

N° 8 - Año 2019  
ISSN 2525-1597



**USP-T**

UNIVERSIDAD DE SAN PABLO - TUCUMÁN

R  
R  
A  
A

R E V I S T A  
A C A D É M I C A

I D I T E C

Instituto de  
Desarrollo  
e Innovación  
Tecnológica  
para la  
Competitividad  
Territorial



**UNIVERSIDAD  
DE SAN PABLO-T**  
Tucumán | Argentina

**IDITEC**

**Instituto de Desarrollo e Innovación Tecnológica  
para la Competitividad Territorial**

**Revista Académica**

**Universidad de San Pablo-Tucumán**

**Tucumán, República Argentina**

**IDITEC.** Instituto de Desarrollo e Innovación Tecnológica para la Competitividad Territorial. Revista Académica.

N°8 – Año 2019

Tucumán, República Argentina.

ISSN 2525-1597

Revista de Investigación Académica

**Editorial:**

EDUSPT. 24 de Septiembre 476.

4000. San Miguel de Tucumán. Tucumán, Argentina.

Contacto: [Informes@uspt.edu.ar](mailto:Informes@uspt.edu.ar)

[www.uspt.edu.ar](http://www.uspt.edu.ar)

Quedan expresamente prohibidas, sin la autorización correspondiente, la reproducción parcial o total de esta obra, por cualquier medio o procedimiento. El contenido de los trabajos, como así también los permisos para reproducción de figuras y tablas, es responsabilidad de los autores.

© Universidad de San Pablo-Tucumán

Queda hecho el depósito que previene la ley  
Impreso en Argentina – Printed in Argentina

ISSN 2525-1597

Octubre de 2019

## **Autoridades de la Universidad**

**Presidente de la Fundación para el Desarrollo**

*Dra. Catalina Lonac*

**Rector**

*Dr. Horacio A. Deza*

**Vicerrector**

*Dr. Ramiro Albarracín*

**Secretaria Académica**

*Mag. Margarita Jaramillo Zapata*

**Director del Instituto de Desarrollo e Innovación Tecnológica para la Competitividad Territorial**

*Dr. Federico Pérez Zamora*

**Director del Instituto de Estudios Sociales, Política y Cultura**

*Dra. Inés Yamúss*

**Director del Instituto de Salud y Calidad de Vida**

*Dra. Marta Valverde*

**Director del Instituto de Diseño, Estrategia & Creatividad**

*Arq. Matías Rohmer-Liztmann*

**Secretaria de Posgrado**

*Mag. Silvia Martínez*

**Secretaria Administrativa y Financiera**

*CPN María Cristina Peralta*

**Secretaria de Extensión y Cultura**

*Abog. Carolina del Valle López Flores*

**Secretaria de Investigación, Desarrollo y Cultura**

*Mag. Carlos Jorge Budeguer*

**Comité Evaluador:**

*Mag. Ing. Zoot. Manuela Toranzos de Pérez (Universidad Nacional de Tucumán)*

*Mag. Ing. Agr. Estela Brandán (Universidad Nacional de Tucumán)*

*Mag. Adriana del Valle Pastoriza (Universidad Nacional de Tucumán)*

*Prof. Esp. D.I. Mario Ivetta*

*Dra. Luz Lastres Flores (Editora de la revista Educacion en la Quimica, de ADEQRA)*

*Dra. Eugenia Giamminola (Instituto de Ecología y Ambiente Humano- Universidad Nacional de Salta)*

*Dr. Dariel Cabrera Mederos (Instituto de Patología Vegetal CIAP-INTA)*

*C.P.N. Héctor Ostengo (Universidad Nacional de Tucumán)*

*Mag. Ing. Agr. Alicia Margarita Nasif (Universidad Nacional de Tucumán)*

**Comité Editorial:**

*Carlos Jorge Budeguer*

*Gaspar Contino*

*José Molina*

*Margarita Jaramillo*

*Natalia Sanchez*



UNIVERSIDAD  
DE SAN PABLO-T  
Tucumán | Argentina

## PRESENTACIÓN

**IDITEC** es la Revista Académica y de Investigación Científica del *Instituto de Desarrollo e Innovación Tecnológica para la Competitividad Territorial*, de la Universidad de San Pablo Tucumán (USPT), cuyo objetivo primordial es promover la investigación entre los docentes de la universidad y difundir los conocimientos generados en el seno de la misma y en otros Centros de Investigación nacionales e internacionales. La temática de esta publicación abarca las áreas de Alimentos, Gestión de Empresas Agropecuarias, Finanzas, Diseño Industrial y Diseño Textil y de Indumentaria.

**INDICE**

PRODUCCIÓN DE GALACTOOLIGOSACÁRIDOS POTENCIALMENTE PREBIÓTICOS POR BACTERIAS GRADO ALIMENTARIO. Zárate, G.....	3
¿CÓMO AFECTA EL SISTEMA DE TRANSFERENCIAS INTERGUBERNAMENTALES EL INTERCAMBIO INTERTEMPORAL ENTRE REGIONES?. Catalán, María José; Merlo, Juan José .....	18
VIRUS PRESENTES EN TOMATE DE ÁRBOL (Solanum betaceum). Jaramillo Zapata, M. M.....	26
DESHIDRATACIÓN DE FRUTAS Y VERDURAS COMO TÉCNICAS DE CONSERVACIÓN PARA LA FUNDACION BANCO DE ALIMENTOS. González, Karina; Pérez Zamora, Federico; Albarracín, Ponce J.....	39
ENSEÑANZA DEL PENSAMIENTO CRÍTICO EN MEDICINA. Márquez M.E. ....	45
PREVENCIÓN DEL SUICIDIO. Sanchez, Angel E.....	51
APLICACIÓN DEL EXAMEN CLÍNICO OBJETIVO ESTRUCTURADO (ECO-E) EN LA EVALUACIÓN DEL CICLO BÁSICO DE LA CARRERA DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN PABLO –TUCUMÁN.....	52

**PRODUCCIÓN DE GALACTOOLIGOSACÁRIDOS POTENCIALMENTE  
PREBIÓTICOS POR BACTERIAS GRADO ALIMENTARIO**

**SYNTHESIS OF POTENTIAL PREBIOTIC GALACTOOLIGOSACCHARIDES  
BY FOOD GRADE BACTERIA**

ZÁRATE G.<sup>1,2\*</sup>, FARA A.<sup>1</sup>; SABATER C.<sup>3</sup>, SAEZ G.<sup>1,2</sup>; PALACIOS J.<sup>2</sup> y MONTILLA A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Universidad de San Pablo-Tucumán, Av. Solano Vera y Camino a Villa Nougés, San Pablo.*

<sup>2</sup>*CERELA-CONICET, Chacabuco 145, San Miguel de Tucumán, Argentina.*

<sup>3</sup>*Grupo de Química Funcional de Carbohidratos, CIAL (CSIC-UAM), Calle Nicolás Cabrera, 9,  
28049 Madrid, España.*

*\*gzarate@cerela.org.ar*



## RESUMEN

Los prebióticos son ingredientes funcionales que estimulan el crecimiento y actividad de bacterias beneficiosas en el intestino mejorando indirectamente la salud de quien los consume. Entre estos compuestos, los carbohidratos no digeribles (CND), y en particular, los galactooligosacáridos (GOS) han recibido especial atención por sus propiedades biotecnológicas. Los GOS son sintetizados principalmente a partir de la lactosa por una reacción de transglicosilación catalizada por la enzima  $\beta$ -galactosidasa ( $\beta$ -gal). La composición de sus monómeros y enlaces influye en su selectividad y bioactividad por lo que la selección de enzimas apropiadas para su síntesis resulta relevante. En el presente trabajo se evaluó la actividad  $\beta$ -gal de un panel de bacterias lácticas (BAL) y propionibacterias (PAB) de origen alimentario, a los fines de seleccionar microorganismos con actividad transglicosilasa para la síntesis de GOS con potencial efecto prebiótico. La enzima fue extraída de los cultivos crecidos a expensas de lactosa (ELC) y su actividad hidrolítica fue evaluada mediante un método colorimétrico empleando ONPG como sustrato. *P. acidipropionici* LET 120 y *L. bulgaricus* CRL 450 presentaron las mayores actividades específicas ( $2,55\pm 0,15$  y  $1,07\pm 0,13$  U/mg, respectivamente) por lo que su enzima fue incubada con 300 g/L de lactosa a pH 6,5 y 45 °C durante 24 horas, cuantificando los oligosacáridos producidos por cromatografía líquida (HPLC-RID) y gaseosa (GC-FID). Diferentes condiciones ambientales (pH 5,0 a 7,0; 40 a 60 °C, 1 a 2,5 U/mL y 0,5 a 10,5 h de reacción) fueron evaluadas para optimizar la síntesis. La  $\beta$ -gal de *L. bulgaricus* CRL450 sintetizó 38,1- 48,4 % GOS y el doble de concentración de alolactosa y 3'galactosil-lactosa que la  $\beta$ -gal de *P. acidipropionici* LET120, mientras que ésta produjo 23,8-26,8 % de GOS, mayores concentraciones de 6-galactobiosa y fue la única que sintetizó 4'galactosil-lactosa. Los GOS fueron purificados por adsorción en carbón activo y fermentación con levaduras y usados como fuente de carbono para el crecimiento de cepas probióticas para evaluar su potencial prebiótico. Los LET 120-GOS fueron prebióticos para cepas intestinales de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* probióticas por lo que alientan el desarrollo de estudios más profundos sobre su caracterización estructural y su efecto fisiológico in vivo en el ecosistema intestinal.

**Palabras clave:** Galactooligosacáridos,  $\beta$ -galactosidasa; Prebióticos, Probióticos.

## ABSTRACT

Prebiotics are functional ingredients that enhance the growth and activity of beneficial bacteria in the gut, improving in this way the consumer's health. Among them, non-digestible carbohydrates (NDC) and particularly galactooligosaccharides (GOS) have received special attention due to their biotechnological properties. GOS are mainly synthesized from lactose by a transglycosylation reaction catalyzed by the  $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -gal) enzyme. Their monomers composition and linkages have influence on their selectivity and bioactivity so that the selection of the suitable enzymes is relevant. In the present work, we assessed the  $\beta$ -gal activity of a panel of lactic acid bacteria (LAB) and propionibacteria (PAB) from food in order to select the microorganisms with transglycosidase activity for the synthesis of GOS with potential prebiotic effects. With this aim, the enzymes were extracted from the cultures grown at expense of lactose (ELC) and their hydrolytic activity was quantified by a colorimetric method with ONPG as substrate. *P. acidipropionici* LET 120 y *L. bulgaricus* CRL450 displayed the highest specific activities ( $2.55\pm 0.15$  y  $1.07\pm 0.13$  U/mg, respectively) and their  $\beta$ -gal were incubated with 300 g/L of lactose at pH 6.5 and 45 °C for 24 h and the oligosaccharides produced were quantified by HPLC-RID and GC-FID. Different environmental conditions (pH 5.0 to 7.0; 40 to 60 °C, 1 to 2.5 U/mL and 0.5 to 10.5 h of reaction) were tested in order to optimize the synthesis.  $\beta$ -gal of *L. bulgaricus* CRL450 synthesized 38.1- 48.4 % GOS and the double allolactose and 3'galactosyl-lactose concentration than the  $\beta$ -gal of *P. acidipropionici* LET120, whereas this enzyme produced 23.8-26.8 % of GOS, higher concentration of 6-galactobiose and was the only one that synthesized 4'galactosyl-lactose. GOS were purified by adsorption on active charcoal followed by yeasts fermentation and were then used as carbon source for the growth of probiotic strains for assessing their prebiotic activity. LET120-GOS were prebiotic for intestinal *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* probiotic strains which encourage further studies about their structural characterization and physiological effect in the complex gut ecosystem.

**Keywords:** Galactooligosaccharides;  $\beta$ -galactosidase; Prebiotics, Probiotics.

## INTRODUCCIÓN

Es conocido que existe una clara relación entre la dieta y la salud, por lo que hábitos alimentarios poco saludables están asociados al desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles. En consecuencia, en la última década, la industria y los consumidores han enfocado su interés en el desarrollo y el consumo de alimentos funcionales, es decir aquellos que más allá de su función nutricional producen un beneficio en la salud. Los alimentos funcionales afectan favorablemente a ciertas funciones del organismo mejorando el estado de bienestar o reduciendo el riesgo de enfermedad. Al respecto, existe una gran variedad de ingredientes funcionales: fitoquímicos, ácidos grasos poliinsaturados, péptidos bioactivos, **probióticos** y **prebióticos**. Estos dos últimos, se encuentran entre los más populares y con mayor disponibilidad en el mercado mundial.

Los **probióticos** son *microorganismos vivos que confieren un beneficio de salud al hospedador* (FAO-WHO 2002)". Existe a la fecha una numerosa antecedentes que respaldan los efectos positivos de diferentes microorganismos como bacterias lácticas, bifidobacterias, propionibacterias, y levaduras, entre otros, en la salud de diferentes vertebrados desde peces a mamíferos incluyendo el hombre (Aureli et al., 2011; Newaj-Fyzul et al., 2014). Los efectos, considerados cepa-dependientes, han sido asociados principalmente a tres modos de acción: inmunomodulación, regulación de la composición de la microbiota y modulación de las actividades metabólicas del huésped y su microbiota endógena. A través de estos mecanismos se han evidenciado efectos anticarcinogénicos, hipocolesterolémicos, alivio de enfermedades inflamatorias intestinales e intolerancias alimentarias, promoción del crecimiento y el rendimiento productivo en animales, etc. (Aureli et al., 2011, Yeoman y White, 2014).

Los **prebióticos** son *“ingredientes alimentarios no digeribles, que son fermentados selectivamente en el colon, dando lugar a cambios en la microbiota, en particular, la estimulación in situ del desarrollo de bacterias endógenas que confieren beneficios a la salud”* (Gibson et al., 2017). Para ejercer este efecto, el compuesto prebiótico debe ser capaz de atravesar el tracto gastrointestinal sin modificaciones, es decir, ser estable a los ácidos del estómago y no absorberse en el intestino

delgado para acceder de esta forma inalterado al intestino grueso. Luego, su fermentación en el colon estimulará el crecimiento del género *Bifidobacterium* y la permanencia de una microbiota saludable, mejorando la absorción de minerales como el  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  (Alegación aprobada FOSHU 2002) y debido a la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) disminuirá el pH, generando un ambiente adverso para patógenos oportunistas, además de suministrar energía a las células epiteliales.

Entre los compuestos reconocidos como prebióticos, los carbohidratos no digeribles (CND) y en particular los **oligosacáridos no digeribles (OND)** han recibido especial atención por sus propiedades biotecnológicas (Al-Sheraji et al., 2013). Un gran número de OND tales como inulina, fructooligosacáridos (FOS), lactulosa, galactooligosacáridos (GOS),  $\alpha$ - y  $\beta$  glucanos, xilooligosacáridos (XOS), oligosacáridos pépticos (POS), isomaltooligosacáridos (IMOS), gluco-oligosacáridos, lactosacarosa (LS), entre otros, han sido evaluados como potenciales prebióticos, aunque solamente fructanos (inulina y FOS), lactulosa y GOS han sido reconocidos como seguros (GRAS status) (Otieno, 2010; Al-Sheraji et al., 2013; Tymczyszyn et al., 2014).

Si bien los OND se encuentran como componentes naturales de alimentos comunes como leche, yogurt, miel, legumbres y otros vegetales, no suelen encontrarse en las dosis suficientes para ejercer su efecto, por lo que la creciente popularidad de los prebióticos ha potenciado los esfuerzos para producirlos mediante reacciones enzimáticas o químicas. Existen tres métodos para obtener carbohidratos prebióticos: 1) extracción directa a partir del alimento, del subproducto, o del medio de crecimiento del microorganismo (por ej. obtención de inulina a partir de la raíz de achicoria); 2) hidrólisis enzimática parcial del CND (por ej. obtención de oligofructosa a partir de inulina o  $\alpha$ -glucanos a partir de EPS) y 3) síntesis utilizando carbohidratos simples y diferentes enzimas que los polimerizan en oligosacáridos. Así pueden obtenerse FOS utilizando fructosiltransferasas y sacarosa (Sangeetha et al., 2005); GOS utilizando  $\beta$ -galactosidasas y lactosa (Zárate et al., 2013; Tymczyszyn et al., 2014; Vera et al., 2016), etc.

La enzima  **$\beta$ -galactosidasa (EC 3.2.1.23)** descrita en numerosos microorganismos (Zárate et al., 2013, Vera et al., 2016) puede catalizar; dependiendo de las

condiciones de la reacción; la **hidrólisis de lactosa** en sus monosacáridos glucosa y galactosa, y la **transgalactosilación**, en la que una o más unidades de galactosa son transferidas sucesivamente al residuo de D-galactosa de la lactosa, para producir una mezcla de **GOS** con diferente grado de polimerización y configuración. (Otieno, 2010; Ganzle, 2012; Vera et al., 2016).

Los GOS han demostrado numerosos efectos beneficiosos para la salud como por ejemplo, su potencial bifidogénico, regulación de la función intestinal, inhibición de la adhesión de patógenos al epitelio, prevención de la pérdida de masa ósea, reducción de colesterol sérico y prevención del cáncer de colon (Torres et al., 2010). También, han resultado efectivos para mejorar la digestión y síntomas de intolerancia a la lactosa al inducir la adaptación colónica de la microbiota intestinal (Savaiano et al., 2013). Los GOS tienen también propiedades tecnológicas relevantes. Su estabilidad ácida y térmica los torna potencialmente aplicables como ingredientes en una amplia variedad de productos procesados y su bajo dulzor permite considerarlos como edulcorantes funcionales (Torres et al., 2010; Ganzle, 2012). Además poseen potencial crioprotector para cepas sensibles a la conservación por liofilización, por lo que podrían ser útiles en la formulación de simbióticos autoprottegidos (Tymoczyszyn et al., 2014).

Dado el potencial biotecnológico de los GOS, los estudios se han enfocado en la búsqueda, y caracterización de nuevas  $\beta$ -galactosidasas microbianas con alta eficiencia para transgalactosilar lactosa y en la determinación de las condiciones óptimas (pH, temperatura,  $a_w$ , concentración de sustrato y tiempo de reacción) para el proceso (Otieno, 2010; Gänzle, 2012; Vera, 2016). Su producción ha sido evaluada empleando  $\beta$ -galactosidasas de

*Apergillus* sp., *Kluyveromyces* sp., *Bacillus circulans*, *Bifidobacterium* sp. y *Lactobacillus* sp. (Splechtna et al., 2006; Martínez-Villaluenga, 2008; Cardelle-Cobas et al., 2009; Iqbal et al., 2010; Osman et al., 2010; Corzo-Martínez et al., 2012; Shriphannam et al. 2012; Yin et al., 2017). Al respecto, se ha observado, que la actividad biológica de los GOS varía según su composición la cual dependerá de la enzima usada. Estudios previos han mostrado que bifidobacterias y lactobacilos degradan con mayor eficiencia oligosacáridos con enlaces  $\beta(1-6)$  o  $\beta(1-3)$  y que, de igual manera, su  $\beta$ -galactosidasa sintetiza GOS con estos enlaces, lo que ejercería un efecto prebiótico dirigido sobre sus mismos géneros (Rastall y Maitin, 2002). Por lo tanto, la producción de GOS por bacterias con potencial prebiótico resulta particularmente atractiva a los fines de obtener compuestos prebióticos con selectividad específica. La validación funcional de los GOS sintetizados suele hacerse mediante la determinación de su actividad prebiótica en ensayos de fermentación *in vitro*, empleando cultivos puros de bifidobacterias y lactobacilos o mezclas complejas como la microbiota intestinal (Cardelle-Cobas et al., 2012).

En el contexto expuesto, la búsqueda de microorganismos inocuos cuyas enzimas glucosiltransferasas reúnan las características apropiadas para permitir a los microorganismos portadores funcionar alternativamente como probióticos y/o promotores de la síntesis de carbohidratos prebióticos resulta relevante para el área de Tecnología de Alimentos por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar la síntesis de GOS por bacterias grado alimentario y determinar su potencial prebiótico. La Figura 1 resume la relevancia y secuencia del estudio planteado.



**Figura 1:** Secuencia de estudio de la enzima  $\beta$ -galactosidasa de microorganismos grado alimentario para la síntesis de oligosacáridos prebióticos.

## MATERIALES Y METODOS

### *-Microorganismos y condiciones de crecimiento*

Se emplearon en este estudio un grupo de bacterias lácticas pertenecientes a la colección de cultivos de CERELA (CRL: Centro de Referencia para Lactobacilos, CERELA, Tucumán, Argentina) y de propionibacterias lácteas aisladas y caracterizadas en el Laboratorio de Ecofisiología Tecnológica de CERELA-CONICET (LET). Para caracterizar y optimizar la síntesis de GOS se trabajó con las cepas *Lactobacillus bulgaricus* CRL 450 y *Propionibacterium acidipropionici* LET 120. El efecto prebiótico de los GOS generados fue evaluado en las cepas probióticas *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis BB-12® y *Lactobacillus casei* CRL 431® (licenciadas por Chr. Hansen) y en la bacteria entérica *Escherichia coli* C3 (Instituto de Microbiología “Luis Verna” de la Universidad Nacional de Tucumán). Los microorganismos almacenados a  $-20^{\circ}\text{C}$  en crioviales con LEL (leche al 10% conteniendo 0,5% de extracto de levadura) fueron reactivados en caldo LAPTg (1,5 % peptona, 1% triptona, 1% glucosa, 1% extracto de levadura y 0,1% Tween 80, pH = 6,8) y medio LB (Triptona 1 %, NaCl 1 %, extracto de levadura 0,5 % pH = 6,5) para *E. coli* a  $37^{\circ}\text{C}$ .

### *-Evaluación de la actividad de $\beta$ -galactosidasa*

La actividad  $\beta$ -galactosidasa de las cepas se evaluó en extractos libres de células (ELC), obtenidos mediante disrupción mecánica de los cultivos con prensa French empleando un método colorimétrico que mide la velocidad de hidrólisis del sustrato sintético o-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosido (ONPG) (Sabater et al., 2019). Los microorganismos fueron crecidos en medio LAPT con lactosa al 1 % (p/v) durante 24 horas a  $37^{\circ}\text{C}$ , se cosecharon por centrifugación (10.000 rpm, 10 min,  $4^{\circ}\text{C}$ ), se lavaron y resuspendieron en 0,5 mL de buffer fosfato pH 6,8 conteniendo  $\text{MgCl}_2$  1 mM, y 0,5 g de perlas de vidrio estériles de 0,25mm de diámetro. La disgregación se realizó en un Mini-Beadbeater-16BioSpec (Bartlesville, OK, USA) con 10 ciclos de agitación y 10 de descanso en hielo de un minuto cada uno, respectivamente, obteniéndose luego el sobrenadante (ELC) por centrifugación. La concentración de proteínas se determinó por el método de Bradford (Bradford, 1976) empleando un kit comercial (Bio-Rad, Munich, Germany). La reacción enzimática se realizó agregando 20  $\mu\text{L}$  del ELC a 200  $\mu\text{L}$  de ONPG (3,2 mM) en

microplaca multipocillo e incubando durante 10 minutos a  $40^{\circ}\text{C}$ . La cantidad de o-nitrophenol liberada fue monitoreada continuamente midiendo la absorbancia a 420 nm en un espectrofotómetro con control de temperatura (modelo Versamax, Molecular Devices, California, USA). La actividad enzimática se expresó en U/mg proteína. Una U de  $\beta$ -gal se define como la cantidad de enzima que libera 1  $\mu\text{mol}$  of o-nitrophenol (ONP) por minuto en las condiciones de ensayo.

