IS representan la salinidad del suelo. Los resultados indican que el EC_b es un IS eficiente siempre que se mida a humedad constante. Además, la precisión de esta medida aumenta con la humedad del sustrato. La pendiente del ajuste de regresión lineal humedad-EC_b se propone como un IS nuevo y fiable.

Palabras clave: humedad del suelo; sonda del suelo; sustrato; lisímetro.

1. INTRODUCCIÓN

La creciente escasez de agua en el mundo está favoreciendo el uso de aguas de baja calidad, normalmente salinas, para el riego de cultivos. El problema de la salinidad en la producción viverística puede ser abordado determinando el grado de tolerancia de las especies, sin embargo, la demanda de las plantas ornamentales no suele estar ligada con la tolerancia a la salinidad. Por tanto, surge la necesidad de desarrollar herramientas alternativas que mejoren la tolerancia a la salinidad, como es el manejo del riego. En los cultivos en maceta, el primer requerimiento bajo salinidad es lavar sales, lo que supone un consumo de agua adicional, y conocer la salinidad del sustrato en cada momento (1). Existen diferentes maneras de medir la CE del suelo, y una de ellas es a través de la CE de medio (CE_b), que tiene la ventaja de ser medida *in situ* por los sensores. Por otro lado, los valores de CE_b pueden dar valores inexactos del estado salino puesto que mide la

CE del conjunto suelo, aire y agua (2), y no la CE del agua de los poros directamente. Esto ha frenado el uso de sensores para la monitorización de la salinidad. Es por ello que el objetivo de este trabajo es evaluar la eficacia de varios IS basados en la CEB, para su uso en la programación del riego-lavado con sensores de suelo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Sustrato, macetas y equipamiento electrónico

Se utilizaron macetas de polipropileno negro de 15 cm de diámetro llenas de sustrato [turba rubia (60%), fibra de coco (30%) y perlita (10%)]. Las características del sustrato fueron: capacidad total de retención de agua (62,9%), agua fácilmente disponible (28,5%), agua de reserva (7,6%), agua no disponible (26,8%). Se utilizaron sensores GS3 (METER Group) que miden temperatura, permitividad y la CEB del suelo. Se utilizaron balanzas programables (Analytical Sartorius) para controlar el peso de las macetas durante el periodo del experimento (capacidad máxima de 5,2 kg y una legibilidad de 0,01 g). Una balanza por maceta y un sensor GS3 fue usada. Balanzas y GS3 se conectaron a un datalogger CR1000 (Campbell Scientific), que se programó para registrar medidas del GS3 y de las balanzas cada hora, utilizando el software Loggernet 3 (Campbell Scientific). Los experimentos se realizaron en una cámara de clima (MLR-350; Sanyo Electric) programada para mantener 25°C durante todo el experimento.

2.2 Procedimiento experimental

Se insertó un sensor GS3 en cada maceta, que fueron colocadas en las balanzas, con todo el conjunto (maceta, sustrato, sensor y balanza) en la cámara climática. El experimento se basó en la evaporación gradual del agua del sustrato de 3 macetas desde su máxima capacidad hasta un CVA del 10%. El CVAreal se calculó gravimétricamente y se monitorizó durante todo el periodo experimental relacionando el peso medido cada hora con el peso inicial del sustrato. Se realizaron un total de 7 experimentos para evaluar diferentes CE del agua de los poros (CEw) del sustrato (0,5, 1,3, 2,6, 3,9, 5,6, 8,0 y 10,4 dS m⁻¹), obtenidas con cloruro sódico. Tras saturar el sustrato de cada maceta con la solución correspondiente, se dejaron drenar las macetas durante treinta minutos.

2.3 Análisis estadístico

Las relaciones estadísticas entre las variables experimentales se analizaron mediante regresión lineal, utilizando el software SigmaPlot 12.5 (Systat Software Inc.). La significancia estadística de las pendientes de regresión se comprobó mediante pruebas t a un nivel de significancia de 0,001. Los coeficientes de determinación (R²) se presentaron como una medida de la representatividad de los modelos de regresión.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Influencia del CVA del sustrato sobre la medida de la CEB

La respuesta de la CEB a la disminución del CVA del sustrato fue estudiada con un análisis de regresión, que indica ajustes cuadráticos significativos para todos los niveles de salinidad (Fig. 1A). Estas relaciones muestran una dependencia positiva de la CEB con la humedad del sustrato descrita en la bibliografía (3). Dicha dependencia ha sido relacionada con el desplazamiento del aire de los poros del suelo por el agua lo que produce que, dado que el aire es un mal conductor de la electricidad, cuanto más aire haya en el sustrato menor sea la CE (4). Es por ello que será necesario corregir la influencia de las variaciones de humedad sobre la CEB para conocer el estado salino del suelo. Por otro lado, la salinidad del sustrato produjo cambios en la curvatura de los ajustes cuadráticos CVA-CEB, con pendientes más pronunciadas conforme la salinidad aumenta. A valores altos de CVA, las diferencias entre las CEB a diferente salinidad son máximas, mientras que a bajo CVA se aproximan bastante (Fig. 1A). Esto hace que un valor bajo de CEB pueda estar relacionado con condiciones de alta salinidad y baja humedad, o con condiciones de baja salinidad

y alta humedad, por lo que la medida de la CEB *per se* no es efectiva para valorar la salinidad real del sustrato. Además, cuanto más húmedo está el sustrato, más sensible es la CEB a los cambios de CVA (Fig. 1A). Los resultados resaltan la importancia de medir la CEB con alta humedad.

3.2 Relaciones lineales entre la EC real y la CEB.

La relación estadística entre la CEB y la ECw real para cinco niveles de CVA fue estudiada (Fig. 1B). Una significativa relación lineal entre CEB y ECw real fue encontrada para cada uno de los niveles de CVA, que indican que cambios en la ECw real están bien asociados con cambios en la CEB, y refuerzan la necesidad de medir la CEB siempre con el mismo CVA durante el periodo de cultivo. La relación entre CEB y ECw real fue buena bajo cualquiera de los CVA estudiados (ver R^2), lo que indica que podríamos usar la medida de CEB en amplio rango de CVA. Sin embargo, el hecho de que el ajuste lineal mejora (R^2) conforme la humedad aumenta, indica que la estimación de la relación entre CEB y ECw es más precisa conforme sube la humedad (2), lo que sugiere, nuevamente, que la CEB debería medirse con el sustrato muy húmedo.

3.3 Nuevo índice de salinidad basado en la ECb.

A pesar de que las relaciones entre la CEB y el CVA fueron cuadráticas (Fig. 1A), se intuye que la CEB y CVA pueden relacionarse bien linealmente dentro del tramo de CVA entre el 35 y el 60%. Esto se confirmó al hacer el análisis de regresión lineal para dicho tramo (Fig. 2A), con pendientes se van haciendo más pronunciadas conforme la salinidad aumenta. Eso sugiere que dichas pendientes podrían ser usadas como un IS efectivo. Para verificar esta hipótesis, la relación lineal entre los valores de las pendientes y la salinidad real fue estudiada, resultando que las pendientes explican muy bien la salinidad del sustrato (Fig. 2B). Entonces tendríamos un nuevo índice de salinidad basado, alternativo a la medida de la CEB a humedad alta y constante.

4. CONCLUSIONES

Las siguientes conclusiones fueron extraídas de este trabajo: i) La salinidad del suelo puede monitorearse eficientemente a partir de lecturas *in situ* de la CEB siempre que el CVA sea fijo, eficiencia que aumenta si el CVA en el momento de la medida es alto; ii) El uso de la pendiente del tramo lineal de la relación cuadrática CEB-CVA explica bien la salinidad del sustrato, independientemente de la humedad; iii) Nuevas investigaciones deberían centrarse en la interpretación agronómica de los valores de los índices, y establecer los umbrales de daños salinos para cada índice.

5. AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido financiada por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades de España, el Fondo Europeo de Desarrollo Regional, subvención número RTI2018-093997-B-I00, y por la AEI española (subvención número PCI 2019-103608) bajo el programa PRIMA en el marco del proyecto PRECIMED.

6. REFERENCIAS

1. Bañón S, Ochoa J, Bañón D, Ortuño MF, Sánchez-Blanco MJ. Controlling salt flushing using a salinity index obtained by soil dielectric sensors improves the physiological status and quality of potted hydrangea plant. *Scientia Horticulturae*. 2019 Mar; 247:335–43.
2. Amente G, Baker JM, Reece CF. Estimation of Soil Solution Electrical Conductivity from Bulk Soil Electrical Conductivity in Sandy Soils. *Soil Sci Soc Am J*. 2000 Nov; 64(6):1931–9.
3. Malicki MA, Walczak RT. Evaluating soil salinity status from bulk electrical conductivity and permittivity: Evaluating soil salinity. *European Journal of Soil Science*. 1999 Sep; 50(3):505–14.
4. Scoggins HL, van Iersel MW. *In situ* Probes for Measurement of Electrical Conductivity of Soilless Substrates: Effects of Temperature and Substrate Moisture Content. *Hort Sci*. 2006 Feb; 41(1):210–4.

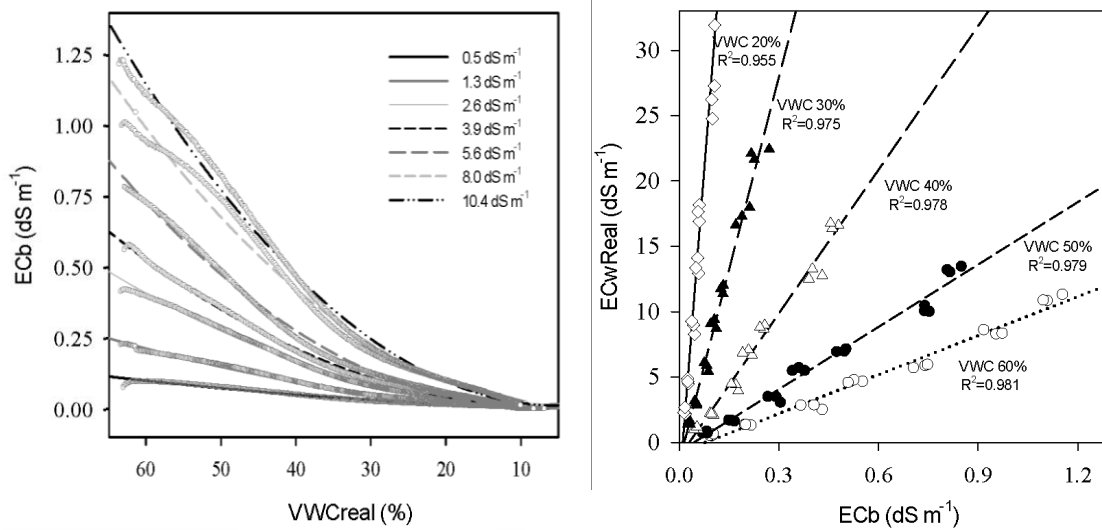


Figura 1. A-izqda) Evolución de la CEb a medida que se seca el sustrato para 0,5, 1,3, 2,6, 3,9, 5,6, 8,0 y 10,4 dS m⁻¹. **B-dcha)** Ajustes lineales entre la ECwReal (CEw medida por las balanzas) y la CEb para cinco contenidos volumétricos de agua (VWC) del sustrato (20, 30, 40, 50 y 60%).

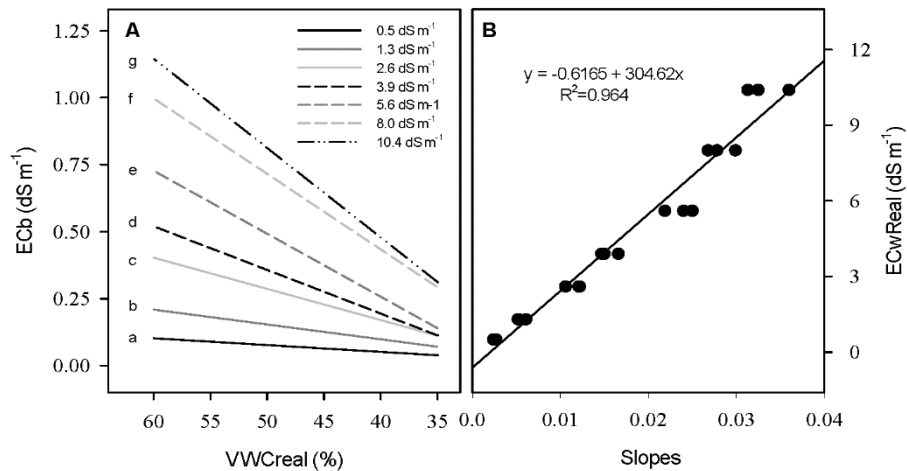


Figura 2. A) Ajustes lineales entre ECb y CVAreal entre un 60-30% de CVA. **B)** Relación lineal entre ECwReal y las pendientes de la relación lineal ECb-CVAreal. Las letras diferentes en sentido vertical indican diferencias estadísticas entre pendientes según la prueba t de regresión lineal ($P < 0,001$).

Rootstock-mediated differential responses in the antioxidative metabolism of pepper plants subjected to salinity stress

Respuestas diferenciales mediadas por el portainjerto en el metabolismo antioxidativo de plantas de pimiento sometidas a estrés salino

A. Gálvez*, A. Albacete, F.M del Amor, J. López-Marín

Departamento de Producción Vegetal y Agrotecnología, IMIDA. La Alberca, Murcia. Spain.

*1297@coitarm.es

Abstract

Contrasting growth and yield responses of pepper rootstocks have been associated with changes in the hormonal balance under moderate salinity. In the present study, three important antioxidative metabolism-related parameters (lipid peroxidation, total phenol concentration, and ascorbate peroxidase activity) were analysed in leaves of pepper plants (Gacela F1) either non-grafted or grafted onto three commercial rootstocks (Atlante, Creonte, and Terrano) and cultivated under control (0 mM NaCl) and moderate salinity conditions (35 mM NaCl). Salinity did not significantly alter either lipid peroxidation or total phenol concentration except for plants grafted onto Terrano, which showed the highest phenol concentrations. Importantly, plants grafted onto the three commercial rootstocks significantly decreased lipid peroxidation, thus buffering the damage caused by oxidative stress under salinity with respect to the non-grafted Gacela F1 plants. The peroxidase activity was reduced under salinity, especially in plants grafted onto Atlante while plants grafted onto Terrano presented the highest activity. This study shows rootstock-mediated differential responses in the antioxidative metabolism of salinized pepper plants that could help to explain the contrasting growth and yield effects observed

Keywords: *Capsicum annuum* L.; abiotic stress; grafting.

Resumen

Se ha visto que, las respuestas diferenciales de crecimiento y productividad de portainjertos comerciales de pimiento están asociadas a cambios en el metabolismo hormonal en condiciones de estrés salino. En este estudio, tres parámetros fundamentales del metabolismo antioxidativo (peroxidación lipídica, concentración de fenoles totales y actividad ascorbato peroxidasa) se analizaron en hojas de plantas de pimiento (Gacela F1) sin injertar e injertadas sobre tres portainjertos comerciales (Atlante, Creonte y Terrano), y se cultivaron en condiciones control (0 mM NaCl) y salinas (35 mM NaCl). La salinidad no afectó significativamente ni a la peroxidación lipídica ni a la concentración de fenoles totales. Sin embargo, las plantas injertadas sobre los tres portainjertos comerciales presentaron una reducción significativa de la peroxidación lipídica, que amortiguó el daño oxidativo provocado por el estrés salino. La actividad ascorbato peroxidasa se vio reducida en condiciones de salinidad, especialmente en plantas injertadas sobre Atlante, mientras que las plantas injertadas sobre Terrano presentaron una actividad ascorbato peroxidasa significativamente superior al resto de combinaciones. Este estudio muestra que existen respuestas diferenciales en el metabolismo antioxidativo en plantas de pimiento sometidas a estrés salino que podrían explicar las diferencias en crecimiento y productividad observadas.

Palabras clave: *Capsicum annuum* L.; estrés abiótico; injerto.

1. INTRODUCCIÓN

La salinización de los recursos hídricos y del suelo reduce el crecimiento y productividad de los cultivos (1) e impide que las plantas alcancen su potencial genético. Las zonas más afectadas por la salinización son, principalmente, las regiones áridas y semiáridas de más de 100 países en todos los continentes (2), que presentan baja pluviometría y elevada evaporación. Además, un factor añadido que está contribuyendo a agravar el problema de la salinidad es la gestión ineficaz de los recursos hídricos. El problema es tan grave que, a nivel global, más del 20% de los cultivos de regadío están afectados por la salinidad (3). A nivel fisiológico, las elevadas concentraciones de Na⁺ y Cl⁻ provocan, inicialmente, un estrés osmótico en la planta que afecta a su capacidad para absorber agua y nutrientes y, posteriormente, cuando el estrés es más severo, los niveles de Na⁺ y Cl⁻ pueden alcanzar niveles tóxicos que provocan graves daños celulares. En este sentido, se ha demostrado que el estrés salino genera un desequilibrio metabólico que conduce a la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS), como el oxígeno singlete (¹O₂), el ion superóxido (O₂^{•-}), el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y los radicales hidroxilo (•OH) manifestándose como estrés oxidativo (4–7). El aumento de la producción de ROS puede alterar la homeostasis celular y el metabolismo normal a través del daño oxidativo de las macromoléculas esenciales (8).

