

ISSN 0328-8080 (Impresa)

Agraria

Revista Científica de la
Facultad de Ciencias Agrarias



**Facultad
de Ciencias
Agrarias**



UNJu
Universidad
Nacional de Jujuy

Año 2020 | Volumen 13 (1)



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE JUJUY

Rector

Lic. Rodolfo Alejandro Tecchi

Vicerrector

Dr. Ricardo Enrique Gregorio Slavutsky

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS - UNJu

Decano

Ing. Agr. Dante Fernando Hormigo

Vicedecano

Dra. Noemi Bejarano

Sec. Académica: MSc. Susana E. Álvarez

Sec. Administrativa: Ing. Agr. Alejandro Zelaya

Sec. Extensión y Difusión: Dra. Natalia Ávila Carreras

Sec. Ciencia y Técnica: Dr. Marcelo R. Benítez Ahrendts

COMITÉ EDITOR

Dra. Emma Laura Alfaro Gómez

MSc. Susana Álvarez

Dra. Leonor Carrillo

Dra. Lucía E. Claps

Dra. Leticia Andrea Fernández

Dra. Luciana Garat

MSc. María Cristina Pastori

Dr. Alejandro Daniel Ríos

Dra. María Inés Zamar

REVISIÓN Y TRADUCCIÓN

Master Esp. Trad. Liliana Beatriz Chávez

EDICIÓN Y DISEÑO

D.G. Marina Schimpf



**Facultad
de Ciencias
Agrarias**



UNJu
Universidad
Nacional de Jujuy

Alberdi N° 47, San Salvador de Jujuy | Jujuy | Argentina | C.P. 4600

Revista Científica de la FCA es producida y financiada por la Facultad de Ciencias Agrarias - UNJu

CONTENIDO/CONTENTS

TRABAJOS

7-12 pag.

HISTOPATOLOGÍA DE AGALLAS PRODUCIDAS POR *MELOIDOGYNE ARENARIA* (NEMATODA) EN PLANTAS DE POROTO *PHASEOLUS VULGARIS* (FABALES), DE PALPALÁ, PROVINCIA DE JUJUY, ARGENTINA

HISTOPATHOLOGY OF GALLS PRODUCED BY *MELOIDOGYNE ARENARIA* (NEMATODA) IN BEAN PLANTS *PHASEOLUS VULGARIS* (FABALES), IN PALPALÁ, JUJUY PROVINCE, ARGENTINA

13-21 pag.

PREVALENCIA DE MICRONÚCLEOS DE MUCOSA BUCAL EN TRABAJADORES AGRÍCOLAS DE FRAILE PINTADO, JUJUY, ARGENTINA

PREVALENCE OF BUCCAL MICRONUCLEI IN FARM WORKERS FROM FRAILE PINTADO, JUJUY, ARGENTINE

22-32 pag.

MICROBIOMA ENDOSFÉRICO EN *Eucalyptus* sp. Y SU POTENCIAL ACCIÓN BIOCONTROLADORA FRENTE A ORGANISMOS PATÓGENOS EN EL CULTIVO

ENDOSPHERIC MICROBIOME IN *Eucalyptus* sp. AND ITS POTENTIAL BIOCONTROLLER ACTION AGAINST PATHOGENIC ORGANISMS IN CULTIVATION

33-42 pag.

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LEVADURAS AISLADAS DE FERMENTACIONES ESPONTÁNEAS Y DE UVAS NATIVAS DE PURMAMARCA, JUJUY, ARGENTINA

MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF ISOLATED YEASTS OF SPONTANEOUS FERMENTATIONS AND NATIVE GRAPES FROM PURMAMARCA, JUJUY, ARGENTINA

43-60 pag.

CARACTERIZACIÓN SOCIOECONÓMICA DEL SECTOR DE LA PRODUCCIÓN DE LECHE BOVINA DE LA PROVINCIA DE JUJUY

SOCIOECONOMIC CHARACTERIZATION OF THE BOVINE MILK PRODUCTION SECTOR IN THE PROVINCE OF JUJUY

COMUNICACIONES

61-70 pag.

FERMENTACIONES MIXTAS CON LEVADURAS AUTÓCTONAS Y ANÁLISIS FÍSICO, QUÍMICO Y SENSORIAL DE LOS VINOS PRODUCIDOS DE VIÑEDOS DE LA LOCALIDAD DE TUMBAYA Y HUMAHUACA

MIXED FERMENTATIONS WITH NATIVE YEASTS AND PHYSICAL, CHEMICAL AND SENSORY ANALYSIS OF WINES PRODUCED IN VINEYARDS LOCATED IN TUMBAYA AND HUMAHUACA TOWNS.

71-73 pag.

INSTRUCCIONES PARA AUTORES

HISTOPATOLOGÍA DE AGALLAS PRODUCIDAS POR *Meloidogyne arenaria* (NEMATODA) EN PLANTAS DE POROTO *Phaseolus vulgaris* (FABALES), DE PALPALÁ, PROVINCIA DE JUJUY, ARGENTINA

HISTOPATHOLOGY OF GALLS PRODUCED BY *Meloidogyne Arenaria* (NEMATODA) IN BEAN PLANTS *Phaseolus Vulgaris* (FABALES), IN PALPALÁ, JUJUY PROVINCE, ARGENTINA

Claudia Gallardo^{1*}, Guillermo Cap² y Andrés Nico³

¹ Cátedra de Zoología Agrícola. Facultad de Ciencias Agrarias. UNJu. Alberdi 47. San Salvador de Jujuy (4600) Argentina.

² C.E.I. - Gorina - MAIBA - E.E. AMBA - INTA. Calle 501 y 149, J. Gorina- (1897), M. B. Gonnet, Buenos Aires. Argentina.

³ Cátedra de Horticultura - Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Calle 60 y 119, La Plata, Bs. As. (1900)

*Autor para correspondencia:
claudiagallardo52@yahoo.com

Licencia:
[Licencia Creative Commons](#)
[Atribución-NoComercial-](#)
[CompartirIgual 4.0 Internacional](#)

Período de Publicación:
Julio 2020

Historial:
Recibido: 17/08/2019
Aceptado: 06/03/2020

RESUMEN

Los nematodos noduladores producen agallas radiculares que en su interior presentan sitios permanentes de alimentación conocidos como “células gigantes” que obstruyen el transporte de agua y nutrientes al resto de la planta. En ocasiones estas células gigantes convergen, las paredes celulares se destruyen y los haces vasculares quedan ocupados por espacios vacíos. El género principal de nematodos noduladores, *Meloidogyne* está ampliamente distribuido en Argentina pero hasta el presente no se había realizado en el país ningún estudio sobre los cambios histopatológicos que estos nematodos provocan sobre plantas de poroto (*Phaseolus vulgaris* L.). Para describir las alteraciones producidas en las raíces de poroto por *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood, se incluyeron 10 secciones de las mismas en parafina y se hicieron cortes de 10 µm de espesor con micrótopo rotatorio. Los cortes se tiñeron con colorante safranina-verde rápido para su análisis. Las raíces infestadas mostraron sitios grandes de alimentación los cuales se ubicaron principalmente en el cilindro vascular, destruyendo los vasos de conducción del xilema y del floema. También se observó hiperplasia y presencia de núcleos hipertrofiados. La información presentada permitirá diferenciar las alteraciones radiculares producidas por *M. arenaria* de las provocadas por otros nematodos endoparásitos sedentarios.

Palabras clave: células gigantes, histopatología, *Meloidogyne arenaria*, Poroto.

SUMMARY

Root knots nematodes produce root galls having specialized feeding sites inside known as “giant cells”, that water and nutrient transport. Occasionally, giant cells converge, cell walls are destroyed, and vascular bundles are occupied by empty spaces. The main root-knot nematode genus, *Meloidogyne* spp. is widely distributed in Argentina, but so far no

studies about the histopathological changes that these nematodes cause on bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) have been conducted before. In order to describe histological changes caused by *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood, on bean roots, 10 portions were placed in paraffin and cuts of 10 μ m thick using rotary microtome were made. The sections were later stained with safranin fast green staining to allow their observation. Infested roots showed large feeding sites which were located mainly in the vascular cylinder, destroying xylem and phloem conduction vessels. Hyperplasia and, the presence of hypertrophied nuclei were also observed. The information presented in this paper will allow to distinguish root alterations caused by *M. arenaria* from those caused by other root-knot nematodes.

Keywords: bean, giant cells, histopathology, *Meloidogyne arenaria*.

INTRODUCCIÓN

El término histopatología hace referencia al estudio microscópico de los tejidos y a las alteraciones celulares de las plantas, en relación con el parasitismo (National Academy of Sciences, 1980). Las agallas son estructuras anormales de tejidos u órganos de las plantas que se desarrollan por la reacción específica a la presencia o actividad de un organismo parásito inductor (Shorthouse *et al.*, 2005). Las especies del género *Meloidogyne* se caracterizan por ser formadoras de agallas radiculares que inducen a la formación de sitios específicos de alimentación conocidos como “células gigantes” que alteran el sistema radicular de las plantas. (Escobar Ávila *et al.*, 2017). La continuidad del haz vascular se ve interrumpida y se altera la funcionalidad de la raíz. (Gallardo *et al.*, 2018). El género *Meloidogyne* está ampliamente distribuido en la Argentina (Doucet, M. y Lax, P., 2007), pero hasta el presente no existen antecedentes sobre los cambios histopatológicos que estos nematodos provocan en las raíces de *Phaseolus vulgaris*. Trabajos recientes (Gallardo *et al.*, 2018) han permitido identificar en la provincia de Jujuy (Argentina) plantas cultivadas de poroto infestadas con *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood. Con el fin de contribuir a la comprensión de las relaciones huésped-parasito que se verifican en este patosistema, se plantea como objetivo describir las alteraciones histopatológicas producidas por *M. arenaria* en las raíces de plantas de poroto de la localidad de Palpalá (provincia de Jujuy, Argentina).

MATERIALES Y MÉTODOS

Para realizar el presente estudio se procedió a realizar cortes sobre raíces de plantas de poroto blanco variedad Alubia con 25 días de crecimiento en macetas de 3kg de suelo esterilizado, infestadas con *M. arenaria*, artificialmente, mantenidas durante 90 días en invernadero a 23°C (+/-2°C). La infestación de las plantas se logró a partir de inóculo producido en cultivo axénico obtenido a través de una masa de huevos del nematodo *M. arenaria* (Jepson, 1987), aislada a partir de una planta de poroto infestada naturalmente proveniente de una parcela del cultivo de la localidad de Río Blanco, Jujuy (Gallardo *et al.*, 2018). De la raíz de esta planta se extrajeron 5.000 huevos más juveniles segundo estadio de *M. arenaria*. Al término de 90 días, las plantas fueron extraídas de las macetas, luego se cortaron sus raíces y se lavaron con agua corriente de red. Antes de continuar con el procesamiento con vistas a observar las transformaciones histopatológicas presentes, las raíces fueron observadas al desnudo y con microscopio estereoscópico. En esta etapa se realizó un registro rápido de la abundancia, apariencia y tamaño de las agallas, así como de los signos de la presencia del agente parásito. Posteriormente se fijaron mediante el método de la glicerina anhidra. Para ello las raíces se sumergieron en una mezcla de etanol – formol – ácido acético 20: 1: 79 v/v (FAA) en donde se dejaron durante 24 hs. A continuación se procedió a efectuar la deshidratación en etanol a diferentes concentraciones (70% – 80% – 90% y 99%) y posteriormente se incluyeron en bloques de parafina. Para obtener las muestras, se realizaron cortes seriados de 10 μ m de espesor

con micrótopo rotativo. Los cortes se montaron en portaobjetos en un baño de flotación en una mezcla de agua y glicerina y posteriormente se procedió a extraer los remanentes de parafina sumergiéndolos sucesivamente en xilol y etanol absoluto – xilol por 5 minutos en cada uno. Una vez que los cortes fueron enjuagados con agua destilada por 10 minutos se procedió a la tinción de los mismos en dos pasos sucesivos, primero con safranina al 5% y luego con verde rápido al 1%. (Escobar – Ávila *et al.*, 2017). Las observaciones microscópicas y las fotografías se realizaron a través de un microscopio 40 x con cámara fotográfica incorporada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Morfología de las agallas

Las agallas radicales producidas por *M. arenaria* en plantas de *Ph. vulgaris* se encuentran en la raíz principal y en las secundarias (Fig. 1).



Figura 1. Raíces de *Phaseolus vulgaris* (primarias y secundarias) con agallas y masas de huevos de *M. arenaria* (Nematoda) (Microscopio óptico 40X)

La observación a ojo desnudo de las raíces con agallas permitió observar una amplia variabilidad en el tamaño de las mismas, aunque la exploración histopatológica posterior mostrara una amplia similitud entre las mismas, independientemente de su dimensión.

La observación bajo microscopio estereoscópico permitió observar, en la superficie de las agallas, las masas de huevos expulsadas

hacia el exterior por las hembras del nematodo (Fig. 1).

Las agallas mostraron una consistencia dura muy similar a la de las raíces y constituyen dilataciones del órgano radicular por lo que no pueden desprenderse o separarse de éste.

En algunas ocasiones pudo observarse en la superficie de las mismas la presencia de hasta media docena de masas de huevos.

Histopatología

Una vez que las larvas de segundo estadio entran en la raíz se trasladan hacia el sitio de alimentación, entre o dentro de las células del cilindro vascular.

En los cortes transversales de las raíces infestadas puede observarse, en principio, manifestaciones claras de hiperplasia. El análisis más detallado permitió observar cavidades grandes. Estas cavidades provienen de la degradación de sitios de alimentación conocidos con el nombre de “células gigantes” los cuales se ubicaron principalmente en el cilindro vascular, destruyendo los vasos de conducción del xilema y del floema. (Figs. 2 y 3).

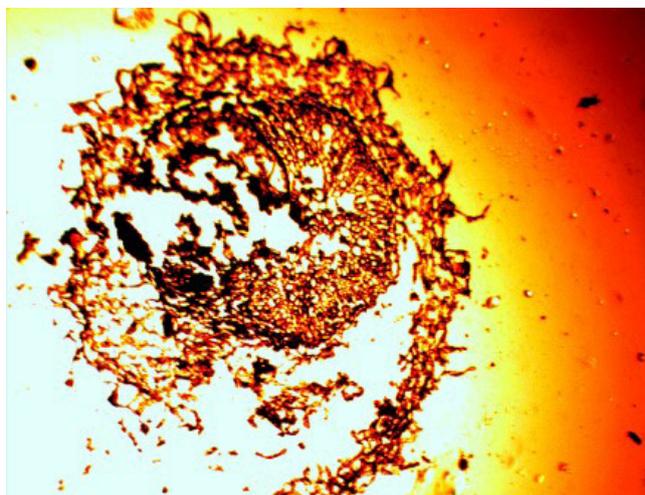


Figura 2. Corte al micrótopo en plano transversal de raíces de poroto con detalle de cavidades grandes ubicadas en el cilindro vascular (Microscopio óptico 40X)

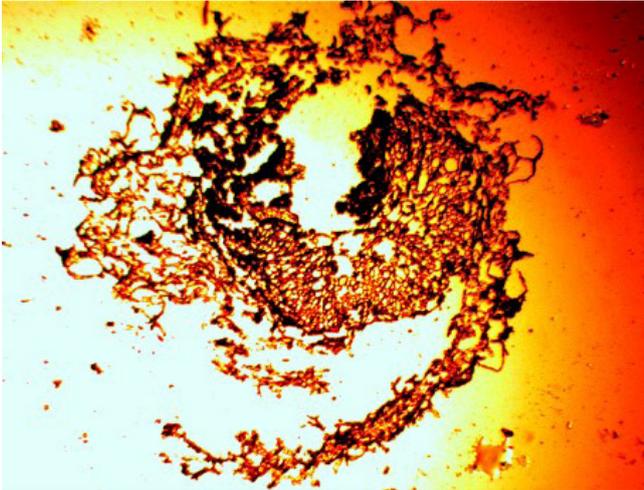


Figura 3. Corte al micrótopo en plano transversal de raíces de poroto con detalle de cavidades grandes por degradación de sitios de alimentación (Microscopio óptico 40X)

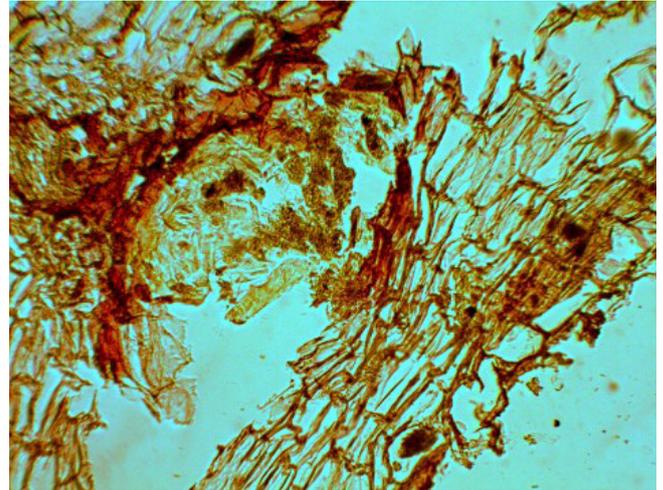


Figura 5. Corte al micrótopo en plano transversal de raíces de poroto con disolución de las paredes intercelulares producidas por el nematodo (Microscopio óptico 40X)

Las células gigantes se constituyeron a partir de la disolución de las paredes intercelulares de las células y la posterior fusión de los protoplasmas. (Figs. 4 y 5).

Las células gigantes mostraron ser multinucleares y de paredes gruesas. También se pudo constatar la presencia áreas lignificadas. (Figs. 4 y 5).

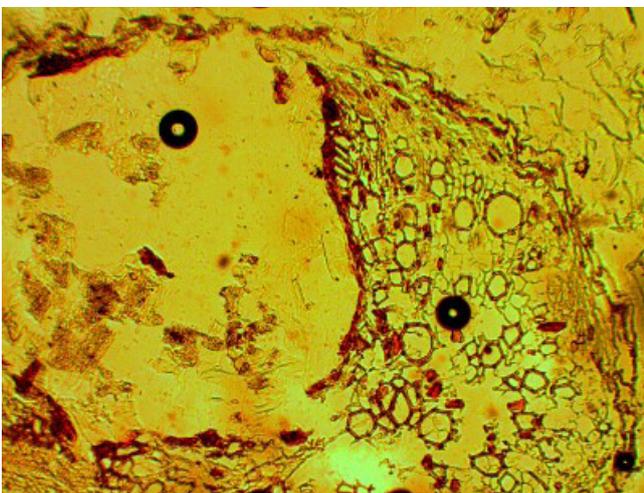


Figura 4. Corte al micrótopo en plano transversal de raíces de poroto con células gigantes multinucleares (Microscopio óptico 40X)

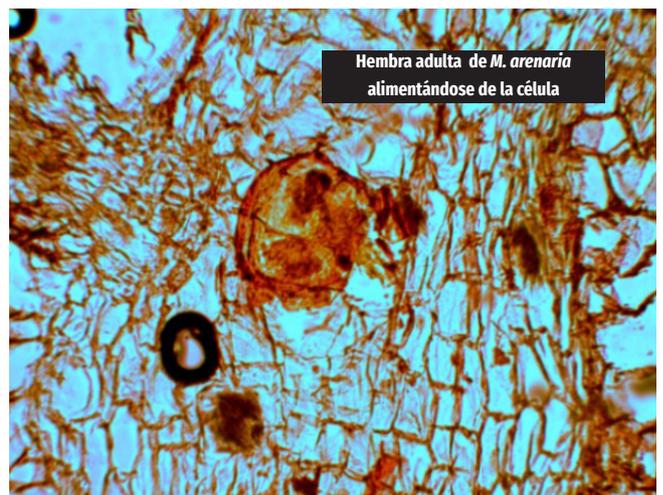


Figura 6. Corte al micrótopo en plano longitudinal de raíces de poroto donde se observa la hembra adulta y masa de huevos de *M. arenaria* (Microscopio óptico 40X)

Diversos autores coinciden en que las agallas tienen su propia morfología y anatomía como cualquier otro órgano vegetal (Shorthouse *et al.*, 2005).

Sin embargo con la excepción de algunos casos, se sabe poco acerca de los cambios histopatológicos progresivos que ocurren en los tejidos de las plantas huéspedes durante la penetración en ellas. (National Academy of Sciences, 1980).

Muruaga de L'Argentier *et al.*, 2005, encontraron en árboles frutales que algunos grupos de células gigantes que ya no alimentaban más a la hembra podían quedar ocupadas por células parenquimáticas que eran originadas por citocinesis del citoplasma multinucleado.

Las alteraciones histológicas provocadas por *M. arenaria* en las raíces de *Ph. vulgaris* mostraron la presencia de espacios grandes huecos provenientes de la degradación de sitios de alimentación. Estos espacios vacíos se ubicaron principalmente en el cilindro vascular, interrumpiendo la continuidad de los vasos de conducción del xilema y del floema. También se observó hiperplasia y presencia de núcleos hipertrofiados.

Al observar la presencia de *M. arenaria* en los cortes longitudinales podemos confirmar que estos nematodos desarrollan en forma completa su ciclo de vida en la raíz de las plantas de poroto, dando lugar a la formación de masas de huevos.

Con respecto a las cavidades que ocasiona *M. arenaria* éstas se formarían por lisis celular debido a la acción mecánica y a los procesos bioquímicos que desencadena el nematodo durante su alimentación como sugiere Anwar *et al.*, 2000.

CONCLUSIONES

Estas observaciones constituyen el primer reporte de estudios histopatológicos sobre raíces de plantas de poroto cultivadas en el departamento Palpalá de la provincia de Jujuy.

Podemos inferir que la relación nematodo-hospedador es estrecha y que la variedad de poroto considerada resultó altamente susceptible a *M. arenaria*.

Por el momento estos estudios corresponden sólo a las alteraciones producidas por *Meloidogyne arenaria* sobre el cultivo de poroto, sin embargo, debido a la importancia que revisten los nematodos fitófagos es necesario continuar avanzando sobre otros géneros de nematodos endoparásitos que están asociados a distintos cultivos de importancia agrícola en la provincia de Jujuy.

BIBLIOGRAFÍA

- Anwar, S. A y M. V. McKenry. 2000. Penetration, development and reproduction of *Meloidogyne arenaria* on two new resistant *Vitis* spp. *Nematropica* 30:9-17.
- Doucet, M. y P. Lax, 2007. El género *Meloidogyne* y su situación con respecto a la Agricultura en la Argentina: Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria. 61, 31-50.
- Escobar-Ávila, I. M.; M. G. Medina-Canales, y A. Tobar-Soto, 2017. Distribución, ciclo de vida y alteraciones histológicas de *Heterodera* sp. en zanahoria, en Puebla. *Revista Mexicana de Fitopatología. Mexican Journal of Phytopathology.* 304-313 pp.
- Gallardo, C. B.; M. F. Achinelly; G. Cap; A. Nico y J. A. Brito, 2018. Caracterización molecular de *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood nematodo nodulador del cultivo de poroto en la provincia de Jujuy, Argentina. *AGRARIA. Vol. XI (18) 5-9.*
- Jepson, S. 1987. Identification of Root-Knot. *Nematodes (Meloidogyne species).* CAB International Wallingford. U. K. 265 pp.
- Muruaga de L'Argentier, S.; Lorenzo, E.; Gallardo, C.; Tordable, M.; Vilte, H., Quintana de Quinteros, S. y Bejarano, N. 2005. El nematodo del nudo *Meloidogyne* incognita y su presencia en raíces de higo en la provincia de Jujuy, Argentina. XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología. III Taller de la Asociación Argentina de Fitopatólogos. Villa Carlos Paz, Córdoba, Argentina. 19-22 de Abril de 2005, pág. 506.
- National Academy of Sciences. 1980. Control de

nematodos parásitos de plantas. Volumen IV. ISBN 968-18-0362-0. Editorial LIMUSA S. A. México. 219 pp.

Shorthouse, J. D., Wool, D. y Raman, A. 2005. Gall-inducing insect: nature's most sophisticated herbivores. Basic. Appl. Ecol. 6:407-411.



Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional

PREVALENCIA DE MICRONÚCLEOS DE MUCOSA BUCAL EN TRABAJADORES AGRÍCOLAS DE FRAILE PINTADO, JUJUY, ARGENTINA

PREVALENCE OF BUCCAL MICRONUCLEI IN FARM WORKERS FROM FRAILE PINTADO, JUJUY, ARGENTINE

Graciela Eugenia Bianco Sadir^{1,2}, Rocío Florencia Julián¹, María del Carmen Rivera^{1,2}, Lauro Nicolás Cazón¹, Emanuel Celestino González Poma^{1,2}, Hugo Mario Borsetti^{1,2,3}, Julio César De Luca^{4,5*}

¹Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy, San Salvador de Jujuy, Argentina

²LAG – Laboratorio de Análisis Genético, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy, San Salvador de Jujuy, Argentina

³ICEGEM – Instituto de Estudios Celulares, Genéticos y Moleculares, Universidad Nacional de Jujuy, San Salvador de Jujuy, Argentina

⁴IGEVET – Instituto de Genética Veterinaria (UNLP-CONICET LA PLATA) Facultad de Ciencias Veterinarias, La Plata, Argentina

⁵Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Godoy Cruz 2290 (C1425FQB), CABA, Argentina

*Julio C. De Luca, IGEVET – Instituto de Genética Veterinaria (UNLP-CONICET LA PLATA), Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP, CC 296, B1900 La Plata, Buenos Aires, Argentina; Phone/Fax: (+54) 221 4211799;

*Autor para correspondencia:

jdeluca@fcv.unlp.edu.ar

Licencia:

[Licencia Creative Commons](#)

[Atribución-NoComercial-](#)

[CompartirIguual 4.0 Internacional](#)

Período de Publicación:

Julio 2020

Historial:

Recibido: 12/08/2019

Aceptado: 28/05/2020

RESUMEN

El conocimiento sobre las medidas de bioseguridad y los efectos tóxicos durante la aplicación de pesticidas en la provincia de Jujuy, Argentina, es escaso, particularmente en relación con las medidas de protección y la mezcla de pesticidas utilizados por los trabajadores rurales. Este estudio se realizó para determinar la prevalencia de la actividad de acetilcolinesterasa de glóbulos rojos (AChE) y micronúcleos bucales (MN). Se realizó un estudio observacional de 209 trabajadores agrícolas (106 individuos expuestos y 103 controles) de Fraile Pintado, Jujuy, Argentina. Se recogieron muestras de sangre completa (2 ml) en tubos Vacutainer heparinizados. La actividad de AChE se determinó de acuerdo con el método de Ellman. Las células de la mucosa bucal exfoliada se recogieron usando un cepillo de dientes. Los resultados citogenéticos mostraron un aumento significativo de MN en individuos expuestos a pesticidas en comparación con los controles (10.08 y 2.15; $p < 0.0001$), mientras que la actividad AChE fue significativamente menor en individuos expuestos en comparación con los controles (4093.44 y 9132.25; $p < 0.0001$). Los resultados actuales sugieren la necesidad del biomonitoreo periódico de MN bucal y AChE junto con educación y capacitación de trabajadores ocupacionales sobre la aplicación segura de pesticidas potencialmente dañinos.

Palabras clave: actividad de acetilcolinesterasa, ensayo de micronúcleos, genotoxicidad, pesticidas.

SUMMARY

Knowledge about biosafety measures and toxic effects during pesticide application in the province of Jujuy, Argentine, is scarce, particularly concerning protective measures and the mixing of pesticides used by rural workers. This study was conducted to determine the prevalence of buccal micronuclei (MN) and red blood cell acetylcholinesterase (AChE) activity. An observational study of 209 agricultural workers (106 exposed individuals

and 103 controls) from Fraile Pintado, Jujuy, Argentine, was carried out. Blood samples (2 mL) were collected in heparinized Vacutainer tubes. AChE activity was determined according to Ellman's method. Exfoliated buccal mucosa cells were collected using a toothbrush. Cytogenetic results showed a significant MN increase in pesticide-exposed individuals as compared with controls (10.08 and 2.15; $p < 0.0001$), whereas AChE activity was significantly lower in exposed ones compared with control individuals (4093.44 and 9132.25; $p < 0.0001$). The present results suggest the need for the periodic biomonitoring of buccal MN and AChE together with education and training of occupational workers on the safe application of potentially harmful pesticides.

Keywords: acetylcholinesterase activity, genotoxicity, micronucleus assay, pesticides.

INTRODUCCIÓN

Los pesticidas son sustancias activas químicas, heterogéneas y biológicas que actúan en el control de insectos, bacterias, hongos, gusanos, roedores y malezas. Además, las sustancias activas utilizadas para su formulación generalmente tienen características apolares, baja selectividad y capacidad de bioacumulación, lo que contribuye a que los pesticidas sean tóxicos para especies no objetivo, como los seres humanos (Bolognesi y Holland, 2016).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) informa que anualmente hay 3 millones de casos de intoxicación por pesticidas en todo el mundo. Como resultado, la exposición a pesticidas se ha convertido en un problema de salud pública ya que se ha relacionado con problemas gastrointestinales, oculares, respiratorios, cardiovasculares y neurológicos, así como con cáncer (Damalas y Koutroubas, 2016).

Varios estudios han demostrado que los pesticidas pueden afectar directa e indirectamente el material genético, ya que pueden inducir roturas de la cadena de ADN, alteraciones cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas y formación de micronúcleos (Bolognesi y Holland, 2016; Bianco y otros, 2017)

El daño al ADN puede ocurrir a través de cualquier modificación química o estructural promovida por varios factores y mecanismos, que pueden desencadenar un proceso de carcinogénesis (Alleva y otros, 2018).

Actualmente se utiliza una amplia gama de métodos para detectar los primeros efectos biológicos de los agentes que dañan el ADN en entornos ocupacionales. Este es el caso del ensayo de micronúcleos (MN), que se ha utilizado ampliamente en estudios de biomonitorio en humanos (Da Silva y otros, 2008).

El ensayo de MN en células de la mucosa bucal exfoliada es un procedimiento relativamente no invasivo para la medición del daño del ADN, la proliferación celular, la diferenciación y la muerte (Thomas y otros, 2009; Bolognesi y otros, 2015).