### *-Síntesis enzimática de GOS a partir de lactosa*

La capacidad de sintetizar GOS se evaluó en las cepas de bacterias lácticas y propionibacterias con la mayor actividad hidrolítica. Para ello, el ELC de *Lactobacillus bulgaricus* CRL 450 y de *P. acidipropionici* LET 120 se mezcló con 30% de lactosa y se incubó a  $40^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas tomándose a intervalos muestras para análisis de los carbohidratos presentes por cromatografía en capa fina (TLC), líquida (HPLC) y gaseosa (GC). Las reacciones se realizaron en microtubos mezclando enzima y sustrato a diferentes temperaturas (45 y  $55^{\circ}\text{C}$ ), pH (5,5 y 6,5) y concentración de enzima (1 y 2,5 U/mL). Se tomaron alícuotas (200  $\mu\text{L}$ ) a las 1, 3, 5, 7 and 24 h de incubación y se inactivaron a  $100^{\circ}\text{C}$  por 2 minutos para almacenarlas luego a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis.

### *-Análisis de los oligosacáridos sintetizados:*

#### *Cromatografía en capa fina (TLC)*

Se emplearon placas de gel de sílice 60 Å 254F (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), pre-equilibradas por 60 minutos en una cuba de vidrio conteniendo la fase móvil compuesta por una mezcla de butanol, metanol y agua desionizada (70:20:10). Se sembraron 2  $\mu\text{L}$  de cada muestra y se dejó correr la fase móvil a temperatura ambiente durante 8 horas, El revelado se realizó a  $100^{\circ}\text{C}$  con ácido sulfúrico 5% (v/v) en etanol conteniendo  $\alpha$ -naftol 0,5 % (p/v). Como patrones se utilizó una mezcla de azúcares (glucosa, galactosa, lactosa, rafinosa y estaquiosa) en una concentración de 12,5 mg/mL.

#### *Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC-RID)*

Las muestras de la síntesis enzimática se diluyeron en acetonitrilo/agua (50:50 V/V) a una concentración aprox. de  $\sim 10$  mg/mL, se filtraron (membranas de PVDF de 0.2 mm) y se

analizaron en un sistema HPLC (equipado con Smartlinepump 100, detector de índice de refracción K-2301 y autosampler AS 3800, Knauer, Germany). La separación de carbohidratos se realizó con una columna Kromasil® (100-NH<sub>2</sub>; 250 mm × 4,6 mm, tamaño de partícula de 5 µm) (Akzo Nobel, Brewster, NY, USA) utilizando acetoniitrilo/agua (70:30 V/V) como fase móvil y elución en modo isocrático con un flujo de 1 mL/min durante 30 min. El procesamiento de datos se realizó con el software EuroChrom para Windows Basic Edition v.3.05. Los carbohidratos se identificaron por comparación de sus tiempos de retención ( $t_R$ ) con los siguientes estándares: glucosa, galactosa y fructosa como monosacáridos, lactosa y lactulosa como disacáridos, rafinosa como trisacárido y estaquirosa como tetrasacárido. La cuantificación se realizó por el método de estándar externo usando curvas de calibración en el rango 0.05-5 mg/mL para cada azúcar. Los carbohidratos presentes en las mezclas de reacción se expresaron como porcentaje del total cuantificado.

#### Cromatografía gaseosa (GC-FID)

Los carbohidratos de las mezclas de reacción fueron analizados como oximas trimetilsililadas (Sabateret al., 2019) en un cromatógrafo gaseoso con detector de ionización de llama (GC-FID). Para ello se agregó 15 µL de muestra a 0,4 mL de estándar interno (0,5 mg mL<sup>-1</sup> fenil-β-glucosido) y se evaporó a 38-40 °C. Para formar las oximas se agregó 250 µL de cloruro de hidroxilamina (2,5%) en piridina y se calentó a 70 °C por 30 min y luego se adicionó hexametildisilazano (250 µL) y TFA (25 µL) y se mantuvo a 50 °C por 30 min. Las reacciones se centrifugaron (10.000 rpm, 2 min) y los sobrenadantes se inyectaron en un cromatógrafo modelo 7890A (Agilent Technologies, Wilmington, DE, USA) equipado con una columna capilar de sílice fundida (DB-5HT, ligada, fase entrecruzada de 30 m × 0,25 mm d.i. y 0,25 µm de película) (J&W Scientific, Folsom, California, USA) usando nitrógeno a 1 mL/min como gas carrier. La temperatura del horno se incrementó desde 180 °C a razón de 3 °C por min hasta 350 °C y se mantuvo por 25 min. El inyector y detector se ajustaron a 280 °C y 355 °C, respectivamente. La adquisición de datos se realizó con el software Agilent ChemStation Rev. B.03.01. Los factores de respuesta se calcularon en relación a estándares internos de soluciones de carbohidratos puros (galactosa, glucosa, lactosa, rafinosa y estaquiosa preparadas en las concentraciones esperadas en las muestras). Los

resultados se expresaron como % de carbohidratos totales (media ± desviación estándar).

#### - Purificación parcial de los GOS

Para evaluar el potencial efecto prebiótico de los oligosacáridos sintetizados, se realizó el fraccionamiento y la separación de mono- y disacáridos de la mezcla de reacción obtenida luego de la transglucosilación mediante dos tratamientos secuenciales: adsorción en carbón activo y fermentación con levaduras. Para la adsorción de oligosacáridos, 1 mL de muestra y 3 g de carbón activado Darco G60, (Sigma-Aldrich) fueron disueltos en 100 mL de etanol 10 % (v/v) y se agitó por 30 min. Luego se filtró al vacío con filtro Whatman y se lavó el retenido con 25 mL de etanol 10 %. La desorción se llevó a cabo agitando el carbón activado por 30 min con etanol al 50 % y se filtró nuevamente. El filtrado se concentró 100 veces al vacío en un evaporador rotatorio a 40 °C (Hernández et al., 2009). El residuo resultante se disolvió en agua desionizada, y se fermentó a 37 °C durante 24 h con  $1 \times 10^{10}$  UFC/mL de *Saccharomyces cerevisiae* (Leveq®, Lesaffre, Argentina) para eliminar los monosacáridos restantes. Finalmente se centrifugó a 10.000 rpm por 5 min y se filtró (0,22 µm tamaño de poro) para eliminar las levaduras.

#### - Determinación de la capacidad prebiótica de los GOS producidos

El potencial prebiótico de los GOS sintetizados por *P. acidipropionici* LET 120 y *L. bulgaricus* CRL450 fue evaluado sobre cultivos puros de 2 cepas probióticas comerciales: *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12® y *L. casei* CRL 431 mediante su adición como fuente de carbono para el desarrollo celular. A modo comparativo se evaluó glucosa y el prebiótico comercial Vivinal-GOS y el comportamiento de las cepas productoras. Los microorganismos fueron inoculados ( $OD_{600} \approx 0.05$ ) en caldo MRS suplementado con 0,5% de los carbohidratos en estudio e incubados a 37°C por 24 h. El crecimiento fue determinado por incremento de la absorbancia a 600 nm y cambio de pH del medio de cultivo. El índice de actividad prebiótica (PAS) se determinó comparando el crecimiento en iguales condiciones de las cepas probióticas y las productoras con una enterobacteria (*Escherichia coli* C3) según la ecuación de Huebner et al. (2007):

$$PAS = \frac{PP_{24}-PP_0}{PG_{24}-PG_0} - \frac{EP_{24}-EP_0}{EG_{24}-EG_0}$$

Donde  $PP_{24}$  y  $PP_0$  es la biomasa del probiótico a expensas del prebiótico en estudio después de 24 h y 0 h de fermentación, respectivamente.  $PG_{24}$  y  $PG_0$  es la biomasa probiótica con glucosa después de 24 h y 0 h de fermentación, respectivamente.  $EP_{24}$ ,  $EP_0$  y  $EG_{24}$ ,  $EG_0$  es la biomasa de *E. coli* con el prebiótico y en glucosa después de 24 h y 0 h de fermentación, respectivamente. Todos los ensayos de este estudio fueron realizados por triplicado y los resultados se expresan como promedio  $\pm$  desviaciones estándar. Las determinaciones analíticas se realizaron por duplicado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

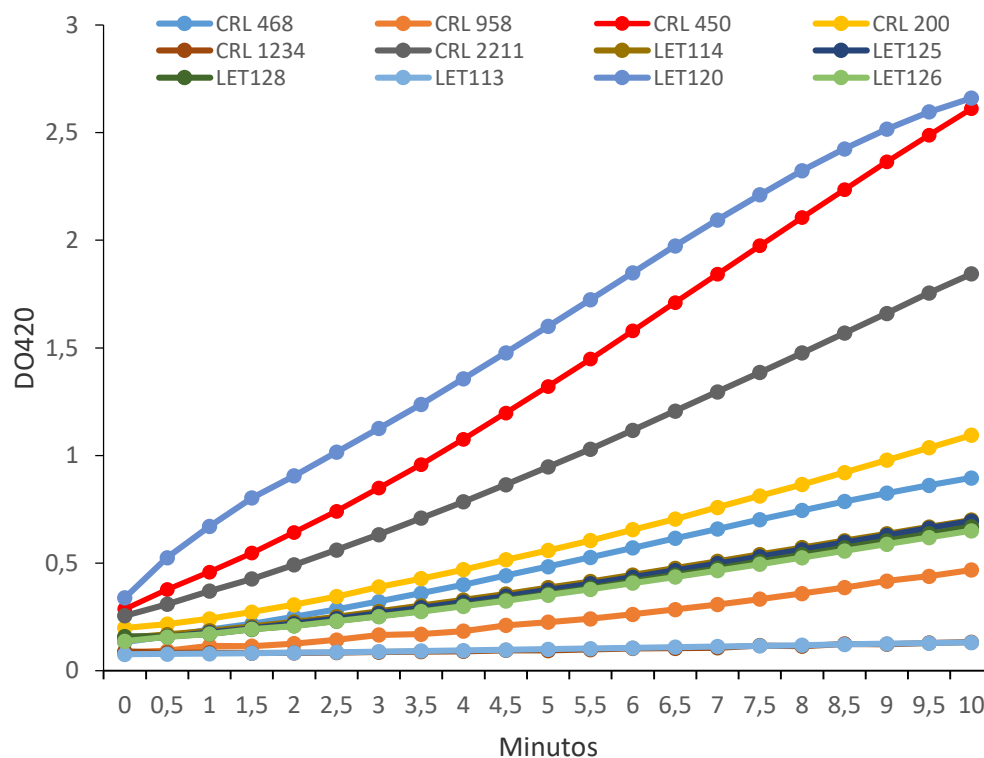
### - Evaluación de la actividad de $\beta$ -galactosidasa de bacterias grado alimentario

El empleo por parte de la industria alimentaria de microorganismos con la capacidad de degradar lactosa para obtener alimentos fermentados con características organolépticas diferenciadas y vida de estante prolongada es una práctica largamente reconocida. Sin embargo, en las últimas décadas, el interés se ha ampliado a su posible aplicación como probióticos o generadores de prebióticos en nuevos alimentos funcionales. Al respecto, la enzima  $\beta$ -galactosidasa conjuga potencial tecnológico para la obtención de lácteos fermentados, probiótico por su capacidad de contribuir a la hidrólisis

intestinal de la lactosa de la dieta aliviando los síntomas de intolerancia (Vonk et al., 2012) y prebiótico por su actividad transglucosilasa capaz de generar galactooligosacáridos (GOS) con actividad biológica (Otieno, 2010; Torres et al., 2010; Vera et al., 2016). A fin de seleccionar cepas con actividad  $\beta$ -gal relevante y de interés para la industria, evaluamos en primera instancia la actividad hidrolítica de un panel de bacterias lácticas y propionibacterias de origen alimentario. Todas las cepas empleadas en este estudio fueron capaces de crecer a expensas de lactosa y presentaron actividad  $\beta$ -galactosidasa en los ELC. La actividad específica (U/mg) determinada por la hidrólisis del sustrato cromogénico ONPG varió ampliamente entre las cepas desde 0,03 U/mg para *L. paracasei* CRL 143 hasta 2,55 U/mg para *P. acidipropionici* LET 120 (Tabla 1). Las cepas con la mayor velocidad de hidrólisis ( $P < 0.05$ ) fueron *L. bulgaricus* CRL 450 entre los lactobacilos y *P. acidipropionici* LET 120 entre las propionibacterias, por lo que fueron seleccionadas para los estudios posteriores (Figura 2).

Lactobacilos	Origen	$\beta$ -gal (U/mg)	Propionibacterias	Origen	$\beta$ -gal (U/mg)
<i>L*. bulgaricus</i> CRL 450	Yogurt	1.07 $\pm$ 0.13	<i>P**.</i> <i>freudenreichii</i> LET114	Queso emmental	0.21 $\pm$ 0.07
<i>L. bulgaricus</i> CRL 468	Yogurt	0.40 $\pm$ 0.00	<i>P. freudenreichii</i> LET125	Queso emmental	0.25 $\pm$ 0.05
<i>L. bulgaricus</i> CRL 958	Yogurt	0.27 $\pm$ 0.04	<i>P. jenseni</i> LET128	Queso Gouda	0.92 $\pm$ 0.07
<i>L. paracasei</i> CRL 76	Queso	0.25 $\pm$ 0.04	<i>P. acidipropionici</i> LET113	Leche cruda	0.28 $\pm$ 0.05
<i>L. paracasei</i> CRL 143	Queso	0.03 $\pm$ 0.00	<i>P. acidipropionici</i> LET116	Queso tipo suizo	0.09 $\pm$ 0.02
<i>L. paracasei</i> CRL 200	Queso Taffí	0.86 $\pm$ 0.05	<i>P. acidipropionici</i> LET117	Queso tipo suizo	0.08 $\pm$ 0.01
<i>L. plantarum</i> CRL 41	Queso Taffí	0.26 $\pm$ 0.02	<i>P. acidipropionici</i> LET119	Queso Fontina	0.10 $\pm$ 0.03
<i>L. plantarum</i> CRL 1234	Repollo	0.13 $\pm$ 0.02	<b><i>P. acidipropionici</i> LET120</b>	<b>Leche cruda</b>	<b>2.55<math>\pm</math>0.15</b>
<i>L. plantarum</i> CRL 2211	Arveja	0.65 $\pm$ 0.02	<i>P. freudenreichii</i> LET126	Queso tipo suizo	0.31 $\pm$ 0.03

**Tabla 1:** Actividad específica  $\beta$ -galactosidasa de lactobacilos y propionibacterias de origen alimentario. \**Lactobacillus*. \*\**Propionibacterium*



**Figura 2:** Cinética de hidrólisis de ONPG por las  $\beta$ -galactosidasas de bacterias lácticas y propionibacterias de origen alimentario.

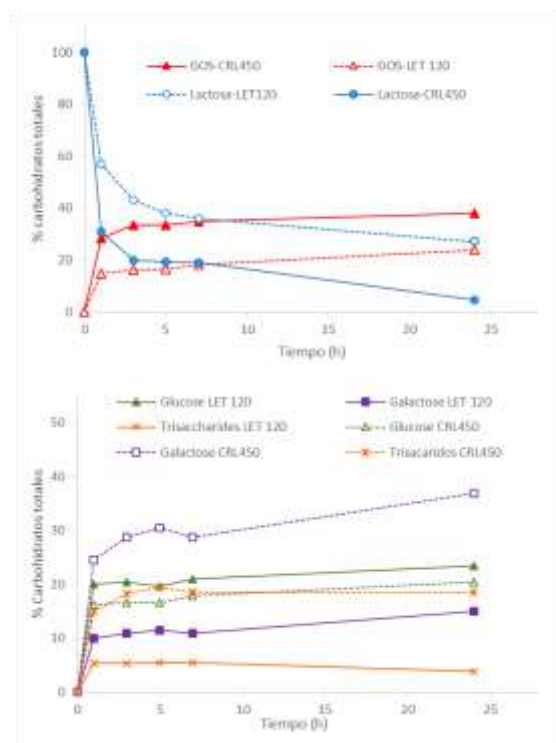
#### -Síntesis enzimática de GOS a partir de lactosa

Los GOS son sintetizados a partir de soluciones de lactosa pura o lactosuero por la actividad transglucosilica de la enzima  $\beta$ -galactosidasa de diferentes microorganismos, dando lugar a mezclas complejas con diferente número de monómeros y enlaces (Rabiu et al., 2001, Cardelle-Cobas et al., 2009, Otieno, 2010; Ganzle, 2012; Vera et al 2016). Al presente la mayoría de los productos comerciales son elaborados con enzimas fúngicas de *K. lactis* o *A. oryzae* o bacterianas de *B. circulans* (Playne & Crittenden 2009). Sin embargo la fuente de  $\beta$ -gal y las condiciones de reacción, influyen en las cantidades de GOS obtenidas, su composición y los enlaces entre las unidades de D-galactosa afectado esto a su potencial prebiótico (Playne y Crittenden 2009; Torres et al., 2010). En este sentido, se ha propuesto que la  $\beta$ -gal de microorganismos con potencial probiótico sería más apropiada para la producción de oligosacáridos prebióticos selectivos (Rabiu et al., 2001, Rastall y Maitin, 2002; Osman et al., 2010). Por lo tanto es nuestro interés estudiar la actividad transglucosidasa de la enzima  $\beta$ -galactosidasa de microorganismos grado alimentario para sintetizar GOS definidos.

Para la síntesis enzimática de GOS, los CFE conteniendo la  $\beta$ -galactosidasa de los microorganismos seleccionados fueron incubados con 300 g/L de lactosa a pH 6,5 y 40°C y se tomaron muestras a intervalos para su análisis por técnicas cromatográficas. Como se observa en la Figura 3, ambos microorganismos consumieron la mayor parte del sustrato (60-80%) en las primeras 5 horas de reacción degradando lentamente el remanente hasta las 24 horas (95% de consumo de lactosa para *L. bulgaricus* CRL 450 vs 75% para *P. acidipropionici* LET 120). Con respecto a la transglucosilación, la concentración de GOS se incrementó gradualmente con el progreso de las reacciones hasta las 24 h, aunque los máximos niveles de síntesis se alcanzaron en los primeros 180 minutos con ambas enzimas (Figura 3a y b). La  $\beta$ -gal del lactobacilo fue más eficiente tanto para hidrolizar como para transglucosilar lactosa, sintetizando un máximo de 38,1% de GOS (con respecto a los azúcares totales) (18,6% de trisacáridos), vs los  $26,8 \pm 1,6$  % sintetizados por la  $\beta$ -gal de la propionibacteria a las 24 h. De igual manera, la  $\beta$ -gal de *L. bulgaricus* CRL 450 fue capaz de liberar una mayor concentración total de monosacáridos aunque se observó un patrón inverso de liberación de los mismos: *P. acidipropionici* liberó mayor cantidad de glucosa mientras que *L. bulgaricus* liberó



concentraciones superiores de galactosa (Figura 3b). Otros estudios sobre transgalactosilación de soluciones de lactosa empleando la  $\beta$ -gal de otras bacterias tales como *L. reuteri* (Splechtna et al., 2006), *L. acidophilus* (Nguyen et al., 2007), *L. plantarum* (Iqbal et al., 2010) y especies de *Bifidobacterium* (Rabiu et al., 2001) bajo diferentes condiciones de reacción reportaron rendimientos de GOS entre 26,8 a 47,6% y se encuentran en el rendimiento promedio de 30 a 40% típicamente optimizado para GOS (Veruet al., 2016).



**Figura 3:** Cinética de consumo de lactosa, liberación de monosacáridos y producción de GOS por las  $\beta$ -galactosidasas de *P. acidipropionici* LET120 y *L. bulgaricus* CRL 450.

- *Caracterización de los GOS obtenidos y condiciones óptimas*

A fin de dilucidar la composición de GOS sintetizados con la  $\beta$ -gal de *L. bulgaricus* CRL450 y *P. acidipropionici* LET120 las mezclas obtenidas en el momento de máxima producción fueron analizadas por GC-FID. La Tabla 2 muestra la presencia y concentración de mono-, di-, y trisacáridos encontrados. Entre los oligosacáridos identificados se puede mencionar los disacáridos alolactosa ( $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 6)-D-Glu) y 6-galactobiosa ( $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 6)-D-Gal), los trisacáridos 6'-galactosil-lactosa ( $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 6)-lactosa) y 3'-galactosil-lactosa ( $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 3)-lactosa). Si bien se detectaron tetrasacáridos en las mezclas, ninguno de ellos pudo ser identificado. Cada enzima produjo, en

iguales condiciones de reacción, una mezcla particular de oligosacáridos. Así, la  $\beta$ -gal de *L. bulgaricus* CRL450 sintetizó el doble de alolactosa y 3'galactosyl-lactosa que la  $\beta$ -gal de *P. acidipropionici* LET120, mientras que ésta sintetizó mayores concentraciones de 6-galactobiosa y fue la única que produjo 4'galactosyl-lactosa (Tabla 2). Los GOS comerciales disponibles son mezclas de monosacáridos, disacáridos y trisaccharides con diferentes enlaces: Vivinal®-GOS y Oligomate® contienen predominantemente  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) trisacáridos (Rabiu et al., 2001; Chockchaisawasdee et al., 2005). En el caso de bacterias con potencial probiótico, bifidobacterias tales como *Bifidobacterium bifidum* NCIMB 41171 sintetizan GOS formados mayormente por enlaces  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3) (Depeint et al., 2008), mientras que especies de *Lactobacillus* sintetizan principalmente enlaces  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 6) y en menor medida enlaces  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3) cuando transgalactosilan (Splechtna et al., 2006; Iqbal et al., 2010).

Conc. carbohidratos (% w/w)	<i>L. bulgaricus</i> CRL 450	<i>P. acidipropionici</i> LET 120
Tiempo (h)	5	24
Galactosa	15.6 $\pm$ 0.6	12.2 $\pm$ 0.3
Glucosa	21.9 $\pm$ 1.6	28.4 $\pm$ 2.2
Lactosa	19.4 $\pm$ 1.8	28.7 $\pm$ 1.4
Alolactosa	14.7 $\pm$ 0.8	7.1 $\pm$ 1.0
6-galactobiosa	2.7 $\pm$ 0.1	4.2 $\pm$ 0.8
3'galactosyl-lactosa	4.4 $\pm$ 0.2	2.1 $\pm$ 0.0
4'galactosyl-lactosa	-	1.1 $\pm$ 0.1
6'galactosyl-lactosa	5.6 $\pm$ 0.4	5.4 $\pm$ 0.2
<b>GOS*</b>	<b>43.0 <math>\pm</math> 4.0</b>	<b>26.8 <math>\pm</math> 1.6</b>

**Tabla 2:** Contenido de carbohidratos (% del total de carbohidratos en la muestra) al momento de máxima síntesis de oligosacáridos, determinados por GC-MS, en las mezclas de reacción de las  $\beta$ -galactosidasas seleccionadas con 300 g L<sup>-1</sup> de lactosa a 45 °C y pH 6.5.