Para mejorar la tolerancia a la salinidad de los cultivos, se han utilizado diferentes estrategias, tanto a nivel biológico como agrotecnológico. Una estrategia de mejora de la tolerancia a la salinidad que ha demostrado alta eficacia, tanto en cultivos leñosos como hortícolas, es el injerto. En particular, el uso del injerto comercial en especies hortícolas ha aumentado espectacularmente en las últimas décadas debido a los importantes beneficios que genera, principalmente la resistencia a enfermedades de suelo y la tolerancia a estreses abióticos como la salinidad y siendo capaz de modular las respuestas de crecimiento y productividad en condiciones de estrés abiótico.

En un trabajo publicado recientemente se ha visto que el portainjerto induce respuestas diferenciales de desarrollo (crecimiento vegetativo *versus* desarrollo productivo) en plantas de pimiento sometidas a estrés salino moderado, que están asociadas a cambios en el balance hormonal de la planta (9). Dado que se ha demostrado que las hormonas vegetales son capaces de modular el metabolismo antioxidativo, el objetivo de este trabajo ha sido completar el estudio anterior para determinar las respuestas diferenciales en el metabolismo antioxidativo mediadas por el portainjerto en plantas de pimiento en condiciones de salinidad moderada.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Material vegetal y condiciones del cultivo

Se evaluaron plantas de pimiento de la variedad comercial 'Gacela' 'F1' (Syngenta Seeds, USA) injertadas sobre tres porta-injertos comerciales: 'Atlante' (Ramiro Arnedo, España), 'Creonte' (De Ruiters-Monsanto Seeds-Bayer Crop Science, Alemania) y 'Terrano' (Syngenta Seeds, USA). Las plantas de Gacela F1 sin injertar se usaron como controles. Las plantas injertadas se trasplantaron individualmente a macetas de 20 L. y se distribuyeron en filas en un invernadero multitúnel con una separación de 40 cm entre plantas y 100 cm entre filas. El tratamiento de salinidad se inició 15 días después del trasplante, añadiendo NaCl a una solución nutritiva Hoagland estándar hasta llegar a una concentración final de 35 mM, y recibiendo el control, la solución nutritiva original.

2.2 Determinación de peroxidación lipídica, compuestos fenólicos y ascorbato peroxidasa

La peroxidación lipídica, los fenoles totales y la actividad de la enzima ascorbato peroxidasa (APX) se determinaron en hoja de acuerdo a la metodología descrita por Piñero et al. (10).

2.3 Diseño experimental

Los valores medios de las distintas combinaciones de injertos y del tratamiento salino se compararon utilizando el test Tukey con $P \leq 0,05$, utilizando el software SPSS para Windows (Versión 25.0, SPPSS Inc., Chicago, IL, USA).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El estrés salino moderado no modificó de forma significativa los valores de peroxidación lipídica. Sin embargo, sí que se produjo una disminución significativa de la peroxidación lipídica en todas las combinaciones de injerto con respecto a las plantas Gacela F1 no injertadas en condiciones de estrés salino (Fig. 1a). Dado que la peroxidación lipídica es un indicador de la degradación oxidativa de los lípidos, este parámetro se utiliza como indicador del daño oxidativo de las membranas celulares (11). En este sentido, todos los portainjertos comerciales evaluados redujeron el daño oxidativo de membranas celulares en condiciones de estrés salino a través de la regulación del balance hormonal de la planta (9).

En condiciones control, las concentraciones de fenoles totales fueron significativamente inferiores en las plantas injertadas. Sin embargo, la salinidad provocó un incremento de los niveles de fenoles en todas las combinaciones de injertos, siendo significativa en plantas injertadas sobre Terrano (Fig. 1b). Se ha demostrado que los fenoles juegan un papel muy importante frente al estrés oxidativo, reduciendo los niveles de ROS y manteniendo el crecimiento en condiciones de estrés salino (12). Por tanto, el mayor crecimiento y productividad observada en condiciones de estrés salino moderado en plantas injertadas sobre portainjertos comerciales (9) podría ser explicada por una mayor capacidad de detoxificación de ROS.

La actividad de la enzima ascorbato peroxidasa disminuyó de forma significativa en plantas injertadas sobre Terrano en condiciones control. Sin embargo, la salinidad no afectó a la actividad de esta enzima en plantas injertadas sobre Terrano, pero sí que provocó una fuerte disminución en las plantas injertadas sobre Atlante y Creonte y en las plantas Gacela F1 sin injertar (Fig. 1c). De hecho, las plantas injertadas sobre Atlante presentaron valores de actividad ascorbato peroxidasa significativamente inferiores a las otras combinaciones y a las plantas Gacela F1 en condiciones de estrés salino. La ascorbato peroxidasa es una enzima clave en el ciclo del glutatión-ascorbato, que resulta fundamental para la detoxificación del peróxido de hidrógeno (13). Las plantas injertadas sobre Atlante fueron las que presentaron una mayor disminución de la biomasa vegetativa en condiciones de estrés salino (9), lo cual podría ser explicado por la fuerte disminución de la actividad ascorbato peroxidasa observada. Sin embargo, esta enzima no parece tener un papel clave en la detoxificación del estrés oxidativo producido por la salinidad en los portainjertos estudiados.

4. CONCLUSIONES

El portainjerto provoca respuestas diferenciales en el crecimiento y la productividad de plantas de pimiento cultivadas en condiciones de salinidad moderada, asociadas a cambios en el balance hormonal. En este trabajo se ha visto que las respuestas de tolerancia al estrés salino mediadas por el portainjerto parecen estar reguladas por un control hormonal del metabolismo antioxidativo. En concreto, el daño oxidativo estudiado a través de la peroxidación lipídica fue menor en todas las combinaciones de injertos con respecto de las plantas Gacela F1 no injertadas. Además, las concentraciones de fenoles totales, moléculas con una fuerte capacidad antioxidante, aumentaron con la salinidad, especialmente en plantas injertadas sobre Terrano. La disminución actividad ascorbato peroxidasa se asoció a la fuerte disminución del crecimiento vegetativo en plantas injertadas sobre Atlante en condiciones de estrés salino, pero no parece tener un papel principal en las respuestas de tolerancia.

5. REFERENCIAS

1. Colla G, Rouphael Y, Leonardi C, Bie Z. Role of grafting in vegetable crops grown under saline conditions. *Sci Hort.* 2010;127:147-55.

2. Modarelli GC, Rouphael Y, De Pascale S, Öztekin GB, Tüzel Y, Orsini F, et al. Appraisal of salt tolerance under greenhouse conditions of a cucurbitaceae genetic repository of potential rootstocks and scions. *Agronomy*. 2020 Jul 1;10(7):967.
3. Roychoudhury A, Paul S, Basu S. Cross-talk between abscisic acid-dependent and abscisic acid-independent pathways during abiotic stress. *Plant Cell Rep*. 2013;32:985–1006.
4. Rajaei SM, Niknam V, Seyedi SM, Ebrahimzadeh H, Razavi K. Contractile roots are the most sensitive organ in *Crocus sativus* to salt stress. *Biol Plant*. 2009;53(3):523–9.
5. Chaves MM, Miguel Costa J, Madeira Saibo NJ. Recent Advances in Photosynthesis Under Drought and Salinity. *Adv Bot Res*. 2011;57:49–104.
6. Mahajan S, Tuteja N. Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Arch Biochem Biophys*. 2005;44:139–58.
7. Acosta-Motos JR, Ortuño MF, Bernal-Vicente A, Diaz-Vivancos P, Sanchez-Blanco MJ, Hernandez JA. Plant Responses to Salt Stress: Adaptive Mechanisms. *Agronomy*. 2017;7(1):18.
8. Abdelgawad H, Zinta G, Hegab MM, Pandey R, Asard H, Abuelsoud W. High Salinity Induces Different Oxidative Stress and Antioxidant Responses in Maize Seedlings Organs. *Frontiers in plant science*. 2016;7:276.
9. Gálvez A, Albacete A, Martínez-Andújar C, Del Amor FM, López-Marín J. Contrasting rootstock-mediated growth and yield responses in salinized pepper plants (*Capsicum annuum* L.) are associated with changes in the hormonal balance. *Int J Mol Sci*. 2021;22(7).
10. Piñero MC, Pérez-Jiménez M, López-Marín J, Varó P, del Amor FM. Differential effect of the nitrogen form on the leaf gas exchange, amino acid composition, and antioxidant response of sweet pepper at elevated CO₂. *Plant Growth Regul*. 2018 Sep 1;86(1):37–48.
11. Hernández JA, Jiménez A, Mullineaux P, Sevilla F. Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defences. *Plant Cell Environ*. 2000;23:853–62.
12. Berwal MK, Kumar R, Prakash K, Rai GK, Hebbar KB. Antioxidant Defense System in Plants Against Abiotic Stress. In: *Abiotic Stress Tolerance Mechanisms in Plants*. CRC Press; 2020:175–202.
13. Khan MH, Panda SK. Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress. *Acta Physiol Plant*. 2008 Jan;30(1):81–9.

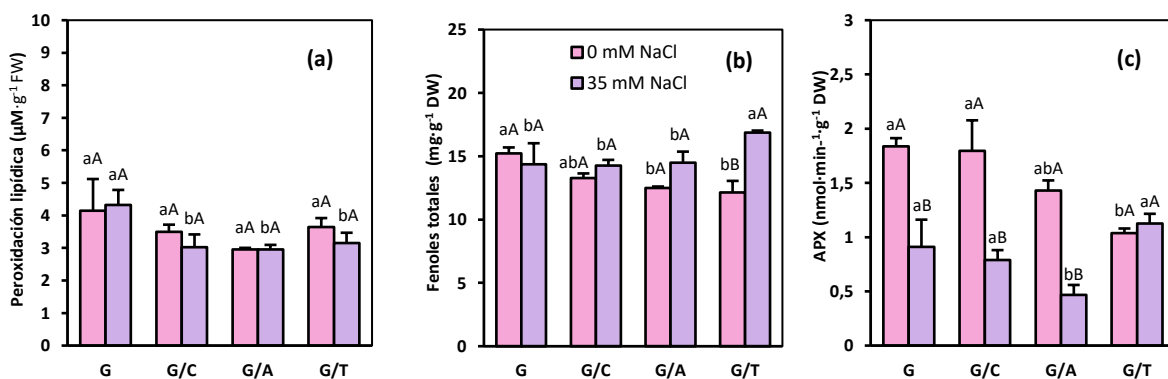


Figura 1. (a) Peroxidación lipídica, (b) Fenoles totales y (c) actividad antioxidante ascorbato peroxidasa en hojas de plantas de pimiento de la variedad comercial ‘Gacela F1’ no injertadas (G) o injertadas sobre tres porta-injertos comerciales Creonte (G/C), Atlante (G/A) y Terrano (G/T), y cultivadas en condiciones control (0 mM NaCl) y salinidad (35 mM NaCl). Las barras muestran la media de 5 plantas ± SE. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias significativas debido al tratamiento salino, mientras que diferentes letras minúsculas las muestran entre combinaciones de injerto de acuerdo con el test Tukey ($P \leq 0,05$).

ORAL SESSION III:
Agri-food
Biotechnology and
Gardening

Influence of the starting feedstock materials to obtain suppressive compost

Influencia de los materiales de partida para la obtención de compost supresivo

A. Hernández-Lara^{1*}, M. Ros¹, C. Egea- Gilabert^{2,3}, J.A. Pascual¹

¹Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS). Campus Universitario de Espinardo, 30100 Murcia. Spain.

²Departamento de Ingeniería Agronómica, ETSIA, Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Murcia. Spain.

³Instituto de Biotecnología Vegetal, Edificio I+D+I, Universidad Politécnica de Cartagena, Campus Muralla del Mar, 30202 Cartagena, Murcia. Spain.

*ahernandez@cebas.csic.es

Abstract

The composting process of organic wastes involves different benefits related to their recycling, since they can contribute to obtain organic growing media alternative to peat. Moreover, these materials can show properties with added value such as biofertilizing, biostimulating, and/or biocontrol capacity. In this work, two processes of composting using agri-food wastes have been studied to determine their suitability as growing media with potential suppressive. Both the composting process and the composts obtained were evaluated by studying different chemical properties and the microbial community. The results indicated the suitability of these materials as growing media. The composition of wastes used in the composting mixtures could show the suppressive capacity of the final composts, this effect being related to the microbial community.

Keywords: bacterial; fungi; biocontrol; composting process.

Resumen

El proceso de compostaje de residuos orgánicos implica diferentes beneficios relacionados con su reciclaje, ya que pueden contribuir a la obtención de sustratos orgánicos alternativos a la turba. Además, estos materiales pueden presentar propiedades con valor añadido como capacidad biofertilizante, bioestimulante y / o biocontrol. En este trabajo se han estudiado dos pilas de compostaje utilizando residuos agroalimentarios para determinar su idoneidad como sustratos de cultivo con potencial supresor. Tanto el proceso de compostaje como los composts obtenidos se evaluaron mediante el estudio de diferentes propiedades químicas y la comunidad microbiana. Los resultados indicaron la idoneidad de estos materiales como sustratos de cultivo. La composición de los residuos utilizados en las mezclas de compostaje podría mostrar la capacidad supresora de los composts finales, estando este efecto relacionado con la comunidad microbiana.

Palabras clave: bacterias; hongos; biocontrol; proceso de compostaje.

1. INTRODUCCIÓN

Compostaje es un proceso de degradación de material de residuos orgánicos, liberación de calor y generación de materia orgánica estabilizada (1). Los microorganismos juegan un papel clave durante el proceso de compostaje ya que la presencia de ciertos microorganismos genera compost de calidad con valor agregado (1,2). La diversidad microbiana juega un papel clave

durante la maduración del compost y del proceso de compostaje, ya que son capaces de degradar las biomoléculas y de este modo obtener un compost maduro (2). La microbiota de los composts ha demostrado ser el principal factor responsable de la supresión. Para suprimir *Pythium irregulare* en lechugas baby-leaf se han utilizado residuos de tomate o puerro, tortas de almazara de las industrias del aceite de oliva y residuos de poda de viñedos de la industria vitivinícola (3).

Esta abundancia y diversidad microbiana durante el compostaje depende de las materias primas, temperatura, concentración de oxígeno, contenido de humedad, pH y relación C/N, afectando a la maduración y la calidad del compost (4). La materia prima inicial permite que la composición de nutrientes alimenten a los microorganismos y produzcan el aumento de temperatura que reducirá los patógenos de plantas y animales, y las malezas (4).

El objetivo fue determinar las principales diferencias en la comunidad microbiana en las diferentes fases del compostaje de diferentes mezclas de materias primas y su relación con propiedades químicas y actividad supresora.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Desarrollo del compostaje

Las tres pilas de compostaje fueron compuestas con diferentes dosis de materia prima de residuos agro-industriales. Pila TP: 47% poda de viñedos, 34% residuos de tomate y 19% residuos de puerro y pila TA: 42% poda de viñedos, 25% residuos de tomate y 33% alpeorajo. El proceso de compostaje fue monitoreado durante 226 días. Las muestras fueron recogidas de tres puntos diferentes en cuatro tiempos diferentes (fase inicial, termófila, biooxidativa y de maduración) correspondientes a los días 1, 70, 156 y 226.

2.2 Análisis de los parámetros químicos

La temperatura fue medida automáticamente cada seis horas (HOB0-Data Logger U12-006). El pH y la conductividad eléctrica (CE) fueron medidas en un extracto soluble 1:10 (p:v) usando el medidor Crison. El N y C total fueron medidos por ICP-OES (ICAP 6500 DUO).

2.3 Extracción de ADN y secuenciación

El ADN fue extraído de 0,5 g de compost usando el kit Dneasy PowerSoil (Qiagen, Alemania). La cantidad y calidad de los extractos de ADN fue cuantificada usando NanoDrop 2000 fluoroespectrómetro (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Los primers fueron 515F y 909R para bacterias, ITS4 y gITS7 para hongos. El estudio de la comunidad microbiana se realizó a través de la amplificación por PCR utilizando la plataforma Illumina.

2.4 Análisis bioinformático y estadístico

Para estudiar las diferencias en las propiedades de las pilas del compostaje, se aplicaron distintas pruebas estadísticas dependiendo de si se cumplían las condiciones de normalidad y homocedasticidad previamente comprobadas: Anova o Kruskal-Wallis. Se realizó un análisis de redundancia (RDA) a través del paquete vegan para visualizar la correlación entre los OTU y los parámetros químicos.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con los cambios en los factores ambientales, los microorganismos fueron reemplazados gradualmente. Los compost iniciales fueron colonizados por una amplia diversidad de hongos y bacterias, la mayoría de ellos capaces de controlar eficazmente al mismo tiempo a más de un patógeno. Filo Proteobacteria, Bacterioidetes, Firmicutes y Actinobacteria fueron las bacterias más abundantes en el presente estudio. La Actinobacteria aumentaron durante el proceso de compostaje, debido a su importancia en la degradación de celulosa, hemicelulosa y lignina (5). Encontramos un gran número de secuencias de Ascomycota y Basidiomycota en ambos compost, se ha informado que las poblaciones de hongos son las principales contribuyentes a la supresión

biológica (6). Ambos filos junto a Bacterioidetes, Proteobacterias y Actinobacterias han sido bien documentados para estar correlacionados con la supresión de patógenos transmitidos por el suelo que causan enfermedades de las plantas como *P. irregulare* (6). Ascomycota domina en todas las fases del compostaje debido a que puede secretar gran variedad de enzimas degradantes de celulosa y utilizar eficientemente los nutrientes en el compost. La abundancia de Basidiomycota en la fase termófila y de maduración podría deberse a que crecen bien a altas temperaturas (2), y esta pila permanece a alta temperatura durante más tiempo (datos no mostrados).