El ensayo fue desarrollado para seres humanos y ha proporcionado información sobre los efectos genotóxicos de factores como el estilo de vida, la nutrición y otros procesos etiológicos (Thomas y otros, 2009). También se ha utilizado con éxito para evaluar el impacto de factores como la contaminación atmosférica, partículas de polvo y metales pesados (Espitia-Perez y otros, 2016) y pesticidas (Castañeda-Yslas y otros, 2016). Es probable que estos factores xenobióticos afecten a muchos otros grupos de organismos que se encuentran en los mismos entornos. Por lo tanto, el uso de células exfoliadas para el ensayo de MN se ha establecido en estudios epidemiológicos destinados a definir los efectos genotóxicos en los tejidos diana, después de la exposición crónica a agentes genotóxicos y citotóxicos (Chakraborty y otros, 2006).

Tolbert y otros, 1991, describieron otras anomalías nucleares que podrían ocurrir en procesos normales de diferenciación celular y que

son indicadores de daño en el ADN, citotoxicidad y muerte celular. Estas anomalías consisten en cambios en el tamaño, la densidad y la distribución de la cromatina y se pueden distinguir de las células normales, ya sea en el citoplasma o en la morfología del núcleo (entre ellas se encuentran la cromatina condensada, la cariorrexis, el núcleo picnótico, la cariólisis, las células nucleolobuladas y binucleadas). Aunque el mecanismo de formación o el significado biológico de cada una de estas anomalías nucleares no está completamente claro hasta ahora, su frecuencia es alta en condiciones patológicas (artritis reumatoide, diferentes tipos de cáncer, problemas hematológicos como linfoma inmunoblástico, leucemia megaloblástica aguda, Hodgkin's linfoma, entre otros (Torres-Bugarín y otros, 2013) o de exposición (tabaco, alcohol, drogas, quimioterapia antineoplásica).

Se ha encontrado que la exposición a pesticidas, los síntomas de toxicidad y la actividad de la acetilcolinesterasa de glóbulos rojos (AChE) se asocian significativamente en las poblaciones expuestas (Singh y otros, 2011). Existen dos tipos de colinesterasas, la que se encuentra presente en los tejidos neurales (AChE) y la que se encuentra en el suero sanguíneo y es sintetizada por el hígado, denominada pseudo o butirilcolinesterasa (BChE) (Remor y otros, 2009). La prueba de colinesterasa en sangre se ha utilizado ampliamente para controlar la exposición a los inhibidores de colinesterasa como los pesticidas organofosforados y carbamatos, que se usan comúnmente en la agricultura en todo el mundo y pueden aumentar la actividad parasimpática a través de la inhibición de la actividad AChE. En los últimos años, se ha informado que una cantidad de productos químicos distintos de los insecticidas organofosforados y carbamatos disminuyen cada vez más la actividad AChE, incluidos los pesticidas de diferentes familias químicas (piretroides, triazinas y paraquat), metales pesados, hidrocarburos aromáticos policíclicos, detergentes y diferentes clases de nanopartículas (Lionetto y otros, 2013).

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto tóxico y/o citotóxico de la exposición a pesticidas en los agricultores agrícolas de Fraile Pintado, provincia de Jujuy, Argentina, utilizando el ensayo bucal de MN y midiendo parámetros bioquímicos como la actividad AChE.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio

Un total de 209 trabajadores rurales de Fraile Pintado, Jujuy, fueron incluidos en este estudio observacional. Se dividieron en dos grupos: expuestos (n = 106) y no expuestos (grupo de control, n = 103) a pesticidas.

Fraile Pintado se encuentra en el departamento de Ledesma a unos 65 km al noreste de la capital provincial de Jujuy, y es fácilmente accesible a través de la ruta nacional 34 (Figura 1). La región es un área de transición entre las Yungas y la llanura chaqueña. El clima es tropical con altas temperaturas diurnas casi todo el año; en verano, especialmente durante diciembre y enero, las temperaturas absolutas pueden alcanzar los 46 °C, mientras que en las noches de invierno (junio y julio), las temperaturas caen esporádicamente por debajo de los 10 ° C. La actividad económica de Fraile Pintado se basa principalmente en la producción de tomate, maíz, frijol, berenjena, pimiento, pepino y calabacín. En general, los agricultores mezclan diferentes agroquímicos, ignorando las instrucciones de manejo y preparación de los mismos. En el caso de los trabajadores rurales, sólo unos pocos conocen los pesticidas que aplican y el efecto sobre su salud, no usan ningún tipo de medidas de protección personal como guantes, protección para los brazos o mascarilla facial al mezclar, manipular o aplicar el stock de formulaciones de pesticidas. Esto ha provocado que en los últimos 10 años hayan sufrido una exposición directa a estos compuestos, ya sea por inhalación, por la piel o por los ojos.



Figura 1. Ubicación del departamento de Ledesma en la provincia de Jujuy, Argentina.

El presente estudio fue aprobado por "Secretaría de Coordinación General del Sistema de Salud. Dirección Provincial de Capital Humano. Comité de Ética de la Investigación de la Provincia de Jujuy". Todos los participantes recibieron información escrita específica sobre el objetivo del estudio y dieron su consentimiento informado por escrito. Antes de la extracción de sangre, se pidió a cada individuo que completara un cuestionario estructurado anónimo sobre sexo, edad, tabaquismo, hábitos alimenticios, consumo de alcohol, exposición previa a radiografías de diagnóstico, uso de drogas terapéuticas y exposición laboral a agentes peligrosos. Para garantizar el anonimato de los participantes, se numeró cada encuesta. Se hicieron preguntas adicionales relacionadas con la agricultura solo a las personas del grupo expuesto, como el uso de pesticidas y la duración de la exposición. Los criterios de inclusión fueron consumo moderado de alcohol y tabaquismo, no haber recibido rayos X, exposición a agentes genotóxicos o terapéuticos y uso de drogas (Oliver y cols., 2000; Fagerström, 1978; Becoña Iglesias y cols., 2009; OPS y OMS, 2008; WHO, 2015).

Los criterios de exclusión incluyeron participantes que no firmaron el consentimiento informado antes de la encuesta, grandes fumadores (≥ 20 cigarrillos por día en los últimos 10 años), consumidores de más de 5 vasos de alcohol por día y personas expuestas a factores dañinos distintos a aquellos incluidos en este estudio. La información se ingresó en una base de datos especialmente diseñada.

Recolección celular y ensayo bucal MN

Antes de la recolección, se les pidió a los trabajadores rurales enjuagarse la boca con agua. Luego, las células de la mucosa bucal exfoliadas se recogieron suavemente usando un cepillo de dientes y se colocaron en 10 ml de solución salina celular (NaCl 3.72%). Antes de la preparación del portaobjetos, las células se lavaron para permitir la identificación de los diferentes tipos celulares. El ensayo de micronúcleos de mucosa bucal se realizó de acuerdo con Thomas y otros, 2009 con algunas modificaciones, se usó metanol / ácido acético (3: 1) para la fijación. Los portaobjetos se tiñeron con orceína y se codificaron para la evaluación de anomalías nucleares.

Análisis citogenético

Se contó un total de 1000 células de la mucosa bucal por caso para el ensayo de MN. Las preparaciones teñidas se observaron en un microscopio óptico (400 × -1000 × aumento). Colorante Giemsa no se usó porque puede conducir a resultados falsos positivos (Nersesyan y otros, 2006)

Determinación de la actividad de AChE

Se tomaron muestras de sangre de los individuos expuestos dentro de un rango de 24-48 h después de la aplicación de agroquímicos. Posteriormente, se usaron 2 ml de sangre heparinizada de cada individuo para determinar la actividad de RBC-AChE de acuerdo con el método de Ellman (Ellman y otros, 1961).

Las muestras heparinizadas se centrifugaron a 2000 rpm durante 5 min. Los glóbulos rojos se lavaron dos veces con solución fisiológica y se hemolizaron con agua destilada. Una fracción del hemolizado se incubó con la solución tampón (fosfato) -cromógeno (ácido 5, 5-ditiobis-2-nitrobenzoico, DTNB) durante 3 minutos a 30 ° C. El sustrato yoduro de acetiltiocolina se usó a una concentración final de 8 mmol / L. Se midió la absorbancia inicial y luego cada 30 s durante 2 minutos a 405 nm. La actividad de AChE (UI / L; valores de referencia, 7120 - 11760 UI / L) se calculó como el promedio de la absorbancia Δ / min.

Análisis estadístico

El análisis citogenético de los datos se realizó mediante la prueba T para muestras independientes. Las variables se agruparon en las siguientes categorías: exposición (expuesta / no expuesta), sexo (mujer / hombre), tabaquismo (sí / no), consumo de alcohol (sí / no) y edad (jóvenes / adultos / ancianos). La significación estadística se estableció en $p < 0,05$.

RESULTADOS

Las características demográficas de la población de estudio se presentan en la Tabla 1. En el grupo de control, la edad promedio fue de 35.36 ± 10.68 años (rango de edad, 19-50 años). En el grupo expuesto, la edad promedio fue de 34.92 ± 9.69 años (rango de edad, 18-52 años).

Tabla 1. Características demográficas de la población de estudio.

| | Control | Expuestos |
|-----------------------------|---------------|--------------|
| Tamaño de la muestra (n) | 103 | 106 |
| Hombres (%) | 0.48 | 0.52 |
| Mujeres (%) | 0.52 | 0.48 |
| *Edad | 35.36 ± 10.68 | 34.92 ± 9.69 |
| No fumadores (%) | 0.62 | 0.78 |
| Fumadores (%) | 0.38 | 0.22 |
| No bebedores (%) | 0.46 | 0.47 |
| Bebedores (%) | 0.54 | 0.53 |
| Uso de ropa protectora. (%) | | |
| No | - | 1 |
| Si | - | 0 |

* La edad se expresa como media ± desviación estándar

El tiempo de exposición a los pesticidas fue entre 0 y 10 años en el 28,44% de los casos, entre 10 y 20 años en el 41,28% y > 20 años en el 30,27% de los casos.

Actividad AChE

En el grupo expuesto, la actividad de AChE disminuyó en comparación con los controles (9132.25 y 4093.44 UI / L, respectivamente; $p < 0.0001$). Por otro lado, las diferencias entre categorías no fueron significativas entre los grupos (control y grupos expuestos: (fumar, 10.35 y 9.09; $p = 0.0561$; consumo de alcohol, 9.62 y 10.48; $p = 0.2567$; sexo, 9.80 y 10.33; $p = 0.4916$)

Resultados citogenéticos

Los resultados citogenéticos obtenidos mostraron un aumento significativo en la frecuencia de MN bucal en individuos expuestos en comparación con los controles (10.08 y 2.15; $p < 0.0001$) (Tabla 2). Sin embargo, las diferencias entre las categorías no fueron significativas en ambos grupos de estudio, lo que demuestra que estas variables fueron independientes (grupos expuestos y de control: tabaquismo, 10.35 y 9.09; $p = 0.0561$; consumo de alcohol, 9.62 y 10.48; $p = 0.2567$; sexo, 9.80 y 10,33; $p = 0,4916$).

Tabla 2. Incidencia de daño citogenético evaluado por el ensayo de micronúcleos en células epiteliales bucales*.

| Grupos estudiados | %MN | %BN | %CP | %KL | %CC | %KH | %BN |
|---|---------------|---------------|---------------|----------------|---------------|----------------|----------------|
| Control | 0.21 ± 0.01** | 0.41 ± 0.02** | 0.46 ± 0.02** | 0.98 ± 0.04** | 0.25 ± 0.01** | 0.21 ± 0.01** | 0.12 ± 0.01** |
| Expuestos | 1.00 ± 0.01** | 1.70 ± 0.01** | 0.29 ± 0.02** | 1.24 ± 0.018** | 1.21 ± 0.01** | 1.27 ± 0.020** | 1.31 ± 0.024** |
| Rangos de las diferentes alteraciones por cada 1000 cells | | | | | | | |
| Control | 0 - 0.5 | 0.1 - 0.9 | 0.1 - 0.9 | 0 - 1.8 | 0 - 0.6 | 0 - 0.5 | 0 - 0.3 |
| Expuestos | 1.2 - 2.2 | 1.2 - 1.9 | 1 - 1.8 | 1 - 1.6 | 1 - 1.7 | 1 - 1.7 | 1.1 - 1.7 |

* Los resultados se presentan como medias ± desviación estándar. MN, micronúcleos; BN, brote nuclear; CP, células picnóticas; KL, células cariolíticas; CC, cromatina condensada; KH, células cariorrecticas; BN, células binucleadas

DISCUSIÓN

El contacto ocupacional con pesticidas representa un peligro potencial para la salud de los rociadores en campos agrícolas durante la fumigación, considerando que la exposición puede conducir a enfermedades crónicas y graves riesgos laborales (Yaduvanshi y otros, 2012). El efecto potenciado de la mezcla de pesticidas, actuando simultáneamente de diferentes maneras, aumenta su toxicidad y plantea un mayor riesgo mutagénico. El efecto tóxico de los pesticidas se ha confirmado mediante la medición directa del daño en el ADN mediante el análisis de la fragmentación del ADN nuclear asociada a la apoptosis (Li y otros, 2015). En nuestro estudio, la relación de frecuencia media (FR) utilizada para medir el daño en el ADN y calculada con referencia a la presencia de MN y otras anomalías nucleares, reveló los posibles efectos de la exposición a pesticidas. Hallazgos similares se han reportado en otros lugares (Martínez-Valenzuela y otros, 2017; Carbajal-López y otros, 2016). Se toman varios puntos finales citogenéticos para biomonitorizar la exposición humana a sustancias cancerígenas, donde el aumento en la frecuencia de MN se considera un predictor de un riesgo elevado de cáncer (Carbajal-López y otros, 2016).

Nuestros resultados demostraron que la frecuencia de MN aumentó significativamente en individuos expuestos, lo que fue consistente con otros informes (Paiva y otros, 2011). Los rociadores de pesticidas son el grupo de trabajadores agrícolas más frecuentemente expuesto, con resultados positivos obtenidos en 18 de 27 estudios

y que presentan tasas de exposición 1.12-7.67 más altas que otros trabajadores (Bolognesi, 2003). El riesgo de exposición es mayor en los trabajadores empleados en la producción de pesticidas, así como en los agricultores que usan pesticidas; en consecuencia, son más susceptibles a los posibles efectos de los pesticidas en la salud (Bolognesi y otros, 2011).

La inhibición de la colinesterasa se usa como un biomarcador de exposición, no como un indicador de toxicidad para los organofosforados. Los biomarcadores utilizados habitualmente para evaluar la exposición a pesticidas proporcionan información sobre la exposición en el momento del muestreo y no es probable que reflejen exposiciones que ocurrieron varios días antes (Rohlman y otros, 2011). En nuestro estudio, la actividad de AChE en los trabajadores ocupacionales también disminuyó en comparación con los sujetos de control, lo cual está de acuerdo con los estudios informados previamente (Jintana y otros, 2009).

Los pesticidas pueden inhibir la actividad de AChE ya que modulan el sitio activo de la enzima, lo que resulta en una acumulación excesiva de acetilcolina en las terminaciones nerviosas y provoca el bloqueo de la transmisión del impulso nervioso. Los organofosforados, los ésteres del ácido fosfórico, son una clase de inhibidores irreversibles de la AChE (Grupta y Bechan, 2016). Su escisión por AChE deja un grupo fosforilo en el sitio esterático, que es lento para hidrolizarse y puede unirse covalentemente. Por otro lado, los carbamatos, ésteres del ácido N-metil carbámico, son inhibidores reversibles de la actividad AChE

que se hidrolizan en horas y ocupan el sitio esterático por cortos períodos de tiempo.

La actividad de AChE en seres humanos puede considerarse como un biomarcador para evaluar el estado colinérgico central (Grupta y Bechan, 2016). Los pesticidas pueden inducir estrés oxidativo (SO), y la producción excesiva de intermedios reactivos y especies reactivas de oxígeno pueden causar daño al ADN (Upadhyay y otros, 2008; Muniz y otros., 2008). La susceptibilidad de los glóbulos rojos y los linfocitos a la SG debido a la exposición a pesticidas es una función del equilibrio general entre el grado de SG y la capacidad de defensa antioxidante (Zeljezic y otros, 2008). Por otro lado, la baja actividad de glóbulos rojos observada no solo indica su integridad, sino que también actúa como un biomarcador viable para evaluar el grado de exposición de estas células a productos químicos naturales o antropogénicos (Callahan y Kruckenberg, 1967). La inhibición de la actividad de AChE en las neuronas como resultado de la exposición a los ésteres de los ácidos fosfórico, sulfúrico y sulfónico y a los carbamatos representa un parámetro real del estrés toxicológico. Sin embargo, la determinación de dicha inhibición a nivel neuronal es prácticamente imposible, pero puede realizarse indirectamente a través de la medición de la actividad de AChE en los glóbulos rojos. Esto proporciona una medida directa del daño causado, independientemente del tipo de químico inhibidor de la ECA, y ha demostrado ser el indicador más apropiado para controlar la exposición biológica (Callahan y Kruckenberg, 1967).

CONCLUSIÓN

Nuestros resultados muestran un aumento significativo en la frecuencia de MN y una disminución significativa en la actividad de AChE en los trabajadores agrícolas. Estos hallazgos confirman que el ensayo de MN en la mucosa bucal y la evaluación de la actividad de AChE son biomarcadores útiles para determinar la exposición humana a los pesticidas y la necesidad de realizar un biomonitorio permanente en agricultores expuestos ocupacionalmente a pesticidas y sus mezclas. Haciéndolo extensivo a los trabajadores agrícolas que se dedican al cultivo de diferentes especies vegetales en la Provincia de Jujuy. Al mismo tiempo, los resultados actuales indican la necesidad de mejorar las condiciones de trabajo de los trabajadores rurales, así como la disponibilidad

de información y acciones contra el problema. Dado que estos ensayos son marcadores importantes de efecto temprano, permiten detectar un nivel reversible de daño y, por lo tanto, juegan un papel importante en la prevención de la salud en la población en estudio.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a todas las personas de Fraile Pintado, que voluntariamente participaron en este estudio, especialmente a las Farmacéuticas María Marcela Konicek y Fabiola Carolina Barrera por colaboración en la organización de la toma de muestras para el presente estudio. Este trabajo fue realizado en el marco del proyecto "Evaluación del efecto de la exposición a plaguicidas a través del uso de biomarcadores en trabajadores del sector hortícola y del contexto socio-sanitario de Fraile Pintado Jujuy" subsidiado por Secretaría de Ciencia y Técnica y Estudios Regionales de la Universidad Nacional de Jujuy, SECTER.

BIBLIOGRAFÍA

- Alleva, R.; Manzella, N.; Gaetani, S.; Bacchetti T. Bracci, M.; Ciarapica, V.; Monaco, F.; Borghi, B.; Amati M.; Ferretti, G. & Tomasetti, M. 2018. Mechanism underlying the effect of long term exposure to low dose of pesticides on DNA integrity. *Environ. Toxicol.* 33:476-487.
- Becoña Iglesias E., Fernández del Río E., López Durán A. y Míguez Varela M., (2009). La escala del Síndrome de Dependencia de la Nicotina (NDSS) en una muestra de fumadores que demandan tratamiento para dejar de fumar *Psicothema*. Vol. 21, nº 4, pp. 579-584 www.psicothema.com
- Bianco, G.E.; Suarez, E.; Cazon, L.; de la Puente T.B.; Benitez Ahrendts, M.R. & Julio César De Luca. 2017. Prevalence of chromosomal aberrations in Argentinean agricultural workers. *Environ Sci. Pollut. Res.* 24:21146-21152.
- Bolognesi, C. & Holland N. 2016. The use of the lymphocyte cytokinesis-block micronucleus assay for monitoring pesticide-exposed populations. *Mutat. Res.* 770, 183-203.

- Bolognesi, C.; Roggieri, P.; Ropolo, M.; Thomas, P.; Hor, M.; Fenech, M.; Nersesyan, A. & Knasmueller, S. 2015. Buccal micronucleus cytome assay: results of an intra- and inter-laboratory scoring comparison. *Mutagenesis* 30:545–555.
- Bolognesi, C.; Creus, A.; Ostrosky-Wegman, P. & Marcos R. 2011. Micronuclei and pesticide exposure. *Mutagenesis* 26:19–26.
- Bolognesi, C. 2003. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutat. Res.* 543:251–72.
- Callahan, J.F. & Kruckenberg, S.M. 1967. Erythrocyte cholinesterase activity of domestic and laboratory animals: normal levels for nine species. *Am. J. Vet. Res.* 28:1509–1512.
- Carbajal-López, Y.; Gómez-Arroyo, S.; Villalobos-Pietrini, R.; Calderón-Segura, M.E. & Martínez-Arroyo, A. 2016. Biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticide mixtures in Guerrero state, Mexico, with comet assay and micronucleus test. *Environ Sci Pollut Res* 23:2513–2520.
- Castañeda-Yslas, I.J.; Arellano-García, M.E.; García-Zarate, M.A.; Ruíz-Ruíz, B.; Zavala-Cerna, M.G. & Torres-Bugarín, O. 2016. Biomonitoring with micronuclei test in buccal cells of female farmers and children exposed to pesticides of manadero agricultural valley, Baja California, Mexico. *J. Toxicol.* 7934257.
- Chakraborty, T.; Das, U.; Poddar, S.; Sengupta B. & De, M. 2006. Micronuclei and chromosomal aberrations as biomarkers: a study in an arsenic exposed population in West Bengal. *India. Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 76:970–976
- Da Silva, J.; Moraes, C.R.; Heuser, V.D.; Andrade, V.M.; Silva, F.R.; Kvitko, K.; Emmel, V.; Rohr, P.; Bordin, D.L.; Andrezza, A.C.; Salvador, M.; Henriques, J.A. & Erdtmann, B. 2008. Evaluation of genetic damage in a Brazilian population occupationally exposed to pesticides and its correlation with polymorphisms in metabolizing genes. *Mutagenesis* 23:415–22.
- Damalas, C.A. & Koutroubas, S.D. 2016. Farmers' exposure to pesticides: toxicity types and ways of prevention. *Toxics*. 8. pii: E1.
- Ellman, G.L.; Courtney, K.D.; Andres, V. Jr & Feather-Stone, R.M. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7:88-95.
- Espitia-Pérez, L; Sosa, M.Q.; Salcedo-Arteaga, S.; León-Mejía, G.; Hoyos-Giraldo, L.S.; Brango, H.; Kvitko, K.; da Silva, J. & Henriques, J.A. 2016. Polymorphisms in metabolism and repair genes affect DNA damage caused by open-cast coalmining exposure. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* 808:38–51.
- Fagerström, K., (1978). Cuestionario de tolerancia de Fagerström, test de Fagerström. <https://www.ucm.es/data/cont/docs/3-2015-05-20-TEST%20DE%20FAGERSTR%C3%96M.pdf>
- Grupta, V.K. & Bechan, S. 2016. Alleviation of acute poisoning of organophosphates in humans. *Anat. Physiol. Biochem. Int. J.* 1:555558.
- Jintana, S.; Sming, K.; Krongtong, Y. & Thanyachai, S. 2009. Cholinesterase activity, pesticide exposure and health impact in a population exposed to organophosphates. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 82:833–842.
- Li, D.; Huang, Q.; Lu, M.; Zhang, L.; Yang, Z.; Zong, M.; & Tao, L. 2015. The organophosphate insecticide chlorpyrifos confers its genotoxic effects by inducing DNA damage and cell apoptosis. *Chemosphere* 135:387–393
- Lionetto, M.G.; Caricato, R.; Calisi, A.; Giordano, M.E. & Schettino, T. 2013. Acetyl cholinesterase as a biomarker in environmental and occupational medicine: new insights and future perspectives. *Biomed. Res. Int.* 321213
- Martínez-Valenzuela, S.M.; Waliszewski, O. & Amador-Muñoz, E. 2017. Aerial pesticide application causes DNA damage in pilots from Sinaloa, Mexico. *C. Environ. Sci. Pollut. Res.* 24:2412–2420
- Muniz, J.F.; McCauley, L.; Scherer, J.; Lasarev, M.; Koshy, M.; Kow, Y.W.; Nazar-Stewart, V.; & Kisby, G.E. 2008. Biomarkers of oxidative stress and DNA damage in agricultural workers: a pilot

- study. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 227:97–107.
- Nersesyan, A.; Kundi, M.; Atefie, K.; Schulte-Hermann, R. & Knasmüller, S. 2006. Effect of staining procedures on the results of micronucleus assays with exfoliated oral mucosa cells. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 15:1835–1840.
- Oliver D., Costanza M., Ballvé J L., Monteverde X., Zarza E., Fernández C., Pérez J., Murillo C. (2000). El tabaquismo en Atención Primaria El Sevier. *Medicina Integral. ABS Florida Nord. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona. Vol.35. Num. 2. páginas 72-80*
- OPS y OMS, 2008. Alcohol y atención primaria de la salud. *Informaciones clínicas básicas para la identificación y el manejo de riesgos y problemas. Organización Panamericana de la salud y Organización Mundial de la Salud. Biblioteca Sede OPS - Catalogación en la fuente. Washington, D.C.: OPS.*
- Paiva, J.C.; Cabral, I.O.; Soares, B.M.; Sombra, C.M.; Ferreira, J.R.; Moraes, M.O.; Cavalcanti, B.C. & Pessoa, C. 2011. Biomonitoring of rural workers exposed to a complex mixture of pesticides in the municipalities of Tiangua and Ubajara (Ceara state, Brazil): genotoxic and cytogenetic studies. *Environ. Mol. Mutagen.* 52:492–501
- Remor, A.P.; Totti, C.C.; Moreira, D.A.; Dutra, G.P.; Heuser, V.D. & Boeira, J.M. 2009. Occupational exposure of farm workers to pesticides: biochemical parameters and evaluation of genotoxicity. *Environ. Int.* 35:273–8.
- Rohlman, D.S.; Anger, W.K.; & Lein, P.J. 2011. Correlating neurobehavioral performance with biomarkers of organophosphorous pesticide exposure. *Neurotoxicology* 32:268–76.
- Singh, S.; Kumar, V.; Thakur, S.; Banerjee, B.D.; Chandna, S.; Rautela, R.S.; Grover, S.S.; Rawat, D.S.; Pasha, S.T.; Jain, S.K.; Ichhpujani, R.L.; & Rai, A. 2011. DNA damage and cholinesterase activity in occupational workers exposed to pesticides. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 31:278–85.
- Thomas, P.; Holland, N.; Bolognesi, C.; Kirsch-Volders, M.; Bonassi S.; Zeiger E.; Knasmüller S. & Fenech, M. 2009. Buccal micronucleus cytome assay. *Nat. Protoc.* 4:825–37.
- Tolbert, P.E.; Shy, C.M.; & Allen, J.W. 1991. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: a field test in snuff users. *Am. J. Epidemiol.* 34:840–850.
- Torres-Bugarín, O.; Zavala-Cerna, M.G.; Macriz-Romero, N.; Flores-García, A. & Ramos-Ibarra, M.L. 2013. Procedimientos básicos de la prueba de micronúcleos y anomalías nucleares en células exfoliadas de mucosa oral. *El Residente* 8:4–11.
- Upadhyay, G.; Singh, A.K.; Kumar, A.; Prakash, O. & Singh, M.P. 2008. Resveratrol modulates pyrogallol-induced changes in hepatic toxicity markers, xenobiotic metabolizing enzymes and oxidative stress. *Eur. J. Pharmacol.* 596:146–152.
- WHO Framework Convention on Tobacco Control, Compendium of indicators, 2015. (1st edition) Editions of the WHO, World Health Organization, 20 Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland. ISBN 92 4 3591010.
- Yaduvanshi, S.K.; Srivastava, N.; Marotta, F.; Jain, S. & Yadav, H. 2012. Evaluation of micronuclei induction capacity and mutagenicity of organochlorine and organophosphate pesticides. *Drug Metab. Lett.* 6:187–197.
- Zeljezic, D.; Vrdoljak, A.L.; Kopjar, N.; Radic, B. & Milkovic Kraus, S. 2008. Cholinesterase inhibiting and genotoxic effect of acute carbofuran intoxication in man: a case report. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 103:329–35.



Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional

MICROBIOMA ENDOSFÉRICO EN *Eucalyptus sp.* Y SU POTENCIAL ACCIÓN BIOCONTROLADORA FRENTE A ORGANISMOS PATÓGENOS EN EL CULTIVO

ENDOSPHERIC MICROBIOME IN *Eucalyptus sp.* AND ITS POTENTIAL BIOCONTROLLER ACTION AGAINST PATHOGENIC ORGANISMS IN CULTIVATION

Ayme Denise Flores Maidana¹, José Catacata¹ y Nancy Sivila¹

¹*Cátedra de Fitopatología. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Jujuy. Alberdi N° 47. San Salvador de Jujuy (4600).

*Autor para correspondencia:
fitopatologia@fca.unju.edu.ar

Licencia:
[Licencia Creative Commons](#)
[Atribución-NoComercial-](#)
[CompartirIgual 4.0 Internacional](#)

Período de Publicación:
Julio 2020

Historial:
Recibido: 02/07/2019
Aceptado: 10/04/2020

RESUMEN

Argentina cuenta con 1.200.00 ha de bosques cultivados de las cuales 11.432 ha corresponden a plantaciones de eucaliptos en la provincia de Jujuy. Las enfermedades que afectan a este cultivo, por lo general, lo hacen en las etapas de almácigo y vivero. Una de las alternativas para su control es el uso de biocontroladores, tal como microorganismos endófitos. Estos producen metabolitos bioactivos que modifican los mecanismos de defensa de su hospedante. El objetivo de este trabajo fue aislar organismos endofíticos de hojas de *Eucalyptus sp.* y determinar su potencial como agentes de control biológico frente a fitopatógenos en cultivos. Para ello se tomaron muestras de hojas asintomáticas, las que se desinfectaron y sembraron en el medio agar-papa-glucosado. Fueron identificados nueve géneros de hongos: *Penicillium sp.*, *Alternaria sp.*, *Rhizoctonia sp.*, *Phytophthora sp.*, *Fusarium sp.*, *Trichoderma sp.*, *Pestalotia sp.*, *Guignardia sp.* y *Cercospora sp.* Se logró aislar *Bacillus sp.* como bacteria endófito. Se eligieron *Trichoderma sp.* y *Bacillus sp.* para la evaluación *in vitro* frente *Alternaria sp.* aislada como patógeno del cultivo. Los mejores porcentajes de inhibición de crecimiento radial (PICR) se alcanzaron con *Bacillus sp.* 81.10% seguido de *Trichoderma sp.* con 43.94%.