A fin de optimizar la producción se cuantificaron por HPLC los GOS sintetizados con ambas enzimas, en diferentes condiciones de reacción: temperaturas de 45 y 55 °C; pH 5,5 y 6,5; concentración de enzima de 1 y 2,5U/mL e incubación entre 0,5 y 10,5 h. Es conocido que la producción de GOS aumenta con la concentración inicial de lactosa que actúa como



aceptor de las unidades de galactosa. Sin embargo, Vera y col. (2012) observaron que el incremento de 400 a 600 g/L en la concentración inicial de lactosa produce una reducción en el rendimiento de GOS debido a la disminución de la solubilidad de la lactosa por lo que en el presente trabajo se utilizó una concentración fija de sustrato de 300 g/L y se modificaron otros factores para ver su incidencia en la síntesis. Ambas enzimas fueron capaces de producir GOS en todas las condiciones de reacción evaluadas. Sin embargo, sólo los trisacáridos estuvieron presentes en todas las mezclas analizadas, resultando variable la presencia de di-GOS y tetra-GOS según las condiciones ensayadas.

La Tabla 3 resume las condiciones óptimas para la producción mínima y máxima con ambas enzimas. En el caso de *P. acidipropionici* LET120 la mayor producción de GOS se observó a las 5,5 h de reacción a pH 6, 50°C, utilizando una concentración máxima de enzima de 2,5 u/mL y fue de 25,22 g/L. Por su parte, la  $\beta$ -gal de *L. bulgaricus* CRL450 sintetizó la mayor concentración de GOS (48,44 g/L) luego de un tiempo de reacción de 10,5 h a 50°C, pH 6 utilizando una concentración de enzima de 1,5 U/mL.

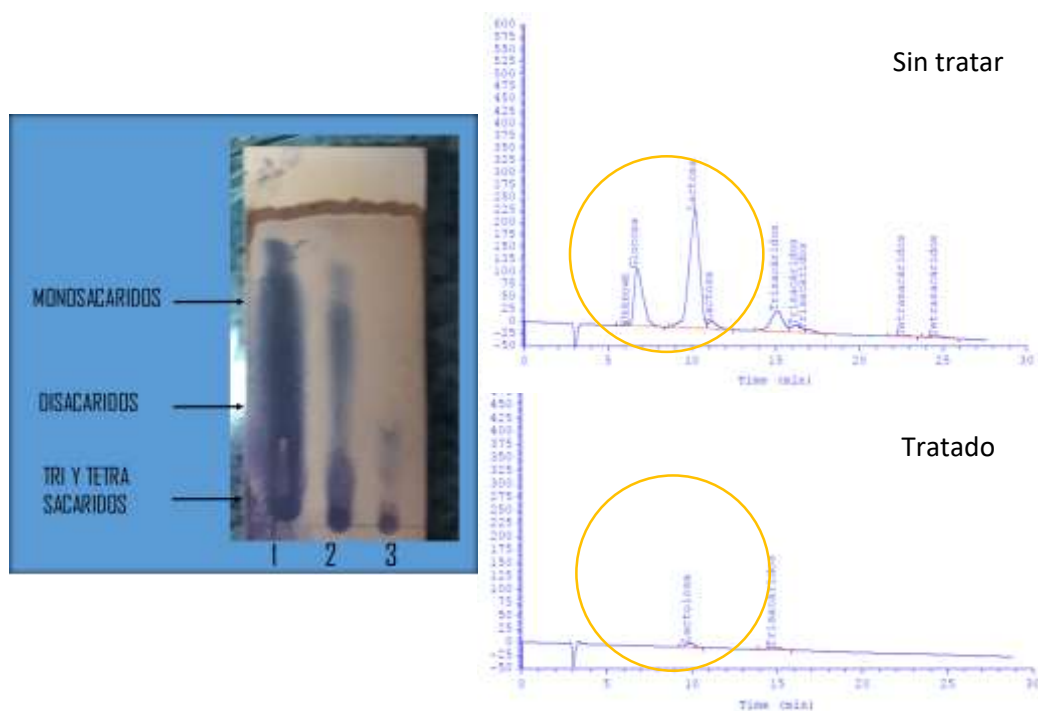
<i>Condiciones</i>	<i>L. bulgaricus</i> CRL 450		<i>P. acidipropionici</i> LET 120	
	<i>Mínima producción</i>	<i>Máxima producción</i>	<i>Mínima producción</i>	<i>Máxima producción</i>
<b>pH</b>	6,0	6,0	5,5	6,0
<b>Temperatura</b>	50	50	55	50
<b>Tiempo (horas)</b>	5,5	10,5	3	5,5
<b>Conc. Ez.(U/mL)</b>	1,5	1,5	1	2,5
<b>Tri-GOS</b>	6,71	22,21	3,25	24,49
<b>Tetra-GOS</b>	0	5,27	0	0,73
<b>GOS totales</b>	<b>6,71</b>	<b>48,44</b>	<b>3,25</b>	<b>25,22</b>

**Tabla 3:** Condiciones de reacción para la producción mínima y máxima de GOS (% del total de carbohidratos en la muestra) por las  $\beta$ -galactosidasas seleccionadas a partir de 300 g L<sup>-1</sup> de lactosa.

#### - Fraccionamiento y purificación parcial de los GOS

Para evaluar el efecto prebiótico de los GOS obtenidos es necesario eliminar mono y disacáridos de las mezclas de reacción. Para ello se realizaron fraccionamientos empleando carbón activado y fermentación con *S. cerevisiae*. Luego de los tratamientos, se analizó el contenido de carbohidratos de las muestras mediante TLC y HPLC, usando como patrón una mezcla de galactosa, glucosa, lactosa, rafinosa y estaquiiosa (12,5 g/L).

La cromatografía en capa fina (TLC) se utilizó como método de detección cualitativa de los GOS. Mediante esta técnica fue posible observar la presencia de GOS y el grado de purificación después de los fraccionamientos pero no se pudo cuantificar su relevancia por lo que se recurrió a la cromatografía líquida de alta resolución para una valoración de los mismos. En la Figura 4 se muestra de manera cualitativa (panel a) y cuantitativa (panel b), la disminución de mono y disacáridos con respecto a la muestra sin tratar.



**Figura 4:** Eliminación de mono y disacáridos por adsorción en carbón activo y posterior fermentación con levaduras. Panel A: TLC de la muestra antes (calle 1) y después del tratamiento (calle 3). Panel B: HPLC de la mezcla antes (arriba) y después de tratar (abajo).

Otros estudios han empleado la fermentación selectiva con cepas de los géneros *Kluyveromyces* y *Saccharomyces* para separar GOS y eliminar los monosacáridos no deseados (glucosa y galactosa) (Li et al., 2008; Guerrero et al., 2014). Si bien esta técnica puede ser utilizada para enriquecer una muestra por eliminación de monosacáridos, su desventaja es la incapacidad de la levadura para eliminar los disacáridos. Por su parte, Hernandez et al. (2009) lograron eliminar un 94% de disacáridos, empleando adsorción a carbón activado aunque señalan como desventaja la pérdida de una proporción de los tri-GOS obtenidos. En este trabajo, la adsorción a carbón activo y posterior fermentación con levaduras produjo la remoción del 95% y 100% de los di y monosacáridos de las muestras, respectivamente representado un método simple y rápido para la purificación de GOS.

#### - Potencial prebiótico de los GOS sintetizados

Los GOS son ingredientes alimenticios que, entre otros beneficios, estimulan el crecimiento de microorganismos benéficos en el colon tales como bifidobacterias y lactobacilos. También pueden crioprotger y estimular el desarrollo de los probióticos en un alimento simbiótico (Tymczyszyn et al., 2014). Por lo tanto, para determinar el potencial prebiótico y

simbiótico de los GOS sintetizados por *L. bulgaricus* CRL 450 y *P. acidipropionici* LET 120 se evaluó su utilización por las cepas productoras y por reconocidas cepas probióticas de origen intestinal como *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 y *L. casei* CRL 431. Para ello, se realizaron fermentaciones en batch con glucosa, Vivinal-GOS, LET 120-GOS y CRL 450-GOS como única fuente energía y se evaluó el crecimiento de las cepas midiendo la absorbancia a 600 nm de la biomasa bacteriana a las 24 h de incubación a 37°C. Como se observa en la tabla 4, todos los microorganismos fueron capaces de desarrollar a expensas de las fuentes de carbono probadas, como lo evidenciaron el incremento en la  $DO_{600}$  y la disminución del pH al final de la fermentación (datos no mostrados). Todas las cepas mostraron mejor desarrollo con Vivinal-GOS, que en glucosa. Al respecto, se ha reportado que cepas de *Bifidobacterium* fermentan tri y tetrasacáridos antes que disacáridos, lactosa y azúcares simples como la glucosa o galactosa (Gopal et al., 2001; Amaretti et al., 2007; Goulas et al., 2009) y muestran preferencias por grados de polimerización específicos de los azúcares (Barboza et al., 2009). Además, la mayoría de los prebióticos comerciales como Vivinal-GOS®, y Bimuno® son mezclas que contienen una importante proporción de di- y monosacáridos residuales en su composición (Cadelle-Cobas et al., 2012).

Fuente de carbono	DO <sub>600</sub> alcanzada a las 24 h			
	<i>L. casei</i> CRL 431	<i>B. animalis</i> subsp <i>lactis</i> BB-12	<i>P. acidipropionici</i> LET 120	<i>L. bulgaricus</i> CRL 450
Glucosa	0,81±0,02	0,89±0,04	0,62±0,03	0,66±0,01
Vivinal-GOS	0,98±0,09	1,01±0,04	0,94±0,02	0,78± 0,00
LET120-GOS	0,62±0,14	0,63±0,17	0,52±0,02	-
CRL450-GOS	0,38±0,03	0,33±0,01	-	0,37±0,08

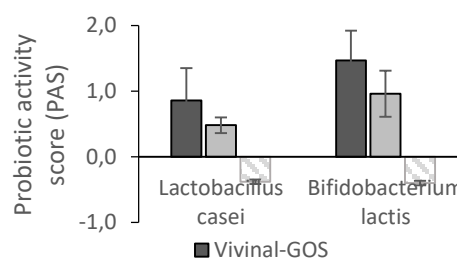
**Tabla 4:** Incremento en la biomasa celular (24 h) de cultivos puros de cepas probióticas y productoras de GOS en glucosa, GOS comerciales y los GOS producidos por LAB y PAB. Todos los cultivos partieron de una DO<sub>600</sub> inicial aprox. de 0,15.

Ambos probióticos fueron capaces de crecer en los GOS producidos por LET 120 pero desarrollaron escasamente en aquellos sintetizados por CRL450. Las cepas productoras de GOS también mostraron un bajo desarrollo a expensas de sus propios oligosacáridos comparado con los GOS comerciales pero esto podría deberse a la ausencia de monosacáridos y menor contenido de lactosa de estos sustratos después de la purificación.

Como se mencionó, los GOS prebióticos deben favorecer el crecimiento de la microbiota beneficiosa en el intestino. Para ello deben ser mejor metabolizados por lactobacilos y bifidobacterias que por componentes potencialmente patógenos como enterobacterias. Al respecto, Huebner et al. (2007) establecieron un índice cuantitativo de actividad prebiótica (PAS) basado en el aumento de la biomasa celular después de 24 h de una cepa probiótica crecida en el compuesto prebiótico en estudio o en glucosa; en relación con el cambio de biomasa de una cepa entérica desarrollada en las mismas condiciones. Otros estudios han evaluado el efecto prebiótico de oligosacáridos derivados de lactosa en cultivos puros de cepas potencialmente probióticas mediante la determinación del crecimiento, consumo de sustratos y/o producción de metabolitos (Rabiu et al., 2001, Cardelle-Cobas et al., 2011, Hernandez et al., 2012; García Cayuela et al., 2014). Sin embargo, el PAS es considerado como un método sencillo para establecer la condición prebiótica de oligosacáridos en cultivos puros (Huebner et al., 2007; Guerrero et al., 2015).

La Figura 5 muestra el PAS de los oligosacáridos probados en los probióticos de origen intestinal *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 y *L. casei* CRL 431. El crecimiento de la enterobacteria *E. coli* C3 fue mayor en glucosa que en los probióticos estudiados. Sin embargo, el PAS sólo resultó positivo para Vivinal-GOS y LET120-GOS debido al escaso desarrollo de los probióticos en los GOS sintetizados por *L.*

*bulgaricus* CRL 450. Los oligosacáridos sintetizados por LET120 mostraron un PAS más bajo que el comercial Vivinal-GOS para las dos cepas probióticas analizadas aunque esto podría adjudicarse a su mayor grado de pureza. Si bien el resultado es promisorio se necesitan estudios complementarios que determinen el efecto fisiológico de estos GOS en un ecosistema complejo como la microbiota intestinal.



**Figura 5:** Índice de actividad prebiótica (PAS) de los oligosacáridos sintetizados por *P. acidipropionici* LET 120 y *L. bulgaricus* CRL 450 en cepas probióticas intestinales.

## CONCLUSION

La producción de nuevos compuestos bioactivos ha concertado la atención de la ciencia y la industria por su aplicación como ingredientes funcionales para el desarrollo de nuevos alimentos. Al respecto, la síntesis de oligosacáridos con mayor selectividad posee gran potencial para mejorar la composición y actividad de la microbiota de los consumidores. Pocos estudios han evaluado el potencial prebiótico de la  $\beta$ -galactosidasa de bacterias con antecedentes probióticos. Nuestros resultados muestran que propionibacterias y bacterias lácticas son capaces de transgalactosilar lactosa para producir galactooligosacáridos (GOS) los cuales pueden ser usados como nutriente por cepas intestinales benéficas. Dado que estos GOS representan una alternativa promisoriosa para el desarrollo de nuevos aditivos alimentarios,

estudios sobre la optimización de la producción y sus efectos in vivo se encuentran actualmente en curso.

#### AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo contó con el financiamiento de PICT-3583 de ANPCyT (Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, Argentina), Proyecto IC603 del Instituto de Competitividad de la Universidad de San Pablo Tucumán, Proyecto I-COOP2014COOPB20099 y EMHE-CSIC 2017 MHE-200047 del CSIC (Consejo Superior de Investigaciones Científicas, España).

#### BIBLIOGRAFÍA

- Al-Sheraji SH, Ismail A, Manap MY, Mustafa S, Yusof RM, Hassan FA. 2013. Prebiotics as functional foods: a review. *J Func Foods*, 4(4): 1542–53.
- Amaretti A, Bernardi T, Tamburini E, Zanoni S, Lomma M, Matteuzzi D, Rossi M. 2007. Kinetics and metabolism of *Bifidobacterium adolescentis* MB 239 growing on glucose, galactose, lactose, and galactooligosaccharides. *Appl Environ Microbiol*, 73: 3637–44.
- Aureli P, Capurso L, Castellazzi AM, Clerici M, Giovannini M, Morelli L, et al. 2011. Probiotics and health: an evidence-based review. *Pharmacol Res*, 63: 366–76.
- Barboza M, Sela DA, Pirim C, LoCascio RG, Freeman SL, German JB, et al. 2009. Glycoprofiling bifidobacterial consumption of galactooligosaccharides by mass spectrometry reveals strain-specific, preferential consumption of glycans. *Appl Environ Microbiol*, 23: 7319–25.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal Biochem*, 72: 248–54.
- Cardelle-Cobas A, Martínez-Villaluenga C, Sanz ML, Montilla A. 2009. Gas chromatographic–mass spectrometric analysis of galactosyl derivatives obtained by the action of two different  $\beta$ -galactosidases. *Food Chem*, 114: 1099–105.
- Cardelle-Cobas A, Corzo N, Olano A, Peláez C, Requena T, Ávila M. 2011. Galactooligosaccharides derived from lactose and lactulose: Influence of structure on *Lactobacillus*, *Streptococcus* and *Bifidobacterium* growth. *Int J Food Microbiol*, 149: 81–87.
- Cardelle-Cobas A, Olano A, Corzo N, Villamiel M, Collins M, Kolida S, Rastall RA. 2012. In vitro fermentation of lactulose-derived oligosaccharides by mixed fecal microbiota. *J Agric Food Chem*, 60: 2024–32.
- Chockchaisawasdee S, Athanasopoulos VI, Niranjana K, Rastall RA. 2005. Synthesis of galacto-oligosaccharide from lactose using  $\beta$ -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*: Studies on batch and continuous UF membrane-fitted bioreactors. *Biotechnol Bioeng*, 89: 434–43.
- Corzo-Martinez M, Copoví P, Olano A, Moreno FJ, Montilla A. 2013. Synthesis of prebiotic carbohydrates derived from cheese whey permeate by a combined process of isomerisation and transgalactosylation. *J Sci Food Agric*, 93: 1591–97.
- Depeint F, Tzortzis G, Vulevic J, l'Anson K, Gibson GR. 2008. Prebiotic evaluation of a novel galactooligosaccharide mixture produced by the enzymatic activity of *Bifidobacterium bifidum* NCIMB 41171, in healthy humans: a randomized, double-blind, crossover, placebo-controlled intervention study. *Am J Clin Nutr* 87: 785–91.
- FAO/WHO. 2002. Probiotics in foods. Health and nutritional properties and guidelines for evaluation. Food and Health Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group Report. <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/fa0512e/fa0512e00.pdf>
- García-Cayuela T, Díez-Municio M, Herrero M, Martínez-Cuesta MC, Peláez C, Requena T, et al. 2014. Selective fermentation of potential prebiotic lactose-derived oligosaccharides by probiotic bacteria. *Int Dairy J*, 38: 11–15.
- Gänzle M. 2012. Enzymatic synthesis of galacto-oligosaccharides and other lactose derivatives (hetero-oligosaccharides) from lactose. *Int Dairy J*, 22: 116–22.
- Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, et al. 2017. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 14: 491–502.
- Gopal PK, Sullivan PA, Smart JB. 2001. Utilisation of galacto-oligosaccharides as selective substrates for growth by lactic acid bacteria including *Bifidobacterium lactis* DR10 and *Lactobacillus rhamnosus* DR20. *Int Dairy J*, 11: 19–25.
- Goulas T, Goulas A, Tzortzis G, Gibson GR. 2009. Comparative analysis of four  $\beta$ -galactosidases from *Bifidobacterium bifidum* NCIMB41171: purification and biochemical characterisation. *Appl Microbiol Biotechnol*, 82: 1079–88.

- Guerrero C, Vera C, Novoa C, Dumont J, Acevedo F, Illanes A. 2014. Purification of highly concentrated galacto-oligosaccharide preparations by selective fermentation with yeasts. *Int Dairy J*, 39:78–88.
- Guerrero, C, Vera C, Acevedo F, Illanes A. 2015. Simultaneous synthesis of mixtures of lactulose and galacto-oligosaccharides and their selective fermentation *J Biotechnol*, 209: 31–40.
- Hernández O, Ruiz-Matute AI, Olano A, Moreno FJ, Sanz ML. 2009. Comparison of fractionation techniques to obtain prebiotic galactooligosaccharides. *Int Dairy J*, 19: 531–36.
- Hernández-Hernández O, Muthaiyan A, Moreno FJ, Montilla A, Sanz ML, Ricke SC 2012. Effect of prebiotic carbohydrates on the growth and tolerance of *Lactobacillus*. *Food Microbiol*, 30: 355-61.
- Huebner J, Wehling RL, Hutkins RW. 2007. Functional activity of commercial prebiotics. *Int Dairy J*, 17: 770–75.
- Iqbal S, Nguyen T, Maischberger T, Haltrich D. 2010.  $\beta$ -galactosidase from *Lactobacillus plantarum* WCFS1: biochemical characterization and formation of prebiotic galacto-oligosaccharides. *Carbohydr Res*, 345: 1408–16.
- Li Z, Xiao M, Lu L, Li Y. 2008. Production of non-monosaccharide and high purity galactooligosaccharides by immobilized enzyme catalysis and fermentation with immobilized yeast cells. *Process Biochem*, 43: 896–99
- Martínez-Villaluenga C, Cardelle-Cobas A, Corzo N, Olano A, Villamiel M. 2008. Optimization of conditions for galactooligosaccharide synthesis during lactose hydrolysis by  $\beta$ -galactosidase from *Kluyveromyces lactis* (Lactozym 3000 L HP G). *Food Chem*, 107: 258–64.
- Newaj-Fyzul A, Al-Harbi A, Austin B. 2014. Developments in the use of probiotics for disease control in aquaculture. *Aquaculture*, 431: 1–11.
- Nguyen TH, Splechna B, Krasteva S, Kneifel W, Kulbe KD, Divne C, et al. 2007. Characterization and molecular cloning of a heterodimeric beta-galactosidase from the probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* R22. *FEMS Microbiol Lett*, 269(1):136–44.
- Osman A, Tzortzis G, Rastall R, Charalampopoulos D. 2010. A comprehensive investigation of the synthesis of prebiotic galactooligosaccharides by whole cells of *Bifidobacterium bifidum* NCIMB 41171. *J Biotechnol*, 150:140–8.
- Otieno DO. 2010. Synthesis of galactooligosaccharides from lactose using microbial  $\beta$ -galactosidases. *Compr Rev Food Sc*, 9: 471–82.
- Playne MJ, Crittenden RG. 2009. Galacto-oligosaccharides and other products derived from lactose. In: McSweeney PLH, Fox PF (Eds.). *Advanced Dairy Chemistry: Lactose, water, salts and minor constituents*, Vol. 3, 3<sup>rd</sup> ed., New York, Springer, pp.121-201.
- Rabiu BA, Jay AJ, Gibson GR, Rastall RA. 2001. Synthesis and fermentation properties of novel galacto-oligosaccharides by  $\beta$ -galactosidases from *Bifidobacterium* species. *Appl Environ Microbiol*, 67 (6): 2526-30.
- Rastall R, Maitin, V. 2002. Prebiotics and synbiotics: towards the next generation. *Curr Opin Biotechnol*, 13:490–96.
- Sabater C, Fara A, Palacios J, Corzo N, Requena T, Montilla A, Zárata G. 2019 Synthesis of prebiotic galactooligosaccharides from lactose and lactulose by dairy propionibacteria. *Food Microbiol*, 77: 93-105.
- Sangeetha PT, Ramesh MN, Prapulla SG. 2005. Recent trends in the microbial production, analysis and application of fructooligosaccharides. *Trends Food Sci*, 16(10): 442-57.
- Savaiano DA, Ritter AJ, Klaenhammer TR, James GM, Longcore AT, Chandler JR, et al. 2013. Improving lactose digestion and symptoms of lactose intolerance with a novel galacto-oligosaccharide (RP-G28): A randomized, double-blind clinical trial. *Nutr J*, 12:160.
- Splechna B, Nguyen TH, Haltrich D. 2006. Production of prebiotic galacto-oligosaccharides from lactose using  $\beta$ -galactosidases from *Lactobacillus reuteri*. *J Agric Food Chem*, 54: 4999–5006.
- Sriphanam W, Lumyong S, Niumsap P, Ashida H, Yamamoto K, Khanongnuch C. (2012). A selected probiotic strain of *Lactobacillus fermentum* CM33 isolated from breast-fed infants as a potential source of  $\beta$ -galactosidase for prebiotic oligosaccharide synthesis. *J Microbiol*, 50(1): 119-26.
- Torres DPM, Goncalves MPF, Teixeira JA, Rodrigues LT. 2010. Galacto-oligosaccharides production, properties, applications, and significance as prebiotics. *Comp Rev Food Sci Food Saf*, 9:438–54.
- Tymczyszyn EE, Santos MI, Costa MDC, Illanes A, Gomez-Zavaglia A. 2014. History, synthesis, properties, applications and regulatory issues of prebiotic oligosaccharides. In: Gil MH(Ed). *Carbohydrates Applications in Medicine*, Research Signpost, Kerala, India.
- Vera C, Guerrero C, Conejeros R, Illanes A. 2012. Synthesis of galacto-oligosaccharides