La alteración de los parámetros fisicoquímicos tiene influencia tanto directa como indirecta sobre las actividades de los microorganismos (7). El análisis de RDA reveló que la abundancia y composición de la comunidad de bacterias y hongos se ve afectada significativamente por diferentes parámetros fisicoquímicos. La comunidad bacteriana se vio claramente más afectada por los parámetros químicos que la comunidad fúngica durante las tres primeras etapas del compostaje, lo que indica que probablemente fue más sensible a las fluctuaciones ambientales que la comunidad fúngica (7).

4. CONCLUSIONES

La composición de su microbiota está muy diversificada en relación con el origen de la materia prima. Nuestras dos pilas fueron colonizadas por una comunidad microbiana con actividad de biocontrol y capaces de suprimir enfermedades causadas por patógenos del suelo, como *Pythium* spp. Además, mostraron una madurez adecuada, por lo tanto, son una fuente rentable de microbiota. Se siguen realizando investigaciones para determinar qué tipos de biomasa residual representan la materia prima ideal para lograr los objetivos de supresión deseados.

5. AGRADECIMIENTOS

Al Ministerio de Economía, Industria y Competitividad por la financiación recibida para llevar a cabo el proyecto AGL 2017-84085-C3-1-R.

6. REFERENCIAS

1. Zhong X-Z, Li X-X, Zeng Y, Wang S-P, Sun Z-Y, Tang Y-Q. Dynamic change of bacterial community during dairy manure composting process revealed by high-throughput sequencing and advanced bioinformatics tools. *Bioresour Technol.* 2020;306:123091.
2. Meng Q, Yang W, Men M, Bello A, Xu X, Xu B, et al. Microbial community succession and response to environmental variables during cow manure and corn straw composting. *Front Microbiol.* 2019;10:529.
3. Hernández-Lara A, Ros M, Pérez-Murcia MD, Bustamante MÁ, Moral R, Andreu-Rodríguez FJ, et al. The influence of feedstocks and additives in 23 added-value composts as a growing media component on *Pythium irregulare* suppressivity. *Waste Manag.* 2021;120:351–63.
4. Morales AB, Bustamante MA, Marhuenda-Egea FC, Moral R, Ros M, Pascual JA. Agri-food sludge management using different co-composting strategies: study of the added value of the composts obtained. *J Clean Prod.* 2016;121:186–97.
5. Steger K, Jarvis Å, Vasara T, Romantschuk M, Sundh I. Effects of differing temperature management on development of Actinobacteria populations during composting. *Res Microbiol.* 2007;158(7):617–24.
6. Scotti R, Mitchell AL, Pane C, Finn RD, Zaccardelli M. Microbiota Characterization of Agricultural Green Waste-Based Suppressible Composts Using Omics and Classic Approaches. *Agriculture.* 2020;10(3):61.
7. Jiang C, Wu Y, Cheng Y. Bacterial and fungal communities and contribution of physicochemical factors during cattle farm waste composting. *Microbiologyopen.* 2017;6(6):e00518.

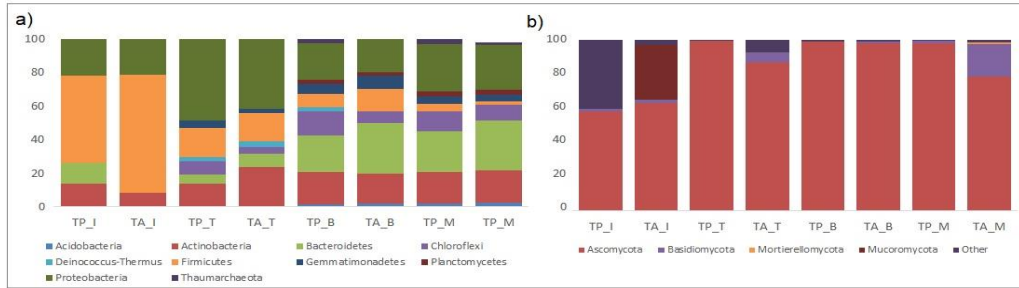


Figura 1. Abundancia relativa a nivel de filo (>1%) a) bacterias b) hongos. TP_I, TA_I: fase inicial; TP_T, TA_T: fase termófila; TP_B, T_B: fase biooxidativa; TA_M, TP_M: fase maduración. TP: pila con tomate y puerro. TA: pila con tomate y alpeoruju.

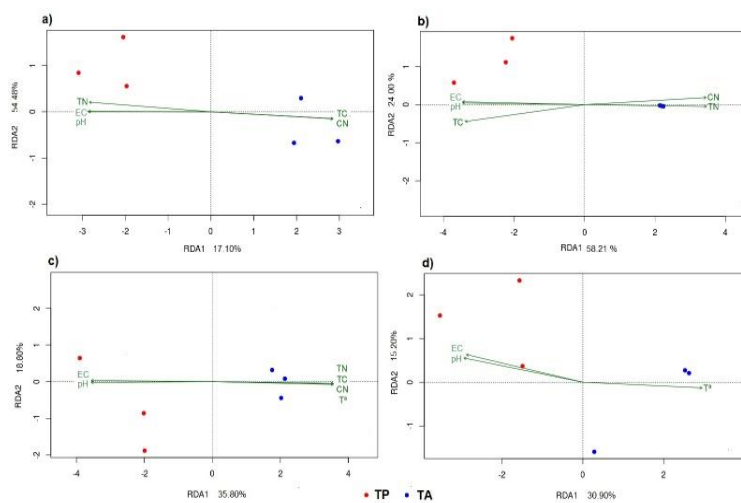


Figura 2. Análisis de redundancia multivariable (RDA) de la comunidad de bacterias. Las flechas son los parámetros químicos. A) inicial, b) termófila, c) biooxidativa y d) maduración.

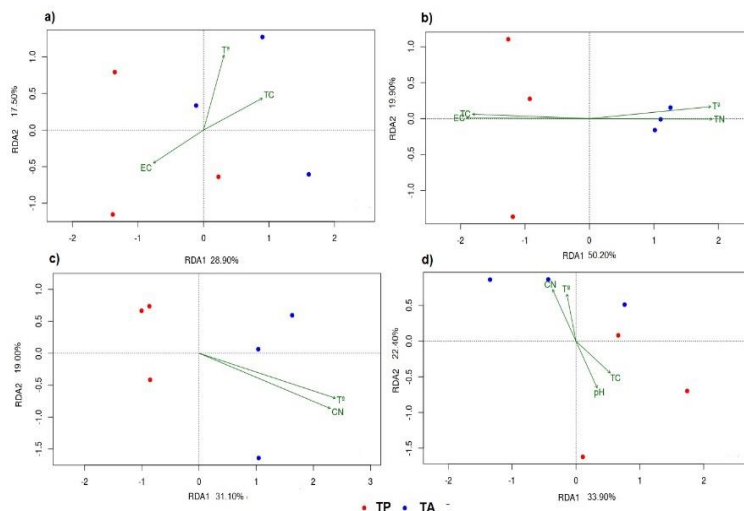


Figura 3. Análisis de redundancia multivariable (RDA) de la comunidad de hongos. Las flechas son los parámetros químicos. A) inicial, b) termófila, c) biooxidativa y d) maduración.

Using legumes as intercropping to improve soil properties

Introducción de leguminosas como cultivo asociado para mejorar la calidad del suelo

M. Marcos*, V. Sánchez, R. Zornoza

Grupo de Investigación Gestión, Aprovechamiento y Recuperación de Suelos y Aguas, Departamento de Ingeniería Agronómica, Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Murcia. Spain.

*mariano.marcos@upct.es

Abstract

The use of legumes intercropping systems can play an important role both in the nutrient and organic matter cycles and in the biological activity of the soil. The results depend on the species chosen for the association. Organic crop management also tends to reduce the negative impact that intensive crops have. Thus, the objective of this study was to compare the effect of the association between fava bean (*Vicia faba* L.) and broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) on the moisture content, soil organic carbon (SOC) and nutrients in a crop cycle compared to monoculture crops. In associated crops, fertilization was also reduced by 30% compared to monoculture. The results showed that the association of fava bean with broccoli significantly increased the moisture content of the soil, the SOC and nutrients such as N, P, K, and Mg. For all these reasons, the use of legumes, in this case fava beans, seems a viable option to improve the quality and fertility of the soil, reducing the use of fertilizers, which leads to cost savings and an environmental benefit.

Keywords: soil quality; nutrients; broccoli; fava bean; intercropping.

Resumen

El uso de leguminosas en cultivos asociados hortícolas puede jugar un importante papel tanto en el ciclo de nutrientes como en el ciclo de la materia orgánica y la actividad biológica del suelo. Estos efectos dependen de las especies elegidas para la asociación. Un manejo orgánico de los cultivos también tiende a reducir el impacto negativo que tienen los cultivos intensivos. Así, el objetivo de este estudio fue comparar el efecto de la asociación entre haba (*Vicia faba* L.) y brócoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) sobre el contenido de humedad, el carbono orgánico del suelo (COS) y nutrientes en un ciclo de cultivo en comparación a los monocultivos de cada especie. En los cultivos asociados además se redujo la fertilización en un 30% con respecto al monocultivo. Los resultados mostraron que la asociación del haba con el brócoli incrementó significativamente el contenido de humedad del suelo, el COS y nutrientes como N, P, K y Mg. Por todo ello, el uso de las leguminosas, en este caso haba, parece una opción viable para mejorar la calidad y fertilidad del suelo, reduciendo el uso de fertilizantes, lo que conlleva a un ahorro en costes y un beneficio ambiental.

Palabras clave: asociación de cultivos; brócoli; haba, fertilidad; carbono orgánico.

1. INTRODUCCIÓN

Incluir leguminosas en cultivos asociados en horticultura puede ser una buena alternativa de diversificación de cultivos para el mantenimiento de la fertilidad del suelo, aumentar la biodiversidad (1,2), aumentar la materia orgánica del suelo y reducir el uso de fertilizantes nitrogenados, estando ello relacionado con menores emisiones de gases de efecto invernadero.

No obstante, la influencia de las leguminosas en la fertilidad del suelo se refleja normalmente después de un largo periodo de tiempo (3). La elección de la leguminosa, si el objetivo principal es mejorar la producción, se realizará de manera cuidadosa, ya que la especie elegida debe estar bien adaptada al tipo las propiedades del suelo, las condiciones climáticas o las prácticas de manejo elegido (4). El objetivo de este estudio es evaluar el efecto de la asociación realizada entre el haba y el brócoli sobre el contenido de humedad, el carbono orgánico del suelo (COS) y nutrientes en un ciclo de cultivo en comparación a los monocultivos de cada especie, utilizando tres patrones diferentes de asociación.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio fue llevado a cabo en Cartagena (Murcia), con clima Mediterráneo semiárido (temperatura media anual 18°C, precipitación media anual 275 mm). Se compararon los monocultivos de brócoli y de haba con diferentes asociaciones de entre el haba y el brócoli durante un primer ciclo de cultivo en 2018/2019. Las asociaciones estudiadas fueron: a) filas intercaladas 1:1 (brócoli:haba), donde se plantaron filas alternas de cada especie; b) filas intercaladas 2:1 (brócoli:haba) donde se plantaron 2 filas de brócoli y una con haba; y c) asociación en mezcla, donde se plantó en una misma fila brócoli y haba. En los cultivos asociados se redujo en un 30% la fertilización en comparación con los monocultivos. El suelo de estudio se clasifica como Haplic Calcisol (5) con una textura franco-arenosa y un pH medio de 8,34.

Cada sistema de cultivo contó con tres repeticiones, distribuidas aleatoriamente en parcelas de 120 m² (12 m x 10 m). La distancia entre plántulas dentro de una línea se hizo de manera diferente para el brócoli y para el haba, siendo para el brócoli de 20 cm a tresbolillo y de 40 cm para el haba. La densidad de las plantas fue de 2,5 plantas m⁻² y 3,3 plantas m⁻² para el brócoli y 1,3 y 0,8 para el haba en los sistemas de fila 1:1 y fila 2:1, respectivamente. En el sistema mixto, con 5 plantas de brócoli m⁻², el haba se sembró en todas las hileras de brócoli entre dos plantas de brócoli, con una densidad de 2,5 plantas m⁻². Las densidades en el monocultivo fueron de 5 y 2,5 plantas m⁻² para el brócoli y el haba respectivamente. La distancia entre filas fue de 1 m. Todos los cultivos se establecieron con riego por goteo y fertirrigación con fertilizantes ecológicos.

Se realizó un muestreo de suelo de 0-10 cm de profundidad al final de la cosecha (marzo 2019). Se tomaron tres muestras compuestas por parcela. Las muestras fueron secadas al aire durante 7 días, se pasaron por un tamiz <2mm y se almacenaron a temperatura ambiente. Para la determinación del carbono orgánico del suelo (COS) y el nitrógeno total (N) se usó un analizador elemental CHNS(O) (CHN 628, Leco); el fósforo disponible se determinó usando el método de Burriel-Hernando (6) y medido usando un ICP-MS (Agilent7500CE). La humedad se determinó gravimétricamente. Los cationes intercambiables se extrajeron usando BaCl₂ como sal intercambiadora (7) y medidos en ICP-MS (Agilent7500CE).

Para el tratamiento de los datos se usó el test de Kolmogórov-Smirnov para asegurar la distribución normal. Después se hizo un ANOVA de un factor para analizar diferencias significativas en los datos analizados entre los distintos sistemas de cultivo, con el análisis post hoc de Tukey's a $p < 0,05$. Las relaciones entre variables se estudiaron usando la correlación de Pearson. Los estudios estadísticos fueron realizados usando el software IBM SPSS para Windows versión 22.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El monocultivo de brócoli presentó valores significativamente más bajos de todas las propiedades edáficas estudiadas en comparación con las diversificaciones con haba (Fig. 1). La humedad del suelo ha aumentado significativamente en los sistemas diversificados en comparación con el monocultivo de brócoli. Este hecho puede deberse a que la incorporación de residuos ricos en nitrógeno, como los del haba, junto con la rizodeposición conjunta del brócoli, activan los microorganismos del suelo fomentando así humificación del carbono orgánico y la

agregación del suelo; como consecuencia de este proceso se produce un aumento de la humedad del suelo (8). Es importante remarcar que el COS se incrementó tanto en el monocultivo de haba como en las diversificaciones, remarcando la importancia de la leguminosa en el secuestro de carbono en el suelo. Se ha observado previamente que las leguminosas mediante fotosíntesis generan mucho carbono, el cual es el principal elemento de la rizo-deposición, que es muy activa en estas especies (2,9). Del mismo modo, el N sigue una tendencia similar al COS, evidenciando la eficiencia de la plantación de leguminosas para incrementar el N del suelo, aun reduciendo el aporte de fertilizantes externos, debido a procesos de fijación biológica de N. En el caso del P, se puede apreciar cómo se ha incrementado significativamente su concentración desde los 9,63 mg kg⁻¹ en el monocultivo de brócoli hasta los 41 mg kg⁻¹ que presentan los sistemas diversificados en fila 1:1 y 2:1. En este caso existen diferencias significativas entre los cultivos asociados y los monocultivos, tanto para brócoli como para haba. Este hecho indica que, aunque el haba con su rizosfera tan activa, y a través de la rizo-deposición es capaz de activar las poblaciones microbianas del suelo que incrementan la fijación de fósforo (2), por sí sola no ha sido capaz de solubilizar este nutriente esencial, y ha sido la interacción entre el brócoli y el haba la que ha activado microorganismos solubilizadores del P.

4. CONCLUSIONES

El uso del haba como cultivo asociado al brócoli aplicando prácticas de manejo orgánicas ha conducido a una mejora significativa de las propiedades del suelo, incluyendo el contenido de nutrientes, a pesar de ir asociado a una disminución en el uso de los fertilizantes. Por tanto, la asociación de las dos especies ha debido contribuir a una activación de microorganismos beneficiosos del suelo como consecuencia de una activa rizo-deposición lo que conlleva a un ahorro en costes y un beneficio ambiental. No obstante, Son necesarios más ciclos de cultivo para confirmar esta tendencia.

5. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades del Gobierno de España a través del proyecto AsociaHortus [AGL2017-83975-R]. Mariano Marcos agradece al Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades del Gobierno de España el apoyo económico a través del Programa “Ayudas para contratos predoctorales para la formación de doctores 2018” [PRE2018-085702].