Palabras claves: *Eucalyptus*, organismos endófitos, biocontroladores

SUMMARY

Argentina has 1,200.00 ha of cultivated forests of which 11,432 ha correspond to eucalyptus plantations in the province of Jujuy. Diseases that affect this crop usually do so in its nursery bed and nursery stages. One of the alternatives for its control is the use of biocontrollers, such as endophyte microorganisms, which produce bioactive metabolites that modify the defense mechanisms of their host. The objective of this work was to isolate endophytic organisms from *Eucalyptus sp.* Leaves and to determine their potential as biological control agents against phytopathogens in the crop. For this purpose, samples of asymptomatic leaves were taken, disinfected and sown in potato-glucose-agar medium. Nine fungal genera were

identified: *Penicillium* sp., *Alternaria* sp., *Rhizoctonia* sp., *Phytophthora* sp., *Fusarium* sp., *Trichoderma* sp., *Pestalotia* sp., *Guignardia* sp. and *Cercospora* sp. *Bacillus* sp. was isolated as endophytic bacteria. *Trichoderma* sp. and *Bacillus* sp. were chosen for in vitro evaluation against *Alternaria* sp. isolated as culture pathogen. The best percentages of inhibition of radial growth (PIRG) were achieved with *Bacillus* sp. 81.10% followed by *Trichoderma* sp. with 43.94%.

Keywords: biocontrollers, *Eucalyptus*, endophytic organisms.

INTRODUCCIÓN

Argentina cuenta aproximadamente con 1.200.000 ha de bosques cultivados, conformados casi exclusivamente por especies exóticas, el 25 % de la superficie corresponde a plantaciones de eucaliptos (Beale y Ortiz, 2013). De acuerdo al Inventario Nacional de Plantaciones Forestales la superficie implantada es de aproximadamente 313.869 ha y la principal zona productiva se encuentra en la Mesopotamia. En la provincia de Jujuy la superficie forestada con eucalipto llega a 11.432 ha, principalmente en el departamento de Palpalá y la zona de La Almona (Ortiz, 2015). Las especies que se destacan son *Eucalyptus grandis* y *E. saligna*; en menor medida *E. camaldulensis*, *E. tereticornis*, *E. viminalis* y *E. globulus*. La producción se destina a la fabricación de papel, madera para aserradero, carpintería, postes, construcción de pallets y cajones, entre otros usos (Beale y Ortiz, 2013). Así mismo podemos encontrar otras especies tal como *E. torelliana* utilizada en cortinas rompevientos.

Las enfermedades que afectan a este cultivo por lo general lo hacen en almácigos y viveros mientras que en las plantaciones no hay grandes problemas de enfermedades. Algunos fitopatógenos que afectan al cultivo son: "tizón bacteriano" (*Xanthomonas axonopodis*), "viruela" (*Phaeoseptoria eucalypti*), "antracnosis" (*Colletotrichum* sp.), "mancha foliar tardía" (*Cylindrocladium scoparium*) y "manchas foliares" (*Cercospora eucalypti*) (Alcoba, Bejarano y Catacata, 2005; Quintana y Bejarano, 2017).

El uso frecuente de fitosanitarios favorece el desarrollo de resistencia en los patógenos que se desea controlar, lo cual conlleva a incrementar la cantidad aplicada o frecuencia de aplicación. Por este motivo se plantea el uso de organismos biocontroladores como una alternativa al control

químico, que resulte más inocua y amigable con el medio ambiente (Romero, Crosara y Baraibar, 2008).

Los microorganismos endófitos tales como hongos o bacterias pueden, durante parte o todo su ciclo de vida, invadir tejidos vegetales vivos causando infecciones asintomáticas (Gamboa Gaitán, 2006). Establecen una estrecha relación con la planta, siendo capaces de producir metabolitos bioactivos, así como modificar los mecanismos de defensa de su hospedante, permitiendo e incrementando la supervivencia de ambos organismos, constituyendo de esta manera una nueva vía para la obtención de diversos precursores o moléculas novedosas de utilidad en la agricultura (Sánchez-Fernández y otros, 2013). Sbravatti (2013) aisló de *Eucalyptus benthamii* unos hongos endófitos que fueron usados para el control de *Botrytis cinérea*, siendo *Trichoderma* sp. el endófito con mayor potencial para el control, seguido de *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp.

El objetivo de este trabajo fue aislar organismos endófitos de hojas de *Eucalyptus* sp. y determinar su potencial como agentes de control biológico frente a fitopatógenos del cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

La recolección de hojas asintomáticas y con presencia de síntomas se realizó en plantaciones comerciales, viveros y fincas ubicados en las localidades de Yala, El Ceibal, La Almona, Arrayanal y Calilegua, las cuales se conservaron a 4 °C hasta su procesamiento en el Laboratorio de Fitopatología y en el Centro de Investigación en Sanidad Forestal (CISFO) de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy (FCA-UNJu)

Aislamiento de endófitos

Para el aislamiento de microorganismos endófitos se siguió el método de Zhang, Wei & Wang (2012). Cada muestra consistió en 25 hojas asintomáticas que fueron lavadas con agua y solución detergente. Se cortaron en pequeños trozos, los cuales fueron desinfectados con alcohol 70% durante tres minutos seguido de enjuagues con agua destilada estéril. Los trozos de hojas se sembraron en cajas de Petri con medio de cultivo agar papa glucosado al 2 % (APG), realizándose cinco repeticiones por muestra. Se incubó a 28 °C durante siete días. Las colonias observadas se repicaron en medio de cultivo APG e incubaron por siete días. Los hongos endófitos fueron caracterizados e identificados tanto macro como microscópicamente. Para la identificación de bacterias endófitas se purificaron en Agar Nutritivo y APG (Agar Papa Glucosado) para observaciones macroscópicas de forma, color y borde de la colonia, se realizaron tinciones de Gram y de Endosporos, y prueba de Catalasa.

Aislamiento de patógenos

Las hojas con síntomas necróticos fueron desinfectadas superficialmente con alcohol 70 %, enjuagadas con agua destilada estéril, cortadas en pequeños fragmentos, nuevamente enjuagadas sucesivas veces con agua destilada estéril y colocada en cajas de Petri con medio de cultivo APG llevándose a incubación por 7 días a 28 ° C. Las observaciones fueron realizadas periódicamente a los efectos de repicar las colonias en medio de cultivo APG para su identificación macro y microscópica.

Evaluación de la interacción *in vitro* de los organismos endófitos aislados frente a patógenos presentes en el cultivo

La evaluación de la capacidad antagónica *in vitro* se efectuó por medio de la técnica de cultivos duales, que consiste en colocar en un extremo de la caja de Petri con medio de cultivo APG un disco de 5 mm de diámetro del patógeno y en el otro extremo un disco de 5 mm de diámetro con el organismo promisorio para el control, quedando aproximadamente a 3 cm de distancia entre ellos. Para el testigo se sembró en el centro de las cajas de Petri un disco de 5 mm de diámetro con el patógeno. Se llevó a incubación por 7 días a 25°C, periódicamente se midió los diámetros de las colonias del patógeno en los cultivos duales y en

las cajas testigo. El efecto antagónico se evaluó por medio del Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR) a 7 días de incubación, el cual se calculó mediante la siguiente fórmula propuesta por Ezziyani, Pérez Sánchez, Sid Ahmed, Requena y Candela (2004): $PICR = (R1-R2)/R1 \times 100$; siendo R1 el crecimiento radial del patógeno testigo y R2 el crecimiento radial del patógeno en los tratamientos en cultivo dual (Bell, Wells y Markham 1982).

RESULTADOS

Aislamiento de endófitos fúngicos

A los 7 días de incubación del total de las muestras se obtuvieron catorce colonias de hongos, de las cuales fueron clasificadas nueve, el resto no desarrolló estructuras reproductivas que permitieran identificarlas. Los géneros que se encontraron con mayor frecuencia fueron *Penicillium* sp. y *Alternaria* sp. En menor frecuencia se encontraron *Rhizoctonia* sp., *Phytophthora* sp., *Fusarium* sp., *Trichoderma* sp., *Pestalotia* sp., *Guignardia* sp. y *Cercospora* sp. (Tabla 1) (Figura 1, 2 y 3). El aislamiento de estos hongos en las hojas sanas indica su condición endofítica o latente

Tabla 1. Frecuencia de hongos endófitos aislados de hojas de *Eucalyptus* sp. y total de géneros aislados por muestra.

| HONGOS AISLADOS | MUESTRAS | | | | | FRECUENCIA % |
|-------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|--------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| <i>Alternaria</i> sp. | ✓ | ✓ | | | | 16,66 |
| <i>Cercospora</i> sp. | | | | | ✓ | 8,33 |
| <i>Fusarium</i> sp. | | | | ✓ | | 8,33 |
| <i>Guignardia</i> sp. | | | | | ✓ | 8,33 |
| <i>Penicillium</i> sp. | ✓ | ✓ | ✓ | | | 25 |
| <i>Pestalotia</i> sp. | | | | | ✓ | 8,33 |
| <i>Phytophthora</i> sp. | | | ✓ | | | 8,33 |
| <i>Rhizoctonia</i> sp. | ✓ | | | | | 8,33 |
| <i>Trichoderma</i> sp. | | | | ✓ | | 8,33 |
| *TG | 3 | 2 | 2 | 2 | 3 | 100% |

*TG: Total de géneros aislados por muestras.

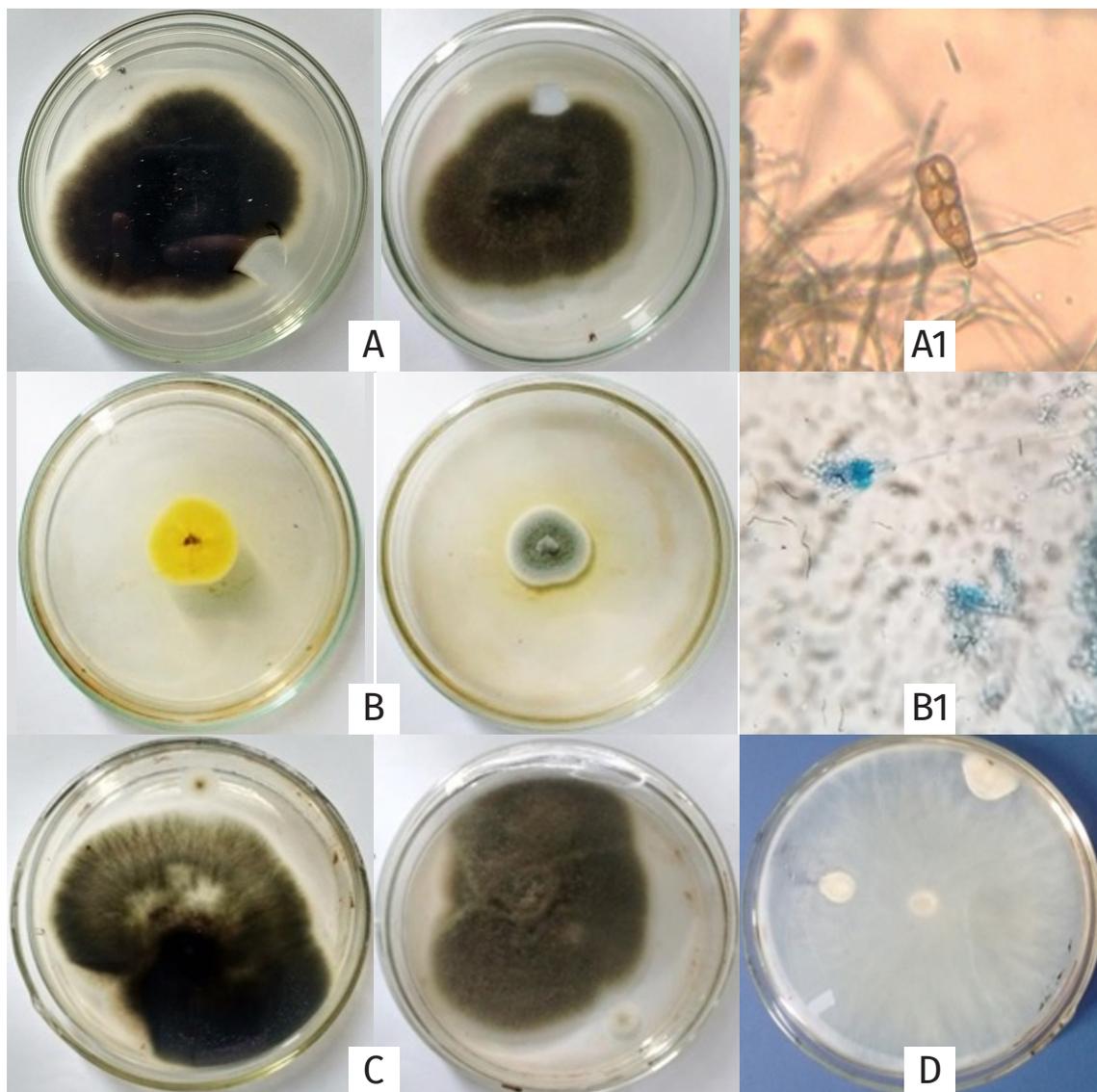


Figura 1. Caracterización macro y microscópica: **A:** *Alternaria* sp. (Frente y reverso); **A1:** Conidios de *Alternaria* sp.; **B:** *Penicillium* sp. (Frente y reverso); **B1:** Estructura microscópica de *Penicillium* sp.; **C:** *Rhizoctonia* sp. (Frente y reverso); **D:** *Phytophthora* sp.

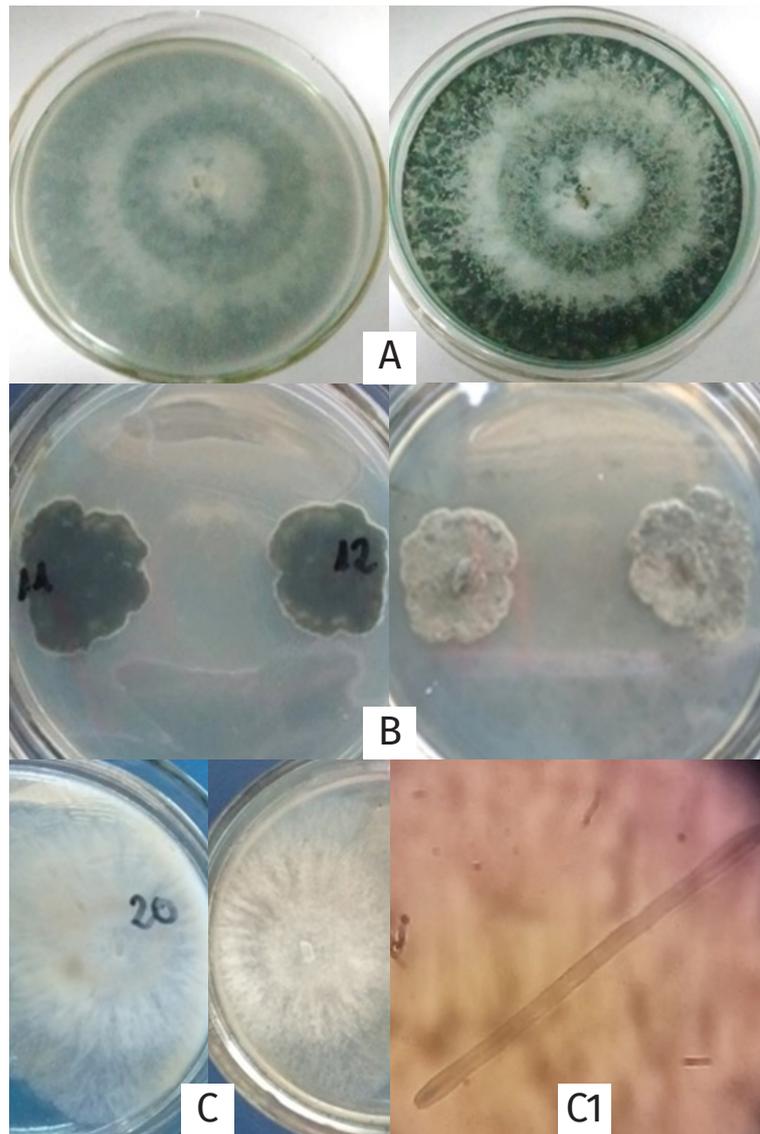


Figura 2. Caracterización macro y microscópica: **A:** *Trichoderma* sp. (Frente y reverso); **B:** *Guignardia* sp. (Frente y reverso); **C:** *Cercospora* sp. (Frente y reverso); **C1:** Conidios de *Cercospora* sp.

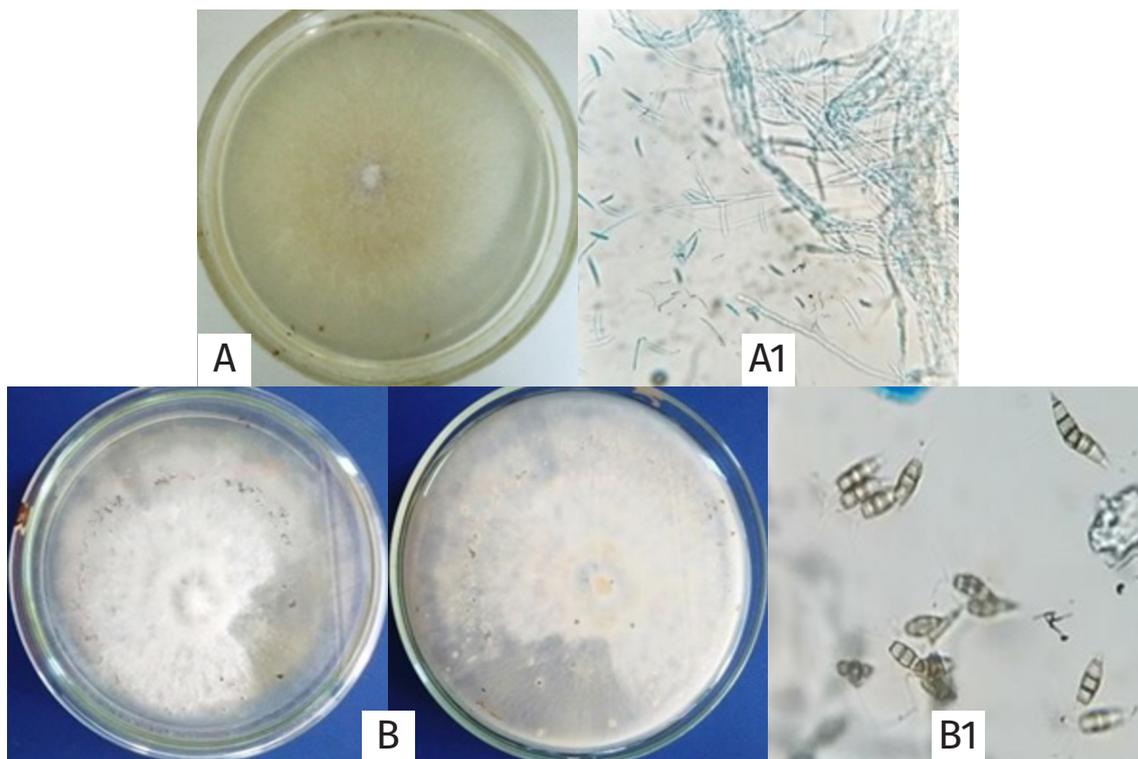


Figura 3. Caracterización macro y microscópica: **A:** *Fusarium* sp.; **A1:** Conidios de *Fusarium* sp.; **B:** *Pestalotia* sp. (Frente y reverso), puntos negros corresponden a las acérvulas; **B1:** Conidios de *Pestalotia* sp.

Asilamiento de bacterias endófitas

Las colonias bacterianas desarrolladas se identificaron como *Bacillus* sp., por presentar endosporos y dar positivas la tinción Gram y reacción de Catalasa (Figura 4). Estas colonias se caracterizan por ser blanquecinas, grandes, extendidas e irregulares (Layton, Maldonado, Monroy, Corrales y Sánchez, 2011).



Figura 4. Colonia de *Bacillus* sp.

Asilamiento de organismos patógenos en el cultivo

Se lograron identificar tres patógenos en las hojas que presentaron síntomas necróticos localizados. En las hojas de plantas de vivero se observaron manchas marrones correspondiente a *Alternaria* sp. (Pérez Vera, Yáñez Morales, Alvarado Rosales, Cibrián Tovar y García Díaz 2005) (Figura 5).

En plantas adultas se observaron manchas bacterianas causadas por *Xanthomonas* sp. (Figura 6) las cuales se caracterizan por ser amarillas de forma irregular rodeadas de un halo aceitoso, pueden confluir, necrosarse y secarse (Quintana y Bejarano, 2017) y manchas foliares causadas por *Pestalotia* sp. (Figura 7) en donde se observa lesiones necróticas con bordes definidos y múltiples acérvulos negros (Pérez-Vera y otros, 2005).



Figura 5- A. Hojas de eucalipto con lesiones en círculos concéntricos color marrón de donde se aisló *Alternaria* sp. **B:** Cultivo puro de *Alternaria* sp.



Figura 6. Hojas de eucalipto con manchas amarillas de forma irregular con centro necrótico, síntoma de *Xanthomonas* sp. (Tizón bacteriano).



Figura 7- A. Hoja de eucalipto con lesiones necróticas y múltiples acérvulos de *Pestalotia* sp.; **B:** Detalle de acérvulas en la colonia de *Pestalotia* sp., masas mucilaginosas de color negro que contiene los conidios.

Capacidad antagónica *in vitro* en cultivos duales

Los resultados del PICR usando como antagonista *Trichoderma* sp. fue de 43.94 % (Figura 8) (Figura 10), mientras el valor más alto de inhibición frente al patógeno lo obtuvo *Bacillus* sp. con 81.10%. (Figura 9) (Figuras 11-12).

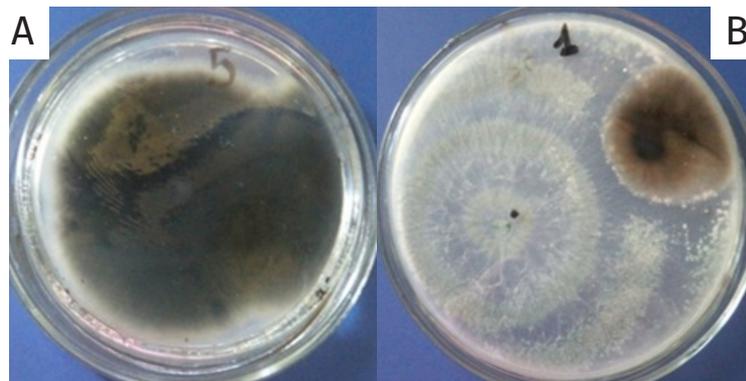


Figura 8. Tratamientos al 6^{to} día de incubación. **A:** Colonia de *Alternaria* sp cubriendo la totalidad de la caja de Petri.; **B:** Avance de *Trichoderma* sp. sobre *Alternaria* sp. efecto inhibitor.

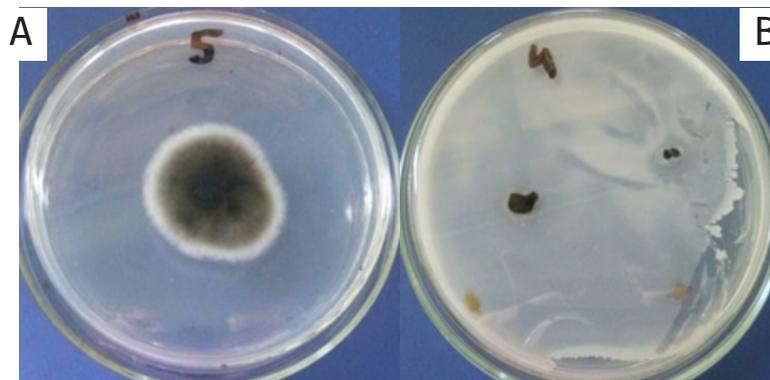


Figura 9. Tratamientos al 3^{er} día de incubación. **A:** Colonia de *Alternaria* sp. (Testigo); **B:** Efecto inhibitor de *Bacillus* sp. (Antagónico) contra *Alternaria* sp.

***Trichoderma* sp. vs *Alternaria* sp.**

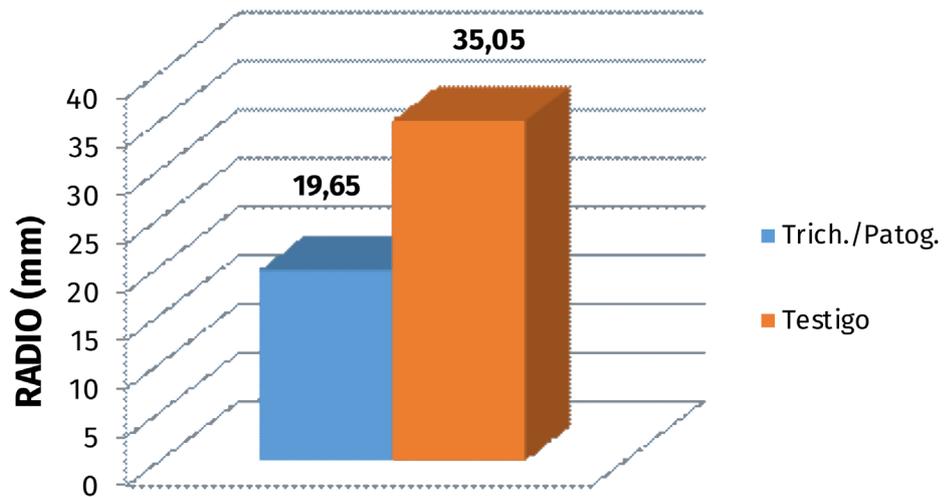


Figura 10. Valores medios de los radios (mm) obtenidos de *Alternaria* sp. en el tratamiento Testigo y en el tratamiento contra *Trichoderma* sp.

***Bacillus* sp. vs *Alternaria* sp.**

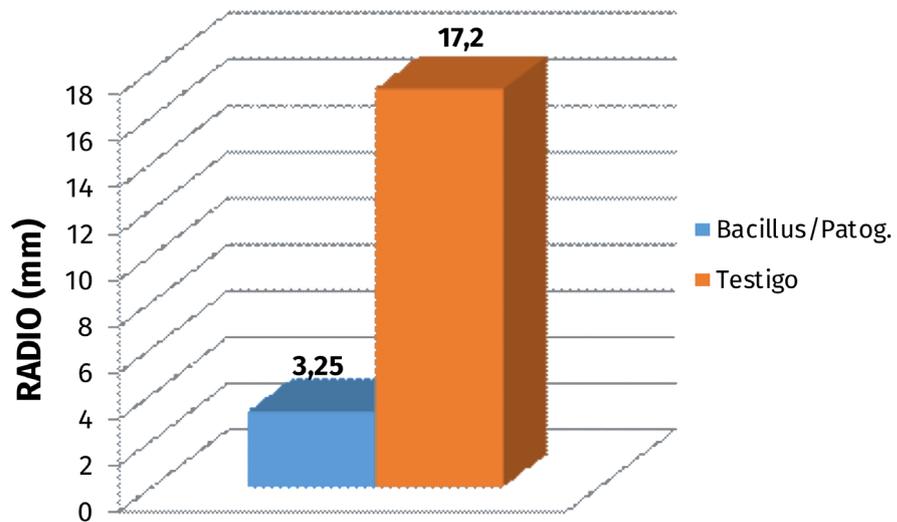


Figura 11. Valores medios de los radios (mm) obtenidos de *Alternaria* sp. en el tratamiento Testigo y en el tratamiento contra *Bacillus* sp.

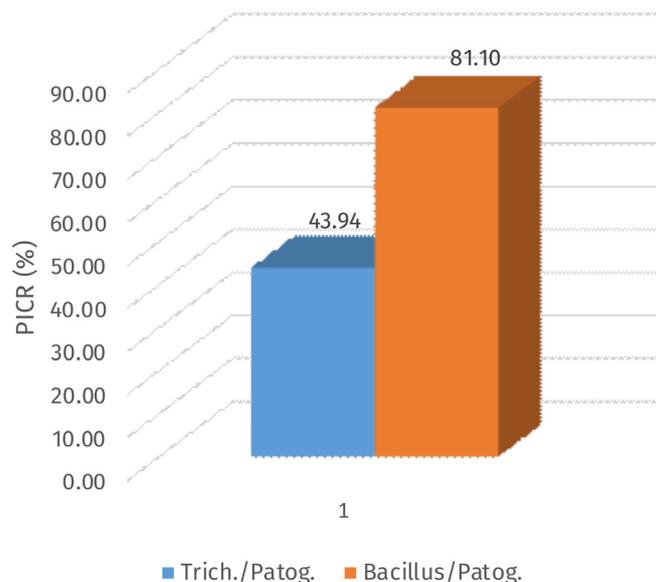


Figura 12. Porcentaje Inhibitorio del Crecimiento Radial (PICR %) de la colonia *Alternaria* sp. en cultivos duales.

CONCLUSIONES

El presente trabajo permitió conocer la diversidad de organismos que interactúan en el microbioma endosférico en las hojas de eucalipto, que es capaz de crecer en medios artificiales como el APG, y su importancia como fuente de organismos para su uso en control biológico, en un contexto sustentable del cultivo e inocuo para el medio ambiente.

De los organismos aislados y reconocidos por su capacidad como biocontroladores se destacaron *Trichoderma* sp. y *Bacillus* sp. ambos por su capacidad de rápido crecimiento en cultivos *in vitro* frente a *Alternaria* sp., patógeno que puede ocasionar defoliaciones tempranas en vivero.