- by  $\beta$ -galactosidase from *Aspergillus oryzae* using partially dissolved and supersaturated solution of lactose. *Enzyme Microb Technol* 50:188–94.
- Vera C, Córdova A, Aburto C, Guerrero C, Suárez S, Illanes A. 2016. Synthesis and purification of galacto-oligosaccharides: state of the art. *World J Microbiol Biotechnol*, 32:197.
- Vonk RJ, Reckman GAR., Harmsen HJM, Priebe MG. 2012. Probiotics and Lactose Intolerance. In: Rigobelo E. (Ed.) *Probiotics*, InTech, DOI: 10.5772/51424. <https://www.intechopen.com/books/probiotics/probiotics-and-lactose-intolerance>
- Yeoman CJ, White BA. 2014. Gastrointestinal tract microbiota and probiotics in production animals. *Ann Rev Anim Biosc*, 2: 469-86.
- Yin H, Bultema JB, Dijkhuizen L, van Leeuwen, Sander S. 2017. Reaction kinetics and galactooligosaccharide product profiles of the  $\beta$ -galactosidases from *Bacillus circulans*, *Kluyveromyces lactis* and *Aspergillus oryzae*. *Food Chem*, 225: 230–238.
- Zárate G, Saez G, Pérez Chaia A. 2013. Microbial transformation of lactose: potential of  $\beta$ -galactosidases for probiotic and prebiotic purposes. In: Green D, Lee E. (Eds.). *Lactose: structure, food industry applications and role in disorders*. Nova Science Publishing, USA. ISBN: 978-1-62808-198-5

**¿CÓMO AFECTA EL SISTEMA DE TRANSFERENCIAS  
INTERGUBERNAMENTALES EL INTERCAMBIO INTERTEMPORAL  
ENTRE REGIONES?**

**HOW DOES INTERGOVERNMENTAL TRANSFER SYSTEM AFFECTS  
INTERTEMPORAL TRADE BETWEEN REGIONS?**

CATALÁN, MARÍA JOSÉ <sup>1,2\*</sup>; MERLO, JUAN JOSÉ.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Universidad de San Pablo T (USP-T)*. <sup>2</sup>*Universidad Nacional de Tucumán (UNT)*

\* *mcatalan@uspt.edu.ar*

**RESUMEN**

Es bien conocido que mayores transferencias intergubernamentales incondicionales del gobierno central a los gobiernos subnacionales generan una excesiva provisión de bienes públicos locales, mayor endeudamiento regional y externalidades negativas entre regiones afectando el nivel de ahorro regional. Este efecto negativo de las transferencias incondicionales es en parte compensado por el efecto positivo de redistribución, por el cual la discrecionalidad en las transferencias federales, permite un mayor suavizamiento en la provisión de bienes públicos cuando existen ciclos económicos locales y las regiones son distintas en su trayectoria de ingresos. Un efecto no explorado en la literatura es cómo el uso de este tipo de transferencias afecta la relación de intercambio entre las regiones, medida a través de la cuenta corriente de cada región, debido al alterar los niveles de gasto, endeudamiento y ahorro local. Este trabajo estudia teóricamente los efectos sobre el intercambio comercial entre regiones y las políticas de endeudamiento y ahorro local cuando existe un sistema de transferencias intergubernamentales discrecionales por parte de un gobierno central y ciclos locales. Se encuentra que a mayor discrecionalidad a nivel federal y regiones asimétricas, la cuenta corriente mejora (se deteriora) para la región con mayores (menor) ingresos.

**Palabras claves:** Relaciones Intergubernamentales, Comercio intertemporal, Externalidades. **Clasificación JEL:** H7, F32, H23.

**SUMMARY**

It is well known that unconditional intergovernmental transfers from the central government to subnational governments generate an excessive provision of local public goods, greater regional indebtedness and negative externalities between regions affecting the level of regional savings. This negative effect is partly offset by the positive effect of redistribution, whereby discretionality in federal transfers allows a greater softening in the provision of public goods when there are local economic cycles and the regions are different in their income trajectory. One effect that has not been explored in the literature is how the use of discretionary transfers affects the exchange relation between the regions, measured by the current account of each region, because they alter the levels of spending, debt and local savings. This paper theoretically studies the effects on trade between regions by altering local debt and savings policies when there is a system of discretionary intergovernmental transfers by a central government and local cycles. We found that at greater discretion at the federal and asymmetrical levels, the current account improves (deteriorates) for the region with higher (lower) income.

**Keys words:** Intergovernmental transfers, Intertemporal trade, Externalities. **JEL Classification:** H7, F32, H23.

## INTRODUCCIÓN

El rol paternalista de los gobiernos centrales sobre los gobiernos subnacionales en muchos países federales implica un régimen de transferencias intergubernamentales con cierta cuota de discrecionalidad del gobierno central a los gobiernos subnacionales en respuesta a una necesidad financiera. Es bien conocido que cuanto más discrecional sea el uso de transferencias intergubernamentales, mayor es el exceso de provisión de bienes públicos locales, mayor es el endeudamiento regional y las externalidades entre regiones y por lo que, menor será la eficiencia económica agregada. Adicionalmente, las regiones de un país son diferentes con ingresos no correlacionados. La presencia de estos ciclos locales determina un efecto positivo del uso de transferencias intergubernamentales discretionales sobre la eficiencia al facilitar el suavizamiento de la provisión de bienes públicos locales. Es así que la discrecionalidad de un gobierno central en el uso de un sistema de transferencias intergubernamentales está justificada por sus efectos redistributivos pero en algunos casos este efecto es compensado por la pérdida de eficiencia generada por los incentivos perversos sobre gobiernos locales. Los efectos anteriores fueron estudiados en la literatura pero muy poco se conoce sobre cómo la discrecionalidad de un sistema de transferencias afecta el intercambio intertemporal regional (*intertemporal trade*) medido a través de las cuentas corrientes regionales al alterar los incentivos locales de endeudamiento y sus saldos de cuenta corriente.

Específicamente, este trabajo estudia teóricamente los efectos sobre las políticas de endeudamiento local e intercambio entre regiones al existir un sistema de transferencias intergubernamentales discretionales por parte de un gobierno central. Para modelar el problema se supone una economía intertemporal con tres agentes y se resuelve por inducción hacia atrás. Primero, los gobiernos locales hacen sus elecciones anticipando la política federal y su sistema de transferencias y considerando cómo las familias reaccionan, en sus elecciones de consumo privado, posterior a la elección de los gobiernos locales. Luego juega el gobierno central donde se supone que no puede comprometerse a una política de no realizar transferencias ex post. Este gobierno central impone una tasa común de impuesto nacional fijada para cumplir con su balance presupuestario. Esta tasa debe ser más alta cuando se observan niveles altos de gasto regional que cuando los niveles de gastos son bajos. La tasa común nacional de impuesto es

pagada por los residentes de todas las regiones, pero cuando un gobierno local está decidiendo cuánto gastar, cuánto ahorrar y cuánta deuda emitir, reconoce que sus decisiones influyen en la tasa de impuesto federal. El gobierno regional toma en cuenta el costo del mayor impuesto sobre sus residentes pero ignora el costo que impone sobre los residentes de las otras regiones. De esta forma es posible comparar el rol positivo de una mayor discrecionalidad en el sistema de transferencias con el rol negativo del mismo al alterar nivel de gasto y endeudamiento local y concluir sobre el intercambio comercial entre las regiones.

Existen varios trabajos que se focalizan en analizar la relación entre transferencias discretionales y los incentivos que éstas generan sobre los gobiernos regionales (Wildasin (1997) y Goodspeed (2002), Qian and Roland (1998) e Inman (2001)) mientras que otros estudios consideran teórica o empíricamente las transferencias federales como mecanismos de suavizamiento de los ciclos locales (Sala-I-Martin (1992), von Hagen (1991) y Asdrubali, Sorensen and Yosha (1996)). Pero ninguno relaciona el uso de transferencias discretionales ex post y las cuentas corrientes de los gobiernos subnacionales cuando existen ingresos asimétricos locales.

Cuando las regiones son distintas en su trayectoria de ingresos, la discrecionalidad en las transferencias federales afecta la relación de intercambio entre las regiones, medida a través de la cuenta corriente de cada región. Se encuentra que a mayor discrecionalidad a nivel federal, la cuenta corriente mejora (se deteriora) para la región con mayores (menor) ingresos. Este resultado surge porque existe una asimetría en las transferencias discretionales entregadas por el gobierno federal; las regiones más pobres reciben más fondos federales, relativo al ingreso local, que las regiones más ricas. Si bien es cierto que todas las regiones tienen incentivos a sobre gastar en bienes públicos cuando anticipan que recibirán fondos federales ex post, también es cierto que las regiones con menores ingresos tienen mayores incentivos a la indisciplina fiscal que las regiones más favorecidas porque anticipan que recibirán más transferencias discretionales ex post de la nación en relación a su nivel de ingreso. Entonces la asimetría en la entrega de fondos intergubernamentales hace que las regiones de menores recursos se sobreendeuden más cuanto más transferencias reciben ex post. Esto hace que sus activos externos disminuyan en relación al ahorro privado. De esto se concluye que la excesiva discrecionalidad del sistema de transferencias



puede ser una política contraproducente en el sentido de que no sólo genera incentivos perversos en los gobiernos subnacionales sino que a largo plazo empeora la tenencia de activos externos y disminuye el ahorro de las regiones más pobres.

Se procede de la siguiente forma. En la siguiente sección se revisa brevemente la literatura relacionada con este trabajo. El modelo básico inter temporal es presentado en la sección 3 mientras que en la sección 4 se muestran los efectos de la política federal de transferencias discrecionales sobre el comportamiento fiscal de las regiones y la interacción entre ellas. Finalmente se concluye y se presentan las recomendaciones de política que propone este trabajo.

### CONTEXTO DEL PAPER

Las llamadas “Teorías de Primera Generación” proveen un marco normativo para asignar las tres funciones de gobierno: estabilización, redistribución y asignación de recursos entre los diferentes niveles de gobierno (Tiebout (1956) y Oates (1972)). A finales de los ’90 surgen las llamadas “Teorías de Segunda Generación” para entender las condiciones políticas e institucionales que garanticen un sistema federal eficiente y estudiar los incentivos fiscales y políticos que enfrentan los gobiernos subnacionales (Kornai et al. (2003), Wildasin (1998), Qian and Roland (1998), Inman (2001) and Goodspeed (2002)). La literatura de Primera Generación enfatiza un diseño de transferencias intergubernamentales para corregir la equidad vertical y horizontal y mitigar sus desbalances, mientras que la Segunda Generación enfatiza la importancia de incentivos fiscales para producir prosperidad económica local. Este trabajo combina estas dos generaciones de teorías de federalismo fiscal considerando las transferencias intergubernamentales como medios redistributivos cuando existen incentivos fiscales perversos en los gobiernos subnacionales provocados por la política federal.

Además, las transferencias federales como mecanismo de redistribución entre regiones han sido también ampliamente estudiadas a nivel teórico y empírico (Sala-i-Martin (1992), von Hagen (1992) y Asdrubali, Sorensen and Yosha (1996)). Sala-i-Martin (1991) muestra para Estados Unidos que el sistema federal provee un seguro que oscila entre el 28 y 40% de las diferencias observadas para el período 1970-1988. Von Hagen (1992) estima el

mismo seguro federal que Sala-i-Martin pero en un 10% para el período 1981-1986. Asdrubali et. al. (1996) encuentran que el gobierno federal es un importante mecanismo de suavizamiento y suavizan el 13% de las diferencias de ingresos regionales.

Este trabajo intenta ser un aporte a la literatura relacionando la discrecionalidad de un gobierno central por medio de un sistema de transferencias intergubernamentales y el intercambio comercial entre las regiones de un país que enfrentan ciclos económicos no correlacionados. La característica central que se modela en el presente estudio es la discrecionalidad del sistema de transferencias del gobierno federal que origina interacciones estratégicas entre regiones en un juego fiscal afectando su nivel de endeudamiento, ahorro y cuenta corriente regional.

### MODELO TEÓRICO

En esta sección se modela teóricamente el problema de discrecionalidad en el uso de transferencias es post del gobierno central a los gobiernos subnacionales para responder la pregunta de cómo afecta este tipo de política el intercambio intertemporal entre regiones. El objetivo de esta sección es mostrar el efecto sobre las cuentas corrientes regionales cuando un gobierno central hace transferencias ex post incondicionales al gasto de las provincias y concluir sobre la interacción entre ellas al aplicarse este tipo de política federal.

El marco conceptual es un simple modelo inter temporal de dos períodos<sup>1</sup>. La economía del país consiste en I economías regionales y está habitada por tres tipos de agentes: gobiernos locales, familias y un gobierno central. Los gobiernos regionales proveen bienes públicos locales específicos a la región financiados con impuestos locales, emisión de deuda y transferencias del gobierno central. Las regiones están habitadas por familias. A lo largo de su vida, las familias reciben dotaciones del bien de consumo privado y consumen el bien privado y un bien público local. Ellas pueden ahorrar transando bonos libres de riesgo. No hay incertidumbre. Las familias están dotadas de previsión perfecta sobre el futuro. El mercado de bonos es competitivo y completamente integrado entre regiones. En este mercado, las familias y gobiernos pueden prestar y pedir prestado fondos a una tasa de interés dada.

<sup>1</sup> El modelo matemático está disponible bajo requerimiento.

Transando en este mercado, los agentes pueden suavizar consumo en el tiempo. El gobierno central maneja las relaciones fiscales entre regiones recaudando un impuesto nacional común y otorgando transferencias a los gobiernos locales. La característica clave del modelo es la discrecionalidad del sistema de transferencias del gobierno central: en la medida en la cual el gobierno central financia ex post gasto y deuda regional.

La existencia de discrecionalidad genera interacciones estratégicas entre las regiones. Los gobiernos regionales juegan un “juego fiscal simultáneo” a principios del período 1 en el cual cada gobierno local elige las trayectorias óptimas sobre endeudamiento, impuestos locales y gasto público local para maximizar el bienestar de su propia familia local, tomando en cuenta sus funciones de reacción en un instante posterior. Cuando juegan, las regiones anticipan la función de transferencia del gobierno central del período 2 y toman en cuenta los efectos de sus acciones sobre la tasa de impuesto nacional. De este juego fiscal surge un equilibrio de Nash –en el cual cada región toma sus decisiones óptimas tomando como dadas las acciones de las otras regiones- y combinado con el vacío de mercado de bonos se define el equilibrio de la economía nacional.

Las preferencias de las familias son idénticas entre regiones. Se asume una función de utilidad logarítmica de la familia representativa en la región  $i$  depende del consumo de un bien privado y un bien público local. La familia recibe una dotación con la cual compra el bien de consumo privado y acumula activos que rinde una tasa de retorno común entre regiones. El problema de la familia es elegir la trayectoria de consumo privado y tenencia de activos para maximizar su utilidad. Por su parte el gobierno local  $i$  produce un bien público específico a la región a través de una tecnología lineal que convierte una unidad del bien de consumo en una unidad de bien público. El gobierno regional financia la producción con impuesto local, emisión de deuda y transferencias del gobierno central. Por simplicidad, suponga que la deuda inicial del gobierno regional es cero, y que las transferencias del gobierno central son positivas sólo en el segundo período. Específicamente, la producción local del primer período es financiada con emisión de deuda; la producción del segundo período y repago de deuda es financiada con impuestos locales y transferencias del gobierno central. En el período 2, una vez que los gobiernos regionales han emitido deuda y ofrecido bienes públicos locales, el gobierno

central recauda un impuesto nacional común para el pago de transferencias. Suponga que el gobierno central fija la tasa de impuesto nacional necesaria para financiar la siguiente regla de transferencias: un nivel  $\alpha^i$  de transferencia ex ante incondicional para cada región más una transferencia ex post condicional al gasto representada por una proporción  $\mu \in [0,1]$  del gasto y deuda total regional del segundo período.

Los sistemas de transferencias federales son variados y dependientes de distintas variables fiscales observables. Por ejemplo, Estados Unidos utiliza un sistema de matching en el cual el gobierno central participa del gasto que reportan ciertos programas específicos públicos. En Argentina existe un sistema de coparticipación en el cual los gobiernos provinciales reciben fondos federales de acuerdo a tamaño de la población y a otros factores como gastos provinciales. Además, ambos países entregan transferencias ex post en forma de rescates financieros. Lockwood (1999) en un modelo teórico, determina la estructura óptima de las transferencias federales a los gobiernos regionales y encuentra que una transferencia óptima debe estar definida por una transferencia de suma fija (lump sum) independiente de cualquier variable fiscal y por una transferencia proporcional al gasto público o déficit fiscal de la región.

Como el gobierno central se compromete a no financiar más de una proporción  $\mu$  del gasto y deuda de todas las regiones en el segundo período, el parámetro puede ser interpretado como el grado de discrecionalidad del gobierno central. En un equilibrio regional la familia y el gobierno local están sobre su trayectoria de maximización y se establece la solvencia del gobierno regional. La familia y el gobierno regional toman como dado la política del gobierno central, incluyendo el parámetro de discrecionalidad en el uso de transferencias intergubernamentales; la tasa de interés; dotaciones, y las acciones de los agentes externos a la región.

Los activos de la familia son invertidos en bonos emitidos por el gobierno local ( $b^i$ ) o en bonos “externos” ( $A^{i*}$ ), emitidos por familias o gobiernos de otras regiones. Por lo que definimos como el balance de cuenta corriente de la región  $i$  (que en este caso es igual a la balanza comercial) como el ingreso regional menos el consumo privado y público  $A_2^{i*} = y_1^i - c_1^i - g_1^i$ , donde  $y$  es la dotación recibida por la familia,  $c$  consumo privado y  $g$  gasto público. Como el gasto público del primer período se supone financiado con deuda externa a la región, el

balance de cuenta corriente queda definido como ahorro privado menos deuda pública del gobierno local.

La discrecionalidad en el sistema de transferencias intergubernamentales del gobierno central genera interacciones fiscales estratégicas entre las regiones, lo que define un “juego fiscal”. El equilibrio regional es una mejor respuesta de la región (familia y gobierno local que maximizan utilidad) al ambiente nacional: la familia y el gobierno regional toman como dado la tasa de interés, la discrecionalidad del gobierno central y las acciones fiscales de las otras regiones. El juego fiscal consiste en las decisiones optimizadoras de familias y gobierno locales y el Equilibrio de Nash del juego fiscal es la mejor respuesta de cada gobierno local a las acciones especificadas por los otros I-1 gobiernos regionales. El equilibrio general de la economía nacional, agrega la condición de vacío del mercado de activos.

## SIMULACIONES Y RESULTADOS

El modelo teórico es simulado en el programa Matlab y a continuación se presentan los resultados reemplazando diferentes especificaciones de parámetros en la solución analítica del equilibrio, suponiendo, por simplicidad, que existen dos regiones<sup>2</sup>.

Se definen como simétricas las regiones con iguales trayectorias de dotaciones y asimétricas son las regiones con diferentes trayectorias de dotaciones. Una región más rica que otra significa que la primera recibe ingresos más altos en uno o ambos períodos. Por ejemplo, si en el primer período las dos regiones reciben 100 unidades de dotación y en el segundo período ambas reciben 100 o 200 o 70 unidades de dotación, entonces las regiones son simétricas. En cambio, si en el primer período las dos regiones reciben 100 unidades pero en el segundo período una recibe 120 y la otra 100 o 70, entonces la primera región es más rica que la segunda. Note que este modelo supone previsión perfecta de la trayectoria de ingresos y que decir que hay asimetría en los ingresos es equivalente a decir que existen ciclos locales conocidos por los agentes.

Sin pérdida de generalidad, se ilustra el modelo con dos casos comparativos. En el primer caso se supone que las regiones son simétricas con niveles de dotaciones de 100 unidades en cada período. En el segundo caso se supone que

las regiones son asimétricas y que la región 1 es más rica que la región 2 y la rica recibe el doble de ingresos que la pobre. Las regiones 1 y 2 reciben 200 y 100 unidades de dotación en ambos períodos, respectivamente. En la función de utilidad se suponen dos valores del parámetro de la elasticidad intratemporal de consumo privado y público: 0,2 y 1 indicando en el primer caso que el consumo privado le genera a la familia una mayor utilidad relativa al consumo del bien público mientras que en el segundo caso los dos tipos de bienes generan la misma utilidad.

Tanto para el caso de simetría como de asimetría regional, se concluye que cuanto mayor sea la discrecionalidad del gobierno central y más fondos ex post se transfiera a los gobiernos subnacionales, mayores son los incentivos a expandir el gasto del sector público regional (sobre gasto y sobre endeudamiento para financiar la provisión de bienes públicos) y menores son los incentivos al esfuerzo impositivo local (bajas tasa de impuestos regionales). Sin un sistema de transferencias intergubernamentales el gobierno central no recauda impuestos, no hace transferencias a las regiones y cada región financia su propio consumo público. A medida que aumenta  $\mu$  la regla de transferencias federales genera endeudamiento y gasto público local ineficiente con impuestos federales pagados por toda la nación. Cada región sobre consume bienes públicos cuyos costos en términos impositivos no son totalmente internalizados generando externalidades negativas a otras regiones. En el extremo, si  $\mu=1$  el gobierno central asume ex post todo el gasto y deuda de las regiones, los gobiernos locales no recaudan impuestos y toda la carga impositiva del gasto local ineficiente es solventada con impuestos federales. Las externalidades negativas entre las regiones son máximas.

No resulta sorprendente que cuando existen disparidades regionales y asimetrías en los ingresos percibidos por los gobiernos subnacionales, las regiones más favorecidas consuman más bienes públicos y privados y realicen un menor esfuerzo impositivo local que otras regiones porque ellas anticipan que el gobierno central les otorgará mayores tamaños de transferencias condicionales a su nivel de gasto.