6. REFERENCIAS

1. Khan DF, Peoples MB, Schwenke GD, Felton WL, Chen D, Herridge DF. Effects of below-ground nitrogen on N balances of field-grown fababean, chickpea, and barley. *Aust J Agric Res*. 2003;54(4):333-40.
2. Sánchez-Navarro V, Zornoza R, Faz Á, Fernández JA. Comparison of soil organic carbon pools, microbial activity and crop yield and quality in two vegetable multiple cropping systems under mediterranean conditions. *Sci Hort* (Amsterdam) [Internet]. 2020;261(October 2019):109025. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109025>
3. Kirkegaard JA, Ryan MH. Magnitude and mechanisms of persistent crop sequence effects on wheat. *F Crop Res* [Internet]. 2014;164(1):154-65. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2014.05.005>
4. Peoples MB, Brockwell J, Herridge DF, Rochester IJ, Alves BJR, Urquiaga S, et al. The contributions of nitrogen-fixing crop legumes to the productivity of agricultural systems. *Symbiosis*. 2009;48(1-3):1-17.
5. Food and Agriculture Organization of the United Nations. World Reference Base for Soil Resources 2014: International soil classification systems for naming soils and creating legends for soil maps (Update 2015) [Internet]. World Soil Resources Reports No. 106. 2014. 193 p. Available from: <http://www.fao.org/soils-portal/soil-survey/soil-classification/world-reference-base/en/>
6. Almendro Candel M, Navarro Pedreño J, Jordán Vidal M, Gómez Lucas I. Movilidad y biodisponibilidad del fósforo en un antrosol del sureste español (Alicante) enmendado con lodo de depuradora. *Edafología*. 2003;10(1):7-14.
7. Muñoz A.L. El intercambio iónico en suelos calizos. *An la Univ Murcia Ciencias*. 1968.

8. Kuzyakov Y. Priming effects: Interactions between living and dead organic matter. *Soil Biol Biochem.* 2010;42(9):1363-71.
9. Amalero EG, Ingua GL, Erta GB, Emaineau PL. Review article Methods for studying root colonization by introduced. *Agronomie.* 2003;23:407-18.

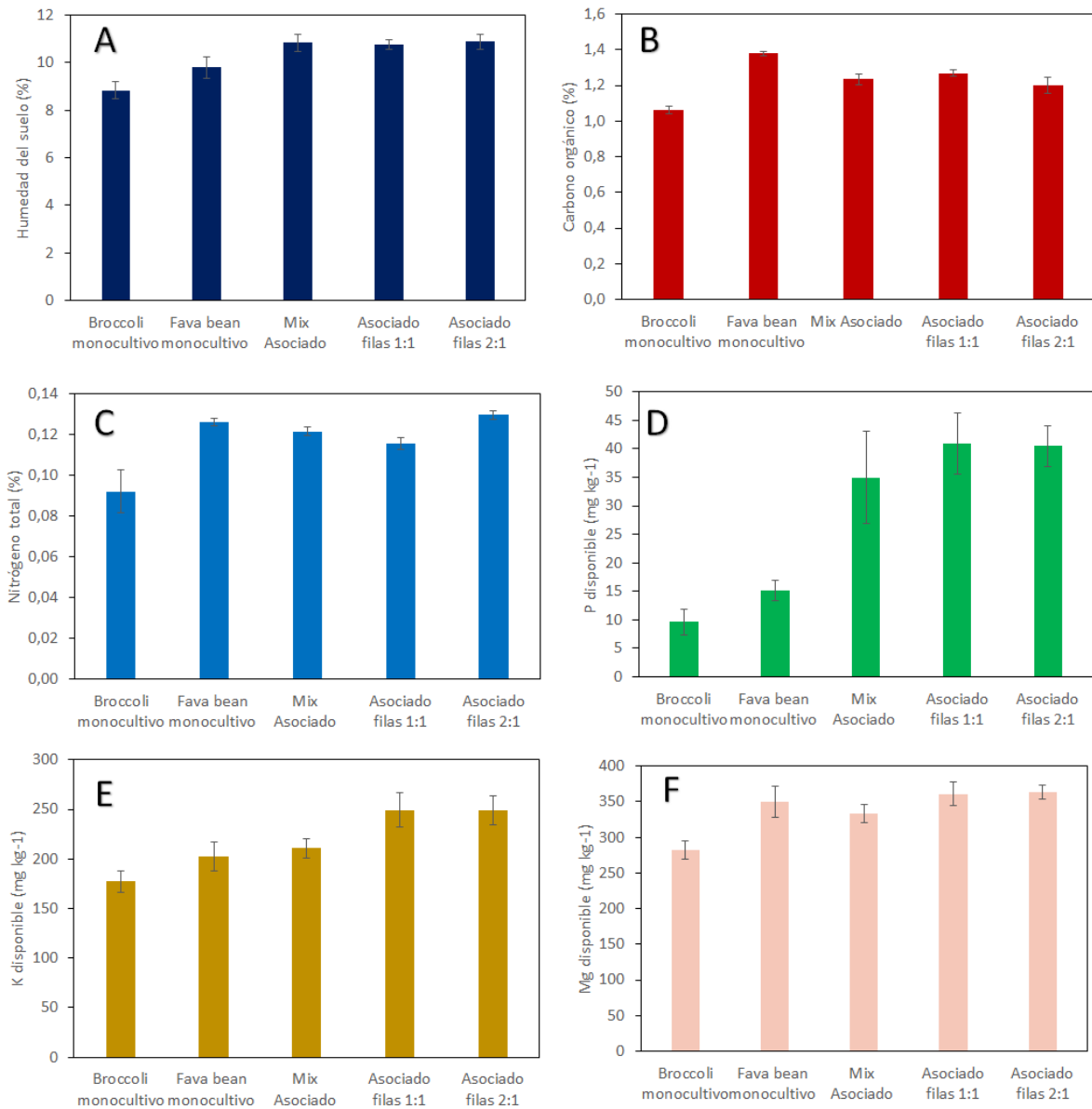


Figura 1. Humedad del suelo (A), carbono orgánico (B), nitrógeno total (C), fósforo disponible (D) potasio disponible (E) y magnesio disponible (F). Las barras verticales representan el error estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre medias ($p < 0,05$).

Development of the first standardized panel of microsatellites PCR multiplex for meagre (*Argyrosomus regius*)

Desarrollo del primer panel estandarizado de microsatélites PCR multiplex para corvina (*Argyrosomus regius*)

A. Vallecillos^{1*}, M. Soula², M.J. Zamorano², E. María Dolores¹, G. Ramis³, J. Villa⁴, F.M. Rueda⁴, J.M. Afonso², E. Armero¹

¹Grupo de Producción Animal, Departamento de Ingeniería Agronómica, ETSIA, Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Murcia. Spain.

²Instituto de Acuicultura sostenible y Ecosistemas Marinos (GIA-ECOQUA). Carretera de Taliarte S/N, 35214 Telde, Las Palmas. Spain.

³Departamento de Producción Animal, Universidad de Murcia. Avenida teniente Flomesta, 5, Murcia. Spain.

⁴Alevines del Sureste S.L. Calle Cabo Cope S/N, 30880 Águilas, Murcia. Spain.

*antonio.vallecillos@edu.upct.es

Abstract

The microsatellite panel was carried out on a population of meagre (*Argyrosomus regius*) from a batch of broodstock from the Alevines del Sureste S.L. company, 220 days post-hatching, the fish were weighed and measured, at which time a sample was taken from the tail fin for subsequent DNA extraction. The objective of this project is to establish a breeding program in meagre. We worked with a batch of 100 individuals, with which they were verified in various specific and interspecific microsatellite markers. Finally, 10 microsatellite markers formed our standardized panel for meagre, with a length of between 70-270 base pairs.

Keywords: aquaculture; DNA; genetic; kinship test.

Resumen

La realización del panel de microsatélites fue llevada a cabo sobre una población de corvina (*Argyrosomus regius*) procedente de un lote de reproductores de la empresa Alevines del Sureste S.L. A los 220 días después de la eclosión, los peces fueron muestreados y, momento en el cual, se recogió una muestra de aleta caudal para la posterior extracción de ADN. El objetivo del presente proyecto es establecer un programa de mejora genética en corvina. Se trabajó con un lote de 100 individuos, con los que se comprobaron diversos marcadores microsatélites específicos e interespecíficos. Finalmente, 10 marcadores microsatélites formaron nuestro panel estandarizado para corvina, con una longitud de entre 70-270 pares de bases.

Palabras clave: acuicultura; ADN; genética; test de parentesco.

1. INTRODUCCIÓN

La corvina (*Argyrosomus regius*) es una especie con un amplio abanico geográfico de distribución que abarca todo el Mar Mediterráneo, y cuya producción se encuentra en aumento. Los principales países en producción de corvina en el pasado año 2019 fueron Egipto (32.000 t),

España (3.650 t), Turquía (2.600 t), y Grecia (1.800 t). En España se empezó a trabajar con esta especie gracias al protocolo de crianza de Cárdenas (1). Dentro del territorio español la Comunidad Valenciana y Murcia son las de mayor producción (2). Ya se están llevando a cabo distintas actuaciones en el ámbito de la alimentación, del manejo de los lotes e incluso en la prevención de enfermedades (3–6). Sin embargo, han sido muy escasas las estrategias dirigidas a la intervención genética de base zootécnica sobre los núcleos de reproductores y sus descendientes (7). Algunos autores han buscado algunos marcadores microsatélites en otra variedad de corvina (*Argyrosomus japonicus*), que han conseguido identificar y aislar un total de hasta 15 microsatélites (8). La aplicación de un programa de mejora genética implica el estudio de la variación genética de la población base, la determinación de la matriz parentesco y la definición de los caracteres objeto de la selección. En corvina son pocos los estudios que existen sobre caracterización genética de las poblaciones, y los que hay, han sido llevados a cabo sobre microsatélites, indicando que la variación genética de las poblaciones, que poseen actualmente las empresas y los centros de investigación de corvina, es muy alta (9,10).

El objetivo del presente proyecto es establecer un programa de mejora genética en corvina, con la colaboración de la empresa Alevines del Sureste S.L. del Grupo Avramar, que en la actualidad lidera el mercado en cuanto a producción y comercialización de la corvina. Para ello, se va a desarrollar una multiplex PCR, con marcadores microsatélites interespecíficos de amplio espectro, propuestos como panel de marcadores microsatélites para realizar un test de parentesco en corvina.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Un total de 770 individuos fueron analizados en el programa de cría (GENECOR): procedentes de dos lotes de cultivo industrial: L1, un primer lote de reproductores de 2008, con un total de 12 progenitores y L2, un segundo lote de reproductores de 2011, con 31 progenitores. 100 descendientes del lote L1 fueron usados como control, para estudiar la variabilidad genética y confianza de los todos los marcadores microsatélites usados. Una muestra de ADN fue extraída de la aleta caudal previamente conservada en etanol a temperatura ambiente. De todos los microsatélites publicados para corvina (10) y para otras especies (8,11,12), 10 marcadores fueron utilizados para las mismas condiciones PCR (Fig. 1). La longitud de amplificación elegida oscilo entre 70-270 pares de bases (pb) para optimizar la efectividad de la reacción múltiple (13). Cada marcador fue amplificado en una PCR individualmente para comprobar su efectividad, rango de tamaño del alelo, morfología, variabilidad genética y fiabilidad de la genotipificación. A partir de estos marcadores se diseñó un panel que fue llamado SMAR (Super Multiplex *Argyrosomus reigus*). Inicialmente, se utilizaron 5 μ M de cada cebador para la PCR multiplex, y las concentraciones de cebador se modificaron posteriormente para obtener alturas de pico entre 600 y 3000 RFU para cada marcador de microsatélites, como fue descrito por Navarro et al. (14).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se determinaron las asignaciones de los parentales permitiendo hasta 5 errores posibles, con ayuda de los electroferogramas se consiguió determinar la idoneidad de la concentración de cada primer y así proceder a la utilización para poder genotipar a los individuos (Fig. 2). La mayoría fueron asignados con uno o dos errores. Por lo que, de los cien descendientes utilizados, el 85% fue asignado con una o dos posibles parejas de padres posibles. La PCR multiplex de marcadores microsatélites, se considera un método de genotipado de bajo coste y efectivo (15).

4. CONCLUSIONES

En este estudio, 10 marcadores microsatélites han sido utilizados permitiendo proponer un sistema reproducible, uniforme y estandarizado de un panel de corvina. Estos constituyen un eficiente y herramienta robusta para la identificación individual, reconstrucción del pedigrí, estudios de estructura genética poblacional y desarrollo de herramientas metodológicas para la

mejora genética, considerándose el primer programa de mejora genética en corvina en España (GENECOR 2019-2022).

5. AGRADECIMIENTOS

A la fundación SÉNECA+ Por la beca predoctoral 20716/FPI/18 y al proyecto GENECOR. Cofinanciado por grupo Avramar. Región de Murcia (Spain).

6. REFERENCIAS

1. Cárdenas S. Crianza de la Corvina (*Argyrosomus regius*). Cuadernos de Acuicultura. 2010.
2. APROMAR. Informe La Acuicultura en España. 2020.
3. Tsertou MI, Chatzifotis S, Fontanillas R, Cotou E, Fountoulaki E, Antonopoulou E, et al. The effect of dietary vitamin D3, minerals (Ca, P) and plant-protein sources in the development of systemic granulomatosis in meagre (*Argyrosomus regius*, Asso, 1801). *Aquaculture*. 2020 Jan;521:735052.
4. Herrera M, Matias AC, Soares F, Ribeiro L, Moreira M, Salamanca N, et al. Effect of amino acid supplementation and stress on expression of molecular markers in meagre (*Argyrosomus regius*). *Aquaculture*. 2021;534:736238. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736238>
5. Fakriadis I, Zanatta EM, Fleck RPDS, Sena Mateo DL, Papadaki M, Mylonas CC. Endocrine regulation of long-term enhancement of spermiation in meagre (*Argyrosomus regius*) with GnRHα controlled-delivery systems. *General and Comparative Endocrinology*. 2020 Mar;297:113549. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2020.113549>
6. Ramos-Júdez S, González W, Dutto G, Mylonas CC, Fauvel C, Duncan N. Gamete quality and management for in vitro fertilisation in meagre (*Argyrosomus regius*). *Aquaculture*. 2019 May;509:227–35. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.05.033>
7. Duncan NJ, Mylonas CC, Milton Sullon E, Karamanlidis D, França Nogueira MC, Ibarra-Zatarain Z, et al. Paired spawning with male rotation of meagre *Argyrosomus regius* using GnRHα injections, as a method for producing multiple families for breeding selection programs. *Aquaculture*. 2018 Mar;495:506–12. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.017>
8. Archangi B, Chand V, Mather PB. Isolation and characterization of 15 polymorphic microsatellite DNA loci from *Argyrosomus japonicus* (mulloway), a new aquaculture species in Australia. *Mol Ecol Resour*. 2009;9(1):412–4.
9. Soula M, Zamorano MJ, Navarro A, Neil D, Alejandro G. Diseño de dos nuevas PCRs múltiplex para corvina (*Argyrosomus regius*). 2008;2–3.
10. Nousias O, Tsakogiannis A, Duncan N, Villa J, Tzokas K, Estevez A, et al. Parentage assignment, estimates of heritability and genetic correlation for growth-related traits in meagre *Argyrosomus regius*. *Aquaculture*. 2020;518:734663. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734663>
11. Farias IP, Muniz LB, Astolfi-Filho S, Sampaio I. Isolation and characterization of DNA microsatellite primers for *Cynoscion acoupa*, the most exploited sciaenid fish along the coast of Brazil. *Molecular Ecology Notes*. 2006;6(3):660–3.
12. Turner TF, Richardson LR, Gold JR. Polymorphic microsatellite DNA markers in red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Molecular Ecology*. 1998;7(12):1771–88.
13. Dakin EE, Avise JC. Microsatellite null alleles in parentage analysis. *Heredity*. 2004;93(5):504–9.
14. Navarro A, Badilla R, Zamorano MJ, Pasamontes V, Hildebrandt S, Sánchez JJ, et al. Development of two new microsatellite multiplex PCRs for three sparid species: Gilthead seabream (*Sparus auratus* L.), red porgy (*Pagrus pagrus* L.) and redbanded seabream (*P. auriga*, Valenciennes, 1843) and their application to paternity studies. *Aquaculture*. 2008 Dec 7;285(1–4):30–7.
15. Rachlin J, Ding C, Cantor C, Kasif S. MuPlex: Multi-objective multiplex PCR assay design. *Nucleic Acids Res*. 2005;33(SUPPL. 2):544–7.