BIBLIOGRAFÍA

Alcoba, N., Bejarano, N. y Catacata, J. (2005). Enfermedades de los cultivos de Jujuy y Salta diagnosticadas en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Jujuy. Cátedra de Fitopatología. Universidad Nacional de Jujuy.

Beale, I. y Ortiz, E.C. (2013). El Sector Forestal Argentino - Bosques Implantados. *Revista de Divulgación Técnica Agrícola* y

Agroindustrial, (41), 1-6.

Bell, D. K., Wells, H. D. & Markham, C. R. (1982). In vitro antagonism of *Trichoderma* Species against six fungal plant pathogens. *Ecology and Epidemiology*, 72(4), 379-382.

Ezziymani, M., Pérez Sánchez, C., Sid Ahmed, A., Requena, M. E. y Candela, M. E. (2004). *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annum* L.). *Anales de Biología* (26), 35-45.

Gamboa Gaitán, M. A. (2006). Hongos Endófitos Tropicales: Conocimiento actual y perspectivas. *Acta Biológica Colombiana*, (11), 3-20.

Layton, C., Maldonado, E., Monroy, L., Corrales, L. C. y Sánchez, L. C. 2011. *Bacillus* spp.; perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos. *NOVA*, 9(15), 177-187.

Ortiz, G. (2015). Caracterización y perspectivas de la Foresto Industria en la Provincia de Jujuy. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina: Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación. MAGyP, Unidad para el Cambio Rural. UCAR

Pérez Vera, O. A., Yáñez Morales, M. de J., Alvarado-Rosales, D., Cibrián-Tovar, D. y García-Díaz, S. E. (2005). Hongos asociados a eucalipto, *Eucalyptus grandis* Hill: Maid. *Agrociencia*,

39(3), 311-318.

- Zhang, Q., Wei, X. & Wang, J. (2012). Phillyrin produced by *Colletotrichu gloeosporioides*, an endophytic fungus isolated from *Forsythia suspense*. *Fitoterapia*, 83(8), 1500-1505.
- Quintana, S. y Bejarano, N. (2017). Sanidad Forestal en Jujuy. Centro de Investigación en Sanidad Forestal CISFO (FCA-UNJu), Unidad para el Cambio Rural UCAR.
- Romero, G., Crosara, A. y Baraibar, A. (2008). *Trichoderma harzianum*: Un biocontrol y biopromotor en vivero de especies forestales. *Ciencia e investigación forestal-Instituto Forestal-Chile*, 14(2), 335-345.
- Sánchez Fernández, R. E., Sánchez Ortiz, B. L., Sandoval-Espinosa, Y. K. M., Ulloa Benítez, A., Armendáriz Guillén, B., García Méndez, M.C. y Macías Rubalcava, M.L. (2013). Hongos endófitos: Fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en Agricultura y Medicina. *Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 16(2), 132-146.
- Sbravatti Junior, J. A. (2013). *Seleção de fungos endofíticos para o controle biológico de Botrytis cinérea Pers.: Fr Em mudas de Eucalyptus benthamii Maiden et Cabbage* (tesis de maestría). Universidade Federal do Paraná, Brasil.

PAGINAS WEB CONSULTADAS

Forestales-Inventario nacional de plantaciones forestales por superficie. (2018). Datos Agroindustriales. Recuperado de <https://datos.agroindustria.gob.ar/dataset/>



Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LEVADURAS AISLADAS DE FERMENTACIONES ESPONTÁNEAS Y DE UVAS NATIVAS DE PURMAMARCA, JUJUY, ARGENTINA

MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF ISOLATED YEASTS OF SPONTANEOUS FERMENTATIONS AND NATIVE GRAPES FROM PURMAMARCA, JUJUY, ARGENTINA

Julieta Macarena Peynado¹, Amalia María Ortega^{1*}, Celeste Ivone Rodríguez¹, Cristian Gonzalo Benitez¹, Alfredo Angel Agüero¹

¹Facultad de Ciencias Agrarias, UNJu. Alberdi 47 San Salvador de Jujuy, Jujuy, Argentina. C.P. 4600

*Autor para correspondencia:
ortegamariadelosangeles@
hotmail.com

Licencia:
[Licencia Creative Commons](#)
[Atribución-NoComercial-](#)
[CompartirIgual 4.0 Internacional](#)

Período de Publicación:
Julio 2020

Historial:
Recibido: 02/07/2019
Aceptado: 10/04/2020

RESUMEN

El objetivo fue diferenciar y caracterizar morfológicamente levaduras aisladas de uvas y fermentaciones espontáneas. Se colectaron uvas de distintas variedades, durante la vendimia 2019, pertenecientes a dos bodegas de Purmamarca, Jujuy. Se realizaron análisis de grados Brix y microbiológicos. La diferenciación entre *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces* se realizó en base a sus características morfológicas, crecimiento en agar lisina y esporulación en agar acetato. Se aislaron 20 levaduras, seis presentaron características morfológicas típicas del género *Saccharomyces*, no crecieron en agar lisina y formaron esporas típicas, con estos resultados preliminares se pudo diferenciar a estas levaduras como *Saccharomyces*. Las otras levaduras presentaron distintas morfologías, crecieron en agar lisina y una formó esporas, de acuerdo a las pruebas empleadas, estas levaduras pertenecen al grupo no-*Saccharomyces*. Las uvas registraron los grados Brix óptimos para la elaboración de vinos. Los porcentajes aislados para *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces* resultaron consistentes con los obtenidos por otros autores, quienes encontraron en la uva una mayor proporción de no-*Saccharomyces*, las poblaciones de *Saccharomyces* son de (10-100 UFC/cm²) lo cual dificulta su aislamiento, siendo éstas predominantes en las bodegas. El estudio permitió obtener información preliminar sobre la biodiversidad presente en las uvas, clave en la preservación de la tipicidad y complejidad de los vinos locales.

Palabras clave: levaduras en uvas, Purmamarca, diversidad de levaduras, *Saccharomyces*, no -*Saccharomyces*.

SUMMARY

The objective was to differentiate and to morphologically characterize isolated yeasts from grapes and spontaneous fermentations. Grapes of different varieties were collected, during the 2019 grape harvest, belonging to two wineries in Purmamarca, Jujuy. Microbiological and Brix grades analysis were performed. The differentiation between *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces*, was based on its morphological characteristics,

growth in lysine agar and sporulation in acetate agar. Twenty yeasts were isolated, six presented morphological characteristics typical of the *Saccharomyces* genus, they did not grow on lysine agar and formed typical spores, with these preliminary results these yeasts could be differentiated as *Saccharomyces*. The other yeasts showed different morphologies, grew in lysine agar and one formed spores, according to the tests used, these yeasts belong to the non-*Saccharomyces* group. Grapes showed optimum Brix grades for wine making. The isolated percentages for *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* were consistent with the ones obtained by other authors, who found in grapes a higher proportion of non-*Saccharomyces*, *Saccharomyces* populations are of (10-100UFC/cm²) which diffculted its isolation, being these predominant in the cellars. The study enabled to obtain preliminary information of biodiversity present grapes, key in the preservation of typicality and complexity of local wines.

Keywords: non-*Saccharomyces*, Purmamarca, yeasts diversity, yeasts in grapes, *Saccharomyces*.

INTRODUCCIÓN

La fermentación del mosto de uva es un complejo proceso bioquímico que implica la participación de diferentes microorganismos, siendo las levaduras las principales responsables (Fleet, 2003; Swieger y otros, 2005; Jolly y otros, 2006), capaces de influir de forma decisiva sobre la calidad general del vino (Pretorius y otros, 2000) y en particular sobre sus características aromáticas relacionadas con la génesis de productos volátiles (Swiegers y otros, 2007; Maturano y otros, 2012; Alvares- Pérez y otros, 2012).

Es por esta razón que resulta imprescindible conocer la microbiota autóctona presente en la uva, ya que ésta puede ser beneficiosa o causar deterioro en la calidad del vino. La densidad de la población y biodiversidad de levaduras autóctonas en las uvas están estrechamente relacionadas con numerosos factores, entre ellos podemos mencionar la ubicación geográfica del viñedo, el ambiente propio en el que se encuentra, la composición físico-química del suelo, el clima, la edad de los viñedos, los productos fitosanitarios usados, la variedad de uva, su condición sanitaria y el grado de maduración (Combina y otros, 2005).

Existen numerosos estudios sobre la biodiversidad de levaduras en diferentes regiones productoras de vino, en los que se muestrearon uvas y fermentaciones espontaneas, por ejemplo, en Italia, Vaudano y otros (2019) aislaron

Hanseniaspora uvarum, *Candida zemplinina*, *Pichia kluyveri*, *Candida californica*, *Curvibasidium cygneicollum*, *Meyerozyma caribbica*, *Rhodotorula babjevae*, *Metschnikowia pulcherrima* y *Cryptococcus flavescens*. En China, Liu y otros (2016) encontraron en mayor proporción especies como, *Hanseniaspora uvarum*, *Candida stella*, *Pichia fermentans*, *Issatchenkia orientalis*, *Metschnikowia pulcherrima* y *Saccharomyces cerevisiae*. En Italia, Capozzi y otros (2015) identificaron los géneros de levaduras, *Dekkera spp.*, *Pichia spp*, *Candida spp*, *Metschnikowia spp*, *Debaromyces spp*, *Klyceromyces spp*, *Aureobasidium spp*, *Rhodotorula spp*, *Zygosaccharomyces spp*, *Issatchenkia spp*, *Saccharomyces spp*, *Zygoascus spp*, *Torulaspora spp* y *Hanseniaspora spp*, las mismas especies fueron aisladas en Argentina por Combina y otros (2005); en España por Ocón y otros (2010); en España por Clavijo y otros (2010); en Italia por Tristezza y otros (2013); en Italia por Garofalo y otros (2015).

De acuerdo a diversas publicaciones se sabe que el género *Sacharomyces* no es frecuente en las uvas frescas, según Durcanská y otros (2019) aislaron 1634 colonias de levaduras, de las cuales 231 fueron identificadas como levaduras *Saccharomyces*, esto coincide con un trabajo realizado en Italia por Garofalo y otros (2018) donde se aislaron un total de 240 colonias con características morfológicas similares a las *Saccharomyces*, de las cuales 164 se identificaron pertenecientes al género. También en Republica de Checa, Suranska y otros (2016), aislaron un total de 524 levaduras autóctonas y se

identificaron 120 como *Saccharomyces cerevisiae*. Hoy en día existe toda una industria dedicada a la búsqueda, caracterización, producción y comercialización de cultivos de levaduras seleccionadas como inóculos para procesos controlados de fermentación (Suranká y otros, 2016), existen en el mercado cientos de estas cepas, la inoculación sistemática con levaduras secas activas (LSA) que se encuentran en el comercio, es una práctica enológica comúnmente utilizada en muchas bodegas. Sin embargo, esta práctica puede determinar un efecto negativo sobre la biodiversidad de las levaduras naturales, y como consecuencia una pérdida de la tipicidad de los vinos de una región determinada (Combina y otros, 2005; Romancino y otros, 2008).

La localidad de Purmamarca, ubicada en la provincia de Jujuy, es lugar excepcional para la vitivinicultura, debido a las condiciones agroecológicas y ambientales que presenta, permiten producir vinos tintos, con alto contenido de alcohol y estabilidad de color y notas frutales, de buena calidad. Es por esto, que en los últimos años aumentaron los productores que desean incluir, dentro de sus sistemas productivos, la actividad vitivinícola para la elaboración de vinos artesanales como una alternativa socio-económica viable (Asociación de Vitivinicultores de la Quebrada de Humahuaca).

Por lo tanto en aquellas regiones que son conocidas por su vinos típicos, numerosos autores coinciden en que es más efectivo el uso de cultivos seleccionados puros de levaduras autóctonas, ya que no solo esto permitiría potenciar el carácter de los *terroirs* jujeños, sino, también controlar el proceso de fermentación, ya que estas levaduras están mejor adaptadas a la región, clima, suelo, a sus variedades de uva, a sus prácticas de viticultura y a sus técnicas de elaboración del vino (Suárez Lepe y otros, 1997; Mercado y otros, 2007, Capece y otros, 2011; Formento y otros, 2011; Capozzi y otros, 2015; Garofalo y otros, 2016; Suranká y otros, 2016).

Sin embargo, hasta la fecha no se encontraron publicaciones sobre la diversidad de levaduras presentes en uvas de los ecosistemas locales, este estudio es un primer paso hacia la preservación y el estudio del potencial de las levaduras autóctonas en Purmamarca. Por lo tanto, este estudio tiene un significado relevante para los productores vitivinícolas locales. Frente a esta situación, en el presente trabajo se diferenciaron y caracterizaron morfológicamente levaduras

aisladas de fermentaciones espontáneas y uvas nativas de la localidad de Purmamarca, Jujuy. Para que en un futuro se puedan seleccionar levaduras con características enológicas eficientes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Toma de muestras

Las muestras se recolectaron de viñedos pertenecientes a dos bodegas de la localidad de Purmamarca, Jujuy durante la vendimia 2019. Se muestrearon en horas de la mañana racimos de uva (de aproximadamente un kilogramo) sanos y tomados al azar, de las variedades Cabernet Sauvignon, Bonarda, Malbec y Torrontés, se colocaron en bolsas de nylon y se transportaron a temperaturas de refrigeración al laboratorio de la Facultad de Ciencias Agrarias-UNJu para ser analizadas dentro de las 24 horas. Se recolectaron racimos del interior de los viñedos para eliminar efecto de bordura.

Las levaduras se aislaron en dos momentos, en el primero, del mosto producido por la molienda de los granos de uva y en el segundo, del mosto en etapa tumultuosa de la fermentación espontánea. Se midieron los grados Brix del mosto con un refractómetro óptico.

Técnicas de aislamiento y conservación de las levaduras:

Se realizaron diluciones de 10^{-1} a 10^{-6} con agua peptonada estéril. A partir de cada dilución de las muestras, se sembraron 0,1 mL en placas de Petri con medio YPD- agar y se incubaron de 3 a 7 días a 28°C, transcurridos los cuales se procedió a su aislamiento en placas con el mismo medio. A cada cultivo puro se le asignó un número y el prefijo (MP). Se procedió a su conservación (en tubos eppendorf con glicerol al 15% a -0°C). Este procedimiento permite que las levaduras permanezcan viables durante un año.

Para la conservación de las cepas durante periodo de tiempo de hasta dos semanas y para su uso inmediato, las levaduras se mantuvieron en tubo de ensayo (pico de flauta) a 4°C.

Caracterización morfológica y diferenciación de las levaduras aisladas: (Barnett, et al., 2000).

- Características morfológicas macroscópicas: las levaduras fueron aisladas en placas de Petri con agar YPD, e incubadas durante 48 hs en estufa a 28°C. Se evaluaron las siguientes características: forma de la colonia, bordes, altura, tamaño y textura.

- Características morfológicas microscópicas: se observaron al microscopio óptico mediante preparados en fresco, con objetivo de inmersión (100x) utilizando aceite de cedro. Se evaluó la pureza del cultivo y la morfología de las células: forma y tipo de gemación.

- Crecimiento sobre lisina: las levaduras se sembraron en tres medios diferentes:

- 1- Medio con lisina como fuente de nitrógeno.
- 2- Control positivo: medio basal con agregado de sulfato de amonio como fuente de nitrógeno.
- 3- Control negativo: medio basal sin el agregado de ninguna fuente de nitrógeno, en este medio se puede ver el crecimiento residual de las levaduras.

Las levaduras *Saccharomyces* no son capaces de utilizar la lisina como fuente de nitrógeno; para la diferenciación de género se aplicaron los siguientes criterios: levaduras *Saccharomyces* demuestran un crecimiento positivo en el medio número 2, con sulfato de amonio como fuente de nitrógeno y negativo en los medios 1 y 3; mientras que las levaduras no-*Saccharomyces* presentan crecimiento positivo en el medio número 1 y 2 y negativo en el medio número 3. Se incubaron durante 48 hs. a 28°C.

- Esporulación: las levaduras se sembraron en picos de flauta con agar estresante de acetato. Este medio es específico, para inducir la esporulación de levaduras, debido a que presenta una fuente reducida en carbono; los tubos se incubaron en estufa a 28°C. El tiempo requerido para la esporulación varía con las especies y aún con las cepas de cada levadura. Por esta razón, las levaduras sembradas se estudiaron a intervalos frecuentes y regulares. Las esporas una vez formadas pueden germinar muy bien en ese mismo medio, por lo que se realizaron observaciones periódicas del material a los 7, 14, y 21 días aplicando la técnica de tinción de esporas. La esporulación es un método para diferenciar las especies de levaduras debido a que cada una de ellas presentan formas características.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se aislaron 20 levaduras, 9 del mosto producido por la molienda de los granos de uva y 11 del mosto en etapa tumultuosa de la fermentación espontánea. Del total de levaduras aisladas, 6 (30%) presentaron características morfológicas típicas del género *Saccharomyces*: colonias blancas, mantecosas, lisas, circulares, convexas, células ovoides o elipsoidales con gemación multipolar o monopolar (Kurtzman y otros, 1998; Barnett y otros, 2000). Este resultado concuerda con los porcentajes encontrados en trabajos previos realizados por Durcanská y otros, (2019); Garofalo y otros, (2018); Suranska y otros, (2016) y Combina y otros, (2005), donde informaron que la población del género *Saccharomyces* en la superficie de la uva, es menor a la 10^2 UFC/mL, lo cual dificulta su aislamiento, siendo predominantes en el ambiente de las bodegas.

Las 14 (70%) levaduras restantes formaron colonias con otras morfologías, detalladas en la tabla 1, junto a las demás levaduras aisladas. Los porcentajes de levaduras aisladas en la uva fresca, resultan consistentes con lo reportado por diversos autores, que encontraron en el fruto una mayor proporción de levaduras del género no-*Saccharomyces* (Ocón y otros, 2010; Clavijo y otros, 2010; Tristezza y otros, 2013; Capozzi y otros, 2015; Garofalo y otros, 2015; Suranska y otros, 2016; Durcanská y otros, 2019). Por ejemplo Durcanská y otros (2019) aislaron 1634 colonias de levaduras, de las cuales 231 fueron identificadas como levaduras *Saccharomyces*, esto coincide con un trabajo realizado en República de Checa, Suranska y otros (2016), que aislaron un total de 524 levaduras autóctonas y se identificaron 120 como *Saccharomyces cerevisiae*.

Si bien en este trabajo no se realizaron recuentos de levaduras, citar los siguientes autores nos ayuda a poder explicar los porcentajes encontrados de ambos grupos de levaduras estudiados, por ejemplo, Li y otros (2010) publicaron que la carga microbiana encontrada en uvas de la región de China, fue de 10^3 - 10^5 CFU/mL, conformada principalmente por las especies no-*Saccharomyces*. En Argentina, Combina y otros (2005 a) informaron una población de levadura no-*Saccharomyces* más alta, en orden de 10^5 - 10^6 UFC/g, aislada de uvas sanas y maduras de la variedad Malbec.

Tabla 1. Características macroscópicas de las levaduras en estudio

| Levadura | | Observaciones Macroscópicas | | | | | |
|---|-----------------------|-----------------------------|-------------|-----------|-----------|-----------|--------|
| Variedad y Origen | Cepa | Color | Altura | Bordes | Textura | Forma | Tamaño |
| Torrontés - viñedo 1 DM | MP2 | Beige | Planas | Enteros | Cerosa | Circular | 6 mm |
| Torrontés - viñedo 2 DM | MP3 | Blancas | Convexas | Enteros | Creмоса | Circular | 3 mm |
| Bonarda - viñedo 1 AA | MP5 | Beige | Convexas | Enteros | Creмоса | Circular | 2 mm |
| Malbec - viñedo 2 AA | MP7 | Beige | Umbilicadas | Enteros | Mantecosa | Circular | 4 mm |
| Malbec - viñedo 3 AA | MP8 | Blancas | Convexas | Enteros | Creмоса | Circular | 2 mm |
| Cabernet - viñedo 4 AA | MP9 | Beige | Planas | Enteros | Creмоса | Circular | 4,5 mm |
| Cabernet - viñedo 5 AA | MP10 | Beige | Planas | Enteros | Creмоса | Circular | 2,5 mm |
| Bonarda - viñedo 6 AA | MP15 | Blancas | Umbilicadas | Enteros | Mantecosa | Circular | 9 mm |
| Torrontés - viñedo 3 DM | MP16 | Blancas | Planas | Ondulados | Mantecosa | Irregular | 3 mm |
| Fermentación Torrontés - viñedo 1 DM | MP17 | Blancas | Planas | Enteros | Creмоса | Circular | 4 mm |
| Fermentación Malbec - viñedo 2 AA | MP18 | Grisáceas | Umbilicadas | Enteros | Creмоса | Circular | 6 mm |
| Fermentación Bonarda - viñedo 1 AA | MP19 | Blancas | Elevadas | Ondulados | Creмоса | Irregular | 7,5 mm |
| Fermentación Cabernet - viñedo 4 AA, viñedo 3 AA, viñedo 6 AA, viñedo 2 AA, viñedo 5 AA | MP20, 21, 22, 26 y 27 | Blancas | Convexas | Enteros | Creмоса | Circular | 3-6 mm |
| Fermentación Cabernet - viñedo 5 AA | MP23 | Beige | Umbilicadas | Enteros | Creмоса | Circular | 2 mm |
| Fermentación Torrontés - viñedo 2 DM y viñedo 2 AA | MP24 y 25 | Beige | Convexas | Ondulados | Mantecosa | Irregular | 5 mm |

Tabla 2. Características microscópicas de las levaduras en estudio

| Levadura | | Observaciones Microscópicas | | |
|---|-----------------------|-----------------------------|------------|--------------|
| Variedad y Origen | Cepa | Forma | Gemación | Esporulación |
| Torrentés - viñedo 1 DM | MP2 | Ovoides | Bipolar | - |
| Torrentés -viñedo 2 DM | MP3 | Ovoides | Multipolar | - |
| Bonarda - viñedo 1 AA | MP5 | Esfericas | Monopolar | - |
| Malbec - viñedo 2 AA | MP7 | Apiculadas | Bipolar | - |
| Malbec -viñedo 3 AA | MP8 | Ovoides | Multipolar | - |
| Cabernet - viñedo 4 AA | MP9 | Apiculadas | Bipolar | - |
| Cabernet -viñedo 5 AA | MP10 | Apiculadas | Bipolar | + |
| Bonarda -viñedo 6 AA | MP15 | Elipsoides | Monopolar | - |
| Torrentés - viñedo 3 DM | MP16 | Elipsoides | Monopolar | - |
| Fermentación Torrentés - viñedo 1 DM | MP17 | Apiculadas | Bipolar | - |
| Fermentación Malbec - viñedo 2 AA | MP18 | Apiculadas | Bipolar | - |
| Fermentación Bonarda - viñedo 1 AA | MP19 | Elipsoides | Multipolar | - |
| Fermentación Cabernet - viñedo 4 AA, viñedo 3 AA, viñedo 6 AA, viñedo 2 AA, viñedo 5 AA | MP20, 21, 22, 26 y 27 | Esféricas | Multipolar | + |
| Fermentación Cabernet - viñedo 5 AA | MP23 | Apiculadas | Bipolar | - |
| Fermentación Torrentés - viñedo 2 DM y viñedo 2 AA | MP24 y 25 | Elipsoides | Monopolar | - |

En la Figura 1, Tabla 1 y 2, se observan las características morfológicas de las levaduras estudiadas.

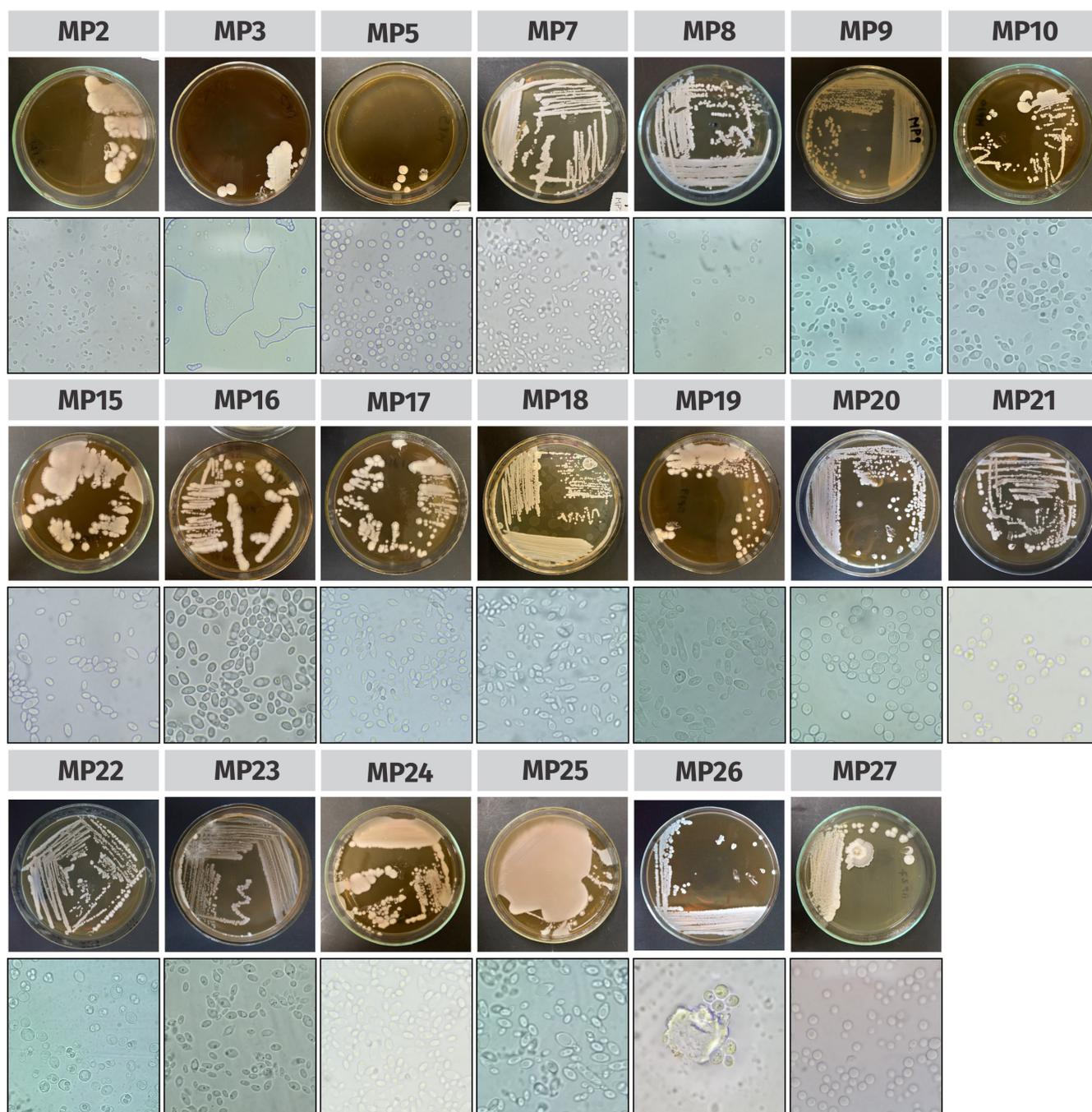


Figura 1. Morfología macroscópica y microscópica de las levaduras estudiadas

Del total de las levaduras aisladas, 6 levaduras se diferenciaron como *Saccharomyces* en agar lisina (Kurtzman y otros, 1998; Barnett y otros, 2000; Santamaría, 2007), también presentaron esporas globosas o elipsoidales, pared lisa y tétradas típicas, los resultados se pueden observar en la tabla 2 y Figura 2. Estos resultados coinciden con diversos autores (Kurtzman y otros, 1998; Barnett y otros, 2000; Esteve-Zarzoso y otros, 2000; Suarez Lepe y otros, 2004), que demostraron en sus investigaciones, que los principales agentes de la fermentación alcohólica son cepas de la especie

Saccharomyces, dado que tienen la facilidad de esporular para adaptarse a las características del mosto y poder crecer bajo esas condiciones, transformándose en la especie dominante y completando la fermentación alcohólica.

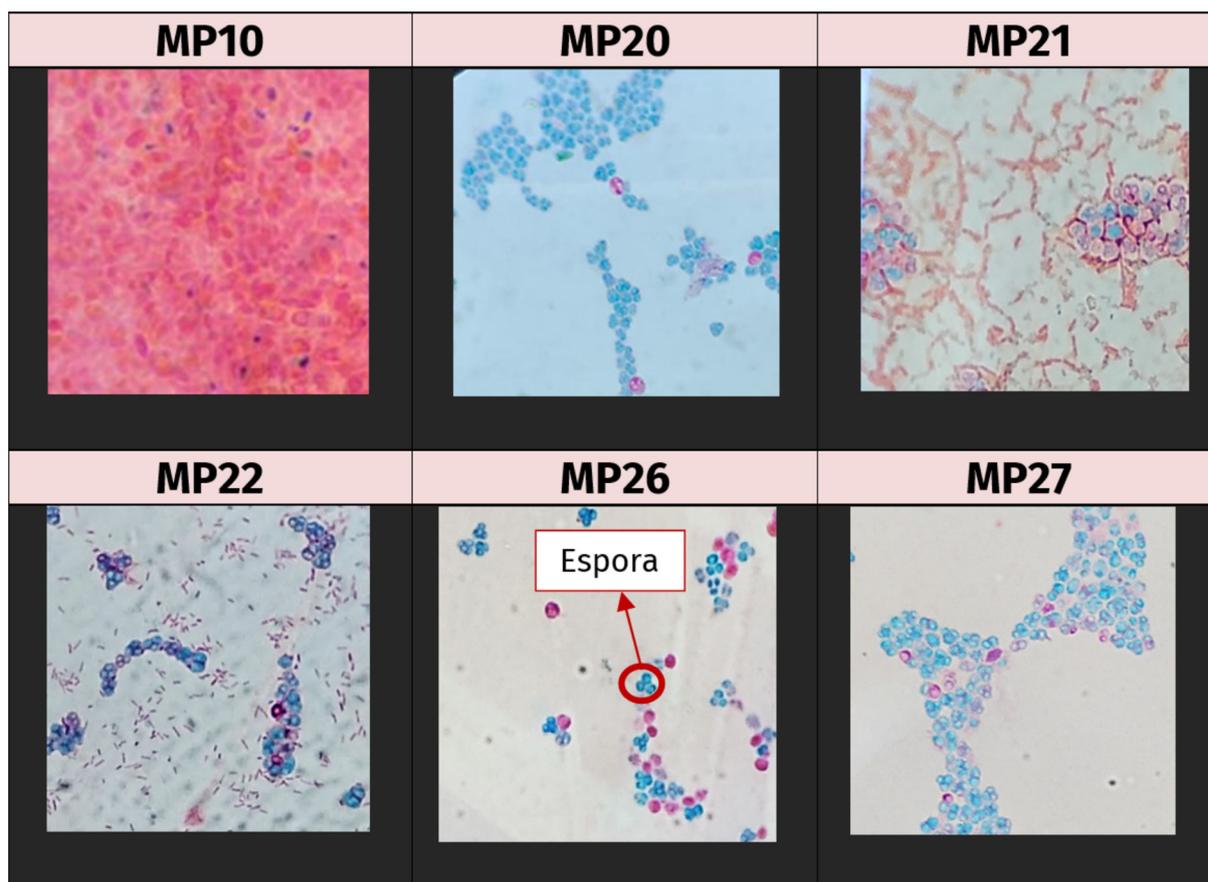


Figura 2. Esporulaci3n de las levaduras estudiadas

Los grados Brix que registraron las muestras de uva variaron entre 21,5 - 25,2. La concentraci3n de s3lidos solubles registrada es 3ptima para la elaboraci3n de vinos. En algunos trabajos se observ3 que el n3mero total y diversidad de especies en las uvas aumenta gradualmente a lo largo de las 3ltimas cuatro semanas antes de la vendimia. Esto es debido a que los az3cares que se producen en la uva durante la maduraci3n salen por roturas en la piel y sirven de nutrientes para las levaduras, que llegan hasta la uva procedentes de otros frutos y el suelo transportadas por el viento e insectos (Rib3reau-Gayon, 1989; Peynaud, 1993).