En el caso extremo de  $\mu=0$ , como no existe un gobierno federal que respalde con transferencias a las regiones en caso de necesidad, cada gobierno local debe solventar su propio gasto y es claro que la región rica

<sup>2</sup> Todos los detalles del modelo están disponibles bajo requerimiento.

disfrutará de más bienes públicos y privados que la pobre porque no existe ninguna institución superior que sea capaz de asegurar a la región desfavorecida redistribuyendo recursos. Cuando  $\mu=1$ , el gobierno central ofrece financiar todo el sector público regional y realizar iguales transferencias a todas las regiones. Hay una política de máxima redistribución del ingreso que resulta en que todas las regiones disfrutan del mismo nivel de bienes públicos sin importar el nivel de ingreso regional. Contrariamente, a pesar de existir total redistribución de ingresos en el sector público por la intervención federal, el sector privado mantiene la disparidad regional y las familias de regiones ricas disfrutan de mayor consumo de bienes privados que las familias de regiones pobres.

Esto implica que cuanto más discrecional es la política nacional, el sistema de transferencias condicionales ex post genera una mejor redistribución del ingreso en el sector público permitiendo que las regiones con distintos niveles de ingresos disfruten de cantidades cada vez más parecidas de bienes públicos.

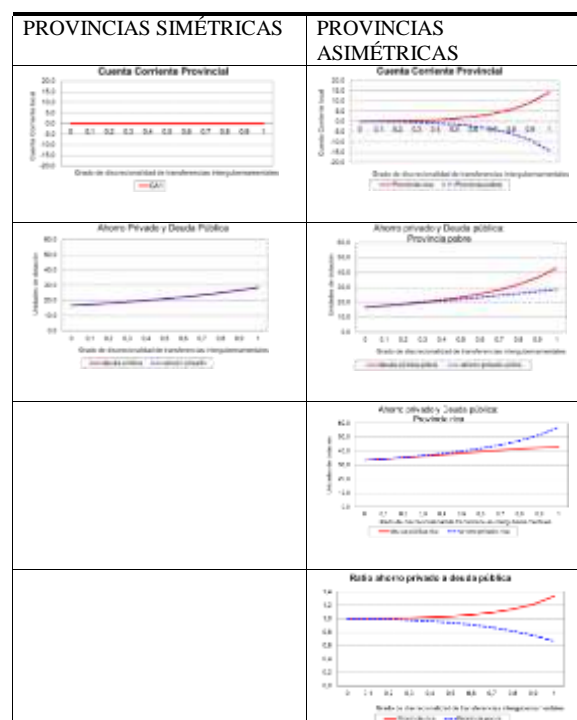
La pregunta central de este trabajo es cómo la política de transferencias que genera una política de redistribución del sector público cuando existen regiones que son distintas en un país federal afecta la relación comercial entre regiones. Las figuras 1 y 2 muestran que cuando las regiones son simétricas no existe intercambio intertemporal para cualquier valor de  $\mu$  mientras que cuando las regiones son asimétricas, si lo hay cuando existe algún grado de intervención discrecional en la política federal. La existencia de simetría en la trayectoria de ingresos genera una cuenta corriente regional igual a cero para cualquier valor de  $\mu$ . Contrariamente, cuando existe asimetría entre las regiones, las regiones más ricas (pobres) tienen una cuenta corriente que mejora (se deteriora) con la intervención del gobierno central.

Para mostrar el resultado se debe observar el comportamiento del balance de cuenta corriente de cada región que se define como el ahorro privado menos deuda pública del gobierno local. Una manera alternativa de ver cómo la discrecionalidad en la política de transferencias intergubernamentales afecta la cuenta corriente de cada región es analizar el ratio ahorro privado a deuda pública de cada región y compararlos asumiendo la existencia o no de ciclos de ingresos bajo previsión perfecta de los mismos.

Como ya se comentó, un resultado conocido del problema de discrecionalidad en sistemas federales es que como los gobiernos locales anticipan que recibirán fondos federales ante una necesidad financiera, hay incentivos a sobre endeudarse para proveer más bienes públicos a su región. Una pregunta importante es si todas las regiones de un país tienen iguales incentivos a generar deuda ineficiente y cómo cambian estos incentivos con el grado de discrecionalidad impuesto.

Es claro que, en un país simétrico donde todas las regiones reciben iguales trayectorias de ingresos, sus agentes toman las mismas decisiones en la asignación de recursos y ahorran y se endeudan en la misma cantidad. Más aún, como todas las regiones son iguales, el gobierno local de cada región se endeuda con la familia poseedora de los activos financieros que habita en su región sin tener necesidad de pedir prestados fondos a familias de otras regiones. Por lo tanto, la deuda de cada gobierno local es igual al ahorro privado de la familia de su propia región y el ratio ahorro privado a deuda pública es uno cualquiera sea el grado de discrecionalidad impuesto por la política nacional. Esto se traduce en que cuando las regiones son simétricas no existe intercambio intertemporal ya que cada región muestra siempre una cuenta corriente igual a cero con independencia de la política federal.

Figura 1: Cuenta Corriente regional



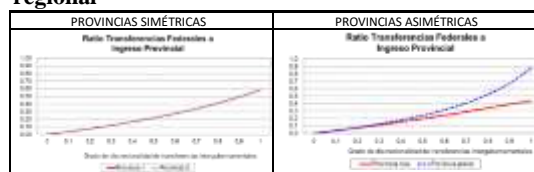
Fuente: Elaboración propia.

Contrariamente, en un país dispar con ciclos conocidos asimétricos la situación cambia. En su intención protectora de redistribuir ingresos hacia las regiones más pobres, el gobierno central si bien hace transferencias discrecionales a todas las regiones, ex post entrega mayores fondos relativo al nivel de ingreso regional a las regiones más desfavorecidas. Esta asimetría en la distribución de fondos discrecionales hace que las regiones más pobres tengan mayores incentivos a sobre endeudarse que las regiones ricas y el efecto se acentúa cuanto mayor sea la discrecionalidad.

Por su parte, al aumentar el gasto público local con mayores transferencias federales, el ahorro privado disminuye porque cae el consumo público debido a la sustitución del consumo privado por público. Así, encontramos un aumento de ahorro privado y endeudamiento público en ambas regiones. Pero como la política nacional genera incentivos más perversos en las regiones pobres, su endeudamiento local crece más rápido que el aumento en ahorro privado que en las regiones ricas al aumentar la función protectora de redistribución federal. Por lo tanto, en lo que parece ser una política proteccionista a las regiones pobres debe ser aplicada con cautela debido a que genera que las regiones más desfavorables se endeuden más de lo deseado, efecto insostenible en el tiempo.

Esto significa que como los gobiernos locales se endeudan con la familia que habita en su propia región y con familias de otras regiones, el aumento del endeudamiento público de la región pobre es mayor al aumento del ahorro de la familia que habita esa región y por lo tanto el ratio ahorro privado a deuda pública es creciente con el grado de discrecionalidad. Esto se observa en la Figura 2. Entonces, cuando las regiones son asimétricas existe un intercambio intertemporal entre ellas. Las regiones más ricas (pobres) tienen una cuenta corriente que mejora (se deteriora) con la discrecionalidad. En conclusión, cuando el país federal es asimétrico en el ingreso de sus regiones, el gobierno central se comporta de manera más protectora con las regiones más pobres proveyéndolas de mayores rescates y transferencias en relación a su ingreso. Esto genera un comportamiento más ineficiente del sector público regional en dichas regiones. Como los gobiernos locales de las regiones pobres tienen mayores incentivos a sobre endeudarse más allá del aumento del ahorro privado, estas regiones terminan con menores activos externos cuanto mayor es la intervención federal.

**Figura2: Ratio reasferencia federales a ingreso regional**



**Fuente: Elaboración propia.**

Este trabajo muestra la importancia de tener un adecuado sistema de transferencias intergubernamentales. Si la desmedida discrecionalidad del mismo se perpetúa en el tiempo en su afán de redistribuir ingresos entre regiones, puede generar resultados adversos empeorando el bienestar de las regiones más pobres con cuentas corrientes más deficitarias, excesivo endeudamiento y limitado ahorro privado.

## CONCLUSIONES

Este trabajo modela teóricamente el efecto de la discrecionalidad en el uso de transferencias intergubernamentales del gobierno central a gobiernos subnacionales sobre el intercambio intertemporal entre regiones cuando existen ciclos asimétricos regionales conocidos. Se encuentra que cuando las regiones son simétricas no existe intercambio intertemporal regional, por lo que el sistema de transferencias no afecta el intercambio comercial entre regiones aún cuando afecta los incentivos al gasto, ahorro y endeudamiento regional.

Cuando las regiones son asimétricas y existe disparidades regiones en un país, si hay un intercambio intertemporal entre regiones y es afectado por el grado de discrecionalidad en el uso de transferencias federales. Cuando el país es asimétrico en el ingreso de sus regiones, el gobierno central se comporta de manera más protectora, por su efecto positivo sobre el bienestar de actuar como seguro redistributivo. El gobierno central actúa de manera más paternalista con las regiones más pobres proveyéndolas de mayores transferencias en relación a su ingreso al aumentar la discrecionalidad del sistema de transferencias. Esto genera un comportamiento más ineficiente del sector público regional en dichas regiones. Como los gobiernos locales de las regiones pobres tienen mayores incentivos a sobre gastar y sobre endeudarse y limitar su ahorro privado, sus ratios de ahorro privado a deuda pública aumentan y estas regiones generan menores tenencias de activos externos cuanto mayor es la discrecionalidad federal y por lo tanto menor es el saldo de cuenta corriente.

**BIBLIOGRAFÍA**

- Asdrubali, Pierfederico, Sorensen, Bent E. and Yosha, Oved, 1996. "Channels of Interstate Risk Sharing: United States 1963-1990", *The Quarterly Journal of Economics*, Vol. 111, N° 4, pp. 1081-1110.
- Bordignon, Massimo, Manasse, Paolo and Tabellini, Guido, 2001. "Optimal Regional Redistribution under Asymmetric Information", *The American Economic Review*, Vol. 91, N° 3, pp. 709-723.
- Goodspeed, T., 2002. "Bailouts in a Federation", *International Tax and Public Finance*, 9, pp. 409-421.
- Kornai, János, Maskin, Eric and Roland, Gérard, 2003. "Understanding the Soft Budget Constraint", *Journal of Economic Literature*, Vol. 41, N° 4, pp. 1095-1136.
- Inman, Robert P., 1988. "Federal assistance and local services in the United States: the evolution of a new federalist fiscal order", In H. Rosen, ed. *Fiscal Federalism*. Chicago: University of Chicago Press.
- Jones, Mark P., Sanguinetti, Pablo and Tommasi, Mariano, 2000. "Politics, institutions, and fiscal performance in a federal system: an analysis of the Argentine provinces", *Journal of Development Economics*, Vol. 61, pp. 305-333.
- Lockwood, Ben, 1999. "Inter-regional insurance", *Journal of Public Economics*, Vol. 72, pp. 1-37.
- Oates, Wallace E., 1972. "Fiscal Federalism". Harcourt brace Javanovich.
- Persson, T. and Tabellini, G., 1996a. "Federal Fiscal constitutions: risk sharing and moral hazard", *Econometrica*, 65, pp. 623-46.
- Porto, Alberto, 2004. "Disparidades Regionales y Federalismo Fiscal", Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Económicas, Departamento de Economía, Argentina.
- Qian, Y and Roland, G., 1998. "Federalism and the Soft Budget Constraints", *American Economic Review*, Vol. 88, issue 5, pp. 1143-62.
- Sala-i-Martin, Xavier, 1992. "Fiscal Federalism and Optimum Currency Areas: Evidence for Europe from the United States", CERP Discussion papers, n° 632.
- Tiebout, Charles M., 1956. "A Pure Theory of Local Expenditure", *Journal of Political Economy*, Vol. 64, N° 5, pp. 416-424.
- Von Hagen, Jürgen and Hepp, Ralf, 2000. "Regional Risk Sharing and Redistribution in the German Federation", ZEI working paper, No. B 15-2000.
- Wildasin, D., 1998. "Externalities and Bailouts: Hard and Soft Budget constraints in intergovernmental Fiscal Relations", Mimeo: Vandeerbit University.

**VIRUS PRESENTES EN TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum*)****TREE TOMATO (*Solanum betaceum*) VIRUS DISEASES**JARAMILLO ZAPATA M. M. <sup>1</sup>\*<sup>1</sup>*Universidad de San Pablo Tucumán. Instituto de Innovación Tecnológica para la Competitividad Territorial*\* *mjaramillo@uspt.edu.ar***RESUMEN**

En las provincias del norte argentino (NOA), se fortalece la diversificación de especies de frutales andinos que aportan al desarrollo local mediante la inserción de pequeños y medianos productores. Actualmente, en Tucumán, Salta y Jujuy se desarrolla en pequeños huertos caseros el tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.). Esta especie se establece como una alternativa sustentable para la región. Se conoce que el rendimiento del cultivo se ve afectado por el impacto de factores bióticos y abióticos. Entre los factores bióticos se pueden destacar las virosis. Este trabajo de revisión presenta los principales virus causantes de enfermedades en el Tomate de Árbol en diferentes regiones del mundo. Mediante la detección temprana de estas enfermedades, el conocimiento de las mismas, la selección de cultivares promisorios, manejo de variables agronómicas y la capacitación a productores, se podrá reducir el riesgo de dispersión a diferentes zonas productoras del país y hacer frente a eventuales epidemias. Este trabajo presenta así una revisión de los principales virus reportados en tomate de árbol.

**PALABRAS CLAVE:** Chilto, Frutal andino, enfermedades virales.**SUMMARY**

In the provinces of northern Argentina (NOA), the diversification of Andean fruit species that contribute to local development through the insertion of small and medium producers is strengthened. Currently, in Tucumán, Salta and Jujuy the tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.) is developed in small home gardens. This species is established as a sustainable alternative for the region. It is known that crop yield is affected by the impact of biotic and abiotic factors. Among the biotic factors we can highlight the virosis of the tree tomato. This review paper presents the main virus causing diseases in the Tree Tomato in different regions of the world. Through the early detection of these diseases, their knowledge, the selection of promising cultivars, management of agronomic variables and the training of producers, the risk of dispersion to different producing areas of the country can be reduced and cope with eventual epidemics. This paper thus presents a review of the main viruses reported in tree tomato.

**KEYS WORDS:** Chilto, Andean Fruit, Plant Diseases.

## INTRODUCCIÓN

El tomate de árbol (*Solanum betaceum* Bosh), o Chilto en Argentina, es un frutal de origen andino utilizado para consumo fresco en jugos frescos y pulpa congelada, también para la industria de procesamiento de alimentos como mermeladas y conservas. Se cultiva principalmente en Colombia y Ecuador. Además de estos países andinos, existen otros en los que las plantaciones se limitan a pequeños huertos caseros como Argentina, Bolivia y Perú. Áreas cultivadas con menores extensiones se dan en algunos países africanos como Zambia, Zimbabwe y Uganda (Stangeland *et al.*, 2009), asiáticos como Sri Lanka e India y en Nueva Zelanda (MADR, 2006). Colombia presentan producciones de 118226 Tn. de tomate de árbol. Colombia y Ecuador son los principales productores con un alto consumo interno y unas incipientes exportaciones. En el caso de Argentina, Bolivia, y Perú, la planta se encuentra de manera silvestre o en pequeños huertos, por tanto no se ha generado el desarrollo tecnológico y agronómico para potenciar sus plantaciones.

Existen regiones en los países productores con rendimientos del cultivo que ascienden a 32 Tn/ha, valor muy superior a las medias de 10 Tn/ha. En países como Ecuador y Colombia en donde se tienen altas producciones las plantaciones se encuentran a campo abierto, con horas de brillo solar de 4 horas/día (alta nubosidad), generalmente zonas montañosas en las que se trasplanta desde los 1800 msnm. En sentido opuesto, se conoce que en Argentina las plantas se encuentran silvestres y en escasos huertos caseros. Las plantas se encuentran ubicadas dentro de las Yungas o áreas pedemontanas, con producciones de menos de 10 kg/planta al año.

Los rendimientos del cultivo en países productores se ven seriamente afectados por diferentes factores como la utilización de material de siembra deficiente, el uso indiscriminado de agroquímicos tanto insecticidas, fungicidas y fertilizantes, el manejo inapropiado en poscosecha y la carencia de asistencia técnica profesional (MADR, 2006). Además de éstas limitantes, el cultivo enfrenta serios problemas fitopatológicos como la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*), los nematodos de los nudos radiculares (*Meloidogyne* spp.) y diversas enfermedades virales (Tamayo, 1990; Tamayo, 1996; Betancourth *et al.*, 2003, Cruz, 2005; Ayala, 2009; Jaramillo *et al.* 2011). Todos éstos factores han conducido a que los agricultores deban realizar renovaciones del cultivo luego de 16 – 18

meses de producción, cuando anteriormente su ciclo productivo se extendía hasta por más de 48 meses.

Los avances en el conocimiento de esta planta para Argentina, se están dando inicialmente en entidades estatales, considerando su inserción, desarrollo agronómico del cultivo y todas las generalidades que amerita. Estudios específicos sobre diagnóstico de enfermedades virales, en el país, y su manejo en estos cultivos son escasos. Esta situación genera gran interés para conocer y determinar los posibles factores limitantes productivos fitosanitarios, identificar cuáles son las enfermedades bióticas que podrían representar riesgos para su producción. Existe un interés en ampliar el conocimiento de las enfermedades virales en estos cultivos en el NOA, que recientemente se están adelantando en investigaciones sobre esta temática en particular.

## VIRUS REPORTADOS EN TOMATE DE ÁRBOL

Investigaciones realizadas evidencian la importancia del estudio de las enfermedades virales en el cultivo. Algunos de los virus que se han reportado asociados con enfermedades virales en tomate de árbol, incluyen síntomas como mosaicos, engrosamiento de venas, ampollas verdes oscuro, deformación severa de hojas, amarillamiento, manchas anulares, anillos, defoliación y drástica reducción de la producción de la fruta y en la longevidad de la planta. Los frutos inmaduros presentan colores que varían desde amarillo a rojo pálido. La pulpa de frutos inmaduros es dura y con parches de color púrpura (Tamayo, 1996; Betancourth *et al.*, 2003; Gil *et al.*, 2009a). Estudios realizados en diferentes países aseguran la presencia en el cultivo de infecciones virales causadas por una mezcla de virus. Los virus que han sido reportados en tomate de árbol son Alfamovirus (*Alfalfa mosaic virus*, AMV), Cucumovirus (*Cucumber mosaic virus*, CMV), Nepovirus (*Tomato ringspot virus*, ToRSV), Polorovirus (*Potato leafroll virus*, PLRV), Potexvirus (*Potato aucuba mosaic virus*, PAMV), Potyvirus (*Potato virus Y*, PVY; *Tamarillo mosaic virus*, TaMV; *Potato virus A*, PVA), Tobamovirus (*Tomato mosaic virus*, ToMV) y Tospovirus (*Tomato spotted wilt orthotospovirus*, TSWV) (Vizueté *et al.*, 1990; Eagles *et al.*, 1994; Jaramillo *et al.*, 2011; Ayala *et al.*, 2010). De acuerdo con la investigación realizada por Jaramillo *et al.*, (2009), la presencia de un complejo viral hace necesario estudiar a profundidad las variables epidemiológicas involucradas en el establecimiento y expansión de la virosis. Varios de los virus mencionados



están presentes en cultivos hortícolas de Argentina e incluso presentan amplias dispersiones geográficas, como AMV, TSWV, CMV (SINAVIMO, 2019), PLRV y PVY. Es necesario también direccionar estudios respecto al mecanismo de transmisión de cada virus, la susceptibilidad de las diferentes variedades de tomate de árbol, la existencia de hospederos alternos en áreas de su cultivo y la caracterización del síntoma específico que causa cada virus.

En el mundo existen reportes de virus en cultivos de tomate de árbol en Colombia, Ecuador y Nueva Zelanda Ecuador. Se han identificado los siguientes virus:

*Tamarillo mosaic virus*, Potyvirus (TaMV), causa moteado y bandeamiento de venas en hojas y manchas oscuras en los frutos.

*Cucumber mosaic virus*, Cucumovirus (CMV), ocasiona síntomas en hojas y frutos en forma de manchas y anillos.

*Potato aucuba mosaic virus*, Potexvirus (PAMV), aparentemente es dependiente del TaMV para la transmisión por áfidos, pero no causa síntomas adicionales.

*Alfalfa mosaic virus*, Alfamovirus (AMV), causa un mosaico amarillo brillante y bandeado de venas, pero al parecer no afecta el fruto.

*Tomato spotted wilt virus*, Tospovirus (TSWV), es un virus transmitido por trips y asociado a la necrosis del fruto (Eagles *et al.*, 1994).

*Tomato mosaic virus*, Tobamovirus (ToMV), causa mosaico, algunas veces con distorsión de las hojas jóvenes.

En Ecuador, se han encontrado sintomatologías severas de enfermedades virales del tomate de árbol en los valles de la provincia de Pichincha. Estos síntomas corresponden a amarillamiento de venas, manchas aceitosas, moteados y manchas cloróticas. Mediante pruebas de ELISA asociaron el amarillamiento de venas y mosaicos con la infección por los virus PLRV, ToRSV y PVY; mientras que las manchas cloróticas se relacionaron con PLRV, ToRSV y AMV (Vizúete *et al.*, 1990). En este estudio se determinó que PVY fue el virus más frecuentemente asociado a este cultivo en la región de Pichincha. Adicionalmente, se encontraron plantas con síntomas de afecciones virales cuyo agente causal no pudo ser identificado mediante pruebas serológicas convencionales, lo que sugiere que la diversidad

de agentes virales del cultivo puede ser mayor (Vizúete *et al.*, 1990).

En Colombia la primera enfermedad asociada a virus en el cultivo del tomate de árbol que se detectó fue denominada necrosis anular del tomate de árbol. El agente causal de esta enfermedad se caracteriza por presentar partículas alargadas y flexuosas de aproximadamente 750 nm de largo y transmisión mecánica a partir de inóculo de frutos enfermos. Posiblemente asociado al género *Potyvirus* aunque no se realizaron estudios genéticos que confirmaran esta presencia, y la importancia económica actual de este problema viral no está determinada claramente (Sánchez de Luque, 1982a, b; Maldonado y Sánchez de Luque, 1984; Tamayo, 1996). El segundo problema viral fue reportado por Sañudo y Orellana (1989), quienes registraron la presencia de síntomas virales en plantas de tomate de árbol en el sur del país. Esta enfermedad se caracterizaba por inducir el amarillamiento general de la planta y causar clareamiento de venas, vejigas y ampollas, enrollamiento foliar y reducción del área fotosintética; sin embargo la identidad de su agente causal no fue determinada. Posteriormente, se reportó en cultivos de los municipios del centro del país, plantas con mosaicos. También se observó la presencia de partículas isométricas de aproximadamente 30 nm de diámetro asociados a este síntoma (Tamayo, 1990 Tamayo *et al.*, 1999). Para su detección se desarrolló un anticuerpo policlonal denominado Col-7. Aparentemente este virus no se transmite por semilla sexual pero sí de forma mecánica a plantas de tomate de árbol, y en el momento de su detección, se su incidencia fue muy baja (Tamayo, 1990). El cuarto problema viral fue denominado Virosis del tomate de árbol, se detectó en 1991 en la región centro occidental (Saldarriaga y Bernal, 1994). Los síntomas de esta enfermedad se manifiestan en hojas y frutos y se caracterizan por la presencia de mosaicos, engrosamiento de nervaduras, ampollas y formación de rosetas. En los frutos verdes se presentan manchas moradas que cambian a diferentes tonalidades rojizas con la maduración; además es frecuente encontrar frutos deformes y daños en la calidad de la pulpa. Aparentemente el virus no se transmite por semilla pero sí mecánicamente y presenta partículas alargadas y flexuosas de aproximadamente 750 nm de largo (Tamayo, 1996; Saldarriaga *et al.*, 1997). La alta incidencia de esta enfermedad quedó demostrada a partir de un estudio realizado por Tamayo *et al.*, (1999), en la que participaron investigadores del CIP (Centro Internacional de la Papa) para la detección de este virus. La especificidad de estos anticuerpos no se ha determinado, pudiendo

presentar reacciones cruzadas con otros patógenos virales que afectan este cultivo.