MICRO	F	R	COLOR	TM (NCBI)	Max.	Min.
GCT15	ATCCGGGCGTTACTACAGTC	GTTTCTCCACACAGTGCTTTTCAGA	5*PET	60	80	70
UBA50	GCACAACGCATCCCTTAGAT	GTTTAGAAGTGAAGACTGCGGACTG	5*PET	60	153	127
CA3	AAGTGGAGGCTCTTACATGAAAAC	GTGACAAATTGCCTTCTGTTTCTAC	5*PET	60	106	80
GA17	CTAGAGAAATTCATCCAGGGAAGTG	GTTTAGAGCAGAGAGTTAGCGGTTGTT	5*6-FAM	60	102	80
UBA6	AGCACACGTAATCACACACAGAT	GTTTCCACTAGTGCAAAACGGTGGT	5*6-FAM	60	154	132
GA2b	AAGTGTGGCGTCATTTCCCTCT	GTATTGATGGATAGCAAGTGTCAGA	5*PET	60	110	84
SOC405	AGCCTTTTGTGTTAGTTTCCCTCAT	GGGGTGTAGCAGAACCACAC	5*PET	60	125	113
SOC431	GTGGTAGATGAAAACGTATAAAAGGAG	GTTTCATATATAGTGTACAGCTCCAGCTTC	5*VIC	60	155	123
UBA53	TACTTCCTTCTACCCTAAGTCTGG	GACTTTCAGTGTAGCTGTCGTTT	5*VIC	60	120	86
SOC11	GCCGAGTCACGAAGGAACAGAGAA	TGTCGTCTCATCTATCTCCATCTC	5*VIC	60	219	199

Figure 1. Panel de 10 marcadores microsatélites (SMAR).

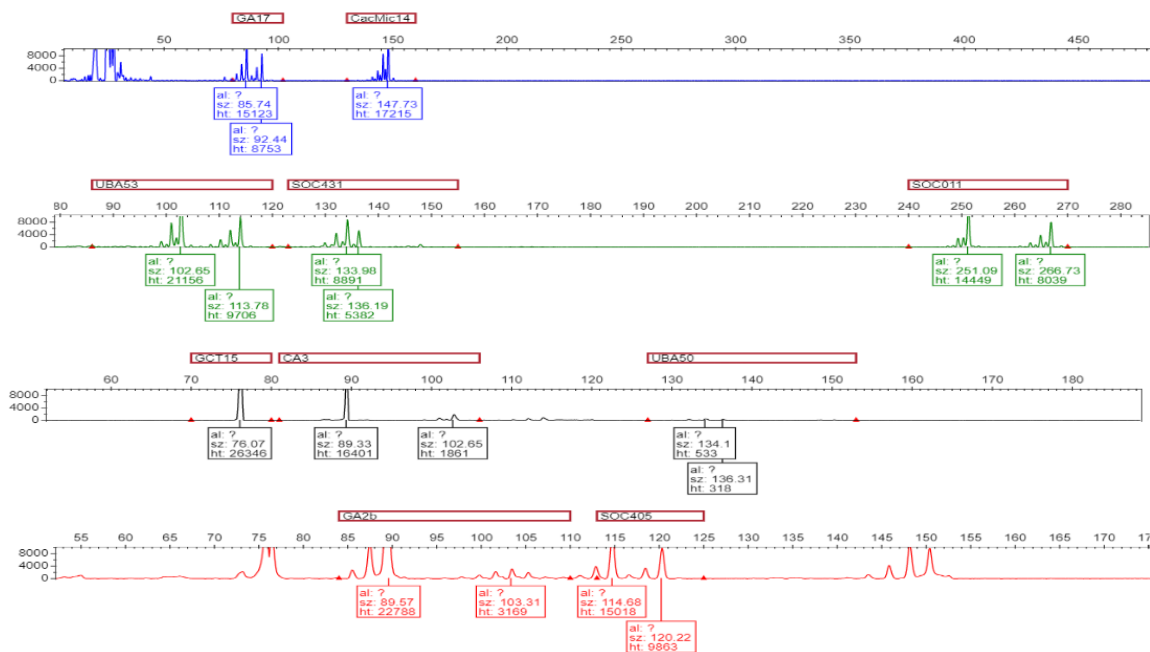


Figura 2. Electroferograma.

A depth study of changed bacterial structure from soil under different cropping systems by co-occurrence network approach

Estudio en profundidad a través de redes de coocurrencia de los cambios ocurridos en la estructura bacteriana en suelos de diferentes sistemas de cultivo

J. Cuartero^{1*}, O. Özbolat², V. Sánchez-Navarro³, M. Egea-Cortines^{2,3}, R. Zornoza^{2,3}, JA. Pascual¹, JM. Vivo⁴, C. Egea^{2,3}, M. Ros¹

¹Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS)-CSIC, Campus Universitario de Espinardo, 30100 Espinardo, Murcia. Spain.

²Instituto de Biotecnología Vegetal, Edificio I+D+I, Universidad Politécnica de Cartagena, Campus Muralla del Mar, 30202 Cartagena, Murcia. Spain.

³Departamento de Ingeniería Agronómica, ETSIA, Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Murcia. Spain.

⁴Departamento de Estadística, Universidad de Murcia, CMN & IMIB-Arrixaca, 30100 Murcia. Spain.

*Jessica.cuartero@um.es

Abstract

Due to soil degradation caused by indiscriminate use of pesticides and herbicides, search for sustainable alternatives to conventional agriculture has taken interest around the world. In this sense, microorganisms are important since they are involved in many indispensable functions on soils such a nitrogen fixation. In this work, three different cropping systems were studied i) conventional ii) organic with manure and iii) organic with compost, with the aim to study changes occurred on bacterial communities as well as their functionality. Experimental plots were located in Cartagena (Spain). To study these functions, 16S gen obtain through high-throughput then a mathematical approximations using PICRUST algorithm were used to predict functionality on soils. On the other hand, a molecular ecological network analysis (MENA) was made to study the interactions among these bacteria. Results of this research showed how compost can enhance some metabolic pathways and can influence the bacterial organization favoring modulation and connections among nodes.

Keywords: high-throughput; compost; MENA.

Resumen

Debido al desgaste de los suelos por el uso indiscriminado de pesticidas y herbicidas, la búsqueda de alternativas a la agricultura convencional ha ido ganando interés alrededor del mundo. En este sentido, los microorganismos son importantes, ya que están incluidos en muchas funciones indispensables en los suelos, como la fijación de nitrógeno. En este trabajo se estudiaron 3 tipos de agricultura diferentes i) convencional, ii) ecológica con estiércol y iii) ecológica con compost, con el objetivo de estudiar los cambios ocurridos en las comunidades bacterianas, así como su funcionalidad, las parcelas estaban ubicadas en Cartagena (España). Para estudiar estas funciones, se utilizó el gen 16S obtenido a través de la secuenciación masiva y seguidamente se realizaron aproximaciones matemáticas a través de PICRUST para predecir la función de esos microorganismos en el suelo. Por otro

lado, se realizó un análisis de redes ecológicas moleculares (MENA) para estudiar las interacciones entre esas bacterias. Los resultados de esta investigación mostraron como el compost puede incrementar algunas rutas metabólicas y puede influir en la organización bacteriana, favoreciendo la modulación y las conexiones entre los nodos.

Palabras clave: secuenciación de alto rendimiento; compost; MENA.

1. INTRODUCCIÓN

Debido al uso indiscriminado de pesticidas, herbicidas y abonos sintéticos, los suelos de todo el mundo se encuentran, día a día, más deteriorados. Por lo que se hace muy necesaria la búsqueda de alternativas sostenibles y, en este sentido, la agricultura orgánica está atrayendo la atención de la comunidad científica de todo el mundo, ya que no solo se han visto beneficios a largo plazo en la producción, si no que se ha visto que es capaz de satisfacer la demanda humana y mejorar la calidad y la estructura de los suelos (1). En este aspecto, los microorganismos del suelo juegan un papel fundamental, ya que se sabe que son capaces de descomponer materia orgánica, contribuyen a la estructura del suelo, favorecen a la degradación de contaminantes, ayudan a suprimir enfermedades transmitidas a través del suelo (2) y, además, contribuyen a incrementar la disponibilidad de nutrientes (3,4). Por lo tanto, el estudio de estos microorganismos se ha convertido en una parte fundamental a la hora de evaluar los suelos. Sin embargo, debido a las redes tan complejas que forman (5), así como a las funciones que realizan (6) no es tarea fácil hacerlo. Para ello existen algoritmos como PICRUSt (7) que permiten la predicción de la expresión génica a partir de la región variable del gen 16S y analizar y estudiar distintas rutas metabólicas (por ejemplo el ciclo del nitrógeno) o algoritmos que permiten la elaboración de redes de coocurrencia, que permiten estudiar las estructuras bacterianas. En este trabajo se han estudiado las comunidades bacterianas de tres tipos distintos de manejo agrícola: i) convencional, ii) ecológica con compost y té de compost y iii) ecológica con estiércol fresco, con el objetivo de conocer cómo afecta el diferente manejo agrícola a la estructura bacteriana, su función y como esta influye en las propiedades del suelo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La zona de estudio está ubicada en el Campo de Cartagena, Murcia, España. Desde principio de los años 90 se ha cultivado la zona bajo tres tipos de tratamientos distintos i) convencional (Conv), ii) ecológica con estiércol de oveja (Ecol_M) y iii) ecológica con compost de oveja y té de compost (Ecol_C). Los detalles del experimento pueden ser encontrados en (1). Cada parcela experimental contó con 2000 m² y el muestreo se realizó en el año 2018, durante el cultivo de veza rizada (*Brassia olearacea* var. *sabellica*) y a una profundidad de 10 cm. Se utilizaron 5 réplicas por tratamiento (15 muestras en total).

2.1 Secuenciación y procesamiento de los datos y predicción génica.

El ADN se obtuvo a partir de 1 g de suelo utilizando el kit DNeasy Power Kit (Qiagen) y se secuenció a través la plataforma Ion Torrent, utilizando para ello iniciadores que amplificaron las regiones V2-4-8. Los datos fueron procesados a través de QIIME (9) como viene detallado en (1) con la diferencia de que la asignación taxonómica se realizó utilizando la base de datos greengenes, que es compatible con el algoritmo PICRUSt (7), algoritmo que utiliza el base de datos KEGG para realizar la asignación de los genes (10).

2.2 Análisis estadístico y red de coocurrencia

Para evaluar las diferencias entre los tratamientos, se utilizaron ANOVA o test de Kruskal-Wallis dependiendo de si los datos cumplían o no, los supuestos de normalidad y homogeneidad de la varianza. Seguidamente se realizó un test comparativo para comprobar si existían diferencias entre los tratamientos. En el caso del ANOVA se realizó el test de Tukey mientras que cuando se empleaba el test de Kruskal-Wallis se realizó la comparación de Dunnet con la

corrección "Benjamini-Hochberg". Para estudiar la interacción de los microorganismos se utilizó una matriz de coocurrencia utilizando una matriz aleatoria, para ello, los datos se transformaron y trabajaron siguiendo las indicaciones de (5).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados preliminares de esta investigación muestran cambios en la funcionalidad de la comunidad bacteriana del suelo (Tabla 1), mostrando una mayor actividad en algunas funciones, como la degradación de benzoatos, la fijación de carbono o las proteínas de replicación del ADN cuando se aplicó compost al suelo. Mohale et al. (11) encontró que la proporción de compost aplicada al suelo influía en la cantidad de biomasa, por lo que nuestros resultados podrían sustentar esa afirmación con un incremento en la síntesis de proteínas de replicación del ADN. Por otro lado, el compost también ha sido estudiado como medida para la biorremediación de los suelos (12), biorremediación que es llevada a cabo por microorganismos principalmente incorporados al suelo a través del compost (13). En nuestros resultados se observa un incremento de la abundancia relativa de los genes relacionados con la degradación de benzoato, por lo que podría ser un indicio de que el compost también podría favorecer la degradación de estos compuestos. Además, estudios previos han demostrado la relación entre la actividad bacteriana y la fijación de carbono atmosférico a través de algunos microorganismos, como las cianobacterias. Nuestros resultados mostraron un incremento en los genes relacionados con la fijación del carbono cuando se aplicaba el compost, sin embargo, no se observó el mismo crecimiento en los genes relacionados con la fijación de carbono en organismos fotosintéticos, de modo que este incremento podría deberse, en parte, al ciclo inverso de Krebs llevado a cabo por algunas bacterias presentes en el suelo (14).

Por otro lado, nuestros resultados también mostraron un cambio en la estructura de la red bacteriana y sus módulos (Fig. 1), mostrando una mayor modulación cuando el compost fue incorporado al suelo. Este incremento de los módulos podría ser beneficioso para la comunidad bacteriana, ya que se ha visto que puede hacerla más resistente a los cambios ambientales (15) otorgando una mayor calidad en la respuesta bacteriana a las condiciones adversas que puedan ocurrir. De hecho, se ha demostrado que el tipo de fertilización aplicada es capaz de alterar totalmente la función de un microorganismo dentro de la red (4), lo que deja en evidencia el delicado equilibrio que existe entre las comunidades bacterianas del suelo y el tipo de material que se aplica en ellos.

4. CONCLUSIONES

Los resultados preliminares de este estudio muestran lo sensibles que son las comunidades bacterianas a los cambios externos, potenciándose su actividad o disminuyéndose, dependiendo del tipo de enmienda que se aplique. Estas variaciones mostraron que el compost daba lugar a una comunidad bacteriana más modular y, con ello, con una posible mayor facilidad de respuesta a las condiciones externas. Además, se vio un notable incremento en algunas rutas metabólicas, que podrían favorecer a la biorremediación de los suelos y a la nutrición de las plantas cultivadas.

5. AGRADECIMIENTOS

Este proyecto está financiado por la Unión Europea a través del proyecto del Programa Horizonte 2020 Diverfarming (GA 728003).

6. REFERENCIAS

1. Gold M V. Organic farming and marketing: publications from the United States Department of Agriculture, 1977-2005. *Org FARMING METHODS, Econ Struct.* 2009;245-64.
2. Kurzemann FR, Plieger U, Probst M, Spiegel H, Sandén T, Ros M, et al. Long-Term Fertilization Affects Soil Microbiota, Improves Yield and Benefits Soil. *Agronomy.* 2020;10(11):1664.
3. Wright S. The importance of soil microorganisms in aggregate stability. In: North Central Extension Industry Soil Fertility Conference Proceedings. 2003.

4. Ling N, Zhu C, Xue C, Chen H, Duan Y, Peng C, et al. Insight into how organic amendments can shape the soil microbiome in long-term field experiments as revealed by network analysis. *Soil Biol Biochem.* 2016;99:137–49.
5. Zhou J, Deng Y, Luo F, He Z, Tu Q, Zhi X. Functional molecular ecological networks. *MBio.* 2010;1(4).
6. Barberán A, Bates ST, Casamayor EO, Fierer N. Using network analysis to explore co-occurrence patterns in soil microbial communities. *ISME J.* 2012;6(2):343–51.
7. Langille MGI, Zaneveld J, Caporaso JG, McDonald D, Knights D, Reyes JA, et al. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nat Biotechnol.* 2013;31(9):814–21.
8. Cuartero J, Özbolat O, Sánchez-Navarro V, Egea-Cortines M, Zornoza R, Canfora L, et al. Changes on Bacterial and Fungal Soil Communities in Long-Term Organic Cropping Systems. *Agric.* 2021;11(5):45
9. Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods.* 2010;7(5):335.
10. Kanehisa M, Goto S, Sato Y, Furumichi M, Tanabe M. KEGG for integration and interpretation of large-scale molecular data sets. *Nucleic Acids Res.* 2012;40(D1):D109–14.
11. Mohale MP, Manyevera A, Dube E, Zerizghy M. Short-term Effect of Eucalyptus Wood-based Compost on Biological Fertility of Soils under Avocado Plantations. *Commun Soil Sci Plant Anal.* 2021;1–16.
12. Sax MS, Bassuk N, van Es H, Rakow D. Long-term remediation of compacted urban soils by physical fracturing and incorporation of compost. *Urban For urban Green.* 2017;24:149–56.
13. Chikere CB, Tekere M, Adeleke R. Microbial communities in field-scale oil-polluted soil remediation using 16S rRNA amplicon sequencing. *Int J Environ Stud.* 2020;1–17.
14. Lian T, Mu Y, Jin J, Ma Q, Cheng Y, Cai Z, et al. Impact of intercropping on the coupling between soil microbial community structure, activity, and nutrient-use efficiencies. *PeerJ.* 2019;7:e6412.
15. Banerjee S, Walder F, Büchi L, Meyer M, Held AY, Gattinger A, et al. Agricultural intensification reduces microbial network complexity and the abundance of keystone taxa in roots. *ISME J.* 2019;13(7):1722–36.

Tabla 1. Abundancia relativa de la expresión de genes de los distintos tratamientos.

Ruta Metabólica	Conv	Org_C	Org_M	Anova	Kruskal-Wallis
Fijación de carbono	0.98±0.03 b	1.18±0.03 a***	0.62±0.01 c***	***	-
Fijación de carbono en organismos fotosintéticos	0.41±0.02 ab	0.44±0.01 a	0.34±0.03 b	-	**
Replicación de proteínas de DNA	0.76±0.01 b	0.80±0.01 a***	0.48±0.01 c***	***	-
Degradación de benzoato	0.55±0.03 b	0.70±0.02 a***	0.59±0.03 b	***	-

Las letras de la tabla representan los resultados del Test de Tukey (cuando se aplicó el Anova) o de Dunn (cuando se aplicó el Kruskal-Wallis). Los asteriscos representan los resultados del test de Dunnet utilizando como control el tratamiento convencional.