CONCLUSI3N

Este estudio proporcion3 informaci3n preliminar sobre las levaduras asociadas con las uvas en las regiones vit3colas de Purmamarca. Las uvas fueron fuente de levaduras principalmente del g3nero *no-Saccharomyces*. Los resultados obtenidos pueden ser 3tiles para promover el desarrollo de la industria vitivin3cola local.

Sin embargo son necesarios m3s estudios para obtener un mejor conocimiento

sobre la eficiencia enol3gica y participaci3n de estas poblaciones ind3genas de levaduras en la fermentaci3n espont3nea.

BIBLIOGRAF3A

- 3lvarez-P3rez, J.M.; Campo, E.; Coque, J.J.; Ferreira, V. & Hern3ndez, P. 2012. Sensory and chemical characterization of the aroma of Prieto Picudo ros3 wines: The differential role of autochthonous yeast strains on aroma profiles. *Food Chemistry* 133: 284-292.
- Barnett, J. A.; Payne, R.W. & Yarrow, D. 2000. Yeast: characteristics and identification. 3er third edition. Cambridge, Reino Unido, Cambridge University Press.
- Capece, A.; Pietrafesa, R. & Romano, P. 2011. Experimental approach for target selection of wild wine yeasts from spontaneous fermentation of "Inzolia" grapes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 27: 2775-2783.

- Capozzi, V.; Garofalo, C.; Chiriatti, M.; Grieco, F. & Spano, G. 2015. Microbial terroir and food innovation: The case of yeast biodiversity in wine. *Microbiological Research* 181: 75–83.
- Clavijo, A.; Calderón, I. & Paneque, P. 2010. Diversity of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeasts in three red grape varieties cultured in the Serranía de Ronda (Spain) vine-growing region. *International Journal of Food Microbiology* 143: 241–245.
- Combina, M.; Elía, A.; Mercado, L.; Catania, C.; Ganga, A. & Martínez, C. 2005. Dynamics of indigenous yeast populations during spontaneous fermentation of wines from Mendoza, Argentina. *International Journal of Food Microbiology* 99: 237–243.
- Combina, M.; Mercado, L.; Borgo, P.; Elía, A.; Jofré, V.; Ganga, A.; Martínez, C. & Catanis, C. 2005a. Yeasts associated to Malbec grape berries from Mendoza, Argentina. *International Journal of Food Microbiology* 98: 1055–1061.
- Durcanská, K.; Muchová, L.; Drtilová, T.; Olejníková, P.; Zenisová, K. & Furdíková, K. 2019. Characterization and selection of *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from traditional and newly-bred vine varieties of Czech Republic and Slovakia. *Journal of Food and Nutrition Research* 58: 9-20.
- Esteve Zarzoso B.; Gostincar, A.; Bobet, R.; Uruburu, F. & Querol, A. 2000. Selection and molecular characterization of wine yeast isolated from the El Penedes area (Spain). *International Journal Food Microbiology*. 17: 553-562
- Fleet, G. 2003. Yeast interactions and wine flavour. *International Journal of Food Microbiology* 86: 11–22.
- Formento, J. C.; Lúquez, C.; Sánchez, L.; Galiotti, H.; Sfreddo, E.; Nazralla, F.; Bernardi, M.; Genovart, J.; Riveros, R. & Figueroa, C. 2011. Selección de Levaduras Enológicas Autóctonas de las Regiones Vitivinícolas de Mendoza. Nuevo Procedimiento de Búsqueda y Selección en las Yemas de Vid. III Jornadas Nacionales de Biología y Biotecnología de Levaduras, Mendoza, 30 junio-1 julio de 2011 / compilado por Mariana Combina. - a ed. - Buenos Aires: Ediciones INTA. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - INTA Mendoza., 2011.
- Garofalo, C.; Russo, P.; Beneduce, L.; Massa, S.; Spano, G. & Capozzi, V. 2015. Non-*Saccharomyces* biodiversity in wine and the microbial terroir: a survey on Nero di Troia wine from the Apulian region, Italy. *Annals of Microbiology* 56: 234-247.
- Garofalo, C.; Berbegal, C.; Grieco, F.; Tufariello, M. Spano, G. & Capozzi, V. 2018 Selection of indigenous yeast strains for the production of sparkling wines from native Apulian grape varieties. *International Journal of Food Microbiology* 285: 7–17.
- Jolly, N.P.; Augustyn, O.P.H. & Pretorius, I.S. 2006. The role and use of non-*Saccharomyces* yeasts in wine production. *South African Journal for Enology and Viticulture* 27: 15–39.
- Kurtzman, C.P. & Fell, J.W. 1998. Part IV Methods. En: "The Yeasts, A Taxonomic Study" Fourth edition. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier Science B.V. 75-107.
- Li, S.; Cheng, Ch; Li, Z.; Chen, J.; Yan, B. & Han, B. 2010. Yeast species associated with wine grapes in China. *International Journal of Food Microbiology* 138: 85-90.
- Liu, P.; Lu, L.; Duan, Ch. & Yan, G. 2016. The contribution of indigenous non *Saccharomyces* wine yeast to improved aromatic quality of Cabernet Sauvignon wines by spontaneous fermentation. *Food Science and Technology* 71: 356-363.
- Maturano, Y.P.; Rodríguez Assaf, L.A.; Toro, M.E.; Nally, M.C.; Vallejo, M.; Castellanos de Figueroa L.I.; Combina, M. & Vazquez, F. 2012. Multi-enzyme production by pure and mixed cultures of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeasts during wine fermentation. *International Journal of Food Microbiology* 199: 23-32.
- Mercado, L.; Dalcerob, A.; Masuellia, R. & Combina, M. 2007. Diversity of *Saccharomyces* strains on grapes and winery surfaces: analysis of their contribution to fermentative flora of Malbec wine from Mendoza (Argentina) during two consecutive years. *International Journal of Food Microbiology* 24: 403-412.

- Ocón, E.; Gutiérrez, A.R.; Garijo, P.; López, R. & Santamaría, P. 2010. Presence of non-*Saccharomyces* yeasts in cellar equipment and grape juice during harvesttime. *International Journal of Food Microbiology* 27: 1023-1027.
- Peynaud, E. 1993. *Enología Práctica, conocimiento y elaboración del vino*. Editado por Ediciones Mundiales Madrid.
- Pretorius, I.S. 2000. Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking. *Yeast* 16, 675-729.
- Ribereau – Gayon J.; Peynaud E.; Ribereau – Gayon P.; Sudrud P. 1989. *Tratado de enología: ciencias y técnicas del vino*. Editado por Hemisferio Sur S.A. Buenos Aires.
- Romancino, D.; Di Maio, S.; Muriella, R. & Oliva, D. 2008. Analysis of non-*Saccharomyces* yeast populations isolated from grape musts from Sicily (Italy). *Journal of Applied Microbiology* 105: 2248-2254.
- Suarez Lepe, J.A. & Íñigo Leal, B. (1997). *Microbiología Enológica, Fundamentos de Vinificación*. 3º Edición. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. España. 716.
- Suranská, H.; Vránová D. & Omelková, J., 2016. Isolation, identification and characterization of regional indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Brazilian journal of microbiology* 47: 181-190
- Swiegers, J.H.; Bartowsky, E.J.; Henschke, P.A. & Pretorius, I.S. 2005. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Aust. J. Grape Wine Res.* 11: 139-173.
- Swiegers, J.H.; Capone, D.L.; Pardon, K.H.; Elsey, G.M.; Sefton, M.A.; Francis, I. L. & Pretorius I.S. 2007. Engineering volatile thiol release in *Saccharomyces cerevisiae* for improved wine aroma. *Yeast* 24: 561-574.
- Tristezza, M.; Vetrano, C.; Bleve, G.; Spano, G.; Capozzi, V. & Logrieco, A. 2013. Biodiversity and safety aspects of yeast strains characterized from vineyards and spontaneous fermentations in the Apulia Region, Italy. *International Journal of Food Microbiol* 36: 335-342.
- Vaudano, E.; Quintero, G.; Costantini, A.; Pulcini, L.; Pessione, E. & Garcia-Moruno, E. 2019. Yeast distribution in Grignolino grapes growing in a new vineyard in Piedmont and the technological characterization of indigenous *Saccharomyces* spp. Strains. *International Journal of Food Microbiology* 289: 154-161.



Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional

CARACTERIZACIÓN SOCIOECONÓMICA DEL SECTOR DE LA PRODUCCIÓN DE LECHE BOVINA DE LA PROVINCIA DE JUJUY

SOCIOECONOMIC CHARACTERIZATION OF THE BOVINE MILK PRODUCTION SECTOR IN THE PROVINCE OF JUJUY

Víctor Adrián Lipchak^{1*}, Gabriela Adriana Zárate², Carlos Alejandro Herrero³, Amanda Alicia Quiroga², Nicole Natasha Noelia Romero⁴

¹Cátedra de Economía General, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy, Alberdi 47 – San Salvador de Jujuy – 4.600 - Jujuy, Argentina.

²Cátedra de Comercialización de Productos Lácteos, EASP, FCA, UNJu, Jujuy, Argentina.

³Cátedra de Economía General de la Pequeña Empresa Lechera, EASP, FCA, UNJu, Jujuy, Argentina.

⁴Estudiante Carrera Ing. Agronómica, FCA, UNJu, Jujuy, Argentina.

*Autor para correspondencia:
adlipchak@gmail.com

Licencia:
[Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-
CompartirIgual 4.0 Internacional](#)

Período de Publicación:
Julio 2020

Historial:
Recibido: 25/11/2019
Aceptado: 03/03/2020

RESUMEN

La producción de leche fluida en la provincia se presenta nítidamente dividida en dos áreas con características agroecológicas y socioculturales diferenciales. La primera región o zona núcleo corresponde a los Valles Templados y el área de transición hacia la Quebrada de Humahuaca, constituida por un número reducido de empresas de escala media, sistemas productivos heterogéneos y mayor aplicación de tecnología. La segunda zona de producción corresponde a la región puneña de Puesto del Marqués, cuenca que reúne a medio centenar de producciones familiares, con sistemas productivos relativamente homogéneos y menor aplicación de inversión y tecnología productiva. El volumen de leche producido diariamente con cierta regularidad en la provincia alcanza en promedio los 4.594 litros por día, la cuenca tradicional de los Valles Templados aporta 3.545 litros y la Cuenca de la Puna unos 1.049 litros (22,8% del total). El volumen de producción mantiene estrecha relación con una demanda tradicionalmente inelástica, constituida por el mercado del queso criollo y el quesillo artesanal, ya que al tratarse en su mayor parte de leche sin enfriar ni pasteurizar, el mercado de leche fluida y de otros subproductos elaborados es de menor magnitud, limitado por carecer de industrias de procesamiento local (usinas lácteas).

Palabras claves: : desarrollo, estructura, leche bovina, producción.

SUMMARY

The production of fluid milk in the province is clearly divided into two areas with differential agroecological and sociocultural characteristics. The first region or core zone corresponds to the Temperate Valleys and the transition area towards the Quebrada de Humahuaca, consisting of a small number of medium-scale companies, heterogeneous productive systems and greater application of technology. The second production area corresponds to the

Puna region of Puesto del Marqués, a basin that brings together fifty family productions, with relatively homogeneous production systems and less application of investment and productive technology. The daily volume of milk produced on a regular basis in the province, reaches an average of 4,594 litres per day, the traditional basin of the Temperate Valleys provides 3,545 litres and the Puna Basin about 1,049 litres (22.8% of the total). The production volume keeps a close relationship with a traditionally inelastic demand, consisting of creole cheese and soft cheese market. Being mostly uncooled or pasteurized milk, the market for fluid milk and other processed by-products is of a lesser magnitude, limited by the lack of local processing industries (dairy plants).

Keywords: bovine milk, development, production, structure

INTRODUCCIÓN

La Producción de Jujuy y el Contexto Nacional.

La producción de leche fluida en la provincia se presenta nítidamente dividida en dos áreas, que por sus conspicuas características agroecológicas y socioculturales diferenciales, resultan de tal heterogeneidad, que hace impracticable caracterizarlas conjuntamente, por lo cual se realiza un tratamiento individual de cada una de ellas.

La primera región o zona núcleo corresponde a los Valles Templados y el área de transición hacia la Quebrada de Humahuaca, constituida por un número reducido de empresas de escala media y sistemas productivos heterogéneos, generan el mayor volumen de leche de la provincia, mantienen una relación de mercado más amplia, aplican mayor tecnología productiva y en general, complementan sus ingresos con otras actividades prediales y extra prediales; esta cuenca lechera puede considerarse como tradicional.

La segunda zona de producción corresponde a la región puneña en la localidad de Puesto del Marqués, cuenca que reúne a medio centenar de producciones familiares y sistemas productivos relativamente homogéneos, generan un volumen inferior de leche fluida, sostienen una relación con el mercado más estrecha, aplican menor inversión y tecnología productiva, siendo ésta la actividad económica más importante para el sustento familiar y la que mayor tiempo demanda a los productores.

Se verifica además, una producción minifundista estacional e irregular de pequeñas unidades de producción vinculadas a los puestos de las serranías circundante a los valles, alejados de los centros urbanos y con muy precarias vías de comunicación (sendas de herradura), cuando en épocas de mayor precipitación y desarrollo de pasturas, se produce un volumen de escasa significación que llega al mercado de los poblados más cercanos, transformado en quesos criollos, generalmente los días sábados; esto ocurre principalmente en las localidades de San Antonio y El Carmen en época estival.

El volumen de leche fluida producido diariamente y con cierta regularidad en la provincia alcanza en promedio los 4.594 litros diarios, de los cuales la cuenca tradicional de los Valles Templados aporta 3.545 litros y la Cuenca de la Puna unos 1.049 litros (22,8 % del total). El volumen promedio diario producido mantiene una estrecha relación con una demanda tradicionalmente inelástica, constituida por el mercado del queso criollo y el quesillo artesanal, ya que al tratarse en su mayor parte de leche sin enfriar ni pasteurizar, el mercado de leche fluida y de otros subproductos procesados es de menor cuantía por carecer de industrias (usinas lácteas), de procesamiento local; siendo este espacio cubierto por empresas regionales y nacionales con estructuras de distribución, logística y cobertura territorial afianzadas.

Tabla 1. Producción Anual Nacional y Local de Leche Cruda por Destino.

| Producción por Destino en Litros/Año | Total Nacional | Participación Porcentual | Total Jujuy (*) | Participación Porcentual |
|---|-----------------------|---------------------------------|------------------------|---------------------------------|
| Total leche Cruda | 11.216.000.000 | 100 % | 1.676.965 | 0,015 % |
| Leche a Leche Fluida | 2.068.000.000 | 18 % | 199.811 | 0,010 % |
| Leche a Productos | 8.362.000.000 | 75 % | 1.477.154 | 0,018 % |
| Leche no Registrada | 786.000.000 | 7 % | 0 | 0 |

(*) *Elaboración Propia. Valores estimados para Jujuy en base a información primaria relevada.*

Fuente: Informes de Cadena de Valor. Cadena Láctea Año 1- N°22. dic. 2016. Ministerio de Hacienda y Finanzas Públicas

La producción lechera de la provincia es muy poco significativa en el contexto nacional, alcanzando 1,5 milésimas en términos porcentuales, el volumen es de tan escasa magnitud, que no alcanza a cubrir, como se analiza posteriormente, una parte importante de la demanda local de leche fluida, como así tampoco en unidades de equivalente leche de la cadena de derivados. Sin

embargo, esta situación es excepcionalmente favorable en términos potenciales de desarrollo de la actividad y una oportunidad para retener la fuga de recursos del circuito económico local, ya que aproximadamente el 98,8 % de la demanda es abastecida por empresas de otras regiones del país.

Tabla 2. Cantidad de Tambos Nacional y Local.

| N° de Tambos por Estrato Productivo (L/Leche/Día) | Total Nacional | Participac. Porcentual | Total Jujuy | Participac. Porcentual |
|--|-----------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------------------|
| 0 - 1000 L. | 1.972 | 17 % | 54 | 2,74 % |
| 1001 - 2000 L. | 3.132 | 27 % | 1 | 0,03 % |
| 2001 - 4000 L. | 3.944 | 34 % | 0 | 0,0 % |
| 4001 - 6000 L. | 1.740 | 15 % | 0 | 0,0 % |
| > 6000 L. | 812 | 7 % | 0 | 0,0 % |
| Total | 11.600 | 100% | 55 | 0,47 % |

Fuente: Elaboración propia en base a información primaria. Encuesta Lechera INTA 2016/17 y Cadena Láctea Año 1, N°22. dic. 2016. Ministerio de Hacienda y Finanzas Públicas

La cantidad de tambos locales adquieren una significación de mayor relevancia en comparación con las magnitudes de producción, alcanzando a nivel agregado casi el medio punto porcentual. Ello se debe fundamentalmente al aporte de la cuenca de la Puna en Puesto del Marqués, que contribuye con medio centenar de pequeños tambos de producción familiar, ya que en la cuenca de los Valles Templados solo se registran cinco tambos

con producción regular y permanente. Se destaca la participación en establecimientos productores de hasta 1000 L. diarios donde la provincia aporta un 2,7 % del total nacional.

Tabla 3. Número de Tambos y Producción de las Principales Provincias y Jujuy.

| Principales Provincias Vs. Jujuy | Cantidad Tambos | Participación Porcentual | Producción Anual (L) | Participación Porcentual |
|----------------------------------|-----------------|--------------------------|----------------------|--------------------------|
| Santa Fe | 3.898 | 33,6 % | 3.807.832.000 | 33,95 % |
| Córdoba | 3.452 | 29,8 % | 3.590.241.600 | 32,01 % |
| Buenos Aires | 2.561 | 22,1 % | 2.719.880.000 | 24,25 % |
| Entre Ríos | 780 | 6,7 % | 435.180.800 | 3,88 % |
| La Pampa | 225 | 1,9 % | 219.833.600 | 1,96 % |
| Santiago del Estero | 186 | 1,6 % | 109.916.800 | 0,98 % |
| Jujuy | 55 | 0,47 % | 1.676.965 | 0,015 % |
| Otras | 444 | 3,8 % | 331.440.090 | 2,96 % |
| Total | 11.600 | 100 % | 11.216.001.855 | 100 % |

Fuente: Elaboración propia en base a información de Encuesta Lechera INTA 2016/17

El NOA contribuye con aproximadamente 2,5 % de la producción nacional de leche fluida, para esta región se destacan los extremos productivos,

Santiago del Estero con casi el 1 % y Jujuy con el 0.15 ‰.

Tabla 4. Indicadores técnico-productivos estimados. Región Pampeana y Jujuy por zona productiva. (2017/18).

| Indicadores Técnico - Productivos | Región Pampeana (*) | Jujuy Cuenca Valles (**) | Jujuy Cuenca Puna (**) |
|--------------------------------------|---------------------|--------------------------|------------------------|
| Promedio Vacas Totales (VT)/Tambo | 180 | 84 | 42 |
| Promedio Vacas Ordeño (VO)/Tambo | 144 | 45 | 17,1 |
| Promedio Superficie/Tambo (Ha VT) | 136 | 95 | 191 |
| Carga Animal (VT/Ha) | 1,36 | 0,88 | 0,22 |
| Relación Productiva (VO/VT) | 79,4% | 53,9% | 40,7% |
| Producción Individual (L/VO día) (#) | 17,5 | 15,7 | 1,23 |
| Producción Media x Tambo (L./día) | 2.764 | 708 | 21 |
| Productividad Tierra (L. Año/Ha VT) | 7.016 | 2.728 | 40 |

(*) Datos 2016/17. (**) Datos 2018

(#) La producción individual de la Región Pampeana se vio afectada por inundaciones para el período en estudio, por lo tanto, se presenta subestimada. En dos ejercicios precedentes fue de 19,2 y 19,3 L/ VO día.

Fuente: Elaboración propia a partir de datos de información primaria y Encuesta Lechera INTA 2016/17

Tabla 5. Estimaciones de Oferta y Demanda. Nacional y Jujuy.

| Producción y Consumo (Año 2015) | Nacional | Jujuy (*) |
|--|-----------------|------------------|
| Consumo Aparente Eq. Leche/Año | 8.500.000.000 | 143.423.326 |
| Habitantes Argentina/Jujuy (2015) | 43.131.966 | 727.780 |
| Consumo/Habitante/Año Eq. Leche | 197,1 | 197,1 |
| Consumo/Habitante/Año leche Fluida | 47,9 | 47,9 |
| Producción/Consumo Leche Fluida | 100 % | 0,71 % |
| Producción/Consumo Eq. Leche/año | 132 % | 1,17 % |

(*) Datos 2018

Fuente: Elaboración propia a partir de datos de información primaria y Cadena Láctea Año 1- N°22. dic. 2016. Ministerio de Hacienda y Finanzas Públicas

Tomando como base la información disponible de la fuente citada en el cuadro precedente, y asumiendo para Jujuy correspondencia con los datos del promedio nacional, el consumo anual por habitante de leche en todas sus formas (equivalente leche), arroja un valor aproximado de 197 litros, de los cuales casi 48 litros corresponden a leche fluida. En base al criterio adoptado, la producción y venta de leche fluida cubriría el 0.71 % de la demanda para consumo doméstico, mientras que la producción total en litros de leche equivalente ascendería a 1.17 % de la demanda local. Esta estimación resulta de relacionar datos nacionales disponibles para el año 2015 con información local del año 2018, que sin embargo justifica su correlación por cuanto la producción local sostiene una regularidad estructural y permanencia en el tiempo, que virtualmente la transforma en casi constante; en segundo término, por el bajo impacto de su volumen a la oferta agregada nacional y la relativa inelasticidad de la demanda.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un trabajo exploratorio y descriptivo, cuyo enfoque fue cuali-cuantativo. El universo de estudio estuvo conformado por todos los productores lecheros de la provincia con las siguientes características: experiencia de al menos 5 años en la actividad, poseer un rodeo de al menos 20 cabezas y tener una superficie de explotación de por lo menos 20 ha. En cuanto a la metodología empleada para la recolección

de datos, se desarrolló la técnica de focus group semiestructurado y entrevistas a productores, con la finalidad de lograr la identificación y valoración de factores endógenos y exógenos.

Para la elección de los participantes, tanto del focus group como de las entrevistas, se ha indagado a miembros del sector lácteo de Jujuy que cumplan con las características descritas "supra", y que además tengan una alta implicación con las decisiones del desarrollo de las cuencas, ya que la credibilidad de los participantes durante el estudio es un factor clave (Zikmund y Babin, 2007), ya que presupone que proporcionarán respuestas más conscientes y creíbles basadas en su experiencia. Se utilizó una muestra propositiva o de juicio del investigador, de carácter no probabilística y no aleatoria, ya que los participantes fueron voluntarios y previamente contactados, teniendo en consideración que la muestra de un grupo focal es siempre intencional (Hair J. Bush R y Ortinau D, 2004). Se indagó sobre los antecedentes de las cuencas, el proceso productivo, los resultados y los métodos empleados para desarrollar la práctica comercial. El análisis consistió en la evaluación del discurso sobre la percepción de los productores en relación al sector.

Asimismo, se desarrolló un análisis de documentación de fuentes publicadas e inéditas, bibliografía específica y de estudios de caso para la caracterización socioeconómica de la cuenca.

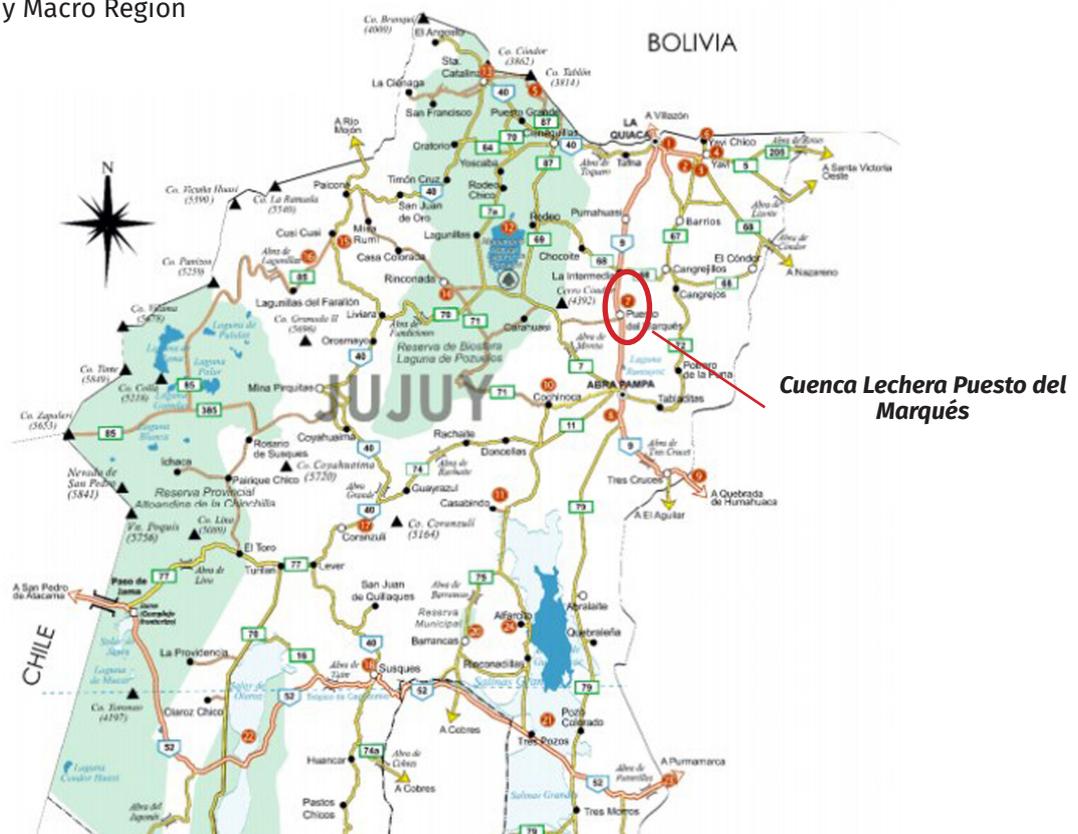
En una segunda etapa se realizaron encuestas a actores claves, con la finalidad de

indagar su visión acerca del desarrollo del sector, las expectativas y las demandas que perciben del mismo. El instrumento de recolección de datos fue un cuestionario con preguntas mayoritariamente cerradas y algunas abiertas. El focus group así como las entrevistas se desarrollaron in situ, ya que el contexto donde desarrollan sus actividades, presuponía que sería determinante y aportaría datos interesantes al estudio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. CUENCA LECHERA DE LA PUNA – PUESTO DEL MARQUÉS

Mapa de la Micro y Macro Región



Descripción

La zona productiva de la cuenca se ubica paralelamente al este de la Ruta Nacional N° 9, en una zona relativamente húmeda de la Puna por el aporte que realiza el río Miraflora, que la atraviesa de norte a sur, y el río Colorado afluente del primero. La zona productiva central tiene una superficie total de 9.545 has.; en forma accesoria se considera el uso de una superficie ocasional hacia el oeste de la ruta y hasta las estribaciones serranas, conformando una superficie ampliada de alrededor de 15.000 has. En su conjunto la cuenca engloba los parajes de Llamería (S), Tuite (SE),

Moracaité (NE), La Curva (N) y la propia localidad de Puesto del Marqués.

Estructura social y productiva

Desde el punto de vista social, esta cuenca agrupa al mayor número de productores lecheros de la provincia, constituyéndose además en el factor excluyente del sostenimiento de numerosas familias campesinas y residiendo en la producción de quesos criollos, el resultado final de la actividad productiva.

Aproximadamente cincuenta pequeñas explotaciones pecuarias mixtas desarrollan la actividad con modalidad de trabajo exclusivamente familiar, participando de la producción el jefe del hogar, su esposa y los hijos de edad escolar en tiempo parcial hasta la adolescencia, momento en que migran a los centros poblados más importantes para continuar estudios de nivel medio o procurar empleo en otras actividades, ya que la producción de los campos no es capaz de sustentar económicamente la expansión del núcleo familiar.