Otra enfermedad de etiología viral asociada a cultivos de tomate de árbol, cuyos síntomas se manifiestan inicialmente con la presencia de un mosaico leve en hojas jóvenes, además presencia de vejigas, deformación y enrollamiento de la lámina foliar. A medida que la enfermedad avanza las hojas se presentan más pequeñas, arrugadas y tienden a caerse prematuramente. En la etapa final hay defoliación y las ramas comienzan a secarse de manera descendente. Su agente causal fue detectado mediante microscopía electrónica, encontrando partículas isométricas y flexuosas que se transmiten mecánicamente y por áfidos (Chávez y Varón, 2001). En el sur del país se han registrado según Betancourth *et al.*, (2003), la ocurrencia de una enfermedad viral en el departamento de Nariño caracterizada por inducir manchas aceitosas, clorosis, mosaicos, distorsiones en color, tamaño y forma de las hojas y frutos. Su agente causal presentaba morfología de varilla flexuosa, de 800 nm y su transmisión fue confirmada mediante áfidos de la especie *Myzus persicae* e inoculación mecánica (Betancourth *et al.*, 2003).

Adicionalmente, existen reportes preliminares basados en pruebas de detección por RT-PCR y extracción de ARN de la presencia de un posible *Cucumovirus* y de un *Polerovirus* en cultivos de tomate de árbol en el centro del país, con síntomas de malformación en hojas, clorosis, baja talla, volcamiento y llagas (Cruz, 2005). Más recientemente, Ayala (2009) confirmó mediante análisis serológicos y moleculares que al menos dos especies de Potyvirus (PVY y TaMLV) estaban asociadas a la enfermedad en los cultivos.

#### **Alfalfa mosaic virus – (AMV), Alfamovirus.**

Los Alfamovirus tienen una sola especie que los representa, el *Alfalfa Mosaic Virus* - AMV, perteneciente a la familia *Bromoviridae*; esta familia es de distribución mundial y es una de las responsable de grandes pérdidas en cultivos alrededor del mundo e incluye cinco géneros: *Alfamovirus*, *Bromovirus*, *Cucumovirus*, *Ilarvirus* y *Oleavirus* (Bujarski 2008). El AMV es baciliforme con diámetro de 18 nm y una longitud que puede estar entre 30 a 57 nm (Astier *et al.*, 2007, Khan y Dijkstra, 2006). Existen muchas similitudes entre el AMV y los miembros del género *Ilarvirus*, por esta razón algunos autores sugieren que esta especie podría ser incluida dentro de éste género (Hull, 2004).

En alfalfa causa mosaico, moteado y malformación; en algunos casos según las condiciones ambientales, los síntomas pueden desaparecer. En *Solanum lycopersicum* ocasiona necrosis severa; en *Apium graveolens*, *A graveolens* var. *rapaceum*, *Lactuca sativa*, *Malva parviflora*, *Trifolium incarnatum*, *T. repens*, *Viburnum opulus* causa mosaico; en *Nicotiana tabacum* y *Lupinus* ssp. los síntomas corresponden a mosaicos y moteados (Zitikaitė y Samuitienė, 2008); en *Phaseolus vulgaris*, *Vigna unguiculata*, *V. radiata*, *Glycine max*, *Lens culinaris* y *Capsicum annuum* causa lesiones locales necróticas o cloróticas, aunque algunas veces ocasiona mosaicos; en *Pisum sativum* causa necrosis y en *Solanum tuberosum* produce necrosis en el tubérculo (ICTV, 2006a).

Los signos y síntomas de la enfermedad causada por éste virus pueden persistir o desaparecer después de la infección (ICTV, 2006a). Bajo condiciones experimentales las siguientes especies son susceptibles a la infección por AMV: *Apium graveolens* var. *rapaceum*, *Arachis hypogaea*, *Calendula officinalis*, *Capsicum annuum*, *Chenopodium album*, *Ch. amaranticolor*, *Ch. murale*, *Ch. quinoa*, *Cucumis melo*, *Cucumis sativus*, *Daucus carota* (var. *sativa*), *Glycine max*, *Gomphrena globosa*, *Helianthus annuus*, *Lactuca sativa*, *Lens culinaris*, *Solanum lycopersicum*, *Medicago sativa*, *Nicotiana clevelandii*, *Nicotiana debneyi*, *Nicotiana glutinosa*, *Nicotiana rustica*, *Nicotiana tabacum*, *Petunia x hybrida*, *Phaseolus vulgaris*, *Physalis floridana*, *Physalis peruviana*, *Pisum sativum*, *Solanum demissum*, *Solanum melongena*, *Solanum nigrum*, *Solanum tuberosum*, *Trifolium hybridum*, *Vicia faba*. Estos hospederos experimentales generalmente presentan síntomas como lesiones locales necróticas, moteados o manchas anulares (Zitikaitė y Samuitienė, 2008).

Este virus es transmitido de manera no persistente por al menos 13 especies de áfidos, especialmente *M. persicae*; además de forma mecánica, a través de injertos, por semilla o por polen, pero no por contacto entre hospederos (Khan y Dijkstra, 2006).

#### **Cucumber mosaic virus – (CMV), Cucumovirus.**

Este virus pertenece a la familia *Bromoviridae*, género *Cucumovirus*, cuyos miembros tienen ARN de cadena sencilla con partículas isométricas de diámetros entre 26-35 nm y sin envoltura externa. Las especies *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Peanut stunt*

*virus*, *Robinia mosaic virus*, *Tomato aspermy virus* pertenecen a este género (ICTV, 2006b).

El CMV es un virus de gran importancia económica en cultivos agrícolas, tiene distribución mundial y un amplio rango de hospederos, infectando cerca de 1000 especies pertenecientes al menos a 65 familias botánicas (Sokhandan *et al.*, 2006, Bananej *et al.*, 1998). Los síntomas causados por este virus son mosaicos foliares y en frutos, distorsión de lámina foliar, enanismos, moteados y amarillamientos (Sokhandan *et al.*, 2006). En pepino (*Cucumis sativus*) y otras cucurbitáceas causa mosaico y enanismo en las plantas y reducción en la producción de frutos. En tomate causa mosaico, reducción de la lámina foliar y enanismo. En maní (*Arachis hipogea*) los síntomas virales son enanismo, pecíolos recortados, malformaciones y hojas con moteados cloróticos (Breuil *et al.*, 2005) y en pimienta (*Piper nigrum*) ocasiona enanismos (Bhat y Siju, 2007).

Bajo condiciones experimentales la susceptibilidad a la infección por CMV es encontrada en muchas familias botánicas. Algunas de las especies que podrían ser usadas como plantas indicadoras son: *Amaranthus caudatus*, *Apium graveolens*, *Brassica campestris ssp. napus*, *Calendula officinalis*, *Capsicum annuum*, *Catharanthus roseus*, *Chenopodium amaranticolor*, *Ch. murale*, *Ch. quinoa*, *Cucumis melo*, *Cucumis sativus*, *Datura stramonium*, *Glycine max*, *Gomphrena globosa*, *Gossypium hirsutum*, *Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon pimpinellifolium*, *Nicotiana clevelandii*, *N. debneyi*, *N. glutinosa*, *N. rustica*, *N. tabacum*, *Phaseolus vulgaris*, *Physalis floridana*, *Physalis peruviana*, *Pisum sativum*, *Solanum tuberosum*, *Vicia faba* (ICTV, 2006b). En invernadero para realizar ensayos que resulten en la presencia de lesiones locales se usan comúnmente *Ch. amaranticolor*, *Ch. quinoa* y *Vigna unguiculata*.

#### **Potato leafroll virus - (PLRV), Polerovirus**

El PLRV pertenece al género *Polerovirus* de la familia *Luteoviridae*, que es una familia que se caracteriza por incluir virus isométricos de 25 a 30 nm de diámetro compuestos de 180 subunidades de una proteína con 21-23 kDa y un genoma de ARN de cadena sencilla positiva con un tamaño de 5,7 – 5,9 kb, que frecuentemente se encuentra asociado en su extremo 5' a una proteína VPg; mientras que el extremo 3' no es poliadenilado y no tiene una estructura parecida a un ARN de transferencia (Hull, 2004). Muchos miembros de la familia

*Luteoviridae* son limitados al floema, causando amarillamientos en las plantas (Hull, 2004). Esta familia es amplia en base a sus propiedades de transmisión y a las características estructurales y moleculares del virión. Dentro de ella hay dos géneros principales, *Luteovirus* y *Polerovirus* que difieren en la naturaleza de la RdRp y en ciertas características del genoma. El PLRV pertenece al género *Polerovirus*; otros virus que han sido bien estudiados de éste género son *Beet western yellows virus* (BWYV), *Cereal yellow dwarf virus-RPV* (CYDV-RPV) (formalmente *Barley yellow dwarf virus*, BYDV-RPV), *Beet mild yellowing virus* (BMV) y *Cucurbit aphid-borne yellows virus* (CABYV) (Taliensky *et al.*, 2003). La clasificación del PLRV como parte de la familia *Luteoviridae*, está basada fundamentalmente en sus mecanismos de transmisión y en las características moleculares y estructurales de su virión, aunque a diferencia de los otros *Polerovirus*, los aislamientos de PLRV presentan muy pocas variaciones en las secuencias de su genoma. Así por ejemplo, en un estudio realizado por Guyader y Ducray (2002), se compararon 12 secuencias completas y encontraron una identidad entre 94-98 % sobre todos los marcos abiertos de lectura 3 (ORF) que codifican para proteína de la cápside. La falta de variación en las secuencias sugieren que el PLRV solo divergió recientemente de su ancestro (por ejemplo por adquirir una habilidad en una planta infectada) o alternativamente ha estado sujeto a una fuerte presión de selección relacionada con la estrecha base genética de los cultivos de papa (Guyader y Ducray, 2002).

El PLRV es uno de los principales virus de importancia económica que afecta plantas de papa a escala mundial (Singh *et al.*, 2000). Los síntomas conllevan a un decrecimiento en la producción y en la calidad del material que se utilizará para futuras siembras (Nie y Singh, 2001). En algunas variedades de papa las venas se necrosan y se observa una acumulación de carbohidratos en las hojas, esta necrosis se produce también en los tubérculos (Agrios, 1996).

Bajo condiciones experimentales se han encontrado las siguientes especies vegetales susceptibles a la infección por virus: *Amaranthus caudatus*, *Datura stramonium*, *Gomphrena globosa*, *Solanum lycopersicum*, *Nicotiana clevelandii*, *Physalis floridiana*, *Solanum tuberosum*. En *Datura stramonium* los síntomas son amarillamiento intervenal sistémico, en *Physalis floridiana* se expresa este mismo síntoma además de un ligero enrollamiento en las hojas más senescentes y enanismo en la planta. En *Solanum tuberosum* los síntomas son

enanismo y hojas enrolladas. Los hospederos no susceptibles en los cuales no se expresan síntomas son: *Brassica campestris*, *Brassica oleracea*, *Pisum sativum*, *Raphanus sativus*, *Senecio vulgaris* y *Vicia faba* (ICTV, 2006c).

El virus puede ser transmitido por injerto pero no por semilla, polen o por inoculación mecánica. Sus principales vectores son los áfidos: *Myzus persicae* y *Macrosiphum euphorbiae*. Su transmisión es persistente, circulativa y no propagativa (Mowry y Ophus, 2002; Hull, 2004; Alvarez *et al.*, 2007). La transmisión circulativa de PLRV por *Myzus persicae* incluye un período latente entre la adquisición exitosa de una planta infectada y la transmisión subsiguiente a una planta sana (Mowry y Ophus, 2002). El PLRV es restringido al floema y cuando los áfidos adquieren PLRV inoculan plantas sanas durante su salivación. La actividad del vector y su comportamiento son determinantes en la tasa y desarrollo de la epidemia del virus (Alvarez *et al.*, 2007). Eigenbrode *et al.*, (2002) registraron que *M. persicae* prefiere plantas infectadas con PLRV, que plantas no infectadas, lo cual asociaron con la presencia de compuestos volátiles de las plantas enfermas, que actúan como atrayentes de los áfidos.

### **Potyvirus**

El género *Potyvirus* hacen parte de la familia *Potyviridae* y tiene como especie tipo al *Potato virus Y* (PVY). Estos virus son responsables de severos daños económicos en diversos cultivos de importancia económica a nivel mundial incluyendo papa, tomate, pimentón, caña de azúcar, soya, papaya, fríjol, entre otros (Urcuqui-Inchima *et al.*, 2001). Generalmente inducen síntomas de mosaicos y moteados foliares, aunque algunas cepas pueden provocar necrosis de tejidos.

### **Potato virus Y - (PVY)**

Este virus presenta una distribución mundial en cultivos de papa y otras solanáceas como pimiento, tabaco y tomate. Los estudios reportan reducciones hasta del 50 % en los cultivos de papa infectados por PVY, afectando además la calidad de los tubérculos (Salazar *et al.*, 2000). PVY presenta diferentes grupos de cepas conocidas como PVY<sup>O</sup> (grupo ordinario), PVY<sup>N</sup> (grupo de la necrosis venal del tabaco), PVY<sup>C</sup> (grupo del rayado) y PVY<sup>NTN</sup> (grupo de la necrosis del tubérculo) (Schubert *et al.*, 2007). En adición a estos grupos se han identificado el PVY<sup>Z</sup> y una variante que induce necrosis venal en tabaco pero posee un gen de cápside típico de

las cepas PVY<sup>O</sup>. Los síntomas inducidos por varios de estos grupos en papa dependen del aislamiento particular y del hospedante, aunque típicamente PVY<sup>O</sup> y PVY<sup>C</sup> inducen mosaicos foliares severos, rugosidad, necrosis sistémica, defoliación y enanismo; mientras que PVY<sup>N</sup> sólo causa síntomas foliares suaves, generalmente difíciles de detectar y PVY<sup>NTN</sup> puede causar síntomas foliares severos en adición a la necrosis de los tubérculos (Schubert *et al.*, 2007; Ogawa, *et al.*, 2008). La cepa PVY<sup>O</sup> es de distribución mundial, PVY<sup>NTN</sup> está reportada en Europa y Rusia, parte de África y en Sur América, mientras que la cepa PVY<sup>C</sup> se registra en Australia, India y algunas partes del Reino Unido y Europa Continental.

Este virus es transmitido de forma mecánica o por injerto, además por áfidos de manera no persistente, siendo la especie más eficiente *M. persicae*, aunque también se han reportado *Aphis fabae*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Myzus (Nectarosiphon) certus*, *Myzus (Phorodon) humuli* y *Rhopalosiphum insertum*. El virus no requiere de un virus auxiliar, sin embargo si puede facilitar la transmisión de otros virus como el *Potato aucuba mosaic virus* (ICTV, 2006e).

En papa este virus causa un ligero moteado de la hoja, veteado ó necrosis de la vena, mientras que en pimentón (*Capsicum spp.*) y tomate (*S. lycopersicum*) produce un ligero moteado en la hoja que se torna severo en infecciones mixtas; finalmente en tabaco (*Nicotiana tabacum*) el PVY causa moteados y/o necrosis de venas (Kogovšek, *et al.*, 2008).

Bajo condiciones experimentales las siguientes especies son susceptibles al virus. *Capsicum annum*, *Capsicum frutescens*, *Chenopodium amaranticolor*, *Ch. quinoa*, *Lycium*, *Solanum lycopersicum*, *Nicotiana glutinosa*, *Nicotiana tabacum*, *Physalis floridana*, *Solanum chacoense*, *Solanum demissum*, *Solanum demissum x S. tuberosum*, *Tinantia erecta*. Comúnmente se usa *Nicotiana tabacum* cv. Samsun para el mantenimiento y propagación del virus (Singh *et al.*, 2008).

Una característica fundamental de las infecciones causadas por PVY en sus hospedantes, es el desarrollo de inclusiones virales en las células afectadas. Los cuerpos de inclusión son encontrados en el citoplasma y en el núcleo y se caracterizan por ser cristales tipo rueda de carreta (*pinwheels*), siendo más evidentes en los tejidos epidermales (ICTV, 2006e). El PVY es serológicamente relacionado con *Tobacco etch virus*, *Henbane mosaic virus*,

*Potato virus A*, *Pepper mottle virus* y *Bidens mottle virus*.

Los principales métodos utilizados para el manejo de las enfermedades causadas por este virus incluyen la reducción de las poblaciones de insectos vectores, evitar siembras escalonadas, destruir plantas voluntarias de papa y otros cultivos susceptibles, la utilización de aceites minerales que reduzcan la frecuencia de transmisión por vectores, el uso de superficies pegajosas amarillas en invernaderos y el desarrollo de materiales vegetales mejorados (ICTV, 2006e).

#### **Potato virus A - (PVA)**

Este virus es probablemente de distribución mundial principalmente en las áreas cultivadas con papa, en donde causa mosaicos, ampollamientos y rugosidad de la hoja, aunque puede presentarse en plantas asintomáticas. Se ha reportado que las plantas de papa infectadas con PVA en combinación con PVX y PVY muestran síntomas de arrugamiento (ICTV, 2006d).

El PVA es serológicamente relacionado con el *Potato virus Y* (cepa común y cepa de necrosis de venas en tabaco) y su presencia puede ser detectada en todas las partes de la planta hospedera. Los viriones son encontrados en el citoplasma y su infección puede estar acompañada de inclusiones cilíndricas (Edwardson y Christie, 1983).

Bajo condiciones experimentales la susceptibilidad a la infección por PVA se restringe principalmente a la familia *Solanaceae*. Las siguientes especies pueden ser usadas como plantas indicadoras: *Lycopersicon pimpinellifolium*, *Nicandra physalodes*, *Nicotiana tabacum*, *Solanum demissum*, *Solanum tuberosum*. El PVA induce lesiones locales en *Solanum demissum*. En *Nicotiana tabacum* cv. *Samsun* los síntomas son clearamiento de venas y moteado difuso, mientras que en *N. tabacum* cv. *White Burley* causa clearamiento y bandeamiento de venas. Finalmente en *Lycopersicon pimpinellifolium* ocasiona necrosis sistémica y muerte (ICTV, 2006d).

Este virus es transmitido por áfidos de manera no persistente, siendo reportadas las especies *Aphis frangulae*, *A. nasturtii* y *Myzus persicae*; puede ser también transmitido por inoculación mecánica, pero no por semilla. El virus no requiere un virus auxiliar, pero puede ser facilitador de la transmisión de otros virus como *Potato aucuba mosaic virus* (ICTV, 2006d).

**Tamarillo mosaic virus – (TaMV)** (Sin: *Tomato tree virus*, *Cyphomandra virus*).

El genoma es monopartita de ARN lineal, en sentido positivo, y hasta ahora solo están reportadas dos secuencias parciales para su cápside y el gen N1b. Los virus pueden ser detectados en todas las partes de la planta hospedera. Los viriones son encontrados en el citoplasma y genera inclusiones cilíndricas. (ICTV, 2003).

Bajo condiciones experimentales la susceptibilidad a la infección por el virus es encontrada en unas pocas familias, principalmente en la familia *Solanaceae*. Las siguientes especies son susceptibles a la infección experimental por TaMV: *Solanum betaceum*, *Solanum lycopersicum*, *Nicotiana clevelandii*, *N. glutinosa*, *N. rustica*, *N. tabacum*, *N. x edwardsonii*, *Petunia x hybrida*, *Solanum nigrum*. Algunos hospederos que no son susceptibles son *Calendula officinalis*, *Capsicum annuum*, *Chenopodium amaranticolor*, *Ch. quinoa*, *Cucumis sativus*, *Datura stramonium*, *Ipomoea setosa*, *Lactuca sativa*, *Lupinus angustifolius*, *Nicotiana sylvestris*, *Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativum*, *Solanum melongena*, *Solanum tuberosum*, *Spinacia oleracea*, *Trifolium repens*, *Vicia faba*, *Zea mays*, *Zinnia elegans* (ICTV, 2003). Los hospederos usados para el diagnóstico de TaMV son *Nicotiana glutinosa*, donde ocasiona necrosis sistémica y usualmente la muerte de la planta. En *N. clevelandii*, *N. rustica* y *N. tabacum* causa clearamiento de venas y mosaico.

Se ha reportado que este virus es transmitido de manera no persistente por el áfido *M. persicae*, por inoculación mecánica, por injerto, pero no por contacto entre hospederos, semilla sexual o polen (Eagles, 1994).

#### **Tomato mosaic virus - (ToMV), Tobamovirus.**

El ToMV es probablemente de distribución mundial y se encuentra relacionado en su importancia económica con el *Tobacco mosaic virus* (TMV), el cual infecta tabaco y otras solanáceas; ambos virus se encuentran dentro del género *Tobamovirus*. Los Tobamovirus causan serias pérdidas en sus hospederos por daño en las hojas, flores y frutos y generan enanismo en las plantas; las pérdidas son mayores en plantas jóvenes que en plantas en estadios tardíos (Agrios, 2005). Los síntomas del género *Tobamovirus* consisten de varios grados de moteados, clorosis, enroscamiento, distorsiones, gravado en hojas, flores y la planta

entera. En algunas plantas se desarrollan áreas necróticas en las hojas (Agrios, 2005).

El ToMV no es transmitido por un vector pero sí se transmite por inoculación mecánica, injerto, por contacto entre hospederos y por semilla (hasta un 94 % en plantas de tomate). El virus es encontrado en la parte externa de la semilla, aunque algunas veces puede detectarse en el endospermo, pero no en el embrión (ICTV, 2006h).

En condiciones experimentales la susceptibilidad a la infección por ToMV es encontrada en muchas familias botánicas incluyendo *Chenopodiaceae* y *Solanaceae*. Las siguientes especies son algunos de los hospederos susceptibles usados en ensayos biológicos: *Capsicum annuum*, *Capsicum frutescens*, *Chenopodium amaranticolor*, *Ch. murale*, *Ch. quinoa*, *Datura metel*, *Solanum lycopersicum*, *Lycopersicon pimpinellifolium*, *Nicotiana benthamiana*, *N. clevelandii*, *N. glutinosa*, *N. rustica*, *N. tabacum*, *Petunia x hybrida*, *Physalis floridana*, *Physalis peruviana*, *Solanum giganteum*, *Solanum nigrum*. En *Solanum giganteum* se observan mosaico en las hojas. En *N. tabacum* cv. White Burley, *N. rustica* y *Petunia x hybrida* se presentan lesiones locales pero no sistémicas (ICTV, 2006h; Lembo et al., 2007). En *S. lycopersicum* el ToMV causa mosaico con hojas lanceoladas. En *Hemerocallis* sp. causa manchas cloróticas y en *Impatiens hawkeri* las plantas muestran mosaico y deformación de la hoja. Las siguientes especies no son susceptibles al virus: *Cucumis melo*, *Cucumis sativus*, *Cucurbita pepo*, *Solanum betaceum*, *Phaseolus vulgaris*, *Vigna unguiculata*, *Vigna unguiculata* ssp. (ICTV, 2006h; Lembo et al., 2007).