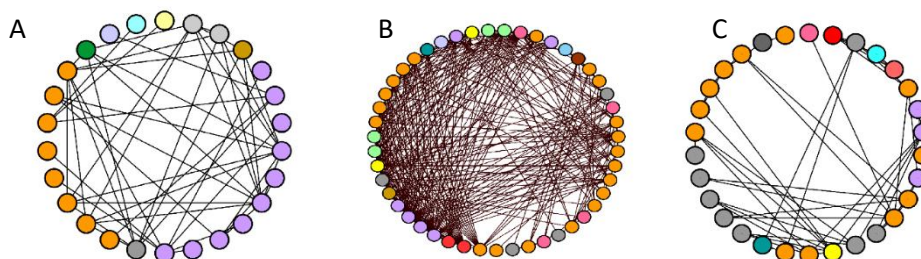


Figura 1. Uno de los módulos obtenidos de las redes de coocurrencia: (A) Conv, (B) Org_C y (C) Org_M.

Aphid-borne viruses infecting cultivated watermelon and squash in Spain: characterization of a variant of cucurbit aphid-borne yellows virus (CABYV)

Virus transmitidos por pulgón infectando sandía y calabaza en España: caracterización de una variante del virus del amarilleo de las cucurbitáceas transmitido por pulgón (CABYV)

M.P. Rabadán^{1*}, M. Juárez², C. De Moya-Ruiz¹, P. Gómez¹

¹Departamento de Biología del Estrés y Patología Vegetal, CEBAS-CSIC, Campus Universitario de Espinardo, 25, Apartado 164, 30100 Espinardo, Murcia. Spain.

²Escuela Politécnica Superior de Orihuela, Universidad Miguel Hernández de Elche, Orihuela 03312, Alicante. Spain.

*mprabadan@cebas.csic.es

Abstract

Aphid-borne viruses are responsible for major cucurbit diseases. Systematic monitoring can reveal the occurrence and distribution of these viruses, facilitating the control of diseases. During three seasons (2018-2020), the presence of aphid-borne viruses was controlled in watermelon and squash plants in three cucurbit-producing areas (Castilla La-Mancha, Alicante and Murcia) in Spain. Cucurbit aphid-borne yellows virus (CABYV) was the most common virus found (29%) in the plants from both crops. Likewise, except for squash samples from Castilla La-Mancha and Alicante, watermelon mosaic virus (WMV) was also found (23%) with a relatively high frequency. In addition, we observed more exacerbation symptoms in watermelon plants that was often accompanied by a fruit abortion. CABYV was the causative agent of this new disease; two infectious cDNA clones (one from watermelon CABYV-LP63 and one from melon CABYV-MEC12.1) were constructed to compare and characterize this disease. The phylogenetic study revealed that both isolates were within the Mediterranean branch. Isolate LP63 shows two potential recombination events compared to MEC12.1. LP63 isolate caused more severe symptoms and showed higher RNA accumulation than MEC12.1 in five cucurbits plant species. These results suggest that a novel CABYV variant that causes severe yellowing symptoms, may be causing outbreaks in cucurbit crops.

Keywords: cucurbits; epidemiology; plant viral diseases; WMV.

Resumen

Los virus transmitidos por pulgones son responsables de las principales enfermedades de cucurbitáceas. El continuo seguimiento de estos cultivos puede ayudar a prevenir la aparición y distribución de estos, facilitando el control de enfermedades. Durante tres temporadas (2018-2020) se examinó la presencia de virus transmitidos por pulgón en plantas de sandía y calabaza en tres zonas productoras de cucurbitáceas en España. El virus del amarilleo de las cucurbitáceas transmitido por pulgón (CABYV) fue mayoritario (29%) en ambos cultivos, seguido del virus del mosaico de la sandía (WMV) (23%). Se observaron unas plantas de sandía con síntomas más graves acompañados de aborto en los frutos revelando que CABYV era el agente causante de estos síntomas. Se construyeron dos clones de ADNc infecciosos (uno de sandía CABYV-LP63 y otro de melón CABYV-MEC12.1) para

comparar y caracterizar esta nueva variante de CABYV. El estudio filogenético reveló que ambos aislados estaban dentro de la rama mediterránea. El aislado LP63 tiene dos eventos potenciales de recombinación en comparación con MEC12.1. Además, esta nueva variante causó síntomas más graves y presentó mayor acumulación en cinco especies de cucurbitáceas. Una nueva variante de CABYV causa síntomas de amarilleos más graves puede estar amenazando los cultivos de cucurbitáceas.

Palabras clave: cucurbitáceas; epidemiología; enfermedad viral de plantas; WMV.

1. INTRODUCTION

Las cucurbitáceas se encuentran entre las hortalizas más importantes de la cuenca mediterránea. Sin embargo, la sostenibilidad de su producción se ve amenazada por enfermedades que incluyen al menos 28 especies de virus diferentes (1). La prevalencia de virus afectando a las cucurbitáceas se está viendo incrementada no solo debido a la falta de medidas de control, sino también por el aumento de cultivos en sistemas de producción ecológico que pueden alterar la población de insectos vectores de virus, como los pulgones. Por ello, existe la necesidad de realizar un continuo seguimiento acerca de la presencia y distribución de estas enfermedades virales, así como, de estudiar la estructura genética poblacional y epidemiología de las mismas.

Entre estas enfermedades virales, el virus del amarilleo de las cucurbitáceas transmitido por pulgón (cucurbit aphid-borne yellows virus; CABYV) es uno de los virus más prevalentes (2). CABYV se transmite principalmente por pulgones (*Aphis gossypii* Glover y *Myzus persicae* Sulzer) de manera circulativa persistente y no propagativa. En España se identificó por primera vez en 2004 (3), y se ha ido extendiendo a los cultivos de cucurbitáceas, volviéndose más prevalente en los cultivos de melón y calabacín en el sureste de España (4,5). Además, también se han descrito potyvirus: virus del mosaico de la sandía (watermelon mosaic virus; WMV), el virus del mosaico amarillo del calabacín (zucchini yellows mosaic virus; ZYMV) y el virus de la mancha anular de la papaya (papaya ring spot virus; PRSV), así como el virus del mosaico del pepino (cucumber mosaic virus; CMV), entre otros, que afectan mayoritariamente a cucurbitáceas en España (6). Las infecciones virales múltiples también se observan con alta frecuencia en especies de cucurbitáceas, siendo CABYV y WMV los que se encuentran de manera mayoritaria (2,4,5).

La secuenciación de diferentes aislados de CABYV revela que hay cuatro grupos genéticamente relacionados: asiático o chino (C), mediterráneo (N), taiwanés (TW), y recombinantes (R) (7). Un análisis más detallado y centrado en la proteína de cubierta (CP) ha mostrado que CABYV tiene una alta tasa de sustitución de nucleótidos (1×10^{-2} sustitución/sitio/año) (8), sugiriendo que las mutaciones son la principal fuente de diversidad genética en este virus. Esta plasticidad genética podría favorecer la rápida evolución y adaptación de los virus bajo nuevas condiciones agrícolas y, por lo tanto, contribuir a la emergencia de nuevas variantes de CABYV que desafíen las estrategias de control establecidas. El objetivo de este trabajo es examinar la presencia y distribución de virus transmitidos por pulgón que causan enfermedades en los cultivos de sandía y calabaza, presentando atención a la emergencia de nuevas enfermedades.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Colección de muestras y detección de virus

Un total de 292 muestras fueron recogidas durante 2018-2020 en zonas productoras de sandía y calabaza de Murcia, Alicante y C. La-Mancha. El ARN total de las muestras fue extraído con Tri-Reagent y mediante hibridación molecular por dot-blot usando sondas específicas se detectaron CABYV, WMV, ZYMV, CMV y PRSV.

2.2 Amplificación del genoma completo y construcción de clon infectivo de CABYV

Para la construcción de los clones, se amplificó mediante RT-PCR el genoma de una muestra de sandía y otra de melón. Ambos se clonaron en pJL89 (In-Fusion cloning) y se transformó en *Escherichia coli*.

2.3 Secuenciación y estudio genético de CABYV

Mediante SANGER se secuenciaron los dos clones con 8 primers internos. El análisis filogenético se realizó con MEGA X y los eventos de recombinación se detectaron con RDP4. Ambas secuencias se depositaron en GenBank.

2.4 Agro-inoculación de cucurbitáceas y estudio de acumulación de CABYV

Se agroinfectaron 5 especies diferentes de cucurbitáceas tanto con LP63 con MEC12.1. Se estudió la acumulación de cada uno de los clones mediante RT-qPCR en cada una de las cucurbitáceas y se procedió a su análisis estadístico con JMP software v9 y Rstudio.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los cultivos de cucurbitáceas son importantes económicamente, siendo España uno de los principales productores. Estos cultivos se ven continuamente amenazados por enfermedades virales, principalmente transmitidas por pulgón. En este trabajo se analizaron un total de 292 muestras sintomáticas de sandía y calabaza recogidas durante 3 temporadas (2018-2020). En general, CABYV fue el virus mayoritario (29%) tanto en sandía como en calabaza, seguido de WMV (23%), mientras que en una baja proporción se observaron ZYMV y PRSV (<3%) (Fig. 1). La alta prevalencia de CABYV podría estar relacionada con la presencia de especies silvestres que actúan como fuente de inóculo y/o reservorio para la diseminación por pulgones (2). Además, se ha observado que plantas infectadas con CABYV, influyen en el comportamiento de los pulgones estimulando la atracción de plantas infectadas y preferencia de los pulgones por plantas sanas (9). Es bastante probable que la prevalencia de CABYV se deba a la falta de especies resistentes, junto con la presencia de plantas silvestres cerca de campos de cultivo que se superponen, así como el papel de CABYV en la transmisión de pulgones.

Durante los muestreos realizados se observaron unos síntomas más intensos en plantas de sandía. Mediante los postulados de Koch se confirmó que estos síntomas eran producidos por una nueva variante de CABYV (LP63). En el análisis filogenético mostró que esta variante estaba dentro del grupo mediterráneo (2), y que su secuencia nucleotídica compartía un 96% de similitud con el aislado CABYV-MEC12.1. En particular, el ORF2 de LP63 muestra un elevado número de mutaciones no-sinónimas, y su genoma presentó dos posibles eventos de recombinación. Esto demanda continuas prospecciones para estudiar la variabilidad genética de las poblaciones de CABYV.

La construcción de clones infectivos de CABYV (LP63 y MEC12.1) permitió evaluar la expresión de síntomas y estimar la acumulación de ARN viral en cinco especies de cucurbitáceas (melón, calabacín, sandía, pepino y calabaza). En general, se observó que LP63 produce una sintomatología de amarilleos más acusada (Fig. 2), así como abortos en los frutos de las plantas de sandía infectadas. También se observó una mayor acumulación de ARN viral en todas las especies de plantas ensayadas. Es muy probable que esta nueva variante tenga una ventaja competitiva en cultivos de cucurbitáceas, ampliando la presencia y distribución de CABYV en estos cultivos. Es por esto, que surge la necesidad de monitorizar la población de CABYV e investigar en profundidad la diversidad genética y dinámica evolutiva de las poblaciones virales.

4. CONCLUSIONES

- CABYV y WMV son los virus predominantes en cultivos de sandía y calabaza.
- Una nueva variante de CABYV ha sido detectada en sandía, y puede estar amenazando la producción de los cultivos de cucurbitáceas.

5. AGRADECIMIENTOS

Ministerio de ciencia, innovación y universidades con beca de doctorado (PRE2018-083915). AGL2017-89550-R de la Agencia Estatal de Investigación (AEI) y fondos FEDER (UE).

6. REFERENCIAS

1. Lecoq H, Desbiez C. Viruses of Cucurbit Crops in the Mediterranean Region. An Ever-Changing Picture. In: *Advances in Virus Research*. 2012;67-126.
2. Kassem M, Juárez M, Gómez P, Mengual C, Sempere R, Plaza M, et al. Genetic diversity and potential vectors and reservoirs of Cucurbit aphid-borne yellows virus in southeastern Spain. *Phytopathology*. 2013;103(11):1188-97.
3. Juárez M, Truniger V, Aranda MA. First Report of Cucurbit aphid-borne yellows virus in Spain. *Plant Dis*. 2004;88(8):907.
4. Kassem MA, Sempere RN, Juárez M, Aranda MA, Truniger V. Cucurbit aphid-borne yellows virus is prevalent in field-grown cucurbit crops of southeastern Spain. *Plant Dis [Internet]*. 2007 Mar;91(3):232-8. Available from: <http://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-91-3-0232>
5. Juárez M, Legua P, Mengual CM, Kassem MA, Sempere RN, Gómez P, et al. Relative incidence, spatial distribution and genetic diversity of cucurbit viruses in eastern Spain. *Ann Appl Biol*. 2013;162(3):362-70.
6. De Moya-Ruiz C, Rabadán P, Juárez M, Gómez P. Assessment of the current status of potyviruses in watermelon and pumpkin crops in Spain: Epidemiological impact of cultivated plants and mixed infections. *Plants*. 2021;10(1):1-14.
7. Knierim D, Deng TC, Tsai WS, Green SK, Kenyon L. Molecular identification of three distinct Polerovirus species and a recombinant Cucurbit aphid-borne yellows virus strain infecting cucurbit crops in Taiwan. *Plant Pathol*. 2010;59(5):991-1002.
8. Pagán I, Holmes EC. Long-Term Evolution of the Luteoviridae: Time Scale and Mode of Virus Speciation. *J Virol*. 2010;84(12):6177-87.
9. Carmo-Sousa M, Moreno A, Plaza M, Garzo E, Fereres A. Cucurbit aphid-borne yellows virus (CABYV) modifies the alighting, settling and probing behaviour of its vector *Aphis gossypii* favouring its own spread. *Ann Appl Biol*. 2016;169(2):284-97.

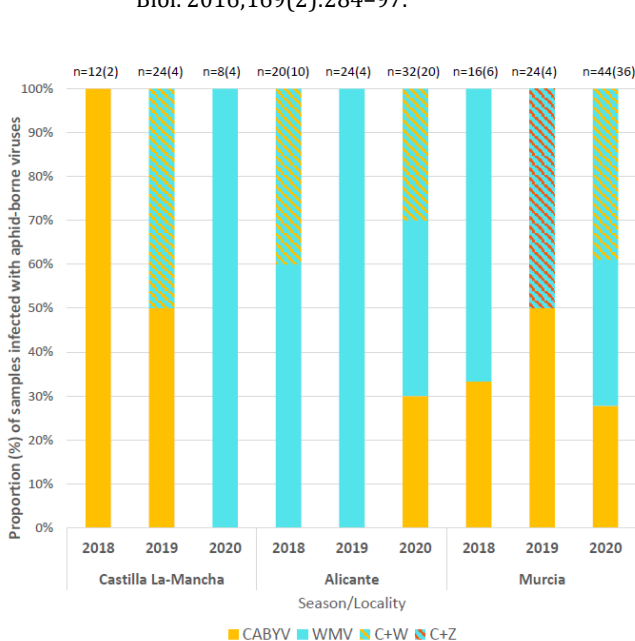


Figura 1. Virus transmitidos por pulgón detectados (CABYV, WMV, ZYMV, PRSV y CMV) en sandía durante 2018-2020 en 3 zonas de cultivo (Castilla La-Mancha, Alicante and Murcia).

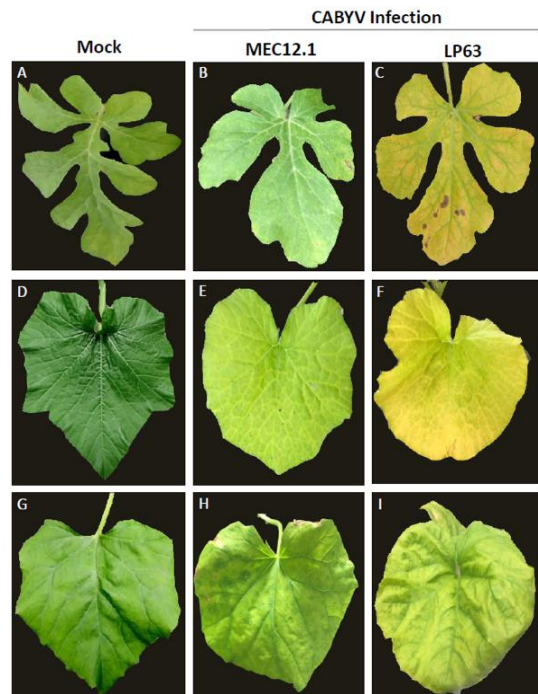


Figura 2. Comparación de síntomas producidos por los dos aislados CABYV MEC 12.1 y CABYV LP63.

Development of ground truth dataset with phenotypic data analysis and their application in agriculture and research

Desarrollo de ground truth dataset con análisis de datos fenotípicos y su aplicación en agricultura e investigación

M.V. Díaz-Galián^{1*}, P.J. Navarro Lorente², M. Egea-Cortines¹

¹Instituto de Biotecnología Vegetal, Edificio I+D+I, Universidad Politécnica de Cartagena, Campus Muralla del Mar, 30202 Cartagena, Murcia. Spain.