La mayor parte de los productores reside en el pueblo, en general se trata de personas de edad avanzada la que queda a cargo de la explotación del campo. En el pueblo poseen varios servicios; disponen de una cabina de teléfono pública y red de agua potable, no poseen red cloacal; la energía eléctrica proviene de la red pública provista por la empresa EJESA a lo largo de la Ruta Nacional N° 9. La comunicación telefónica es en general deficitaria, especialmente en los campos, aunque el reciente tendido de fibra óptica está colaborando con la facilitación y el mejoramiento de la comunicación a través del uso del celular e internet. (solo de la compañía Personal). Además, hay una escuela primaria, la Comisión Municipal, sala de primeros auxilios y policía. La accesibilidad a Puesto del Marqués es a través de Ruta Nacional N° 9, totalmente asfaltada.

Los campos hacia el naciente (sector húmedo), están dispuestos en paralelogramos semirectangulares con orientación este-oeste, perpendiculares a la ruta nacional que corre en sentido norte-sur, y equidistantes del pueblo a una distancia de hasta 7 kilómetros; mayoritariamente son de propiedad privada con títulos en situación jurídica irregular, con límites definidos (alambrados y/o empircados). Hacia el poniente, los fundos son en su mayor parte de propiedad comunitaria, sin límites definidos, con escasez de agua y se usan como reserva de forraje diferido para cuando se agota el recurso forrajero del sector principal. Como infraestructura productiva cuentan con dos a tres corrales de encierro empircados, que se emplean en la noche para proteger el ganado de predadores y disponerlos para el único ordeño diario en horas de la mañana, permaneciendo el resto del tiempo en pastoreo libre hasta el ocaso. Los fundos disponen además de una habitación precaria (sin energía ni agua), que sirve como refugio y el resguardo de algunos enceres. Los productores se transportan mayormente en bicicleta o motocicleta,

solo algunos poseen vehículo automotor precario. Desde el punto de vista socio productivo los productores mantienen una situación irregular de informalidad, tanto en lo que respecta a la producción primaria como a la comercialización de los productos (carnes y quesos), que se realizan principalmente en la feria campesina de la localidad de Abra Pampa distante a unos 20 kilómetros, todos los días sábado.

Para la percepción colectiva local, se diferencian los “Productores Grandes” que disponen de una superficie aproximada propia en promedio de 250 has., poseen entre 50 y 60 vacunos totales (criollos), unas 120 llamas y 80 ovejas en promedio. Los denominados “Productores Medianos” disponen de una superficie aproximada propia en promedio de 100 has, el rodeo bovino es de entre 20 a 25 cabezas, el de llamas aproximadamente de 60 cabezas y el ovino alcanza a 20. Es importante destacar que la mayoría de productores, complementan los ingresos de la actividad productiva, con el empleo público en la escuela y la Municipalidad de Puesto del Marqués.

Organización comunitaria

La Cuenca de Puesto del Marqués posee una organización comunal integrada por productores rurales de los distintos parajes que la conforman. La comunidad, como organización social, ha pasado por un proceso de reivindicación a partir de la aplicación de la ley nacional 24.071 que puso en vigencia el Convenio 169 de la Organización Internacional del Trabajo sobre Pueblos Indígenas y Tribales en países independientes, lo que le permitió el reconocimiento y aplicación de los programas de regulación de la tierra y obtener personería jurídica institucional para asumir su rol de comunidad originaria.

La comunidad cuenta con un concejo comunitario, el cual es el órgano de gobierno, se reúnen una vez por mes en asamblea, que congrega a toda la comunidad para tratar temas de interés para tomar en conjunto decisiones significativas. Las familias de los productores conforman redes sociales por parentesco, compadrazgo y vecindad que refuerzan su organización comunal. Un claro ejemplo de ello es *la minga*, que es una forma de trabajo cooperativo y voluntario que reúne a las familias y se basa en el sistema de relaciones, donde las familias colaboran recíprocamente unas con otras en las tareas.

Además del soporte comunitario, se cuenta con el apoyo de organismos gubernamentales y no gubernamentales que ejecutan acciones orientadas a mejorar el desarrollo de la cuenca lechera y el desarrollo agropecuario en general. Las instituciones más relevantes son el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y la Subsecretaría de Agricultura Familiar (SAF), también el Instituto de Investigación y Desarrollo para la Pequeña Agricultura Familiar (IPAF) del INTA en el NOA. Existen también organismos provinciales tales como: Ministerio de Desarrollo Económico y Producción de la provincia de Jujuy a través de la Secretaría de Desarrollo Ganadero. El organismo no gubernamental (ONG) más relevante es la Asociación de Pequeños Productores (APP)

Lógica productiva

Como la mayoría, si no todas, las actividades productivas campesinas de la Puna, analizadas desde la ortodoxia económica, la producción de leche bovina no es económicamente viable; pero existe y subsiste sustentada en otros valores, donde el entramado social y cultural es dominante respecto del meramente económico.

El sistema pastoril, tradicional forma de producción en la cuenca, y en general de toda la Puna Jujeña, se constituye en el eje central del entramado productivo asociado al territorio y la cultura, constituyéndose en una estrategia que posibilita asegurar el sustento y la permanencia de su modo de vida, en un espacio de aparente marginalidad productiva.

Los espacios territoriales, la forma de interacción con la sociedad y el sistema de producción imperante, evidencian claras diferencias con los sistemas productivos habituales de otras zonas de la provincia y el país, desde el mismo origen de la configuración de la estructura agraria; grandes extensiones de tierra, con aptitud agroecológica limitada debido a la rigurosidad climática, configuran procesos productivos extensivos y tradicionales orientados exclusivamente a la producción pecuaria.

La tenencia de la tierra en situación jurídica mayoritariamente irregular se complementa con otras formas de tenencia comunal, ello se conjuga con una escasa o casi nula inversión e incorporación de tecnología productiva, integrado a un sistema informal de producción y comercialización con

un importante componente de autoconsumo e intercambio.

El sistema productivo imperante es pecuario mixto, la cría de bovinos criollos para leche y la producción de quesos es la actividad de mayor importancia económica y la que ocupa el mayor tiempo de dedicación. En segundo término; y como actividad complementaria, se dedica a la cría de llamas principalmente para carne (por el escaso valor que se obtiene de la fibra), en un número limitado por la carencia de recursos forrajeros disponibles. Finalmente, y como actividad adicional, la cría de ovinos para carne completa el cuadro productivo de los fundos, siendo esta producción la que brinda alimento familiar cotidiano con ocasionales ventas del excedente al mercado.

Las explotaciones agrarias, se componen de un conjunto integrado de actividades pecuarias; que vinculado, apalanca la sustentabilidad de los sistemas productivos. Ese conjunto de particularidades comunes, mantienen la viabilidad y continuidad de la producción de los fundos. La cuenca lechera se presenta claramente diferenciada del resto de los sistemas productivos imperantes en la Puna, que tienen en la llama y el cordero la principal fuente de sustento y donde la cría de bovinos se presenta claramente como marginal e infrecuente. El habitante puneño sustenta la diversificación pecuaria basado en una filosofía que define patrones de valoración para las diferentes especies de animales; sin embargo, Puesto del Marqués, representa un caso singular respecto del resto de la Puna en cuanto a la proporcionalidad de especies pecuarias que mantienen sus sistemas.

El patrón de valoración pecuaria común adoptado por el campesino puneño, se presenta definido claramente en el trabajo desarrollado por Echazú et al, 2011, Caracterización y Diferenciación de los Sistemas Productivos en la Puna de Jujuy (Argentina):

"... Así la Llama tiene la característica de estar bien adaptada a la zona, no insumir demasiado tiempo de trabajo en relación a las otras especies y es un capital seguro que puede ser usado en un momento de contingencias de la familia. Es fuente de ahorro por su mayor valor como animal en pie y su fibra es preciada para la confección de artesanías, teniendo un fuerte significado cultural, como también mercantil. Su producción es estable y predecible ya que soporta las inclemencias climáticas y es

poco atacado por predadores por lo cual disminuye el riesgo, existen créditos y subsidios estatales que apoyan la actividad... Entre sus desventajas resaltan: su largo ciclo productivo con una gestación de 11 meses, los animales comienzan a producir a los 2 años y su esquila es bianual por lo cual se requiere de tiempo para ir incrementando la tropa en número, es un animal grande que dificulta su manejo para tareas de sanidad, esquila y carneo siendo estas tareas masculinas, su largo ciclo productivo impide obtener carne todos los meses ya que solo se pueden carnear unos pocos animales por año. La producción proveniente de la llama, sea carne, cuero o fibra suele orientarse parte al mercado (59 %) y el resto al consumo (41 %). El ganado Ovino constituye una especie a la que históricamente se ha apoyado desde las instituciones y organismos de desarrollo, y aunque en la actualidad esto haya cambiado hacia el apoyo a la ganadería camélida, queda en los productores una fuerte cultura ovina. Es una especie de tamaño pequeño que permite que sea cuidado o atendido diariamente por la mano de obra marginal (mujeres y niños). Es un ganado exigente en cuanto a sus requerimientos nutricionales siendo muy selectivo en cuanto a su dieta, requiere mayor atención ya que debe ser soltado y encerrado diariamente debido a su susceptibilidad a ser atacado por predadores o víctima de las bajas temperaturas. La calidad de los vientres es mala y los períodos de escasez de forraje los afectan de gran manera por lo que la producción es baja. A pesar de todas estas desventajas poseen un atributo por el cual las unidades deciden seguir criándolos, y se debe a su corto ciclo productivo. Los ovinos permiten tener dos pariciones por año, y más allá de los altos índices de mortandad que se registran este hecho favorece un rápido crecimiento del rebaño. Las ventajas asociadas a esta característica se basan en que le permiten a la unidad disponer de carne para autoconsumo y venta de forma mensual. La producción proveniente del ganado ovino, sea carne, cuero o fibra suele orientarse parte al mercado (72 %) y el resto al consumo (28 %). La cría de Caprinos constituye un caso muy especial que está fuertemente relacionado a las economías campesinas y al autoconsumo (75 % se orienta a la autosubsistencia). Sus ventajas son ampliamente expuestas por los productores, es un ganado pequeño del que se pueden ocupar mujeres y niños, es mucho más rustica que los ovinos en cuanto a su alimentación y hace un uso mucho más intensivo de los recursos forrajeros, se cría y pastorea junto a los ovinos utilizando los mismos corrales e instalaciones, el pastor cuida ovinos y caprinos

juntos. Pero sin duda la característica por la cual es elegida es la producción de leche, producto sumamente escaso en estas zonas aisladas de la Puna. Son las mujeres quienes más se inclinan a la cría de cabras, y usualmente cuando las explotaciones son manejadas por mujeres existen cabras, esto se debe a que el ordeño y la elaboración de quesos es una tarea completamente femenina. Al ser el riesgo el aspecto que más condiciona la ganadería desarrollada por estas economías campesinas tradicionales, la diversificación del mismo es el eje que rige sus estrategias. El rol de los animales en la diversificación del riesgo constituye un elemento a tener muy en cuenta en el análisis de los sistemas de producción: animales de cuerpo pequeño producen poco, pero también consumen poco. Bajo estas condiciones ambientales la selección animal no solo se determina por su rusticidad y adaptación, sino también por su capacidad para responder a las situaciones económicas particulares que el productor debe enfrentar..."

La particularidad de la zona de Puesto del Marqués, que la distinguen del resto de las otras zonas de la puna, es la adopción del ganado bovino criollo como principal actividad productiva, pero con una lógica de complementariedad basada en los patrones de valoración de diferentes especies descriptos precedentemente. Se destaca la ausencia de ganado caprino en las explotaciones, ya que, al disponer de fuente de leche bovina, el mismo se torna innecesario para la familia.

Indicadores técnico - productivos

La producción de la cuenca lechera de la Puna es cuantitativamente muy inferior a la de la cuenca tradicional de los Valles Templados, representando un porcentaje del 22,8 % en términos de leche fluida. Los indicadores técnicos de producción y productividad evidencian una notable disparidad.

Tabla 6. Indicadores Técnico-Productivos Comparativos. Año 2018

| Indicadores Técnico - Productivos | Jujuy Cuenca Valles | Jujuy Cuenca Puna |
|--|----------------------------|--------------------------|
| Promedio Vacas Totales (VT) | 84 | 42 |
| Promedio Vacas Ordeño (VO) | 45 | 17,1 |
| Promedio Superficie Lechera (Ha VT) | 95 | 191 |
| Carga Animal (VT/Ha) | 0,88 | 0,22 |
| Relación Productiva (VO/VT) | 53,9% | 40,7% |
| Producción Individual (Litros/VO día) | 15,7 | 1,23 |
| Producción Media x Tambo (L./día) | 709 | 21 |
| Productividad Tierra (L. Año/Ha VT) | 2.728 | 40 |
| Producción de la Cuenca (L/día) | 3.545 | 1049 |
| Producción de la Cuenca (L/año) | 1.293.925 | 383.040 |
| Relación Porcentual | 77,2% | 22,8% |

Fuente: Elaboración propia en base a procesamiento de información primaria.

Del cotejo de indicadores productivos, se puede analizar la marcada ineficiencia productiva de la Cuenca de la Puna, resultado predecible teniendo en consideración la diferente aptitud agroecológica entre las zonas, pero también la profunda asimetría en el empleo de la tecnología, el manejo y la inversión productiva. Sin embargo, como se verá posteriormente, la cuenca de la Puna resulta sustentable y redituable para el productor puneño.

Destaca del cuadro precedente la cantidad de vacas en ordeño comparada con la cantidad de vacas totales, atribuible a la ausencia de manejo productivo y reproductivo; ya que la frecuencia y oportunidad de las cruces es al azar, sin registro, aparte de animales, control de celo y preñez, secado programado y separación de cabezas por categoría. La enorme diferencia de la productividad individual (1.276 %), responde no sólo a la muy pobre disponibilidad de recursos forrajeros propios de la zona, sino también a la ausencia casi absoluta de suplementación con forrajes conservados o concentrados energéticos y proteicos. Un tambo de la Puna Jujeña en promedio produce 21 litros/día de leche.

Del análisis de los datos del cuadro N° 7, se destaca la distinción entre productores autodenominados grandes y medianos, los primeros con un promedio de 55 cabezas totales

(VT) y 22,5 en ordeño (VO), producen 1.440 quesos criollos anuales, con un ingreso bruto estimado para el período de USD 3.072. Los productores medianos detentan en promedio 22.5 VT y 9 VO, con una producción de 576 quesos criollos en el año y un ingreso bruto anualizado de USD 1.229.

En el conjunto la cuenca detenta una producción anual de 383.040 litros de leche fluida (1.049,42 litros /día), con 42 cabezas promedio por tambo (40.7 % en ordeño), en una superficie media de 191 hectáreas y con un ingreso bruto anual de U\$ 55.85 por cabeza (VT).

Tabla 7. Indicadores Productivos y Económicos – Cuenca de la Puna. Año 2018

| Cuenca Lechera Puesto del Marqués | | |
|--|-----------------|----------------|
| Datos Cuantitativos / Tipo de EAPs | Grande | Mediana |
| Cantidad Estimada de Establecimientos | 30 | 20 |
| Total Cantidad de Cabezas x Tambo | 55,0 | 22,5 |
| Cabezas en Ordeño x Tambo | 22,5 | 9,0 |
| Litros/día Promedio x Tambo | 27,6 | 11,0 |
| Promedio x Vaca (VT)/Año (litros) | 183 | |
| Promedio x Vaca (VO)/Día (litros) | 1,23 | |
| Promedio Pico x Vaca/Día (litros) Dic., Ene., Feb. | 1,87 | |
| Promedio Valle x Vaca/día (litros) Ago., Sep. | 0,62 | |
| Relación Productiva (VO/VT) | 40,7% | |
| Producción x EAP Quesos/Año | 1.440 | 576 |
| Producción x EAP Quesos/Semana | 27,69 | 11,08 |
| Ingreso Bruto x EAP/Semana (\$) | 2.215,38 | 886,15 |
| Ingreso Bruto x EAP/Semana (USD) | 59,08 | 23,63 |
| Ingreso x Vaca (VT)/Año (\$) | 2.094,55 | |
| Ingreso x Vaca (VT)/Año (USD) | 55,85 | |
| Carga Animal (Ha/Cabeza) | 4,55 | |
| Total Cabezas de la Cuenca | 2.100 | |
| Superficie Lechera de la Cuenca (ha) | 9.545 | |
| Superficie Promedio/EAPs | 191 | |
| Bovinos Promedio/EAPs | 42 | |
| Producción Leche Fluida de la Cuenca/Año (hl) | 3.830,40 | |

Fuente: Estimaciones de Elaboración Propia en Base a Información Primaria
Tasa de Cambio: \$ 37,50/US\$. Ref. Noviembre 2018. (*) EAP: Explotación Agropecuaria.

Desde el punto de vista macroeconómico la producción de leche y derivados de la cuenca tiene un bajo impacto para el sector, con limitado alcance territorial de mercado, conformando una parte menor de la cadena lechera provincial; pero con un notable impacto social para la localidad de Puesto del Marqués.

Analizado desde el enfoque puramente económico y maximalista, la actividad es de muy bajo rendimiento, con manifiestos índices de ineficiencia productiva, lo que evidenciaría un resultado deficitario en el abordaje analítico de la actividad con la concepción tradicional de los indicadores econométricos. Sin embargo, el análisis de sustentabilidad de los sistemas

productivos debe necesariamente ser enfocado e integrado con los aspectos socioculturales imperantes, relativizando los criterios de la ortodoxia económica, donde la racionalidad económica se integra con otras pautas sociales que componen un conjunto singular, otorgándole al sistema productivo una tradición histórica y afianzada sustentabilidad.

Entre las principales características que proveen un marco de estabilidad y sustentabilidad a la Cuenca de Puesto del Marqués, las cuales están vinculadas a pautas sociales y culturales que constituyen una cosmovisión particular de los actores sociales respecto de su relación con la tierra y la vinculación con la sociedad; se destacan:

a. Organización Social

Se manifiesta a través de una estructura organizativa territorial, abarcativa, comúnmente aceptada y validada por la práctica ancestral de conformación de un agrupamiento colaborativo con perfil solidario, donde se pone de manifiesto la problemática común y se toman decisiones por consenso. La representación es ejercida por el Comunero, elegido democráticamente, que sirve de nexo corporativo con las estructuras formales de administración para la gestión permanente de recursos y soluciones comunitarias, cuya representación es institucionalmente aceptada y con fuerte influencia y predicamento en la estructura local de gobierno. La organización mantiene reuniones periódicas y permanentes.

b. Fuerte componente de autoconsumo

El sistema productivo es la principal fuente de sostenimiento del consumo familiar, exclusivo para la provisión de proteína a través del consumo de carnes de diversas especies y subproductos, cuyos excedentes se destinan al intercambio y la comercialización para el aprovisionamiento de otros bienes no producidos, principalmente fuentes de hidratos de carbono, vestido, artículos varios y herramientas e insumos.

c. Costo laboral

No se valúa el trabajo familiar en término de costos, la familia trabaja a resultados, los jornales incorporados a la actividad productiva, en los hechos, no constituyen una carga para el resultado económico de la actividad. El concepto económico de costo de oportunidad del trabajo, se excluye del sistema productivo; posiblemente porque las oportunidades de trabajo son escasas o nulas en las explotaciones vecinas y donde pudieran existir, como en los centros más poblados, implicarían el traslado y abandono de la propia actividad, lo que además está reñido por pautas culturales de vinculación con la tierra de los actores.

d. Cargas fiscales

La ausencia conceptual de la obligación de formalizar el sistema productivo se evidencia en la informalidad económica de las actividades, prevaleciendo la carencia de inscripción de los establecimientos en AFIP y la Dirección Provincial de Rentas. Las operaciones comerciales que se realizan en el propio campo, en el pueblo, o en la feria comercial de Abra Pampa, se efectúan dentro del sistema informal no registrado, por lo que se evitan los costos asociados al mismo.

e. Recursos forrajeros

Escasa o nula inversión en pasturas implantadas. La crianza de animales se realiza casi exclusivamente sobre campo natural, siendo la cantidad y calidad de los recursos forrajeros muy variables dependiendo de la cuantía y distribución de la precipitación estival que se presenta con marcada diferencia entre temporadas. La productividad del ganado es también irregular dependiendo de las precipitaciones, no existiendo infraestructura de riego por escasez de agua superficial, sólo se practican aguadas para mantener el ganado en época estival, el resto del año se traslada la hacienda al sector Este de los campos, atravesado por el río Miraflores que provee escaso recurso hídrico en la época de estiaje, dejando sin agua de bebida a los campos ubicados aguas abajo.

La inversión en pasturas implantadas la realizan solo algunos productores en lotes de 3 a 5 hectáreas cada cinco años (1 % de la superficie de los campos). En general, puede establecerse que el recurso forrajero no constituye un costo o es de muy bajo impacto. Lo que el campo natural brinda, es mayormente lo que el ganado tiene como recurso fresco en verano/otoño o diferido en invierno/primavera.

2. CUENCA LECHERA DE LOS VALLES TEMPLADOS

Los productores y la empresa

Todos los productores desarrollan la actividad a través de empresas formales y unipersonales. Se caracterizan por ser reacios al financiamiento externo, disponiendo todos de capital propio para la explotación agropecuaria. El 40 % obtiene sus ingresos exclusivamente de la actividad lechera; mientras que el resto, posee además ingresos provenientes de otras actividades comerciales.

El 60 % de las explotaciones dispone de ganado bovino para leche y carne, con énfasis principal en la producción de leche; el resto tiene al tambo como única actividad productiva. No se verifica participación familiar en el trabajo de las empresas. La planta de personal está conformada tanto por empleados permanentes (máximo 7, mínimo 2), como personal contratado (máximo 5, mínimo 1).

La explotación agropecuaria (EAP)

a. Superficie destinada a lechería

Las explotaciones agropecuarias de la cuenca totalizan una superficie de 474 ha. destinadas a la actividad lechera. La superficie promedio de los tambos es de 95 ha, siendo la mayor de 208 ha y la menor de 50 ha.

Todos los productores detentan la propiedad de tierra donde se desarrolla la actividad, sólo uno arrienda una superficie complementaria para la explotación.

b. Existencias ganaderas

El total de rodeo relevado de la cuenca es de 419 bovinos para leche. El promedio del rodeo es de 84 VT, con un mínimo de 36 y un máximo de 200 cabezas.

La raza predominante en todas las producciones es la Holando/Holstein. El 40 % declara que además posee lecheras cruza con Jersey. El mayor productor de la cuenca además posee ganado Montbeliarde.

c. Instalaciones e Infraestructura

Todas las EAP están alambradas y disponen de agua (80% agua empadronada).

El 80 % de los tambos dispone de galpones con antigüedad mayor a 10 años, con una superficie promedio de 150 m², con un mínimo de 86 m² y un máximo de 200 m².

La mayoría de los tambos posee energía eléctrica; destacándose uno sólo caso que se aprovisiona a través de paneles solares y grupo moto generador.

Respecto de la conectividad, el 40 % presenta ausencia o ineficiencia de infraestructura en comunicaciones. La mayoría manifiesta tener acceso a las comunicaciones e internet mediante el uso de telefonía móvil cuando la red lo permite. La accesibilidad vial es buena.

Manejo del sistema productivo

a. Alimentación del rodeo

La alimentación es uno de los factores de mayor impacto económico en los tambos. Los establecimientos se caracterizan por poseer pasturas naturales y pasturas implantadas (41 % de la superficie total).

La base forrajera de todos los establecimientos es la alfalfa, complementada con gramíneas durante todo el año. Además, todos suplementan con cereales y la mayoría complementa con afrecho de trigo.

El 60 % utiliza suplementación al momento del ordeño, siendo el más común expeler de soja combinado con maíz y un núcleo vitamínico/mineral; mientras que el 40% utiliza forrajes conservados (heno, silaje de sorgo y bagazo de citrus).

b. Sanidad

Respecto del mantenimiento sanitario del rodeo, todos los establecimientos vacunan contra la fiebre aftosa, brucelosis y desparasitan los animales.

Todos realizan un buen proceso de preparación para el ordeño, efectuando el cuidado e higiene de las ubres. El cuidado de este aspecto es clave para los productores a fin de garantizar la salud del ganado, prevenir enfermedades y obtener leche de calidad.

Aspectos técnico - productivos

El promedio por tambo es de 45 cabezas en ordeño (VO), extremos de 20 y 114 cabezas, mínimo y un máximo respectivamente.

La relación productiva promedio del rodeo es del 54 % (VO/VT), con extremos de 75 % y 38 %. En promedio, los establecimientos detentan una carga animal de 0.88 VT/ha.

a. Producción

La producción total de la Cuenca de los Valles Templados se ha estimado en 1.293.925 litros de leche por año. La producción diaria promedio de la cuenca asciende a 3.545 litros. La producción promedio por tambo se ha estimado en 709 litros por día, con un mínimo de 240 y un máximo de 1800 litros diarios.

El promedio productivo por animal es de 15.7 L./ día, con extremos de 12.0 y 18.3 L.

b. Tratamiento de la leche

El mayor productor de la cuenca, es el único que realiza el proceso de enfriamiento de la leche luego del ordeño mediante tanques refrigerados, además es el único que realiza el proceso de pasteurización, representando su producción el 51 % de la cuenca (1800 L./ día).

Por otra parte, un 14 % de la leche es sometida a un proceso de semi-enfriado con agua de pozo. El 35 % de la leche restante, no se enfría. En la mayoría de los casos la temperatura de extracción de la leche es aprovechada para iniciar el proceso de elaboración de subproductos, los cuales se realizan en los propios establecimientos.

c. Elaboración de productos lácteos

Del total de leche diaria producida por la cuenca, en promedio se procesa el 84,6 % (2.998 litros), mientras que el 15,4 % restante (547 litros), se comercializa como leche fluida semi-enfriada para consumo directo.

Tabla 8. Destino Promedio de la Producción Diaria – Cuenca Valles – Año 2018

| Destino de la Producción Cuenca Valles | Litros/día | (%) | Proceso (%) |
|--|------------|------|-------------|
| Leche a Consumo Directo | 547 | 15,4 | - |
| Leche a 3ros Elaboradores | 624 | 17,6 | 84,6 |
| Leche a Proceso Propio | 2.374 | 67,0 | |
| Total | 3.545 | 100 | 84,6 |

Fuente: Estimaciones de Elaboración Propia en Base a Información Primaria

El 80 % de los tambos procesa una parte de la producción en el propio establecimiento, todos elaboran quesos criollos con sal, con un rendimiento que varía entre 8:1 y 10:1 (litros de leche por kilogramo de producto elaborado), según el tipo de producto, la técnica de producción y el tenor graso de la leche. Solo un establecimiento, aditiva el queso criollo con especias (orégano, pimienta negra y ají).

Además del queso criollo, el 40% elabora quesillos, el 20 % cuajada y el 20 % otros tipos de productos (cremoso, tybo, sardo y dulce de leche).

La comercialización

a. Canal de comercialización

Solo el establecimiento de mayor escala de la cuenca y de la provincia, ha desarrollado un canal de comercialización propio de venta directa al público de productos elaborados, los mismos se localizan en la ciudad Capital, Palpalá, Perico y Monterrico. Además, es el único productor de la provincia que desarrolló una marca propia ("Nene Echenique").

La mayor parte de la leche para consumo directo se comercializa en un expendio de la ciudad capital en forma directa y a través de distribuidores.

El 60 % de los tambos vende productos elaborados en el propio establecimiento (queso criollo), y comercializa leche a terceros elaboradores (principalmente de quesillo), en forma directa.

b. Precios de los productos

Con la finalidad de dotar a la información de precios de una mejor proyección en el tiempo, los precios corrientes en pesos se han convertido a dólares estadounidenses, a la tasa de cambio correspondiente al momento de realizar el relevamiento en cada uno de los establecimientos; de esta manera, se procura sostener la vigencia temporal de la información recabada. Los precios expresados son un promedio de los establecimientos de la cuenca y refieren a los productos de mayor demanda.

Los precios de venta promedio declarado por los productores, y dolarizado para este estudio son: Queso criollo, USD 5.99/kg. (máximo 7.05 – mínimo 4.90). Para la leche fluida, USD 0.54/litro (máximo 0.60 – mínimo 0,45).

Tabla 9. Indicadores Productivos y Económicos. Cuenca Valles Templados – Año 2018

| Cuenca Lechera Valles Templados | |
|--|------------------|
| Datos Cuantitativos | |
| Cantidad de Establecimientos Permanentes | 5 |
| Promedio Cabezas/Tambo (VT) | 84 |
| Promedio Cabezas Ordeño/Tambo (VO) | 45 |
| Litros/día Promedio x Tambo | 709 |
| Promedio por Vaca (VT)/Año (litros) | 3.088 |
| Promedio por Vaca (VO)/Día (litros) | 15,7 |
| Relación Productiva (VO/VT) | 53,9% |
| Ingreso Bruto Promedio EAP/día (USD) | 365,5 |
| Ingreso x Vaca (VT)/Año (USD) | 318,36 |
| Carga Animal (Ha/Cabeza) | 1,13 |
| Total Cabezas de la Cuenca | 419 |
| Superficie Lechera de la Cuenca (ha) | 474 |
| Superficie Promedio/EAPs | 95 |
| Producción Leche Fluida de la Cuenca/Año (hl) | 12.939,25 |

Fuente: Estimaciones de Elaboración Propia en Base a Información Primaria

Los productores de esta cuenca mantienen una concepción individualista de la actividad, con distintos sistemas productivos y grados de integración hacia el mercado; éstas características han sido constantes a lo largo de la historia de la cuenca, teniendo como resultado un volumen de producción inelástico e inconveniente para promover el crecimiento y desarrollo del sector. Resulta evidente, que la producción local necesita una reformulación integral, tendiente a cubrir las importantes oportunidades que ofrece la demanda de consumo, ya que actualmente ocupa una proporción de menor significación.

En los últimos años se ha percibido un esfuerzo para motorizar un proceso de integración vertical de la cadena productiva. Impulsado por el sector privado y el estado provincial, ha sido constituida en diciembre de 2017, la Mesa Lechera con integración interinstitucional, tendiente a gestionar un plan de desarrollo que incluye la refuncionalización de una vieja usina láctea en desuso ubicada en la zona de Perico, y otras

acciones de desarrollo. Habiendo transcurrido casi dos años de este hecho, no se visualizan resultados evidentes, al menos en los objetivos temporales que se habían planteado en aquella oportunidad. (Ver Anexo 1).