El ToMV puede ser detectado en todas las partes de la planta hospedera, los viriones se encuentran en el citoplasma y pueden generar cuerpos de inclusión consistentes de cristales y cuerpos X amorfos (ICTV, 2006h). El ToMV también puede ser detectado mediante técnicas como RT-PCR, DAS-ELISA y microscopía electrónica en fuentes de aguas para riego (en el caso de cultivos hidropónicos), como se demostró en la investigación realizada por Boben et al., (2007). En dicho estudio se determinó la presencia de ToMV en bajas cantidades obteniendo resultados de  $4,2 \times 10^{-10}$  mg (6300 partículas virales) por mL de muestra.

#### **Tomato ringspot virus - (ToRSV), Nepovirus.**

El *Tomato ringspot virus* pertenece al género *Nepovirus* de la familia *Comoviridae*.

Esta familia tiene 3 géneros: *Comovirus*, *Fabavirus* y *Nepovirus*. Son virus isométricos con dos partículas, el genoma consiste de dos cadenas sencillas de ARN en sentido positivo (Agrios, 2005) con 15800 nt.

Estos virus pueden ser mejor detectados en el mesófilo de las hojas y son encontrados en el citoplasma y en los plasmodesmos, producen inclusiones virales en grandes vacuolas que consisten de cristales de nucleoproteína (Agrios, 2005).

El ToRSV es transmitido por nematodos del género *Xiphinema* (Familia *Dorylamidae*), especialmente por *X.americanum* (*sensu lato*) (Širca, 2007, Pinkertonj, 2008). Además puede transmitirse por inoculación mecánica, injerto, semillas (*Rubus idaeus*, *Nicotiana tabacum*, *Glycine max*, *Fragaria x ananassa*) ó por polinización entre plantas.

En plantas de *Pelargonium* ssp. y *Rubus* ssp. el ToRSV causa mosaico o manchas anilladas, mientras que en *Prunus* ssp. genera raspadura de la hoja, brotes amarillos o venas amarillas. En *Nicotiana tabacum* produce manchas anilladas y clorosis (ICTV, 2006f). Los signos y síntomas pueden desaparecer después de la infección y en algunos casos los síntomas son muy semejantes a los causados por otros *Nepovirus*.

En condiciones experimentales las siguientes especies son susceptibles a la infección por ToRSV: *Amaranthus retroflexus*, *Apium graveolens*, *Chenopodium album*, *Ch. amaranticolor*, *Ch. foetidum*, *Ch. hybridum*, *Ch. murale*, *Ch. quinoa*, *Cucumis sativus*, *Cucurbita pepo*, *Datura stramonium*, *Glycine max*, *Gomphrena globosa*, *Solanum lycopersicum*, *Lycopersicon pimpinellifolium*, *Nicandra physalodes*, *Nicotiana benthamiana*, *Nicotiana clevelandii*, *Nicotiana debneyi*, *Nicotiana rustica*, *Nicotiana tabacum*, *Petunia x hybrida*, *Phaseolus vulgaris*, *Solanum tuberosum*, *Trifolium hybridum*, *Vigna unguiculata*. De éstas especies hospederas las más comúnmente usadas para el mantenimiento y propagación de los virus en invernadero son *Cucumis sativus*, *Phaseolus vulgaris*, *Nicotiana tabacum* y *Petunia x hybrida* (ICTV, 2006f). Experimentalmente algunas de las especies inoculadas que no presentan signos y síntomas son: *Catharanthus roseus*, *Daucus carota*, *Hyoscyamus niger*, *Nicotiana glutinosa*, *Tetragonia tetragonioides*, *Tropaeolum majus*, *Zinnia elegans* (ICTV, 2006f).

En los hospederos susceptibles, la infección del ToRSV se manifiesta así: en *Chenopodium amaranticolor* y *Ch. quinoa* se producen lesiones cloróticas locales y necrosis sistémicas en los ápices; en *Cucumis sativus* se observan lesiones locales necróticas y cloróticas y sistémicamente se observa moteado. En *Phaseolus vulgaris* las lesiones locales son clorosis y la infección sistémica genera ápices rugosos y necrosis. En *Solanum lycopersicum* causa moteado, mientras que en *N. clevelandii* produce lesiones locales necróticas e infección sistémica como clorosis y necrosis (ICTV, 2006f).

### **Tomato spotted wilt virus - (TSWV), Tospovirus**

El *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) pertenece al género *Tospovirus* de la familia *Bunyaviridae*. Esta es una amplia familia de virus que afecta vertebrados, invertebrados y plantas (Tsompana, *et al.*, 2005). El agente causal del TSWV era considerado un solo miembro del grupo "tomato spotted wilt" hasta que en 1990 se logró la identificación y caracterización de varios virus similares que permitieron la creación del género *Tospovirus*. El rango de hospederos del TSWV incluyen cultivos hortícolas y agronómicos de regiones tropicales y subtropicales en todo el mundo (Aramburu *et al.*, 2009). Su amplia dispersión parece ser que fue a través del movimiento de plantas ornamentales infectadas, mientras que su abundancia local y severidad dependen de las poblaciones de sus vectores, fundamentalmente trips (Agrios, 2005).

El género *Tospovirus* es el único de esta familia que infecta plantas, sus especies son diversas, cosmopolitas y de gran importancia económica (Mumford *et al.*, 1996, Roselló *et al.*, 1996), estimándose que causa pérdidas en la producción de cultivos superiores a 1 billón de dólares por año en todo el mundo (Craig *et al.*, 2004). La heterogeneidad y rápida adaptabilidad, son dos características fenotípicas que distinguen el TSWV de otros virus de plantas (Tsompana, *et al.*, 2005). El *Tomato spotted wilt virus* es la especie de mayor importancia económica, seguida de otras especies de importancia como son el *Groundnut yellow spot virus*, *Peanut yellow spot virus*, *Groundnut ringspot virus*, *Tomato chlorotic spot virus*, *Impatiens necrotic spot virus* (Tsompana *et al.*, 2005).

El TSWV es cosmopolita ya que tiene un amplio rango de hospederos con más de 925 especies de plantas pertenecientes a 70 familias botánicas (Hull, 2004). Las plantas infectadas

con virus muestran una variedad de síntomas, su apariencia y severidad depende del genotipo, el estado de desarrollo de la planta, el aislamiento del virus y las condiciones ambientales. En algunas plantas se presentan manchas anilladas sobre hojas y frutos (Aramburu *et al.*, 2000) y también puede ocasionar tizón de los brotes, clorosis, necrosis, manchas y venas púrpuras (Roselló, *et al.*, 1996).

Este virus es transmitido por trips de manera circulativa y persistente; sin embargo no son transmitidos a través de los huevos (Hull, 2004, Lacasa, 2006). La transmisión del TSWV por trips tienen varias características inusuales: sólo la larva y no los adultos pueden adquirir el virus, sin embargo ambos puede transmitirlo (Khan y Dijkstra, 2006), *Frankliniella occidentalis* tiene un periodo de alimentación de 5 minutos pero el periodo de adquisición varía de 50-100 minutos de acuerdo a la planta hospedera; el periodo de latencia media varía con la temperatura la cual puede ir de 84 horas (27 °C) a 171 horas (20 °C) y la transmisión puede ser errática en muchas ocasiones (Hull, 2004). *F. occidentalis* es el vector mas eficiente para transmitir TSWV (Aramburu *et al.*, 2009), aunque también otros vectores importantes son *F. shultzei* y *Thrips tabaci*. Si el TSWV es sometido a transferencias sucesivas en plantas, los insectos pierden la habilidad de transmitir el virus (Hull, 2004).

### **CONSIDERACIONES FINALES**

El Tomate de árbol, como fruta ha sido ampliamente estudiado en Tucumán desde el punto de vista bioquímico, por su potencial nutraceutico (MAyDS, s.f.). En las Universidades del NOA, se trabaja desde diferentes aspectos como la creación de un banco de germoplasma de variedades encontradas en las Yungas, investigaciones en propagación, desarrollo agronómico y diagnóstico de enfermedades. Actualmente su cultivo cuenta con respaldo de proyectos direccionados a través de Programa de Productos Forestales no Madereros - PFMN y el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación. No obstante las plantaciones son pequeñas extensiones a lo largo de todas las Yungas (en las provincias de Salta, Jujuy y Tucumán). Es necesario profundizar en los conocimientos, fundamentalmente en el reconocimiento de los principales limitantes fitopatológicos y generar propuestas de desarrollo productivo como alternativa económica a las comunidades de las Yungas en el NOA.

Los virus considerados aquí son los reportados para Tomate de árbol en el mundo. Estos virus tienen presencia en cultivos hortícolas. Es factible la presencia de éstos virus en tomate de árbol en áreas en las que existe presencia de ambos cultivos. Además, plantear investigaciones que determinen la presencia de enfermedades ocasionadas por virus en tomate de árbol en la Argentina cobra importancia, para evitar posibles brotes epidemiológicos, generar herramientas de manejo y control de enfermedades ocasionadas por estos virus.

## BIBLIOGRAFÍA

- Agrios G. 1996. Fitopatología. Segunda Edición. Ed. Uteha. Noriega Editores. 838 p.
- Agrios G. 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Elsevier Academic Press. 922 p.
- Alvarez A. E., Garzo E., Verbeek M, Vosman B., Dicke M. & Tjallingii W. F. 2007. Infection of potato plants with *Potato leafroll virus* changes attraction and feeding behaviour of *Myzus persicae*. Entomologia Experimentalis et Applicata 125: 135-144.
- Aramburu J. Galipienso L. Soler S. y Lopez C. 2009. Epidemiología del virus del bronceado (TSWV) en España, consecuencia de la aparición de aislados que sobrepasan la Resistencia en tomate y pimiento. Libro de Resúmenes, XV Congreso Latinoamericano y XVIII Congreso Chileno de Fitopatología. Asociación Latinoamericana de Fitopatología, ALF, Sociedad Chilena de Fitopatología, SOCHIFIT. Santiago, Chile. 158 p.
- Astier S., Abouy J., Maury Y. Robaglia, C. & Lecoq, H. 2007. Principles of Plant Virology, Genome, Pathogenicity, Virus, Ecology. Science Publisher. 472 p.
- Ayala, M. 2009. Caracterización del Potyvirus asociado a la virosis del tomate de árbol en Antioquia. Trabajo de Grado presentado para optar al Título de Magíster en Ciencias Agrarias. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia. Octubre. 96 p.
- Ayala Vásquez, M., P. González Jaimes; p. A. Gutiérrez; J. M. Cotes; M. Marín Montoya. 2010. Caracterización Serológica Y Molecular De Potyvirus Asociados A La Virosis Del Tomate De Árbol En Antioquia (Colombia). Acta biol.Colomb. [online]., vol.15, n.3, pp.145-164.
- Bananej K, Hajimorad M. R., Roossinck M.J. & Shahaeren N. 1998. Identification and characterization of Peanut stunt cucumovirus from naturally infected Alfalfa in Iran. Plant Pathology, 47: 355-361.
- Betancourth C., Goyes R. y Bravo D.A. 2003. Caracterización biológica de un virus del tomate de árbol (*Solanum betaceum* Send) en el departamento de Nariño. Fitopatología Colombiana 27: 7-10.
- Bhat A & Siju S. 2007. Development of a single-tube multiplex RT-PCR for the simultaneous detection of Cucumber mosaic virus and Piper yellow mottle virus associated with stunt disease of black pepper. Current science 93: 973-976.
- Boben J., Kramberger P., Petrovic N., Cankar K., Strancar, M. A. & Ravnikar, M. 2007. Detection and quantification of *Tomato mosaic virus* in irrigation waters. European Journal of Plant Pathology 118: 59-71.
- Breuil S. de, Giolitti F. & Lenardon S. 2005. Detection of *Cucumber mosaic virus* in Peanut (*Arachis hypogaea* L.) in Argentina. Journal of Phytopathology 153: 722-725.
- Bujarski J.J. 2008, *Bromoviruses*. Encyclopedia of Virology (Third Edition). Editors-in-Carrington J.C. & Dougherty W.G. 1987a. Small nuclear inclusion protein encoded by a plant *Potyvirus* genome is a protease. Journal of Virology 61: 2540-2548.
- Carrington J.C. & Dougherty W.G. 1987b. Processing of the tobacco etch virus 49K protease requires autoproteolysis. Virology 160: 355-362.
- Chávez B. y Varon F. 2001. Enfermedad de etiología viral en cultivos de tomate de árbol. Epidemiología Agrícola. P 39-43.
- Craig G., Stephen W., Wylie J., Michael G. & Jones K. 2004. Diagnosis of plant viral pathogens. Current science 86:1604-1607.
- Cruz L.F. 2005. Identificación de virus en *Solanum betaceum*. Tesis de Ingeniería Agronómica, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá. 48 p.
- Eagles R. 1994. *Tamarillo mosaic potyvirus*: characterization and resistance. Thesis, plant science, School of biological sciences, University of Auckland. Doctor of Philosophy.
- Edwardson J.R. & Christie R.G. 1983. Cytoplasmic cylindrical and nucleolar inclusions induced by Potato virus -A. Phytopathology 73: 290-293.
- Eigenbrode S., Hongjian D., Shiel P. & Berger P. H. 2002. Volatiles from potato plants infected with Potato leafroll virus attract and arrest the virus vector, *Myzus persicae* Homoptera: Aphididae. Proceedings Royal Society of London 269: 455-460.
- Gil J. F., Quintero M., González P., Cotes J. M. y Marín M. 2009. Detección serológica y molecular de virus en cultivos de papa de



- tres regiones de Antioquia. En: 29 Congreso Nacional de Fitopatología y Ciencias Afines. Medellín Junio, 120 p.
- Guyader S. & Ducray D.G. 2002. Sequence analysis of Potato leafroll virus isolates reveals genetic stability, major evolutionary events and differential selection pressure between overlapping reading frame products. *Journal of General Virology*, 83: 1799-1807.
- Hull, R. 2004. *Mathew's Plant virology*. Fourth Edition. Elsevier Academic Press, USA. 1001 p.
- ICTV. 2003. Büchen-Osmond, C. (Ed). 00.057.0.01.065. *Tamarillo mosaic virus*. In: *ICTVdB - The Universal Virus Database*, version 3. Büchen-Osmond, C. (Ed), ICTVdB Management, Columbia University, New York, USA. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/>
- ICTVdB 2006a. Management 00.010.0.01.001. *Alfalfa mosaic virus*. In: *ICTVdB - The Universal Virus Database*, version 4. Büchen-Osmond, C. (Ed), Columbia University, New York, USA. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/>
- ICTVdB 2006c. Management 00.039.0.02.001. *Potato leafroll virus*. In: *ICTVdB - The Universal Virus Database*, version 4. Büchen-Osmond, C. (Ed), Columbia University, New York, USA Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/>
- ICTVdB 2006d. Management 00.057.0.01.056. *Potato virus A*. In: *ICTVdB - The Universal Virus Database*, version 4. Büchen-Osmond, C. (Ed), Columbia University, New York, USA. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/>
- ICTVdB 2006e. Management 00.057.0.01.058. *Potato virus Y*. In: *ICTVdB - The Universal Virus Database*, version 4. Büchen-Osmond, C. (Ed), Columbia University, New York, USA. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/>
- ICTVdB 2006f. Management 00.018.0.03.029. *Tomato ringspot virus*. In: *ICTVdB - The Universal Virus Database*, version 4. Büchen-Osmond, C. (Ed), Columbia University, New York, USA. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/>
- ICTVdB 2006h. Management 00.071.0.01.013. *Tomato mosaic virus*. In: *ICTVdB - The Universal Virus Database*, version 4. Büchen-Osmond, C. (Ed), Columbia University, New York, USA. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/index.htm>
- ICTVdB 2006b. Management 00.010.0.04.001. *Cucumber mosaic virus*. In: *ICTVdB - The Universal Virus Database*, version 4. Büchen-Osmond, C. (Ed), Columbia University, New York, USA. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/>
- Jaramillo Zapata M, Gutiérrez PA, Lagos LE, Cotes JM, Marín M (2011). Detection of a complex of viruses in tamarillo (Solanum betaceum) orchards in the Andean region of Colombia. *Tropical Plant Pathology* 36: 150-159
- Khan J. & Dijkstra J. 2006. *Handbook of plant virology*. Food Product Press Oxford. 452 p.
- Kogovšek P., Gow L., Pompe-Novak M., Gruden K., Foster G.D., Boonhamc N. & Ravnikar M. 2008. Single-step RT real-time PCR for sensitive detection and discrimination of *Potato virus Y* isolates. *Journal of Virological Methods* 149: 1-11.
- Lacasa A. 2006. Epidemiología del TSWV en pimiento, comportamiento con variedades de resistencia. *Biotecnología y protección de cultivos*, Instituto Murciano de Investigación y desarrollo agrario y alimentario. Disponible en: [http://www.pepperstoday.com/pdf/Presentati on\\_Lacasa.pdf](http://www.pepperstoday.com/pdf/Presentati on_Lacasa.pdf)
- Lembo L. M., Vaz Alexandre M. A., Borges E., Cattai M. B., Martins R., Harakava R. & Campos F. M. 2007. Phylogenetic analysis of *Tomato mosaic virus* from *Hemerocallis* sp. and *Impatiens hawkeri*. *Summa Phytopathologica* 33: 409-413.
- Maldonado C. y Sánchez de Luque C. 1984. Caracterización, purificación y serología del virus de la necrosis anular del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* sendt). En: *Resúmenes VI Congreso ASCOLFI*. Santa Marta, Colombia. 54 p.
- Martín FW, Nakasone HY (1970). The edible species of *Passiflora*. *Economic Botany* 24: 333-343.
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural - MARD. 2006. Observatorio agro cadenas Colombia. Disponible en <http://www.agrocadenas.gov.co>). Consulta: Enero 2008.
- Mowry Th. M. & Ophus J. D. 2002. Effects of sub-lethal imidacloprid levels on *Potato leafroll virus* transmission by *Myzus persicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 103: 249-255.
- Mumford R. A. Barker I. & Wood K. R. 1996. *The Biology of the Tospoviruses*. Annual applied Biology 128: 159-183.

- Nie X. & Singh R.P. 2001. A novel usage of random primers for multiplex RT-PCR detection of virus and viroid in aphids, leaves, and tubers. *Journal of Virological Methods* 91: 37-49.
- Ogawa T., Tomitaka Y., Nakagawa A. & Ohshimab K. 2008. Genetic structure of a population of *Potato virus Y* inducing potato tuber necrotic ringspot disease in Japan; comparison with North American and European populations. *Virus Research* 131: 199-212.
- Pinkertonj N., Kraus J., Martin R. R. & Schreiner R. P. 2008. Epidemiology of *Xiphinema americanum* and Tomato ringspot virus on Red Raspberry, *Rubus idaeus*. *Plant disease* 92: 364-371.
- Roselló S., Díez M.J. & Nuez F. 1996. Review. Viral to the diseases causing the greatest economic losses tomato crop. I. The Tomato spotted wilt virus. *Scientia Horticulturae* 67: 117-150
- Salazar L. F. 1995. Los virus de la papa y su control. Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú. 226 p.
- Salazar L. F., Müller G., Querci M., Zapata J.L. & Owens R. A. 2000. . Potato yellow vein virus: its host range, distribution in South America and identification as a crinivirus transmitted by *Trialeurodes vaporariorum*. *Annals of Applied Biology* 137: 7-19.
- Saldarriaga A., Bernal J.A. y Tamayo P. 1997. Virosis del tomate de árbol. En: *Enfermedades del cultivo de árbol en Antioquia: Guía de reconocimiento y control*. Boletín técnico CORPOICA.
- Saldarriaga, A. y Bernal, J.A. 1994. Virus en tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* Sendt). En: *Resúmenes XV Congreso ASCOLFI*. Bogotá. P 5.
- Sánchez de Luque C. 1982a. Estudios de hospedantes de un nuevo virus en el tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* Sendt). En: *Programa y resúmenes V Congreso Asociación Colombiana de Fitopatología ASCOLFI, XXII Reunión Anual de la Sociedad Americana de Fitopatología*. División Caribe, ASP- CD, Cali, Colombia. Julio 12 - 17. P 41-42.
- Sánchez de Luque C. 1982b. Presencia de virus en tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* (Cav) Sendt) en Colombia. En: *Programa y resúmenes V Congreso, Asociación Colombiana de Fitopatología ASCOLFI, XXII Reunión Anual de la Sociedad Americana de Fitopatología - División Caribe, APS - CD*. Cali, Colombia. Julio 12 - 17. P 3.
- Sañudo B. y Orellana G. 1989. Un virus afectando tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) en Valle del Sibundoy, Putumayo. *ASCOLFI Informa* 15: 24.
- Schubert J., Fomitcheva V. & Sztangret-Winiewska J. 2007. Differentiation of *Potato virus Y* strains using improved sets of diagnostic PCR-primers. *Journal of Virological Methods* 140: 66-74.
- SINAVIMO. Sistema Nacional Argentino de Vigilancia y Monitoreo de Plagas. [www.sinavimo.gov.ar](http://www.sinavimo.gov.ar)
- Singh R., Nie, X. & Singh, M. 2000. Duplex RT-PCR: reagent concentrations at reverse transcription stage affect the PCR performance. *Journal of Virological Methods* 86: 121-129.
- Singh R., Valkonen T., Gray S. M., Boonham N., Jones R. A. C., Kerlan C. & Schubert J. 2008. Brief Review Discussion paper: The naming of *Potato virus Y* strains infecting potato. *Archives of Virology* 153: 1-13.
- Širca S., Geric Stare B., Mavrič Pleško I., Viršček Marn M. & Urek, G. 2007. *Xiphinema rivesi* from Slovenia Transmit *Tobacco ringspot virus* and *Tomato ringspot virus* to cucumber Bait. *Plant Disease* 91: 770.
- Sokhandan N., Rasaei B. M. & Nourinejhad S. 2006. Detection, differentiation and phylogenetic analysis of *Cucumber mosaic virus* isolates from cucurbits in the northwest region of Iran. *Virus Genes* 32: 277-288.
- Stangeland T. Remberg S.V. & Lye K.A.. 2009. Total antioxidant activity in 35 Ugandan fruits and vegetables. *Food Chemistry* 113: 85-91.
- Taliansky M., Mayo M. & Barker H. 2003. Pathogen profile *Potato leafroll virus*: a classic pathogen shows some new tricks. *Molecular Plant Pathology* 4: 81-89.
- Tamayo P.J. 1990. Mosaico del tomate de árbol. *ASCOLFI Informa*.16: 54-55.
- Tamayo P.J. 1996. Enfermedades Virales del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* (Cav).Sendt.) en Colombia. *ASCOLFI Informa* 22: 26-29.
- Tamayo P.J., Zapata J.L. y Salazar L.F. 1999. El mosaico y la virosis del tomate de árbol en el altiplano norte de Antioquia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*. 52: 781-785.
- Tsompana M., Abad, J., Purugganan, M. & Moyer, J. W. 2005. The molecular population genetics of the *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) genome. *Molecular Ecology* 14: 53-66.