²Departamento de Tecnologías de la Información y las Comunicaciones, ETSIT, Universidad Politécnica de Cartagena, Campus Muralla del Mar, 30202 Cartagena, Murcia. Spain.

*mariavictoria.diaz@edu.upct.es

Abstract

Currently, new techniques to plant phenotyping, such as computer vision, have enabled to improve the detection of several parameters. Artificial intelligence needs data to train algorithms, so the creation of ground truth datasets is highly relevant to research. A dataset was developed comprising 114 flowers of *Antirrhinum majus* (commercial variety Vilmorin long variee). Furthermore, several phenotypic features were measured, such as length, width, weight, and anthocyanin content. This study confirms that weight is the best parameter to determine flower development, as well as this knowledge enables to create machine learning algorithms to an automatic and non-invasive phenotyping.

Keywords: phenotyping; computer vision; image analysis.

Resumen

Actualmente, nuevas técnicas para el fenotipado vegetal, tales como la visión artificial, han permitido mejorar la detección de características. La inteligencia artificial necesita de datos masivos para la generación de algoritmos. Por ello, la creación de ground truth datasets es altamente relevante en investigación. Un dataset fue desarrollado usando 114 flores de *Antirrhinum majus* (variedad comercial Vilmorin long variee). Además, las características fenotípicas como la longitud, peso, anchura y contenido de antocianinas fueron medidas. Se confirmó que el peso es la mejor característica para determinar el estado de desarrollo floral. Además, este conocimiento permite la creación en un futuro de programas de machine learning utilizando estos datos para un fenotipado automática y no invasivo.

Palabras clave: fenotipado; visión artificial; análisis de imagen.

1. INTRODUCTION

El fenotipo es el conjunto de todas las características externas dadas por un genotipo bajo ciertas condiciones fisiológicas, medio-ambientales y de desarrollo (1). En la actualidad, el fenotipado es capaz de detectar cambios entre mutantes y líneas silvestres, así como la calidad de las frutas y vegetales. Su identificación a través de técnicas no invasivas, como la visión por computador está siendo ampliamente extendido por los beneficios que presentan, como la no destrucción del fruto, la rapidez y la objetividad en la toma de decisión (2,3). La utilización de cámaras hiperespectrales permite adquirir imágenes con información no obtenida por otros medios como es el contenido de agua o daños en el tejido vegetal (4–8). La utilización de las imágenes obtenidas para la creación de programas de fenotipados automáticos requiere también

la obtención de datos fenotípicos con el fin de poder combinar toda la información para entrenar los algoritmos y, consecuentemente, tener los mejores resultados.

Para terminar, como el Deep learning requiere de grandes volúmenes de datos para poder funcionar de manera correcta, estos hacen uso de ground truth datasets que son conjuntos de datos con anotaciones. En nuestro caso concretamente, son imágenes asociadas a datos fenotípicos. Por esta razón, se desarrolló un dataset de imágenes y datos fenotípicos de flores *Antirrhinum*, lo cual permitirá en un futuro hacer uso de ellos y generar programas no invasivos de fenotipado.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Material vegetal y datos fenotípicos

Se utilizaron 114 flores de *Antirrhinum majus* en diferentes etapas de crecimiento. Se clasificaron en tres grupos: bajo (0,01-0,15 g), medio (0,15-0,3 g) y alto (0,3-0,45 g) según su peso. Se midió su longitud, anchura, peso y el contenido de antocianinas. Para la determinación de antocianinas se realizó por el método del metanol ácido como está descrito en previos estudios (9).

2.2 Adquisición de imagen

Se utilizaron dos cámaras hiperespectrales. Las imágenes fueron tomadas en una cámara diseñada para evitar los brillos y/o reflejos. Para ello, un sistema de LEDs proporcionaba las diferentes longitudes de onda necesarias para el correcto funcionamiento de las cámaras.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este estudio se realizó la toma de imágenes para la creación de un ground-truth dataset. Para ello se tuvieron que medir distintos parámetros fenotípicos como la longitud, anchura, peso y cantidad de antocianinas. Se observó que estas características van variando durante el desarrollo floral, por lo que pueden ser utilizadas para determinar en qué fase se encuentran. En la Figura 1 podemos observar como el peso sería la mejor característica para determinar el estado de desarrollo floral. Conocer en qué fase está es altamente importante porque permite tener una población de estudio uniforme en estudios de volátiles, por ejemplo. Los datos fenotípicos fueron analizados en detalle con diferentes líneas de tendencia (lineal, exponencial, logarítmica y polinomial) con la intención de obtener datos adicionales imposibles de adquirir con los datos crudos. La mejor línea de tendencia permitió detectar un desarrollo de doble sigmoide en el peso de las flores, como ocurre en el desarrollo de las bayas. En cuanto al contenido de antocianinas, este también iba incrementándose a lo largo del desarrollo.

Por todo lo anteriormente comentado, es interesante la creación de este dataset puesto que se podrían crear algoritmos de Deep learning para detectar la cantidad de antocianinas de una forma no invasiva y rápida. Con la información aportada, se podrían realizar programas de inteligencia artificial para determinar el desarrollo floral, lo cual es recomendable en estudios fenotípicos donde se precisa utilizar flores que se encuentren en el mismo momento del desarrollo floral. Por ello, la creación de algoritmos utilizando este ground-truth dataset permitiría de forma precisa la selección. Otras aplicaciones serían en la detección de comportamientos fenotípicos anómalos en estudios de mutantes, como previamente han sido descritos (10-12).

4. CONCLUSIONES

- Se confirma que todas las características estudiadas pueden ser correlacionadas con el desarrollo floral.
- El ground truth dataset creado puede utilizarse para generar un futuro programa de inteligencia artificial no invasivo para detectar el desarrollo floral.
- El desarrollo del peso sigue una curva doble sigmoide.

5. REFERENCIAS

1. Zhou N, Siegel ZD, Zarecor S, Lee N, Campbell DA, Andorf CM, et al. Crowdsourcing image analysis for plant phenomics to generate ground truth data for machine learning. *PLoS Comput Biol.* 2018 jul 30;14(7):e1006337.
2. Su W-H, Sun D-W. Multispectral Imaging for Plant Food Quality Analysis and Visualization. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2018;17(1):220-39.
3. Xu R, Li C, Paterson AH. Multispectral imaging and unmanned aerial systems for cotton plant phenotyping. *PLoS ONE.* 27 de febrero de 2019;14(2):e0205083.
4. Danielsen S, Munk L. Evaluation of disease assessment methods in quinoa for their ability to predict yield loss caused by downy mildew. *J Crop Prot.* 2004;23(3):219-28.
5. Henebry GM. Remote sensing of vegetation: Principles, techniques, and applications. *BioScience.* 2011;61(7):568-9.
6. Navarro PJ, Miller L, Gila-Navarro A, Díaz-Galián MV, Aguila DJ, Egea-Cortines M. 3DeepM: An Ad Hoc Architecture Based on Deep Learning Methods for Multispectral Image Classification. *Remote Sensing.* 2021 jan;13(4):729.
7. Sasaki Y, Okamoto T, IMOU K, TORII T. Automatic diagnosis of plant disease recognition between healthy and diseased leaf. *Journal of the Japanese Society of Agricultural Machinery.* 1999;61(2):119-26.
8. Serrano L, González-Flor C, Gorchs G. Assessment of grape yield and composition using the reflectance based Water Index in Mediterranean rainfed vineyards. *Remote sensing of environment.* 2012;118:249-58.
9. Li Z, Zhao M, Jin J, Zhao L, Xu Z. Anthocyanins and their biosynthetic genes in three novel-colored *Rosa rugosa* cultivars and their parents. *Plant Physiology and Biochemistry.* 2018 Aug;129:421-8.
10. Bowman JL, Smyth DR, Meyerowitz EM. Genes directing flower development in *Arabidopsis*. *The Plant Cell.* 1989 jan 1;1(1):37-52.
11. Nilsson O, Weigel D. Modulating the timing of flowering. *Current Opinion in Biotechnology.* 1997 Apr 1;8(2):195-9.
12. Martin C, Prescott A, Mackay S, Bartlett J, Vrijlandt E. Control of anthocyanin biosynthesis in flowers of *Antirrhinum majus*. *Plant J.* 1991 jul;1(1):37-49.

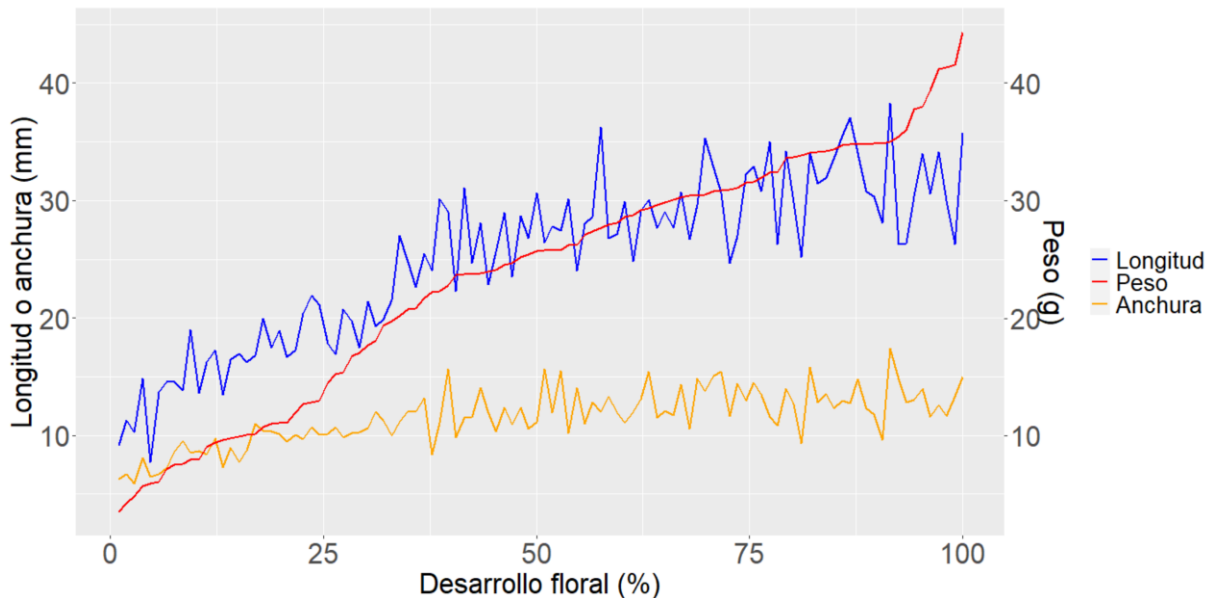


Figura 1. Datos fenotípicos del desarrollo floral de *Antirrhinum*.

Ability of trees for microclimatic regulation the San Ginés de la Jara park (Cartagena)

Capacidad de regulación microclimática por el arbolado del parque San Ginés de la Jara (Cartagena)

J.P Toledo^{1*}, J.A. Ros¹, P. Calaza², J. Ochoa¹

¹Departamento de Ingeniería Agronómica, ETSIA, Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Murcia. Spain.

²Planificación e Ingeniería del Territorio, S.L.U. Campo de la Estrada, 2, Portal C, 3 D, 15001 A Coruña. Spain.

*jptm80@yahoo.es

Abstract

The present work aims to demonstrate the ability of urban forest trees for shading and its effects on the generation of thermal comfort for users of the urban park of San Ginés de la Jara. Trees can modify the local microclimate in a significant way by generating shade, but this ability depends on the characteristics of each species (size, shape, and leafiness) and its management. To study it, different measurements were made on the trees and their projected shadows by photography and a geographic information system (GIS) which led determine the total area shaded by the trees (work derived from LiDAR-PNOA 2016 CC-BY 4.0 scne.es). Additionally, a thermal comfort generation capacity study was carried out using thermography and the calculation of the thermal indices PET (°C) and PT (°C).

Keywords: shade simulation; cooling effect; leafiness.

Resumen

El presente trabajo tiene por objetivo demostrar la capacidad del arbolado de producir sombra y sus efectos sobre la generación de confort térmico a los usuarios del parque urbano de San Ginés de la Jara. El arbolado puede modificar el microclima local de manera sensible mediante la generación de sombra, pero esta capacidad depende de las características propias de cada especie (tamaño, forma y frondosidad) y de su gestión. Se realizaron mediciones sobre el arbolado y las sombras proyectadas mediante fotografía y un sistema de información geográfica (SIG) con el que se determinó el área total sombreada por el arbolado (Obra derivada de LiDAR-PNOA 2016 CC-BY 4.0 scne.es). Adicionalmente, se realizó un estudio de capacidad de generación de confort térmico mediante termografías y el cálculo de los índices térmicos PET (°C) y PT (°C).

Palabras clave: simulación de sombras; efecto enfriamiento; frondosidad.

1. INTRODUCCIÓN

La importancia del árbol ha sido subrayada por numerosos profesionales del paisaje, especialmente por su contribución a la mejora del confort térmico de los espacios verdes. La capacidad de generar sombra por un árbol depende directamente de su frondosidad (1). El confort térmico es un concepto subjetivo que varía según el historial climático y psicológico de cada persona. Ochoa de la Torre (2) explica que el confort de una persona en un espacio exterior se puede estimar cuantitativamente, mediante su balance energético. Una persona estará térmicamente confortable si el balance resultante está alrededor de 0. Este mismo autor indica que a medida que el valor del balance se incrementa ($>0 \text{ W/m}^2$), la persona se sobrecalentará y tendrá cada vez más calor, y que, conforme el valor del balance disminuye ($<0 \text{ W/m}^2$), la persona

se enfriará y tendrá cada vez más frío. El objetivo del presente trabajo fue demostrar la capacidad del arbolado de producir sombra y sus efectos sobre la generación de confort térmico a los usuarios del parque urbano de San Ginés de la Jara.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El parque de San Ginés de la Jara está localizado en la barriada de San Ginés, al este del término municipal de Cartagena y cuenta con una superficie aproximada de 14.500 m².

2.1 Estudio de la capacidad de sombreado

Mediante el uso del complemento UMEP de QGIS, se procedió a la obtención de una capa raster de las sombras generadas por el arbolado del parque mediante un modelo digital de terreno (MDT) y un modelo de alturas de canopia obtenidos desde LiDAR (3). Posteriormente, se vectorizó la capa ráster con la finalidad de calcular las áreas sombreadas desde las 11:00 h hasta las 15:00 h del 10 de junio de 2020.

2.2 Estudio de confort térmico

La frondosidad del árbol condiciona en gran medida la cantidad de radiación que pasa a través de la copa (2). Se evaluó la frondosidad de las especies arbóreas del parque conforme a lo propuesto por Ochoa de la Torre (2,4), Cantón et al. (5) y Arboit (6) que utilizan la fotografía digital como herramienta analítica para conocer este parámetro. Cada fotografía se convirtió a una imagen binaria usando ImageJ y siguiendo la metodología de Librovisión (7). La interpretación se realizó siguiendo la propuesta de Rojas (1), según 3 categorías: ligera, media y densa.

De la misma forma, se realizó un estudio de confort térmico con el software RayMan Pro (9). El programa realiza una serie de cálculos a partir de los datos térmicos correspondientes obtenidos mediante termografía de 7 puntos asignados en el parque ligados a superficies que están sombreadas y sin sombrear únicamente por las especies arbóreas, y los datos de la estación meteorológica de Cartagena obtenidos el mismo día que se realizaron las termografías. Los valores de salida obtenidos son los valores de los índices térmicos PET (Physiologically Equivalent Temperature) y PT (Perceived Temperature) calculados con RayMan Pro.

La PET fue definida por Mayer (8) como la temperatura del aire por la cual la estimación de la energía humana para las condiciones ficticias de interior está equilibrada por la misma temperatura de la piel y de la tasa de sudoración, así como bajo las complejas condiciones de exterior. Las condiciones ficticias de interior fueron: $T_{mrt} = T_a$, $v = 0,1 m^{-1}$, $VP = 12hPa$, donde T_{mrt} es la temperatura media radiante, T_a es la temperatura del aire, v es la velocidad del viento y VP es la presión de vapor.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Resultados del estudio de sombras

Se generó el mapa de sombras correspondiente a las superficies sombreadas por la vegetación arbórea del parque desde las 11:00 h hasta las 15:00 h del 10 de junio de 2020 (Fig. 1). El área sombreada total fue del 32,69%, correspondiente a 4.631,13 m², algo menos de un tercio de la superficie del mismo. Tras el análisis de la ubicación de los espacios de estancia y áreas de juego infantil en relación con la ubicación del arbolado, se observó una carencia importante en el diseño del parque a la hora de considerar espacios de sombra y una ausencia de criterio ambiental relacionado con la generación de espacios verdes confortables desde el punto de vista térmico.

3.2 Resultados del estudio de confort térmico

Se determinó que las especies arbóreas de tipo frondosa (caducas y perennes) presentaron una frondosidad "Densa" según la clasificación de Rojas (1). Este mismo autor sugirió una

correlación positiva entre frondosidad y reducción de la radiación solar incidente, lo que se traduce en una mejora del confort térmico.