CONCLUSIONES

La marcada asimetría entre producción y consumo local, representa el indicador básico para gestionar una estrategia sectorial de crecimiento, procurando la sustitución de una mayor proporción de leche fluida y derivados que se consumen de producciones de extra zona, con la consiguiente ventaja del fortalecimiento del circuito económico local, una mejor contribución de la actividad al producto bruto geográfico y un mayor empleo de los factores productivos, especialmente la demanda de recursos humanos.

Resulta evidente que dicho propósito implicará el desarrollo de una visión sistémica del sector con inclusión, entre otros aspectos, de inversiones en la industria de procesamiento para el agregado de valor, mejoramiento e inclusión de tecnología en los sistemas productivos, incremento de las capacidades locales en RRHH, desarrollo de sistemas de distribución, y un mayor involucramiento de las instituciones gubernamentales y de la academia; esto especialmente para la cuenca de los Valles Templados.

Los desafíos para el desarrollo de la cuenca lechera de la Puna conjeturan lograr un cambio en el sistema productivo y comercial, supone el desarrollo de valor, donde el objetivo primordial es hacer de la cuenca un sistema productivo eficaz y eficiente, más allá de una economía de subsistencia. Los campos de trabajo para los referentes técnicos y sociales de la localidad deberían enfocarse en la búsqueda de mayor productividad, principalmente en temas inherentes al manejo del rodeo, sanidad, cargas por unidad de superficie, implantación de forrajes, suplementación estratégica, experimentación adaptativa de cruces y el correspondiente estudio de resultados técnicos y económicos. En lo atinente al procesamiento de la materia prima resultan prioritarios desarrollos orientados a la inocuidad y seguridad alimentaria, eficiencia de procesos y conservación. En el ámbito comercial, las oportunidades de mejora involucran desarrollos del empaque, marcas, transporte y redes de distribución de mayor alcance que suponen un agregado de valor al producto final.

Los datos resultantes de este estudio inédito para la provincia, permitirán conocer la importancia económica y social del sector lácteo, constituyendo un valioso aporte como punto de partida para el diseño de políticas activas por parte del gobierno provincial, el diseño de proyectos

y planes de las instituciones técnicas de órbita nacional, la universidad e información de base para las instituciones intermedias en la gestión de apoyo.

BIBLIOGRAFÍA

- Alcoba, L; Chávez, M. F (2014). Caracterización Socio Productiva de la Agricultura Familiar en el NOA – Provincia de Jujuy. IPAF NOA – INTA. Jujuy.
- Cardin, Romina; Iturregui, María Eugenia (2016). Informes de Cadena de Valor. Láctea. Año 1 – N° 22. Ministerio de Hacienda y Finanzas Públicas de la Nación.
- Cristiano, G; Matamala, R; Lucherini, M; Tellaeché, C. (2014). La Puna Jujeña: Breve Análisis Sobre Una Nueva Configuración Productiva y Laboral. III Jornadas Nacionales Sobre Estudios Regionales y Mercados de Trabajo. UNJu – FCE Y FCHYS y Red SIMEL, San Salvador de Jujuy.
- Galetto, Alejandro (2018). Diagnóstico Competitivo del Sector Lácteo Argentino. Observatorio de la Cadena Láctea Argentina. Fundación PEL.
- Gastaldi, L; Cuatrin, A; Maekawa, M; Litwin, G; Marino, M; Centeno A; Moretto M (2018). Lechería Pampeana Resultados Productivos. Encuesta Lechera 2016-2017. INTA
- Hair, J., Bush R. y Ornitau D (2004). Investigación de mercados. Mc Graw Hill.
- Paz, R.; Lamas, H; Echazú, F; Sosa Valdéz, F; Califano, L. (2011). Diversidad, Mercantilización y Potencial Productivo de la Puna Jujeña (Argentina). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental INTA Abra Pampa.
- Quintana, José; Nieto, Daniel; Scala, Eugenio (2008). Estado de situación de la Trama Láctea del Norte Argentino, identificación de las problemáticas y propuesta de áreas estratégicas y líneas de acción para su desarrollo. FAO – SAGPyA.
- Taverna, Miguel (2010). Programa Nacional de Leches. INTA.

Zikmund, W. y Babin B. Investigación de mercados (2007). Cengage Learning.

ANEXO 1

<https://jujuyeconomico.com.ar/index.php/jujuy/item/113-jujuy-produce-solo-el-2-de-la-leche-que-consume>

JUJUY PRODUCE SOLO EL 2% DE LA LECHE QUE CONSUME | Por [Jujuy Económico](#) Abril 13, 2018

En la provincia actualmente se consumen 225.000 litros de leche a diario en todas sus variedades mientras que la producción no llega ni a 5.000 litros. La iniciativa de la Cuenca Lechera planifica empezar con 15.000 litros y un horizonte a 5 años para llegar a los 50.000 litros que se colocarán al mercado local.

Rubén Grosso, productor ganadero y miembro de la comisión directiva de la Unión de Empresarios de Jujuy (UEJ), aportó el dato: “en nuestra provincia actualmente se consumen 225.000 litros de leche diaria en todas sus variedades, como quesos, yogures y sus derivados procesales”.

Pero el sector lechero de Jujuy no llega a producir ni 5000 litros diarios, por lo que el primer paso es promover el funcionamiento del mercado local.

“El gobierno actual tiene mucha voluntad para que se concrete el proyecto de la Cuenca Lechera. La visión política que tuvo Gerardo Morales fue tratarlo y ponerlo en marcha”. En este sentido agregó que tienen un contacto fluido con la Dirección de Lechería de Nación, a cargo de Alejandro Sanmartino, el Ministerio de Desarrollo Económico y Producción y con la secretaria provincial de Desarrollo Productivo, Patricia Ríos.

Destacó que el acuerdo con el Estado responde a un pedido histórico del sector productivo para impulsar la producción de leche pasteurizada y otras líneas afines. “El objetivo es tener instalado los tambos con las vacas aquí en nuestra provincia en el 2019”.

Grosso remarcó que uno de los conceptos que debe primar en este proyecto es el asociativismo: “un tambero solo no puede producir la cantidad para hacer volumen y alimentar un mercado. Por eso, se busca reunir a varios

productores y así abastecerlo”.

La propuesta de la Cuenca Láctea es, a corto plazo, conformar una Sociedad Anónima que antes de mediados de año esté lista para la construcción del “mega tambo”. Entre marzo o abril de 2019 llegarían las primeras vacas.

El proyecto busca generar 1000 puestos de trabajo, de manera directa e indirecta, y así reactivar la economía jujeña.

Por último, el productor ganadero indicó que “la idea es poder producir leche en Jujuy y proveer en escuelas y comedores, para así beneficiar la producción local”.

<https://www.noticiasagropecuarias.com/2017/12/28/11171/>

SE CONFORMÓ LA MESA LECHERA DE JUJUY | Por Gabriel Quaizel - 28 Diciembre 2017

Se quiere ampliar la cuenca lechera para producir 70.000 litros de leche en cinco años. Actualmente en toda la provincia se elaboran 5.000 litros con cuatro tambos funcionando.

JUJUY (NAP). El gobierno de Jujuy con instituciones privadas, el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria y el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria conformaron la Mesa Provincial Lechera, que busca impulsar la producción pasteurizada y producir 70.000 litros de leche diarios en los próximos cinco años.

“La Mesa era un gran sueño para el sector porque da un marco de institucionalidad a la actividad y, además, los objetivos propuestos entre el sector privado y público para las actividades apuntan a ser rentables y sustentables en el tiempo”, dijo el secretario de la Unión de Empresarios de Jujuy, Rubén Grosso.

La lechería en esta provincia argentina se compone de solo 4 tambos que producen 5.000 litros diarios.

“Hay que mejorar el volumen con 3.000 vacas en ordeño y la creación de nuevos tambos, la puesta en funcionamiento de una usina láctea y el desarrollo de la cadena productiva y comercial”, destacó Grosso.

La Mesa Lechera convocó a articular esfuerzos y fijar condiciones de trabajo con los productores para el crecimiento de la actividad. En la presentación estuvo el subsecretario nacional

de Lechería, Alejandro Sammartino.

La oficialización del acuerdo responde a un pedido histórico del sector productivo para impulsar la producción de leche pasteurizada y otros objetivos afines, informaron fuentes del Ministerio de Desarrollo Económico y Producción de Jujuy.

El ministro Juan Carlos Abud Robles señaló que la Mesa era algo que piden “muchos productores, pero nunca se concretaba; ahora Jujuy tiene perspectivas”.

“Buscamos que, en lugar de que la provincia compre leche a empresas de afuera, sean nuestros productores los que realicen la provisión de la leche escolar”, expresó el funcionario.

La Mesa Lechera está integrada también por la Unión Empresarios de Jujuy, la Sociedad Rural local, la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de la provincia, el Inta Perico, el Inti, el Senasa y productores.



Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional

FERMENTACIONES MIXTAS CON LEVADURAS AUTÓCTONAS Y ANÁLISIS FÍSICO, QUÍMICO Y SENSORIAL DE LOS VINOS PRODUCIDOS DE VIÑEDOS DE LA LOCALIDAD DE TUMBAYA Y HUMAHUACA

MIXED FERMENTATIONS WITH NATIVE YEASTS AND PHYSICAL, CHEMICAL AND SENSORY ANALYSIS OF WINES PRODUCED IN VINEYARDS LOCATED IN TUMBAYA AND HUMAHUACA TOWNS

Mariana Graciela Bitancor¹, Amalia María Ortega^{1*}, Ezequiel Lamas¹, Cristian Burgos¹ y Alfredo Agüero¹

¹Facultad de Ciencias Agrarias, UNJu. Alberdi 47 San Salvador de Jujuy, Jujuy, Argentina. C.P. 4600.

*Autor para correspondencia:
ortegamariadelosangeles@
hotmail.com

Licencia:
[Licencia Creative Commons](#)
[Atribución-NoComercial-](#)
[CompartirIgual 4.0 Internacional](#)

Período de Publicación:
Julio 2020

Historial:
Recibido: 24/11/2019
Aceptado: 23/03/2020

RESUMEN

El objetivo fue desarrollar nuevos procesos fermentativos que contribuyan a la diferenciación y tipicidad de los vinos elaborados en la Quebrada de Humahuaca, Jujuy. Se utilizaron las levaduras aisladas y seleccionadas de uvas tintas en estudios previos como cultivos iniciadores. Se co-inocularon las cepas *Saccharomyces cerevisiae* (Sc), QH5, QH12, QH42 y QH59, y la cepa *Metschnikowia pulcherrima* QH41 (Mp). Los ensayos se realizaron por triplicado con inóculos de 10^6 células/mL, en 500 mL de mosto de la variedad Malbec, siguiendo 2 modalidades de cultivo: cultivo puro con cada cepa (Sc) como control, y cultivo mixto con inoculación de (Sc) correspondiente y la cepa no-*Saccharomyces* (Mp). Se analizaron parámetros físico-químicos convencionales y grado de aceptabilidad. En los ensayos realizados, se aprecian diferencias físico-químicas y organolépticas en los vinos elaborados. La fermentación mixta (ScQH12 + MpQH41) aportó de manera general mayor calidad y tipicidad al vino, con un grado de aceptación del 80%. Los parámetros analizados son similares a la cepa control (pH $3,54 \pm 0,03$, acidez total $6,15 \text{ g/L} \pm 0,04$, acidez volátil $0,33 \text{ g/L} \pm 0,02$, grado alcohólico $8,5\%v/v \pm 0,22$). Por lo tanto, las estrategias de inoculación propuestas en este estudio permitirían un acercamiento hacia la producción de vinos que conserven las propiedades típicas de la región y de la cultura que los producen. Combinar los adelantos tecnológicos con prácticas artesanales es un punto de partida para innovar con valor agregado en un mercado tan competitivo como el actual. Estos ensayos son pioneros en los estudios de cultivos asociados con levaduras autóctonas de la región.

Palabras clave: cultivo mixto, Jujuy, levaduras autóctonas, no-*Saccharomyces*, *Saccharomyces cerevisiae*, vinos de altura.

SUMMARY

The objective was to develop new fermentative processes that contribute to the differentiation and typicity of wines made in the Quebrada de

Humahuaca, Jujuy. Isolated and selected yeasts of red grapes were used in previous studies as starter cultures. The *Saccharomyces cerevisiae* (Sc), QH5, QH12, QH42 and QH59 strains, and the *Metschnikowia pulcherrima* QH41 (Mp) strain were co-inoculated. The assays were performed in triplicate with 10^6 cell/mL inoculums, in 500 mL of must. Malbec variety, following 2 cultivation modalities: pure culture with each strains (Sc) as a control, and related mixed culture with inoculation of (Sc) and the non-*Saccharomyces* (Mp) strain. Conventional physical-chemical parameters and degree of acceptability were analyzed. In the tests carried out, physical-chemical and organoleptic differences can be seen in the wines produced. The mixed fermentation (ScQH12 + MpQH41) contributed in a general way higher quality and typicity to the wine, with an 80% acceptance degree. The analyzed parameters are similar to the control strain (pH 3.54 ± 0.03 , total acidity $6.15 \text{ g/L} \pm 0.04$, volatile acidity $0.33 \text{ g/L} \pm 0.02$, alcoholic strength $8.5\% \text{ v/v} \pm 0.22$). Therefore, the inoculation strategies proposed in this study would allow an approach to wine making that preserves the typical properties of the region and the culture that produces them. Combining technological advances with artisanal practices is a starting point to innovate with added value in a competitive market as the current one. These are pioneering trials in studies of crops associated with native yeasts in the region.

Keywords: Jujuy, mixed culture native yeasts, non-*Saccharomyces*, *Saccharomyces cerevisiae*, wines of height

INTRODUCCIÓN

La fermentación del vino es un proceso bioquímico complejo, por el cual los azúcares procedentes de la uva se transforman, debido a la acción de las levaduras, fundamentalmente en etanol, dióxido de carbono y muchos metabolitos volátiles, que siendo minoritarios, determinan fundamentalmente la calidad final del vino y su características organolépticas (Ciani y otros, 2010).

En la etapa inicial de la fermentación espontánea, podemos encontrar principalmente en las superficies de las uvas, levaduras del género no-*Saccharomyces*, como *Hanseniaspora*, *Candida*, *Metschnikowia*, *Pichia*, *Hansenula*, *Rhodotorula*, y *Kluyveromyces*, ocasionalmente especies del género *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Debaryomyces*, *Issatchenkia*, *Zygosaccharomyces*, *Saccharomycodes*, *Torulaspora*, *Dekkera*, *Schizosaccharomyces* (Jolly y otros, 2014; Fleet, 2008). A medida que la fermentación avanza, aumenta el contenido de etanol, baja el pH y la presencia de SO_2 favorecen el dominio de las levaduras del género *Saccharomyces* que llevan a término el proceso (Capece y otros, 2011; Jolly y otros, 2003; Pretorius, 2000; Esteve-Zaroso y otros,

1999).

Tradicionalmente las levaduras no-*Saccharomyces* se consideraban de importancia secundaria o levaduras indeseables de deterioro (Padilla y otros, 2016; Batt y Tortorello, 2014). Sin embargo, en fermentaciones mixtas, algunos caracteres enológicos negativos de las levaduras no-*Saccharomyces* no se expresan o pueden ser modificado por *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) (Bely y otros, 2008). Por esta razón, para simular la fermentación natural del mosto y potenciar el *terroir*, se está empezando a estudiar el uso de cultivos mixtos con inoculaciones secuenciales de levaduras seleccionadas autóctonas no-*Saccharomyces* y cepas de *S. cerevisiae*.

Varios autores como, Capozzi y otros, (2019) realizaron co-inoculaciones en mostos de la variedad negroamaro, típica de la región de Apulia, Italia. Obtuvieron como resultado vinos con una mayor concentración de ésteres, mayor producción de alcoholes superiores y ácidos, que durante el almacenamiento o envejecimiento de los vinos pueden sufrir esterificación con los alcoholes superiores, aumentando así el aroma frutal en

los vinos. A su vez Binatia y otros (2019) evaluaron estrategias de fermentación mixta destinadas a mejorar la calidad general del vino regional. Las cepas de *S. bacillaris* mostraron una alta tolerancia al etanol y al aumento de la producción de glicerol, *L. thermotolerans* redujo la acidez volátil y *Metschnikowia spp.* exhibió notables actividades enzimáticas relacionadas con el aroma, todas las características buscadas en la elaboración de vino.

Chen y otros (2018) demostraron que la levadura *Schizosaccharomyces pombe* es eficaz para reducir el contenido de ácido málico mientras aumenta el nivel de piranoantocianina vinilfenólica, lo cual mejora el color del vino, la composición de antocianinas y la complejidad de los compuestos volátiles. Comitini y otros (2011), publicaron que la mayoría de las levaduras no-*Saccharomyces* liberan manoproteínas y glicerol, lo cual disminuye el contenido en etanol y contribuyen a la estabilidad del color.

También existen estudios que demuestran que las levaduras no-*Saccharomyces*, en comparación con *S. cerevisiae*, producen y secretan gran cantidad de enzimas, (esterasas, lactonas, lipasas, celulasas y proteasas, entre otras), que degradan ciertos componentes del mosto mejorando aspectos tecnológicos como maceración, filtración, clarificación, reducción en la producción de alcohol (Varela y otros, 2016; Morales y otros, 2015; Contreras y otros, 2015), la presencia de enzimas β -glicosidasas son relevantes por su capacidad de transformar los compuestos no volátiles en aromas volátiles a través de su acción enzimática (Ciani y otros, 2010; Carrau y otros, 2005). Si bien, las levaduras *Saccharomyces* poseen estas enzimas, las levaduras no-*Saccharomyces* son más eficientes en el uso de éstas, como es el caso de los géneros *Pichia*, *Metschnikowia*, *Debaryomyces*, *Candida* (Fernández y otros, 2003).

La Quebrada de Humahuaca es una región histórica e importante en la producción de vino regional en la provincia de Jujuy, con una producción anual de 123 hectolitros de vino de la variedad malbec (Instituto Nacional de Vitivinicultura). Es un lugar excepcional para la explotación de la vitivinicultura, por su potencial climático, la altísima luminosidad y radiación, la pureza del aire, su suelo, la altura y variedades de uvas, que son la base para elaborar un producto de calidad, características que dan como resultado vinos tintos con alto contenido de alcohol y estabilidad de color y notas frutales. En los últimos

años aumentaron los productores que desean incluir, dentro de sus sistemas productivos, la actividad vitivinícola para la elaboración de vinos artesanales como una alternativa socio-económica viable, desde los 90 se encuentran nucleados bajo la Asociación de Vitivinicultores de la Quebrada de Humahuaca, integrada actualmente por 130 productores de Purmamarca, Maimará, Chañarcito, Tumbaya, Tilcara, Santo Domingo-Perico, Chuculezna, Perchel, Humahuaca (Asociación de Vitivinicultores de la Quebrada de Humahuaca).

Ahora bien, la utilización de las levaduras nativas en el proceso de vinificación, no sólo permite potenciar el carácter de los *terroirs* jujeños, sino, también controlar el proceso de fermentación, ya que estas levaduras podrían poseer las características para ajustarse a las condiciones geo-botánico-climatológicas de la región y la composición del vino (Llanos, 2003). Más importante aún, pueden influir en gran medida en los perfiles finales del aroma del vino, generando un carácter regional único que permitirá a los viticultores adaptar los vinos a un mercado tan exigente como el actual (Capozzi y otros, 2019; Suranská y otros, 2016; Maturano y otros, 2012; Jolly y otros, 2006; Combina y otros, 2005).

Por lo tanto, en el presente trabajo se desarrollaron nuevas estrategias de fermentaciones mixtas, utilizando como cultivos iniciadores levaduras autóctonas y seleccionadas del género *Saccharomyces* y no-*Sacharomyces*, que puedan mejorar las características analíticas y sensoriales de los vinos de la región. Este estudio es la primera investigación sobre este tema.

MATERIALES Y MÉTODOS

En este estudio, se utilizaron levaduras seleccionadas por sus características enológicas eficientes en estudios previos: *Metschnikowia pulcherrima* QH41 y 5 cepas de *Saccharomyces cerevisiae* QH 5, QH12, QH42, QH59 y QH61 (Sc con el correspondiente código) aisladas en viñedos de la localidad de Tumbaya y Humahuaca, Jujuy.

Los ensayos se realizaron por triplicado con inóculos de 10^6 células/mL en recipientes con 500 mL de mosto pasteurizado de la variedad malbec, a 25 °C siguiendo tres modalidades de cultivo:

- Cultivo puro (p) de cada una de las cepas *S. cerevisiae* analizada.

- Cultivo mixto (m) con inoculación simultánea de no-*Saccharomyces* y las cepas *S. cerevisiae* correspondiente.

- Cultivo control con *Sacharomyces cerevisiae* comercial.

Se agregó metabisulfito a las fermentaciones, con el fin de comparar su comportamiento con la fermentación realizada en bodega, y el efecto del metabisulfito sobre la dinámica de población de levaduras.

La evolución de la fermentación se monitorizó mediante medida de los grados Brix.

Se determinaron en el mosto los parámetros: grados Brix, pH, acidez total. Mediante métodos oficiales (OIV, 2014). Parámetros establecidos para mosto según la OIV: pH: 5 y 6, Acidez 3,5-10 g/L, °B: 20 – 25.

En el vino elaborado se determinaron los parámetro: grado alcohólico, grados Brix, densidad, acidez total, acidez volátil y pH, mediante los métodos oficiales (OIV, 2014).

El análisis sensorial para determinar el parámetro de aceptación de los vinos elaborados aceptación se realizó mediante cata con un panel de 50 personas no entrenadas, donde el parámetro evaluado fue el gusto. Los resultados finales se expresarán en porcentaje de aceptación.

Análisis Estadístico

Los parámetros estudiados se analizaron mediante análisis de las desviaciones estándar y las diferencias significativas con el software InfoStat versión 2017 (Di Rienzo y otros, 2017).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis químicos del mosto

Los resultados de los análisis químicos básicos realizados al mosto, arrojaron como resultado para acidez total, un promedio de 4,76 g/L y para pH, un promedio de 5. Los valores de los grados Brix se pueden observar en la Tabla 1. Estos resultados señalan que el mosto cumplía con los valores establecidos por la OIV.

Los resultados analíticos y la valoración organoléptica de los vinos elaborados se pueden observar con mayor detalle en la Tabla 1 y Figura 1, respectivamente.

Tabla 1. Resultados analíticos de los vinos resultantes de los cultivos puros y mixtos

| Parámetros estudiados | LSA | QH5 + QH41 | | QH12 + QH41 | | QH42 + QH41 | | QH59 + QH41 | | QH61 + QH41 | |
|-----------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | control | p-Sc | m-Sc |
| ºBrix inicial | 21,00 | 20,50 | 20,50 | 19,00 | 19,00 | 19,00 | 19,00 | 19,00 | 19,00 | 21,00 | 21,00 |
| ºBrix final | 7,20 | 5,25 | 5,50 | 6,00 | 4,50 | 5,50 | 5,00 | 5,00 | 4,50 | 6,50 | 7,00 |
| pH | 3,92 (0,00) | 3,70 (0,01) | 3,73 (0,00) | 3,97 (0,02) | 3,54 (0,03) | 3,92 (0,03) | 3,93 (0,00) | 3,70 (0,00) | 3,87 (0,00) | 3,74 (0,01) | 3,72 (0,04) |
| Acidez Total (g/L) | 4,38 (0,01) | 5,30 (0,04) | 5,40 (0,00) | 3,22 (0,01) | 6,15 (0,04) | 3,60 (0,06) | 3,67 (0,01) | 4,80 (0,01) | 3,90 (0,11) | 5,10 (0,02) | 5,06 (0,22) |
| Acidez Volátil (g/L) | 0,15 (0,01) | 0,25 (0,05) | 0,38 (0,00) | 0,29 (0,01) | 0,22 (0,02) | 0,11 (0,01) | 0,15 (0,00) | 0,85 (0,01) | 1,50 (0,02) | 0,97 (0,00) | 0,75 (0,02) |
| Grado alcohólico %v/v | 8,50 (0,01) | 9,00 (0,22) | 8,85 (0,01) | 7,67 (0,41) | 8,56 (0,22) | 7,97 (0,05) | 8,26 (0,77) | 8,26 (0,28) | 8,56 (0,06) | 8,56 (0,13) | 8,26 (0,28) |

LSA: levadura seca activa; p: cepa pura; QH5, QH12, QH42, QH59, QH61: *S. cerevisiae*; QH41: *M. pulcherrima*
m: cultivo mixto

Los valores entre paréntesis corresponden a las desviaciones estándar

Parámetros establecidos para vino según la OIV: pH: 3,3-3,5, acidez total 4,5-7 g/L, acidez volátil 0,2-0,6g/L y grado alcohólico: 8,5%v/v.

Porcentaje de aceptación de los vinos elaborados

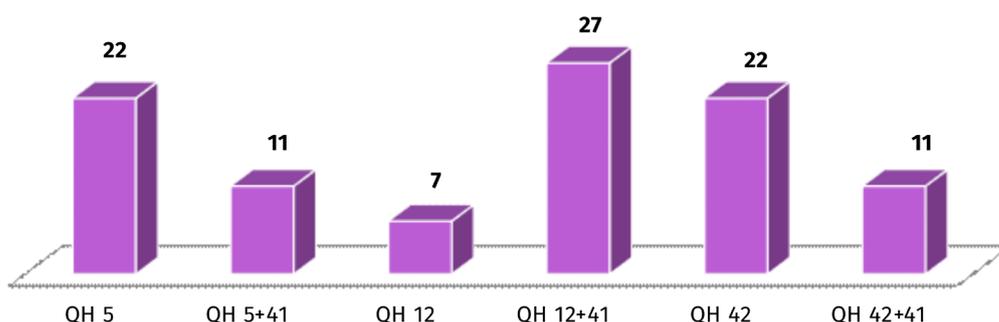


Figura 1. Resultados del análisis sensorial de los vinos resultantes de los cultivos puros y mixtos

Ensayo con *S. cerevisiae* QH5 y *M. pulcherrima*: No se observaron diferencias físico químicas entre las fermentaciones, presentaron un pH ligeramente superior a lo establecido, valores óptimos de acidez total y bajas producción de ácidos volátiles, la fermentación alcohólica se completó en todos los ensayos, alcanzándose como máximo 9 grados

de alcohol. La fermentación que presentó mayor aceptación, con un 22% fue la inoculación pura, el vino producido por inoculación mixta presentó una aceptación de un 11%.

Ensayo con *S. cerevisiae* QH12 y *M. pulcherrima*: Se observaron diferencias en los

parámetros fisicoquímicos analizados entre las fermentaciones, la inoculación mixta, se ajusta a los valores establecidos según la normativa, en cuanto al análisis sensorial presento mayor grado de aceptación con un 27%. En el vino elaborado con cultivo puro se observó un elevado pH, baja acidez total y grado alcohólico, en cuanto a la evaluación sensorial fue la que presentó menor aceptación con un 7%.

Ensayo con *S. cerevisiae* QH42 y *M. pulcherrima*: No se observaron diferencias físico químicas entre las fermentaciones, presentaron un elevado pH, baja acidez total y volátil, baja producción de alcohol. En la evaluación sensorial el cultivo puro presentó un buen nivel de aceptación (22%), el cultivo mixto fue valorado con un 11%.

Ensayo con *S. cerevisiae* QH59 y *M. pulcherrima*: No se observaron diferencias físico químicas entre las fermentaciones, presentaron una acidez total y graduación alcohólica óptima, pH y acidez volátil ligeramente superior a los límites establecidos. Estas fermentaciones tampoco se evaluaron sensorialmente debido a que no presentaron características organolépticas aptas para la degustación.

En los ensayos realizados se aprecian diferencias físico-químicas y organolépticas en las diferentes estrategias de elaboración de los vinos. Las fermentaciones mixtas aportaron de manera general mayor calidad y tipicidad a los vinos. El producto obtenido de la co-inoculación con Sc QH12 + Mp QH41 mostró resultados físico-químicos óptimos con valores dentro de lo establecido por el OIV, dentro de las característica más destacada tenemos la acidez volátil baja, los valores entre 0,20 y 0,70 g/L se consideran óptimos, mientras que por encima de este umbral el ácido acético puede volverse desagradable para el sabor (Lambrechts y Pretorius, 2000). En otro estudio, Padillas y otros (2016) encontraron que las levaduras no-*Saccharomyces* son generalmente bajos productores de acidez volátil, en comparación con *S. cerevisiae*.

La co-inoculación presentó una acidez total y pH óptimos (6,15 g/L y 3,54), los ácidos orgánicos más importantes presentes en los vinos son el tartárico, málico, láctico y cítrico (Blouin y Guimbertrau, 2002) y de acuerdo Morata y otros (2018) la acidificación natural producida por estos ácidos facilita la estabilidad de los vinos, con una mayor frescura, mejorando el sabor y el color y contienen menores

cantidades de SO₂. Los resultados encontrados en nuestro estudio concuerdan con Liu y otros (2016) reportaron que las fermentaciones mixtas con la levadura *M. pulcherrima* presentaron una acidez total óptima a diferencia de la fermentación con *S. cerevisiae* puras.

De acuerdo a Fanzone (2012) en los mostos y en los vinos, el pH varía dependiendo de las condiciones de maduración de las uvas, que determinan la concentración de ácidos orgánicos al momento de la cosecha, del varietal de uva, de las prácticas enológicas, de la presencia y metabolismo de microorganismos, de la temperatura de fermentación y guarda. Los diferentes valores encontrados para la acidez total y el pH pueden estar relacionados con los diferentes perfiles en la producción de los ácidos orgánicos naturales de cada levadura. Por último la co-inoculación Sc QH12 + Mp QH41 permitió obtener un vino con mayor graduación alcohólica, en comparación con su fermentación pura y la fermentación control. Este resultado concuerda con los expuesto por Garofalo y otros (2016), los cuales señalan que el uso de cultivos de levaduras que provengan de la zona vitivinícola donde se van a utilizar, lo que se conoce como levaduras locales autóctonas es más efectivo que las comerciales para realizar la fermentación, porque se cree que estas levaduras que se encuentran en una microzona son específicas del área y están adaptadas a las condiciones climáticas de la zona y de la materia prima a fermentar.