La Fig. 2 muestra la comparación de los valores de los índices térmicos PET (°C) y PT (°C) además de la T_{mrt} (°C) para cada uno de los 7 puntos asignados del parque en condiciones de sombra y sin éstas. Siguiendo la clasificación establecida por Matzarakis et al. (9), para cada uno de los puntos estudiados, el PET obtenido al estar situado en torno a los 33,5°C en condiciones sin sombra está clasificado con una sensación térmica entre “cálida” y muy próxima a la clasificación de “caluroso” además de producir un nivel de estrés psicológico entre moderado y fuerte. En el caso de condiciones con sombra, el PET está situado en torno a los 32°C y está clasificado con una sensación térmica como “cálida” y produce un nivel de estrés psicológico moderado.

4. CONCLUSIONES

Este trabajo es una aproximación preliminar a un estudio de caso más profundo y detallado, pero que, permite evidenciar la escasez de sombra en el parque de San Ginés de la Jara y su reparto fuera de los espacios donde es más necesaria (áreas de estancia y de juego infantil), lo que redundará en la consecución de un bajo confort térmico en uno de los meses más caluroso como es junio.

5. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido posible gracias al apoyo financiero y técnico de la empresa Actúa Servicios y Medioambiente S.L.

6. REFERENCIAS

1. Rojas Cortorreal G. La influencia de las especies arbóreas en la evaluación del confort térmico Barcelona: Escuela Técnica de Arquitectura de Barcelona; 2016:59-96.
2. Ochoa de la Torre JM. Ciudad, vegetación e impacto climático. El confort en los espacios urbanos Barcelona: Erasmus ediciones. 2009.
3. LiDAR-PNOA 2016 CC-BY 4.0 scne.es.
4. Ochoa de la Torre JM. La vegetación como instrumento para el control microclimático Barcelona: Universitat Politècnica de Catalunya; 1999:59-96.
5. Cantón M, Cortegoso JL, De Rosa C. Evaluación energética- ambiental del bosque urbano: desarrollo y puesta a punto de un método de análisis. Mendoza: Instituto de Ciencias Humanas, Sociales y Ambientales; 2000;4.
6. Arboit ME. Permeabilidad del arbolado urbano a la radiación solar: Estudio de dos especies representativas en entornos urbanos de baja densidad del Área Metropolitana de Mendoza, Argentina Mendoza: Universidad del Bío- Bío; 2013. vol. 3, p. 3-18. Disponible en: <http://www.revistahabitatsustentable.cl/ojs/index.php/arquitect/article/view/591/369>.
7. De La Fuente E,FMT. Librovisión. Visión Artificial Industrial Valladolid: Universidad de Valladolid; 2012.
8. Mayer H. Urban bioclimatology. Experientia Germany: University of Freiburg; 1993.
9. Matzarakis A, Gulyás Á. Seasonal and spatial distribution of physiologically equivalent temperature (PET) index in Hungary Germany: Albert-Ludwigs-University of Freiburg; 2009.

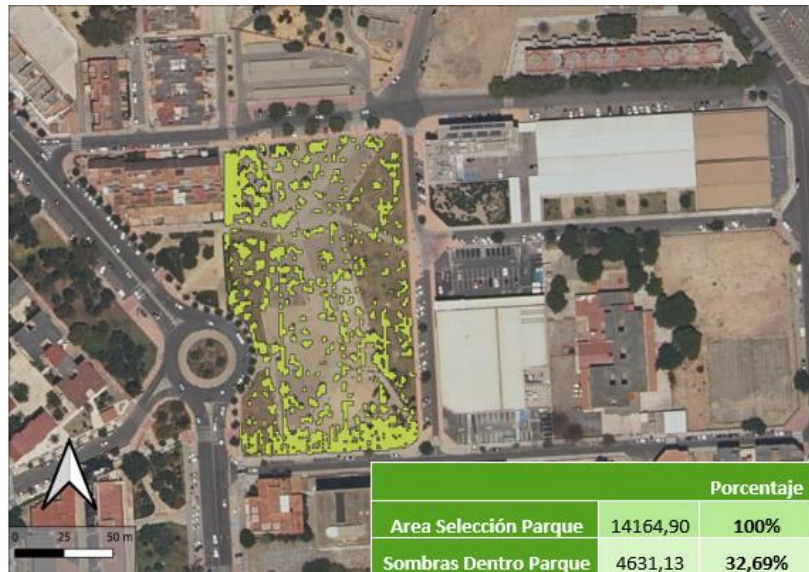


Figura 1. Área total sombreada en el parque desde las 11:00 h hasta las 15:00 h del 10 de junio de 2020 obtenida mediante QGIS.

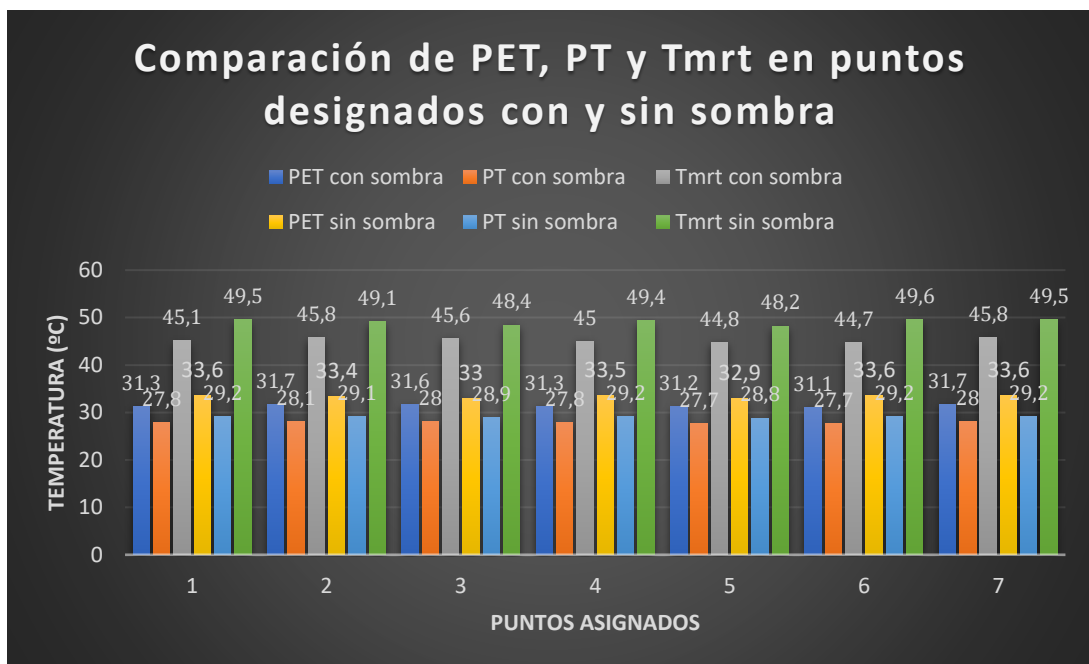


Figura 2. Representación gráfica y comparación de los índices térmicos PET (°C), PT (°C) y Tmrt (°C) en puntos asignados del parque de San Ginés de la Jara para superficies con y sin sombra.

Development of a vertical pot for urban gardening

Desarrollo de un contenedor vertical para jardinería urbana

A. Navarro^{1*}, J.A. Ros¹, J. Suardiaz², J. Ochoa¹

¹Departamento de Ingeniería Agronómica, ETSIA, Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Murcia. Spain.

²Departamento de Automática, Ingeniería Eléctrica y Tecnología Electrónica, ETSII, Universidad Politécnica de Cartagena. Campus Muralla del Mar, Calle Doctor Fleming S/N, 30202 Cartagena, Murcia. Spain.

*angelnavarrolopez1@gmail.com

Abstract

Climate change is a reality to be addressed urgently by increasing green infrastructure. However, it is not possible to implant vegetation in a conventional way in all urban spaces, which involves the use of pots and containers. One of the drawbacks of the pots used is the limited capacity to incorporate large vegetation and on the other hand the lack of automation. This work aims at a develop preliminary phase of a self-sufficient urban green structure (smart container or Smart Garden) that improves water management and the commitment to this type of systems in urban and commercial spaces.

Keywords: nature-based solutions; vertical garden; smart garden; evapotranspiration; sensors.

Resumen

El cambio climático es una realidad a la que hacer frente de manera urgente mediante el aumento de las infraestructuras verdes. Sin embargo, no en todos los espacios urbanos es posible implantar vegetación de modo convencional, lo que conlleva el uso de maceteros y contenedores. Uno de los inconvenientes que presentan los maceteros utilizados es la escasa capacidad para incorporar vegetación de grandes dimensiones y por otro lado la falta de automatización. Este trabajo aborda una fase preliminar en el desarrollo de una estructura verde urbana (contenedor inteligente o Smart Garden) autosuficiente que mejore la gestión hídrica y la apuesta por este tipo de sistemas en espacios urbanos y comerciales.

Palabras clave: soluciones basadas en la naturaleza; jardín vertical; jardín inteligente; evapotranspiración; sensores.

1. INTRODUCCIÓN

Es urgente que las zonas urbanas se adapten al cambio climático (1), ya que más de la mitad de la población mundial vive en zonas urbanas, lo que contribuye a aumentar los riesgos asociados al cambio climático (principalmente inundaciones e islas de calor). La vegetación, especialmente los bosques urbanos, se ha mostrado con capacidad de reducción de la carga de calor radiante y el discomfort térmico a través de la generación de sombra y la disminución de la temperatura radiante (2,3). No obstante, no en todos los espacios urbanos es siempre posible la implantación de vegetación directamente en el suelo, lo que ha planteado en numerosas ocasiones la utilización de maceteros y contenedores de grandes dimensiones. Estos elementos presentan diversos inconvenientes, respecto a la plantación en el suelo, como las limitaciones en el tamaño de las especies a plantar en ellos, lo que limita su capacidad para producir beneficios ecosistémicos, pero especialmente en relación con su gestión hídrica, ya que no cuentan con sistemas de automatización lo que se traduce en un desperdicio del agua de riego y un funcionamiento deficiente de la vegetación, e incluso pérdida total de la vegetación en ellos plantada.

Adicionalmente, esta situación supone pérdidas económicas importantes e incluso una mala imagen.

Por otro lado, para las empresas de mantenimiento de espacios verdes la gestión actual de estos sistemas de ajardinamiento urbano supone una carga de trabajo importante, así como una merma de la eficiencia en su gestión.

Este trabajo aborda una fase preliminar en el desarrollo de una estructura verde urbana (contenedor inteligente o Smart Garden) autosuficiente que mejore la gestión hídrica y la apuesta por este tipo de sistemas en espacios urbanos y comerciales.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

En el desarrollo del contenedor vertical se han considerado diversos aspectos esenciales en su diseño y posterior fabricación.

2.1 Estructura de soporte

Para el diseño de la estructura de soporte se partió de diseños previos basados en maceteros convencionales de sección cuadrada, fabricados en diversos materiales, y que son utilizados en espacios urbanos y centros comerciales. Se estableció la premisa de optimizar la superficie verde en el macetero, la versatilidad de este y la autonomía del sistema (depósito de agua).

2.2 Sistema de riego y drenaje

Se calcularon las necesidades de riego en base al volumen de sustrato su CRA (% volumétrico) y una autonomía de al menos 15 días para periodos de riego diario en época estival. También, se determinó la potencia de la bomba necesaria para el riego, se diseñó el sistema de drenaje y recuperación del agua en el sistema, orientado a la disminución de la huella hídrica.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La estructura principal del macetero consistió en bandejas de sección piramidal truncadas e invertidas con diferentes volúmenes de cabida para el desarrollo radicular de plantas herbáceas y arbustivas de pequeño porte. En la Fig. 1 se muestra dicha estructura, así como el volumen de sustrato requerido en cada una de ellas. Orientado a que la estructura resista durante un tiempo prolongado en el espacio urbano, toda ella fue diseñada en acero inoxidable tipo AISI 316. Para facilitar su transporte y montaje se ideó un sistema de varillas transversales y un poste central perforado que reduce el pandeo de la estructura y mejora su estabilidad. Adicionalmente, en cada piso se ideó una pieza interior de apoyo de sección cuadrada que permite la instalación del sistema y deja un espacio interior para la instalación del sistema de riego y otros sistemas como el de sensorización, etc.

La altura de plantación aumentó la capacidad de plantación del sistema en comparación con los maceteros convencionales de sección cuadrada con una capacidad total (probada en condiciones reales) de 221 plantas en maceta de 1,5 L, lo que también resultó en un mayor volumen de sustrato necesario para la plantación medido de 1142,93 L, lo que supuso casi un 15% más de capacidad.

El sistema de riego se configuró mediante goteros autocompensantes de 1 L h^{-1} que trabajan a presión atmosférica conectados a una tubería de PEBD de 6 atm PN 16 mm Ø int. Para la elección de la bomba se consideró la altura del macetero de 216 mm fue sumergible conectable a corriente DC 12V, caudal máximo de 800 L h^{-1} y altura máxima de 5 m.c.a. El sistema de drenaje se realizó mediante colocación de fondos de bandeja perforada en cada bandeja.

La capacidad del depósito se calculó en base a un sustrato tipo a base de turba y fibra de coco habitual en jardinería con una capacidad máxima de retención de agua del 60% en volumen y conocido el volumen total necesario de dicho sustrato

4. CONCLUSIONES

La implantación de vegetación en un macetero automatizado e inteligente, aún en su fase preliminar, mostró una mejora en la eficiencia del sistema de riego, así como una mayor capacidad de plantación debido a la mayor altura de plantación respecto de los maceteros convencionales. Estas mejoras, sin duda, ayudarán en un futuro a paliar efectos negativos derivados de la Isla de Calor Urbana, así como mejorar el confort térmico urbano.

5. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido posible gracias al apoyo financiero y técnico de la empresa Actúa Servicios y Medioambiente S.L.

6. REFERENCIAS

1. Revi D, Satterthwaite DE, Aragón-Durand F, Corfee-Morlot J, Kiunsi RBR, Pelling M. Urban areas. In: Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part A: Global and Sectoral Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. En Balbus J. CO, editor.. Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA: Cambridge University Press; 2014:535-612.
2. Jasmine KT, Coutts AM, Broadbent AM, Tapper NJ. The influence of increasing tree cover on mean radiant temperature across a mixed development suburb in Adelaide, Australia. Urban For Urban Green. 2016;20(1618-8667):233-42.
3. Kong L, Lau KKL, Yuan C, Chen Y, Xu Y, Ren C, et al. Regulation of outdoor thermal comfort by trees in Hong Kong. Sustain Cities Soc. 2017;31(2210-6707):12-25.
4. Thamaraimanalan T, Vivekk SP, Satheeshkumar G, Saravanan P. Smart Garden Monitoring System Using IOT. Asian J Appl Sci Technol. 2018; 2(2):186-92.

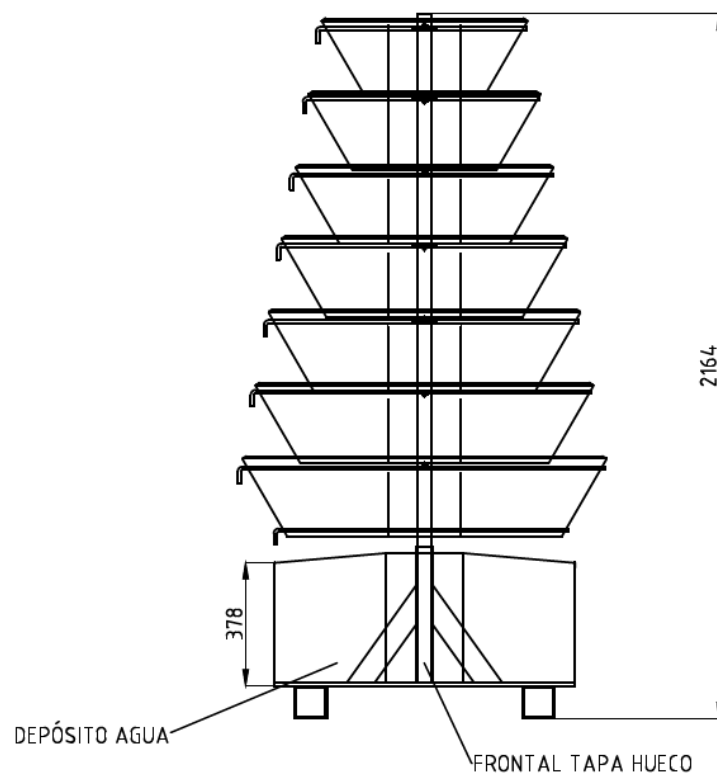


Figura 1. Estructura metálica con bandejas de cultivo en altura

Tabla 1. Capacidad de cada bandeja y estimación del volumen de riego.

Bandeja nº	Volumen bandeja (L)	Volumen de agua (L)
1	78,40	23,52
2	102,40	30,72
3	126,03	37,81
4	156,03	46,81
5	189,23	56,77
6	225,63	67,69
7	265,23	79,57
Total (L)	1142,93	342,88



Universidad
Politécnica
de Cartagena

edicionesUPCT