El grado alcohólico es una de las características más importantes en un vino y está directamente relacionado con la capacidad de las levaduras de transformación de azúcares en etanol (García, 2011). En los últimos tiempos se ha observado una tendencia cada vez mayor en una considerable proporción de los consumidores que desean vinos con un menor grado alcohólico (Margalloa y otros, 2015). Preocupaciones en torno a los efectos del alcohol en la salud son centrales en esta tendencia, Lecour y otros (2006) publicaron que la reducción de contenido de alcohol al 6% en el vino no altera sus propiedades antioxidantes y cardioprotectoras.

Ahora bien, la desalcoholización de vinos presenta dos grandes inconvenientes. El primero es técnico, ya que resulta extremadamente difícil desalcoholizar un vino manteniendo sus características organolépticas originales. Generalmente, tanto sus cualidades aromáticas como su gusto tienden a empeorar mientras

mayor es la disminución en su grado alcohólico. El segundo inconveniente es legal, siendo que las legislaciones varían según cada país. La Organización Internacional de la Vid y del Vino (OIV), establece que no se puede disminuir un porcentaje de alcohol mayor de 2% v/v.

Existen diversas estrategias para producir vinos con menor contenido alcohólico o sin alcohol. Las mismas pueden aplicarse antes, durante o después de la fermentación alcohólica, autores como, Ferrarini y otros (2016), Rodríguez y otros (2016), Salgado y otros 2015, realizaron aportes importantes. En cuanto a técnicas aplicables durante la fermentación, actualmente no hay cepas de *S. cerevisiae* que permitan producir vinos con un contenido alcohólico considerablemente menor. Las diferencias entre las cepas estudiadas, por ahora, no exceden el 1% v/v. El uso de levaduras no-*Saccharomyces* ha mostrado potencial para lograr vinos con menos alcohol, publicaciones científicas citan experiencias en las que se han logrado excelentes resultados con desalcoholizaciones de hasta un 2% v/v (Capozzi y otros, 2019; Comitini y otros, 2011). También es importante considerar la concentración de inóculo sembrado de no-*Saccharomyces/S. cerevisiae* en las fermentaciones, según Mendoza y otros, 2007; Ciani y otros, 2006.

La adición de especies de levadura no-*Saccharomyces* a las fermentaciones mixtas como co-inóculo iniciador, se indicó como una forma de simular las fermentaciones espontáneas (Petruzzi y otros, 2017; Tristezza y otros, 2016), lo cual le confiere un carácter organoléptico particular a los vinos con una importante producción de esteres aportando un sabor afrutado en el vino, sin aumentar los riesgos para la calidad del vino (Maturano y otros, 2018; Ciani y otros, 2016; Tristezza y otros, 2016).

Nuestros resultados no concuerdan con el estudio realizado por Jolly y otros (2003) en el cual no detectó ningún cambio relevante en el proceso de fermentación o en la composición química de los vinos elaborados con *S. cerevisiae* y *M. pulcherrima*, en comparación con cultivos puros de *S. cerevisiae*. Pero si coinciden con Comitini y otros, (2011) observaron diferencias en la producción de acidez total y en el análisis sensorial.

Varios investigadores como Renault y otros (2009) y Bely y otros (2008) publicaron que el

aumento en el contenido de polisacáridos y ácidos grasos de cadena largas, pueden en parte explicar la mayor calidad de los vinos producidos por *M. pulcherrima* / *S. cerevisiae*. Al igual que Sadoudi y otros (2012) demostraron que *M. pulcherrima* puede aumentar de forma significativa el acetato de feniletilo, el acetato de isoamilo y el terpenol, mejorando el perfil aromático del vino.

Por otro lado, los autores (Binatia y otros, 2019; Belda y otros, 2016; Liu y otros, 2016; Jolly y otros, 2006) señalaron que las cepas *Metschnikowia pulcherrima* es una de las levaduras más prometedoras en cuanto al aumento del perfil aromático debido a su importante actividad enzimática.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos confirmaron que el uso de nuevos métodos biotecnológicos de fermentación propuestos en este estudio, pueden ser muy efectivo para la selección de cultivos iniciadores mixto con levaduras *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces* autóctonas, como respuesta a la demanda de los consumidores por vinos de calidad, con mejores propiedades sensoriales que reflejen el *Terroir jujeño*. Combinar los adelantos tecnológicos con prácticas artesanales es un punto de partida para innovar con valor agregado en un mercado tan competitivo como el actual, también incentiva el arraigo territorial y la producción de vino genuino de manera rentable y sostenible.

Estos ensayos son pioneros en los estudios de cultivos asociados con levaduras autóctonas de la localidad de Tumbaya y Humahuaca, Jujuy, futuros trabajos podrían estar focalizados en inoculaciones secuenciales a nivel de bodega y el estudio de los compuestos aromáticos producidos por las levaduras no-*Saccharomyces* en los vinos elaborados.

BIBLIOGRAFÍA

- Batt, C.A & Tortorello, M.L. 2014. Encyclopedia of Food Microbiology. Academic press.
- Belda, I.; Ruiz, J.; Alastruey-Izquierdo, A.; Navascués, E.; Marquina, D. & Santos, A. 2016. Unraveling the enzymatic basis of wine "flavorome": a phylo-functional study of wine related

- yeast species. *Front. Microbiol.*, 7 (12). <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.00012>.
- Bely, M.; Stoeckle, P.; Masnuef-Pomarède, I. & Dubourdieu, D. 2008. Impact of mixed *Torulaspora delbrueckii*-*Saccharomyces cerevisiae* culture on high-sugar fermentation. *Int. J. Food Microbiol.*, 122: 312-320.
- Binatia, R.L; Innocentea, G.; Gattoa, V.; Celebrinb, A; Polob, M; Felisa, G.E. & Torriania, S. 2019. Exploring the diversity of a collection of native non-*Saccharomyces* yeasts to develop co-starter cultures for winemaking. *Food Research International*, 122: 432-442
- Blouin, J.; Guimbertrau, G. 2002. Maduración y madurez de la uva. Madrid, España, *Mundi-Prensa*, p. 151
- Capece, A.; Romaniello, R.; Siesto, G.; Pietrafesa, R.; Massari, C.; Poeta, C. & Romano, P. 2011. Selection of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains for Nero d'Avola wine and evaluation of selected starter implantation in pilot fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 144:187-192
- Capozzi, V.; Berbegala, C.; Tufariello, M.; Griecoc, F.; Spanob, G. & Griecob, F.; 2019. Impact of co-inoculation of *Saccharomyces cerevisiae*, *Hanseniaspora uvarum* and *Oenococcus oeni* autochthonous strains in controlled multi starter grape must fermentations. *LWT - Food Science and Technology*, 109: 241-249
- Capozzi, V., Garofalo, C., Chiriatti, M. A., Grieco, F., & Spano, G. 2015. Microbial terroir and food innovation: The case of yeast biodiversity in wine. *Microbiological Research*, 181:75-83.
- Carrau, F. M.; Medina, K.; Boido, E.; Farina, L.; Gaggero, C. & Dellacassa, E. 2005. De novo synthesis of monoterpenes by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts. *FEMS Microbiology Letters*, 243(1): 107-115.
- Ciani, M.; Beco, L. & Comitini, F. 2006. Fermentation behaviour and metabolic interactions of multistarter wine yeast fermentations. *Int. J. Food Microbiol.*, 108: 239-245.
- Ciani, M.; Comitini, F.; Mannazzu, I. & Domizio, P. 2010. Controlled mixed culture fermentation: a new perspective on the use of non-*Saccharomyces* yeasts in winemaking. *FEMS Yeast Res.*, 10:123-333.
- Ciani, M.; Morales, P.; Comitini, F.; Tronchoni, J.; Canonico, L. & Curiel, J. A. 2016. Non-conventional yeast species for lowering ethanol content of wines. *Frontiers in Microbiology*, 7: 642.
- Comitini, F.; Gobbi, M.; Domizio, P.; Romani, C.; Lencioni, L.; Mannazzu, I. & Ciani, M. 2011. Selected non-*Saccharomyces* wine yeasts in controlled multistarter fermentations with *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Microbiol.*, 28: 873-882.
- Combina, M.; Elia, A.; Mercado L.; Catania, C.; Gangac, A.; Martinez, C. 2005. Dynamics of indigenous yeast populations during spontaneous fermentation of wines from Mendoza, Argentina. *International Journal of Food Microbiology*, 99 : 237- 243 p.
- Contreras, A.; Curtin, C. & Varela, C. 2015. Yeast population dynamics reveal a potential 'collaboration' between *Metschnikowia pulcherrima* and *Saccharomyces uvarum* for the production of reduced alcohol wines during Shiraz fermentation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 99:1885-1895.
- Chen, K.; Escott, C. Loira, I.; Del Fresno, J.M.; Morata, A.; Tesfaye, W. Calderon, F.; Suarez-Lepe, J.A.; Han, S. & Benito, S. 2018. Use of non-*Saccharomyces* yeasts and oenological tannin in red winemaking: Influence on colour, aroma and sensorial properties of young wines **Food Microbiology*, 69: 51-63
- Di Rienzo, J.; Casanoves, F.; Balzarini, M.; Gonzalez, L.; Tolaba, M.; Robledo, C. 2017. "InfoStat versión 2017". Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Versión electrónica para la web: <http://www.infostat.com.ar>.
- Esteve-Zarzoso, B.; C. Belloch; F. Uruburu and A. Querol. 1999. Identification of yeasts by RFLP analysis of the 5.8 S rRNA gene and the two-ribosomal internal transcribed spacers. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49: 329-337.

- Fanzone, M. 2012. Caracterización de la composición fenólica de uvas y vinos de la variedad "Malbec" (*Vitis vinifera* L.): su relación con el origen geográfico, factores vitivinícolas y valor comercial. Tesis doctoral. Tarragona, España Departamento de Bioquímica y Biotecnología. Facultad de Enología, p:35
- Fernández, M.; Di Stefano, R. & Briones, A. 2003. Hydrolysis and transformation of terpene glycosides from Muscat must by different yeast species. *Food Microbiology*, 20: 35-41.
- Ferrarini, R.; Ciman, G.M.; Camin, F.; Bandini, S. & Gostoli, C. 2016. Variation of oxygen isotopic ratio during wine dealcoholization by membrane contactors: Experiments and modeling. *Journal of Membrane Science*, 498: 385-394.
- Fleet, G.H. 2008. Wine yeasts for the future. *FEMS Yeast Res.*, 8: 979-995.
- García J. 2011. Enología avanzada. Málaga España, Vértice.
- Garofalo, C.; Russo, P.; Beneduce, L.; Massa, S.; Spano, G. & Capozzi, V. 2016. Non-*Saccharomyces* biodiversity in wine and the 'microbial terroir': a survey on Nero di Troia wine from the Apulian region, Italy. *Annals of Microbiology*, 1(66): 143-150.
- I.N.V. (2016): a) "Análisis de la evolución de superficie de vid por provincias período 2000-2018" http://www.inv.gov.ar/inv_contenidos/pdf/estadisticas/anuarios/2018/An%C3%A1lisis_evoluci%C3%B3n_de_superficie_2000-2018.pdf (consulta 09/08/2019)
- b) "Informe anual de cosecha y elaboración-2018" http://www.inv.gov.ar/inv_contenidos/pdf/estadisticas/Cosecha/2018/INFORME_FINAL_COSECHA_Y_ELABORACION_2018.pdf(consulta 09/18/2019)
- Jolly, N.; Augustyn, O. & Pretorius, I. 2003. The effect of *non-Saccharomyces* yeasts on fermentation and wine quality. *South African Journal for Enology and Viticulture*, 24(2): 55-62.
- Jolly, N.P.; Augustyn, O.P.H.; Pretorius, I.S. 2006. The role and use of non-*Saccharomyces* yeasts in wine production. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, 27:15-39.
- Jolly, N.P.; Varela, C.; Pretorius, I.S. 2014. Not your ordinary yeast: non-*Saccharomyces* yeasts in wine production uncovered. *FEMS Yeast Res.*, 14: 215-237.
- Lambrechts, M. G., & Pretorius, I. S. 2000. Yeast and its importance to wine aroma – A review. *South African Journal of Enology & Viticulture*, 21:97-129.
- Lecour, S.; Blackhurst, D.; Marais, D.; Opie, L. 2006. Lowering the degree of alcohol in red wine does not alter its cardioprotective effect. a Hatter Institute, London, UK. b Division of Lipidology, University of Cape Town, South Africa .ABSTRACTS / *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 40: 920 – 1015.
- Liu, G., Tao, C., Zhu, B., Bai, W., Zhang, L., Wang, Z., & Liang, X. 2016. Identification of *Zygosaccharomyces mellis* strains in stored honey and their stress tolerance. *Food Science and Biotechnology*, 25:1645-1650. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0253-x>.
- Llanos, M. 2003. Selección y producción de levaduras vínicas. *La semana vitivinícola*, N° 2959: p1302-1308.
- Margalloa, M.; Aldacoa, R.; Barcelób, A.; Dibana, N.; Ortiza, I. & Irabierna, A. 2015. Life cycle assessment of technologies for partial dealcoholisation of wines" sustainable production and consumption, 2: 29-39
- Maturano, Y. P.; Rodríguez Assaf; Leticia A. ; Toro, M. E.; Nally, M. C.; Vallejo, M.; Castellanos de Figueroa L. I.; Combina, M. & Vazquez, F. 2012. Multi-enzyme production by pure and mixed cultures of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* yeasts during wine fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 136: 98-106.
- Maturano, Y. P.; Mestre, M. V.; Kuchen, B.; Toro, M. E.; Mercado, L. A. & Vazquez, F. 2018. Optimization of fermentation-relevant factors: A strategy to reduce ethanol in red wine by sequential culture of native yeasts. *International Journal of Food Microbiology*, 289: 40-48.

- Mendoza, L.M.; Manca de Nadra, M.C. & Farías, M.E. 2007. Kinetics and metabolic behaviour of a composite culture of *Kloeckera apiculata* and *Saccharomyces cerevisiae* wine related strains. *Biotechnol. Lett*, 29:1057-1063.
- Morales, P.; Rojas, V.; Quirós, M. & Gonzalez, R. 2015. The impact of oxygen on the final alcohol content of wine fermented by a mixed starter culture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 99: 3993–4003.
- Morata, A.; Loira, I.; Tesfaye, W.; Bañuelos, M. A.; González, C. & Suárez-Lepe, J. A. 2018. *Lachancea thermotolerans* applications in wine technology. *Fermentation*, 4-53.
- O.I.V. (2014) "Compendium of international methods of spirituous beverages of vitivinicultural 2014" <http://www.oiv.int/public/medias/2628/compendium-bs-2014-en-file-complet-pdf.pdf>(consulta 21/12/2017)
- Padilla, B.; Gil, J. V. & Manzanares, P. 2016. Past and future of non-*Saccharomyces* yeasts: From spoilage microorganisms to biotechnological tools for improving wine aroma complexity. *Frontiers in Microbiology*, 7: e00411. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00411>.
- Petruzzi, L.; Capozzi, V.; Berbegal, C.; Corbo, M. R.; Bevilacqua, A. & Spano, G. 2017. Microbial resources and enological significance: Opportunities and benefits. *Frontiers in Microbiology*, 8:995.
- Pretorius, I.S. 2000. Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking. *Yeast* 16:675-729.
- Renault, P.; Miot-Sertier, C.; Marullo, P.; Hernández-Orte, P.; Lagarrigue, L.; Lonvaud-Funel, A. & Bely, M. 2009. Genetic characterization and phenotypic variability in *Torulaspota delbrueckii* species: potential applications in the wine industry. *Int.J. Food Microbiol.*, 134: 201-210.
- Rodriguez, A.J.; Raimbourg, T.; Gonzalez, R.; Morales, P. 2016. Environmental factors influencing the efficacy of different yeast strains for alcohol level reduction in wine by respiration. *LWT - Food Science and Technology*, 65: 1038-1043.
- Sadoudi, M.; Tourdot-Marechal, R.; Rousseaux, S.; Steyer, D.; Gallardo-Chacon, J. J. & Ballester, J. 2012. Yeast-yeast interactions revealed by aromatic profile analysis of Sauvignon Blanc wine fermented by single or co-culture of non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces* yeasts. *Food Microbiology*, 32(2): 243-253.
- Salgado, C.M.; Fernández-Fernández, E.; Palacio, L.; Hernández, A. & Prádanos, P. 2015. Alcohol reduction in red and white wines by nanofiltration of musts before fermentation. *Food and bioproducts processing*, 96: 285–295.
- Suranská, H.; Vránová, D. & Omelková, J. 2016. Isolation, identification and characterization of regional indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Brazilian journal of microbiology*, 47:181–190.
- Tristezza, M.; Tufariello, M.; Capozzi, V.; Spano, G.; Mita, G. & Grieco, F. 2016. The enological potential of *Hanseniaspora uvarum* in simultaneous and sequential cofermentation with *Saccharomyces cerevisiae* for industrial wine production. *Frontiers in Microbiology*, 7:670.
- Varela, C. F.; Sengler, M.; Solomon, C. & Curtin, M. 2016. Volatile flavour profile of reduced alcohol wines fermented with the non-conventional yeast species *Metschnikowia pulcherrima* and *Saccharomyces uvarum*. *Food Chemistry*, 209: 57–64.



Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional

INSTRUCCIONES PARA AUTORES

Los manuscritos deben ajustarse a las normas gramaticales que establece el Diccionario de la Real Academia Española en su última edición, o a sus equivalentes en otros idiomas.

Formato del manuscrito

Los trabajos deben ajustarse a las siguientes características:

- Tamaño de página A4 (210 mm x 297 mm).
- Margen izquierdo de 3,0 cm.; derecho de 2,5 cm.; superior 2,5 cm.; inferior: 2,5 cm.
- Con un máximo de 16 a 18 páginas (ver categorías).
- Fuente texto: Arial 12. En tablas y figuras Arial 10.
- Tipografía del título del trabajo en mayúscula, cuerpo 16 y negrita.
- Las páginas deberán numerarse en el margen inferior derecho.
- El texto debe tener alineamiento justificado, con espacio 1,5 entre líneas.
- Una sola columna.
- No utilizar subrayado.
- Las tablas y figuras deben tener sus títulos explicativos arriba, estar insertas en el cuerpo del manuscrito en el lugar que corresponde y en tamaño reducido. También deberán ser anexadas al final del manuscrito.
- Todo lo anexado al final del texto se enumera en orden correlativo con números arábigos y para el caso de una figura compuesta de varias imágenes, deben estar numeradas de manera correlativa, ej., Figs. 1A, 1B, etc.
- Las imágenes (fotografías o figuras) deben enviarse en formato Tiff o JPG, alta resolución 300 ppp como mínimo.
 - Dimensión/Tamaño: 2.000 píxeles de ancho o de alto (alrededor de 4 megapíxeles) con un peso mayor a 2MB independientemente de que sea Tiff o JPG.
 - Se podría clasificar la imagen o figura como: Imagen Documental o Imagen Ilustrativa

Estructura del manuscrito

Los trabajos deberán ser redactados con lenguaje claro y exponer con rigor científico los contenidos. Las secciones deberán alinearse a la izquierda, con mayúscula acentuada, en negrita y sin punto final.

Se utilizará la siguiente secuencia de sección: TÍTULO, RESUMEN, ABSTRACT, INTRODUCCIÓN, MATERIALES Y MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSIÓN, CONCLUSIONES, AGRADECIMIENTOS y BIBLIOGRAFÍA.

TÍTULO: en español o portugués y en inglés (debajo a dos espacios), con una extensión no superior a las veinticinco palabras. Se escribirá en mayúscula, centrado en la parte superior, en negrita y sin emplear punto final. Se requiere un título abreviado para el diagramado.

Los nombres científicos en el título (en minúscula) y palabras clave, se escriben de acuerdo a los códigos internacionales de nomenclatura, sin sus autores.

Nombre del/os autor/es: se ubicarán debajo del título y deberán consignarse en orden primero los nombres y luego los apellidos completos. Se escribirán con mayúsculas sólo en la primera letra y en negrita. En el caso de dos autores, los nombres se separan por la conjunción “y”; mientras que en el caso de tres o más autores se emplea coma para separar los nombres entre el primero y el segundo, y la conjunción “y” entre el penúltimo y el último nombre.

Se aceptará hasta 10 autores por artículo. Al final de cada nombre se añadirán índices numéricos para identificar la pertenencia institucional y con un asterisco al lado del índice numérico del autor para correspondencia.

RESUMEN y ABSTRACT: El abstract siempre irá a continuación del resumen escrito en el idioma de base (español o portugués). Deberá contener una extensión máxima de trescientas palabras. De modo conciso y breve se planteará el tema del trabajo, la metodología, los resultados y las conclusiones. No se incluirán antecedentes del tema a tratar, ilustraciones ni citas bibliográficas. Los nombres científicos se escribirán completos junto a sus autores y/o nombres vulgares.

Palabras clave: a continuación de cada resumen (en español o portugués y en inglés) deberán escribirse en minúscula de tres a cinco palabras que identifiquen el contenido del trabajo y permitan su indexación, separadas con coma y sin punto final.

INTRODUCCIÓN: debe ser clara e incluir una revisión sintética del conocimiento del tema a la fecha y establecerá los aspectos aún no resueltos. Las citas bibliográficas deben ser actualizadas y adecuadas. Los nombres científicos se escribirán en cursiva, la primera vez se escribirá completos (género y especie) junto a su autor y si posee, nombre vulgar. Posteriormente se podrá escribir abreviado sin autor o nombre vulgar. Finalizada la introducción se darán los objetivos de la investigación. Para las citas o referencias bibliográficas, ver bibliografía.

MATERIALES Y MÉTODOS: se expondrá el diseño experimental, toma de muestras y tratamiento estadístico de forma tal que permita la reproducción del ensayo a otros investigadores. Identificar instrumentos y equipos utilizados. Se podrán incluir referencias que amplíen o detallen la información de algún método. Los métodos establecidos en esta sección deben ser completos y coincidir con los objetivos del trabajo y con el análisis que se presenta en Resultados y Discusión. Las fórmulas matemáticas y químicas deben ser escritas de acuerdo a la nomenclatura internacional. Los productos químicos deben ser presentados por medio de nombres técnicos o referencia al principio activo. No se permitirá la utilización de nombres comerciales de cualquier producto.

RESULTADOS y DISCUSIÓN: pueden estar redactados en secciones juntas o separadas.

Los **resultados** deberán presentarse en forma clara y concisa, utilizando tablas, figuras y destacando los aspectos más relevantes del trabajo. Se incluirá la información estadística necesaria para evaluar la validez de los mismos. Se presentarán como tablas o figuras cuidando de no repetir la información. La **discusión** debe interpretar los resultados obtenidos con especial énfasis en coincidencias o diferencias con el marco teórico.

CONCLUSIONES: deben ser breves y expresar los hallazgos y evidencias que surgieron a partir de la búsqueda de responder a los objetivos e hipótesis del trabajo.

AGRADECIMIENTOS: deben ser breves y directos.

BIBLIOGRAFÍA: La presentación de las citas y referencias bibliográficas se regirán por las Normas APA 6ta Ed. (2017)

Citas en el texto:

- Un autor: Tejerina, 2016.
 - Dos autores: Tejerina y Cabana, 2018.
 - Tres a cinco autores: se deben incluir todos los apellidos la primera vez que se citan (ej. Retamoso, Tejerina, Cabana y Ruiz, 2018), posteriormente solo el apellido del primer autor y a continuación "y otros" (ej., Retamoso y otros, 2018), pero si el artículo está en otro idioma se escribirá "et al."
 - Más de cinco autores: citar con el apellido del primer autor y a continuación "y otros" ó "et al."
- Autoría corporativa: (instituciones, ministerios,

agencias, organizaciones civiles, empresas) la primera vez se cita el nombre completo y entre paréntesis se indica la sigla, ej. Organización Mundial de la Salud (OMS, 2016). Posteriormente, se cita solamente con la sigla. No se utiliza punto en abreviaciones ej. SENASA.

- Citas numerosas: en forma cronológica, ej.: Tejerina, 2000; Cabana, 2013; Ruiz y Retamoso, 2016; Méndez y Lobo, 2018; Méndez et al., 2019.

Autoría repetida de varias citas de un mismo autor en un mismo año: indicar el año acompañado con letra (ej., 2016a, 2016b).

- Comunicaciones personales no publicadas: incluir apellido completo del referente junto a la abreviatura "com. pers." y el año (ej.: Méndez, "com. pers.", 2018).

Citas en la bibliografía:

Dejar sangría francesa (la primera línea sobresale tres espacios hacia la izquierda).

Ordenar alfabéticamente e incorporar todas las obras citadas en el texto.

Las comunicaciones personales se citan dentro del texto pero no se incluyen en la bibliografía.

Cuando en el trabajo incluya varios trabajos de un mismo autor, se debe citar cronológicamente en forma decreciente.

Los autores deben ir separados por coma y en caso de que sean hasta 6 autores, el último autor se registra antecedido por "y" ó "&" según el idioma del texto. Pasados los 6 autores, se debe registrar hasta el sexto autor, seguido de tres puntos suspensivos y luego el/los apellido/s y nombre/s del último autor.

Formato de cita para libros

-Impreso

Apellido, AA. (año de publicación). Título del material. Lugar: Editorial.

-Electrónico

Apellido, AA. (Año de publicación). Título del libro. Recuperado de: URL o doi (en ningún caso ambos).

Formato de cita para capítulos de libros

-Impreso

Autor (s) del capítulo - Apellido, Inicial. (Año de publicación). Título del capítulo. En Autor (s) / Editor (s) – Inicial, Apellido (ed.), *Título del libro (en cursiva)*. Tomo (edición), pp xx-xx. Lugar de publicación: Editorial.

-Electrónico

Autor (s) del capítulo - Apellido, Inicial. (Año de publicación). Título del capítulo. En Autor (s) / Editor (s) – Inicial, Apellido (ed.), *Título del libro (en cursiva)*. Tomo (edición), pp xx-xx. Recuperado de:

<http://xxxxxxx>

Formato de cita para publicaciones periódicas

-Impreso: Autor (s) del artículo - Apellido, Inicial. (Año de publicación). Título del artículo. *Título de la revista (en cursiva)*, vol (nº), pp-pp.

-Electrónico: Autor (s) del libro - Apellido, Inicial. (Año de publicación). Título del artículo. *Título de la revista (en cursiva)*, vol (nº), pp. Recuperado de: (URL o base de datos).

Jornadas, congresos, conferencias

-Impreso: Apellido/s, Inicial/es. (Año de publicación). *Título de la comunicación (en cursiva)*. En Editor(s) - Apellido/s, Inicial/es (Ed.), *Título de la comunicación (en cursiva)*. Lugar de publicación: Editorial, pp. xx-xx.

Si es electrónico agregar: Recuperado de: <http://www.xxxx>

Página web

Autor/s (si lo tiene) - Apellido, Inicial si tuviere. *Título de la información que contiene la página web (en cursiva)* (Año de creación o revisión de la página). Título de la página web. Recuperado de: URL (<http://> - dirección de la página).

Otras fuentes de Internet

Declarar tipo de fuente entre paréntesis después del título: (Audio), (Comentario en línea del foro), (mensaje de lista de discusión), otros.

Autor - Apellido, Inicial. (Día, mes, año). *Título (en cursiva)*: Subtítulo. (tipo de fuente). Recuperado de: URL (<http://> - dirección de la página).

Tesis y trabajos de grado

Apellido, Inicial. (Año de publicación). Título del trabajo. (Tesis Doctoral). Universidad XXXX, País.

Tablas y Figuras

Tablas: deberá presentarse en formato MS Word utilizando la función Insertar Tabla (no imagen) y pegadas en el texto en la ubicación deseada. Ancho no superior a los 15 cm. Emplear fuente Arial, punto tipográfico 10.

Figuras: Deberá enviar el archivo original por separado Corel Draw, Statistica para Windows, etc. Emplear fuente Arial, punto tipográfico 10.

Fotos: Deben ser nítidas, con alto contraste y ser enviadas como archivos electrónicos Tiff o JPG, con no menos de 300 ppp.

Las tablas deben llevar títulos explicativos arriba. No deberá repetirse la información contenidas en las tablas y figuras.

Las Figuras (fotos e imágenes en general) deben llevar títulos explicativos abajo.

Abreviaturas

Los números arábigos deben ser escrito de cero a nueve, decenas y centenas por extenso ej., ocho tratamientos, cincuenta plantas.

En la notación de números, en las publicaciones en el idioma español, usar puntos para la separación de millares, ej., 3.000.

Los decimales se separan de los enteros por una coma (,), por ejemplo: 3.321,99.

Se podrán escribir números en secuencias menores de nueve, ej., tiempo, dosis, etc. 3, 6 y 9 min.

En las fracciones se utilizarán números arábigos, excepto las de uno a diez.

Se debe usar el Sistema Internacional de Unidades de Medida (SIU) y sus abreviaciones de carácter físico, ej.

Volúmenes: metros cúbicos (m³), litro (L),

Masa: tonelada (t), kilogramo (kg), gramo (g), microgramo (µg), nanogramo (ng)

Área: metro cuadrado (m²), hectárea (ha),

Unidades de medida: utilizar exponente negativo en el denominador, ej. kg ha⁻¹

Unidades de tiempo: segundo (s), minuto (min), hora (h) y día (d).

Unidad de fuerza: Newton (N),

Unidad de presión: pascal (Pa),

Unidad de cantidad de sustancia: mol (mol),

Longitud: kilómetro (km), metro (m), centímetro (cm), micrómetro (µm), nanómetro (nm)

Temperatura: grado Celsius (°C),

Se acepta parte por millón (ppm) = mg.dm⁻³ = mg/kg = µg/g.