- Urcuqui-Inchima S., Haenni A. L. & Bernardi F. 2001. Potyvirus proteins: a wealth of functions. *Virus Research* 74:157-175.
- Vizuete B., Insuasti M. L., Ochoa J. & Ellis, M. 1990. Biological and serological characterization of tree tomato virus diseases in Ecuador. INIAP, Ohio State University. 3 p.
- Zitikaitė I. & Samuitienė, M. 2008. Identification and some properties of *Alfalfa mosaic alfamovirus* isolated from naturally infected tomato crop. *Biologija* 54: 83-88.

## DESHIDRATACIÓN DE FRUTAS Y VERDURAS COMO TÉCNICAS DE CONSERVACIÓN PARA LA FUNDACION BANCO DE ALIMENTOS

## DEHYDRATION OF FRUITS AND VEGETABLES AS CONSERVATION TECHNIQUES TO BANK OF FOODS FOUNDATION

GONZÁLEZ KARINA <sup>1\*</sup>, PÉREZ ZAMORA FEDERICO <sup>1</sup>, ALBARRACÍN, PONCE J. <sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Universidad de San Pablo Tucumán.* <sup>2</sup> *Instituto de Innovación Tecnológica para la Competitividad Territorial.*

\**Autor:kgonzalez@uspt.edu.ar*

### RESUMEN

Los alimentos deshidratados y/o desecados son aquellos alimentos frescos a los que se les ha extraído el agua mediante métodos artificiales o naturales con el fin de disminuir el riesgo de contaminación y aumentar la vida útil. La deshidratación y el desecado son los métodos de conservación más antiguos utilizados a través de la historia de la humanidad. Antiguamente, frutas, granos, vegetales, carnes y pescados, se secaban al sol para tener alimentos en épocas de escasez. Podríamos decir más claramente que el **deshidratado** es la reducción de la cantidad de agua mediante el tratamiento del alimento por **calor artificial** (aire previamente calentado, superficies calientes, etc.). En cambio el desecado es la reducción de la cantidad de agua mediante el tratamiento del alimento en **condiciones ambientales** (sol, viento, etc.), es decir, de manera natural o artesanal. El objetivo de este trabajo es reducir la cantidad de agua de los alimentos frescos que son donados a la fundación Banco de Alimentos, así como también capacitar al personal del mismo. En este trabajo se realizó el deshidratado de Tomates, zapallitos verdes, y banana a los cuales se le realizó un tratamiento previo con ácido cítrico, glucosa y metabisulfito, para conservar las características organolépticas de los mismos. Con respecto a los porcentajes de humedad obtenidos son los óptimos: zapallitos verdes (*Curcubita maxima var. zapallito*) 12%, Tomate (*Solanum lycopersicum*) 9%, banana (*Musa x paradisiaca*) 13%. El envasado se realizó al vacío con bolsa apta para alimentos y el tiempo de vida útil con tratamiento fue de 14 meses mientras que el tiempo sin tratamiento fue de tres meses.

**Palabras claves:** deshidratado, desecado, alimentos deshidratados

### SUMMARY

Dehydrated and / or dried foods are those fresh foods to which water has been extracted by artificial or natural methods in order to reduce the risk of contamination and increase the shelf life. Dehydration and drying are the oldest conservation methods used throughout the history of mankind. Formerly, fruits, grains, vegetables, meats and fish, dried in the sun to have food in times of shortage. We could say more clearly that dehydration is the reduction of the amount of water by treating the food by artificial heat (previously heated air, hot surfaces, etc.). On the other hand, drying is the reduction of the amount of water by treating the food in environmental conditions (sun, wind, etc.), that is, in a natural or artisanal way. The objective of this work is to reduce the amount of water in fresh foods that are donated to the Bank of Foods Foundation, as well as to train their staff. In this work the dehydration of Tomatoes, green zucchini, and banana was carried out to which a previous treatment with citric acid, glucose and metabisulfite was carried out, to preserve their organoleptic characteristics. Regarding the humidity percentages obtained, the best green zucchini (*Curcubita maxima var. Zucchini*) 12%, Tomato (*Solanum lycopersicum*) 9%, banana (*Musa x paradisiaca*) 13%. The packaging was carried out under vacuum with a bag suitable for food and the useful life with treatment was 14 months while the time without treatment was three months.

## INTRODUCCIÓN

Los alimentos deshidratados y/o desecados son aquellos alimentos frescos a los que se les ha extraído el agua mediante métodos artificiales o naturales con el fin de disminuir el riesgo de contaminación y aumentar la vida útil.

El objetivo general de este trabajo es: Deshidratar las frutas y verduras donadas a la fundación Banco de Alimentos.

Objetivos específicos: Emplear conservantes (metabisulfito de sodio, glucosa, ácido cítrico) que permitan preservar las características organolépticas de las frutas y verduras.

Capacitar al personal de la Fundación Banco de Alimentos

La deshidratación y el desecado son los métodos de conservación más utilizados a través de la historia de la humanidad tienen ciertas ventajas:

- Como principal aumentan la vida útil.
- También es importante que ciertos nutrientes no se pierden como ser proteínas, hidratos de carbono y grasas o lípidos.
- Reducen el peso y el volumen de los alimentos, para lo cual el espacio de almacenamiento es menor y optimizan el transporte y la distribución.
- No se requieren instalaciones especiales para el almacenamiento posterior.

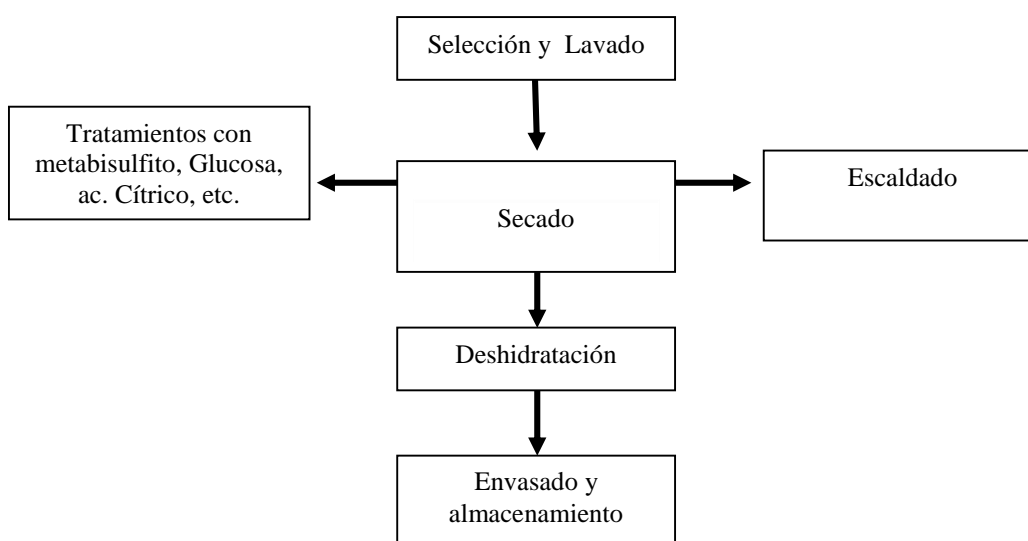
- Añaden valor agregado al alimento utilizado.
- Evitan el desperdicio de alimentos, en el caso de algún fruto de maduración rápida es una buena técnica para almacenar
- Los alimentos deshidratados son de fácil preparación y ahorran tiempo y energía.

## DESVENTAJAS DE LA DESHIDRATACIÓN Y EL DESECADO:

- Pérdida de vitaminas hidrosolubles (como la vitamina C) es decir aquellas que sean solubles en agua
- Pérdida de características organolépticas (como olor, sabor, textura, color), lo cual en algunos casos se el consumidor pierde el interés de consumirlos

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para realizar una mejor comprensión del proceso de realizó en diagrama de flujo



## SELECCIÓN Y LAVADO

Los alimentos a deshidratar deben seleccionarse separando aquellos en mal estado o que no tengan el punto óptimo de maduración.

Los mismos deben lavarse con abundante agua. El manipulador de alimentos cumple con todos los requisitos de las Buenas prácticas de manufactura (BPM)

## SECADO

Muchos alimentos poseen en capa de piel que impide eliminar la Humedad de su interior fácilmente; en algunos casos pueden sacarse la cáscara fácilmente

Es importante tener en cuenta ciertas consideraciones:

- a- No pretender deshidratar frutas y verduras al mismo tiempo
- b- Es preciso realizar un corte homogéneo en cada uno de los vegetales y frutas
- c- En el caso en que los vegetales vayan a secarse troceados se recomienda realizarlos con una máquina manual de un grosor específico.
- d- El grosor de cada trozo debe ser entre 0,5 y 1 cm, por el contrario si el grosor es muy delgado el vegetal o fruta queda muy duro y seco.
- e- La temperatura es importante debido a que hay alimentos en donde se forma una costra en el interior.



**Fig. N°1.** Cortes realizados a los zapallitos verdes

Se den realizar tratamiento previos al secado, estos se refieren a los tratamientos físicos y químicos antes de realizar el deshidratado, esto tiene como objetivo minimizar el efecto del deterioro del alimentos así también como mejorar la calidad final del producto.

## ESCALDADO O BLANQUEADO

Es un tratamiento térmico blanqueamiento que consiste en someter a temperaturas elevadas por un periodo de tiempo el cual estará en función del tipo estado de madurez y tamaño de producto para luego enfriarlo rápidamente.

Estos procedimientos tienen como objetivos:

- Inactivar las enzimas para inhibir el oscurecimiento o pardeamiento de los alimentos.
- Ablandar el alimento y eliminar parcialmente el contenido de agua de los tejidos.
- Fijar y acentuar el color natural.
- Mejorar el sabor y el aroma del alimento.
- Reducir la cantidad de microorganismos de los alimentos.

El blanqueado o escaldado no suele utilizarse en las frutas porque cambia mucho el sabor.

Sobre todo si el secado se realiza en trozos. Se recomienda utilizarlo en hortalizas.

Existen dos técnicas para hacerlos

- a) Con agua hirviendo: las hortalizas se colocan en agua hirviendo por unos minutos en nuestra experiencia 3 (tres) minutos y se las enfría con agua.
- b) Con vapor caliente: se las colocan en una canilla suspendida sobre agua hirviendo y se someten a la acción del calor por varios minutos.

En nuestras experiencia utilizamos la técnica a)



**Fig. N°2.** Escaldado de tomates

## ACIDIFICADO

Es un método de deshidratado de frutas para neutralizar el oscurecimiento o pardeamiento por oxidación y minimizar las pérdidas de vitaminas de las vitaminas A y D.

El pardeamiento es un efecto indeseado en muchas frutas como por ejemplo la manzana, durazno, peras, bananas etc.

Los ácidos más utilizados son:

- Son los ácidos ascórbico: 1,5 a 2 gramos /litro
- Ácido cítrico : 6 gramos por /litro de agua

En caso de no disponer ningunos de los ácidos se puede prepara una solución de zumo de limón (80 a 100 ml) y sumergir el producto un tiempo determinado.

Para este proyecto se utilizó el ácido cítrico 6 gramos / litro en frutas y verduras.



**Fig. N°3.** Preparación del acidificado, realizado por personal de la Fundación Banco de Alimentos

## SULFITADO

El sulfitado en el deshidratado de frutas es mucho más efectivo para el sulfitado que el ácido cítrico. Para el pardeamiento y para la pérdida de vitaminas A y D, no deja sabor ácido en el producto terminado y es antimicrobiano. La técnica más utilizada es preparar de 5 a 12 gramos metabisulfito de sodio por litro de agua a temperatura ambiente. El tiempo de aplicación es de 5 a 10 minutos, si son mitades grandes 15 minutos, se debe dejar reposar. Es importante

utilizar elementos de aceros inoxidable o vidrio. En esta oportunidad se utilizó acero inoxidable. No se recomienda el uso de este conservante para personas asmáticas.



**Fig. N°4.** Preparación del sulfitado

## AZUCARADO

El azucarado no es más que agregarle azúcar (sacarosa + miel) al alimentos antes de someterlo a deshidratación mientras que el salado de forma similar consiste en añadirle la sal común con la finalidad de acentuar el sabor original y además disminuir la actividad de agua que asegura la conservación del producto final.

En este proyecto se utilizó la solución de ácido cítrico + glucosa (1:1) como tratamiento para mejorar el aspecto de los vegetales luego del deshidratado.

## DESHIDRATACIÓN

En este proyecto se realizó la deshidratación de zapallito verdes, tomates y banana. El proceso de deshidratado propiamente dicho se realizó en una deshidratadora que pertenece a la Fundación Banco de alimentos que fue donada por la Embajada Suiza.

Se colocaron los zapallitos en una primera instancia cuyas temperaturas de deshidratado fueron de 65°C en un intervalo de tiempo de 16 horas, los tomates fueron deshidratados a menor temperatura de 60 ° C mayor tiempo, para evitar la formación de costras en la piel que impidan el ingreso del calor al interior.

En el caso de la banana a 65 °C fue deshidrata en más tiempo por la capa cerosa que contiene, es importante no superar la temperatura de 70 °C grados centígrados para evitar la desnaturalización de proteínas.



El tamaño del corte fue siempre de 1 cm de espesor.

El calor aplicado en cada caso fue por convección, es conveniente que los bordes de los trozos de vegetales no tengan contacto para evitar que se peguen.



**Fig. N°5.** Deshidratadora perteneciente a la Fundación Banco de alimentos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Tabla N°1-verduras deshidratadas**

Verduras	Temperatura °C	tiempo ( horas)
Zapallitos verdes ( <i>Curcubita máxima</i> var.zapallito)	65	16
Tomate ( <i>Solanum lycopersicum</i> )	60	16
Banana( <i>Musa × paradisiaca</i> )	65	20

**Tabla N°2 -Cálculos del porcentaje de humedad**

Verduras	Fresco %	seco %
Zapallitos verdes ( <i>Curcubita maxima</i> var.zapallito)	85	12
Tomate ( <i>Solanum lycopersicum</i> )	95	9
Banana( <i>Musa × paradisiaca</i> )	80	13

## ENVASADO Y ALMACENAMIENTO

Las bolsas deben ser de plásticos resistentes permitidas por el CAA (código alimentario Argentino) selladas al vacío.

Los alimentos deshidratados tienen que pasar por un periodo de supervisión, en un primer lugar antes de su envasado, se debe dejar que se enfríen nunca envasar en caliente para evitar la formación de gotas de agua en las bolsas , en segundo lugar se debe seleccionar los alimentos y eliminar los que estén de un aspecto no deseado.

**Se realizó la siguiente la prueba:** se los coloca en un frasco de vidrio (tapado) y se los deja por un periodo de 7 días removiendo de vez en cuando, si se llegara a notar gotitas de agua condensada en el frasco se debe volver a deshidratar.

El deshidratado de frutas y verduras permite disminuir el desperdicio de alimentos, ayuda en muchos casos a disminuir las pérdidas económicas de los productores de frutas y verduras, nos facilita el transporte el almacenamiento y alarga el tiempo de vida útil.





**Fig. N°6.** Tomates deshidratados envasado al vacío

Es muy importante el pretratamiento de las frutas y verduras para conservar características organolépticas.

El porcentaje de humedad obtenido fue el óptimo en todos las verduras y frutas deshidratadas inferior al 14 % , solo se realizaron esas frutas y verduras (banana, zapallito verde y tomate) debido a que son las donaciones que más cantidad reciben la Fundación Banco de alimentos de los productores del Mercofrut de la provincia de Tucumán.

La variable por excelencia es sin dudas la temperatura que afecta directamente la calidad del producto deshidratado , en algunos casos como el tomate forman costras que impiden la entrada en calor y por ende el buen deshidratados , en estos casos se producen pérdidas significativas de bandejas mal deshidratadas, se recomiendo la visualización cada dos horas.

Se pudo observar como resaltador del color en el caso del zapallito verde el tratamiento realizado con ácido cítrico más glucosa donde se notaba a simple vista un verde más intenso.

El envasado se realizó al vacío en bolsas aptas para alimentos, se evaluó el tiempo de vida útil del producto con productos tratados y no tratados, donde en los productos no tratados el tiempo fue solo de tres meses, mientras que en los tratados fue de 14 meses.

## BIBLIOGRAFÍA

- J.J. Water-man (1975) Relevamiento de secaderos solares agrícolas. Brace Research Institute. Canadá.
- Maldonado F. (2009) Effect of temperature and pretreatment on water diffusion during rehydration of

dehydrated mangoes-Journal of foods engineering

Michelis, A. (2012) Deshidratación y secado de frutas, verduras y hongos - Comunicación Tencia N° 84 Área de Desarrollo Rural ISSN 1667-4014

T. Vázquez y otros, (1997).Energética y FAKT- Manual de Secado Solar Técnico de Alimentos. Cocha-bamba, Bolivia,

[https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta\\_cartilla\\_secado.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_cartilla_secado.pdf)

<http://supercampo.perfil.com/2016/06/como-en-el-espacio-fruta-y-verdura-deshidratadas-ahora-son-snacks/>

**ENSEÑANZA DEL PENSAMIENTO CRÍTICO EN MEDICINA****TEACHING OF CRITICAL THINKING IN MEDICINE**MÁRQUEZ M.E. <sup>1\*</sup>, SUÁREZ NASIF L. <sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Instituto de Salud y Calidad de Vida, Universidad San Pablo Tucumán*  
\* *manuelmarquez20@gmail.com*

**RESUMEN**

Se hacen consideraciones sobre la enseñanza del Pensamiento Crítico, prescripto en el ítem 12 de la Res. 1314/2007 del MECYT, y su relación con el curriculum de la Carrera de Medicina de la Universidad San Pablo Tucumán. Se hace un intento de conceptualizar el método hipotético deductivo en un contexto de diagnóstico clínico. Se ejemplifica la importancia de las herramientas de la Semiología Médica y del Razonamiento Clínico en la recolección de datos y la formulación de hipótesis. Se insiste en que la transmisión de información por parte del docente no garantiza la construcción de aprendizajes significativos por parte del alumno. Se destaca la importancia de la práctica real y concreta, acompañada y supervisada por el docente, en la generación de la mejor teoría y en la consolidación de aprendizajes significativos por el alumno.

**PALABRAS CLAVE:** pensamiento crítico, educación médica, método hipotético deductivo.

**ABSTRACT**

Considerations over teaching of Critical Thinking prescribed by Res. 1314/2007 in item 12 and relation with curriculum of Medicine Carrer of Universidad San Pablo Tucumán, are made. Conceptualization of hypothetical deductive method in a context of clinical diagnosis is tried. The importance of the tools of Medical Semiology and Clinical Reasoning in data collection and hypothesis formulation is exemplified. It is insisted that the transmission of information by the teacher does not guarantee the construction of significant learning by the student. The importance of real and concrete practice is highlighted, accompanied and supervised by the teacher, in the generation of the best theory and in the consolidation of significant learning by the student

**KEY WORDS:** critical thinking, medical education, hypothetical deductive method.

## INTRODUCCIÓN

La resolución 1314/2007 del Ministerio de Educación Ciencia y Tecnología marca taxativamente las competencias que los estudiantes de medicina deben adquirir para obtener el título de grado en Medicina.

El ítem 12- de la misma expresa que la Institución educativa debe garantizar que el alumno:

- Utiliza el pensamiento crítico, razonamiento clínico, medicina basada en evidencia y la metodología de la investigación científica en el manejo de la información y abordaje de los problemas médicos y sanitarios.

Este ítem claramente prescribe que los alumnos de la carrera deben ser entrenados en esta manera de pensar, críticamente, siguiendo las reglas del método científico. Los alumnos de los últimos cursos tienen marcadas dificultades para incorporar este tipo de pensamiento, prefiriendo actividades puramente técnicas y manuales. Así, realizan muy bien la intubación endotraqueal pero fallan en el razonamiento clínico para indicarla. Por otro lado los docentes, que también tenemos nuestra responsabilidad, nos inclinamos a la transmisión oral de grandes cantidades de información, lo cual de ninguna manera garantiza que el alumno realice aprendizajes significativos, y menos, se entrene en el pensamiento crítico.

Estas reflexiones pretenden aportar al significado del pensamiento crítico y su construcción por parte del alumno con la ayuda del docente.

## DISCUSIÓN

El análisis del currículum de nuestra Carrera de Medicina muestra que en los primeros tres años de cursado se desarrollan la mayoría de los aspectos biológicos humanos que son necesarios para que el alumno se introduzca en el razonamiento clínico en los restantes tres años. Además, en estos mismos tres primeros años los alumnos han sido expuestos en forma progresiva a aspectos de la clínica médica en Aprendizaje Clínico Temprano I, Aprendizaje Clínico Temprano II y SEMIOLOGÍA; a materias humanistas como antropología, historia de la medicina, bioética, y a materias específicas como bioestadística y metodología de la investigación.

Presumiblemente después de estos tres años debería ser sencillo introducir al alumno en el intríngulis del razonamiento clínico en el cual

el cúmulo de información biológica debe ser contrastada con la realidad del sujeto demandante de atención, enfermo o sano, es decir, llevada a la práctica real y concreta. La dificultad estriba en que los problemas a que se enfrenta el médico son problemas inversos a los del estudio de la biología y la patología. Los manuales de patología comienzan definiendo la nomenclatura, describiendo la anatomía patológica y la fisiopatología, para finalizar con la presentación clínica, el diagnóstico y el tratamiento. Es decir, van desde la causa y mecanismo productor a las manifestaciones clínicas. Inversamente, las personas que consultan a un médico vienen refiriendo síntomas y presentando signos que necesitan ser analizados para descubrir el mecanismo productor y la causa original.

La práctica demuestra que el alumno prefiere mecanismos de pensamiento lineal y mecánico en el enfrentamiento con pacientes, desarrollando razonamientos que ligan directamente datos biológicos con métodos de diagnóstico, eludiendo el método hipotético deductivo en la búsqueda de mecanismos y causas. Ejemplo: Dolor en FID>Ecografía, obviando todo procedimiento clínico para precisar un diagnóstico.

Haremos un intento de conceptualizar el pensamiento crítico, hipotético deductivo, en un contexto de diagnóstico clínico.

El médico atiende a un paciente buscando datos mediante la sensopercepción: vista, oído, tacto, buscan DATOS. Levantar la Historia Clínica del paciente es la entrada al proceso de enfocar con metodología científica y pensamiento crítico, las necesidades de atención del ser humano que consulta por algún padecimiento. Este acto de realizar una Historia Clínica es subvaluado por los estudiantes y considerado una carga que debe superarse con rapidez, soslayando que es la entrada al proceso científico del acto médico. En este primer momento de enfrentarse a un problema clínico y levantar una Historia Clínica, el médico pone, o debería poner, todos sus sentidos para explorar al objeto de su investigación en todos sus aspectos, buscando DATOS con la mente abierta y sin juicio previos, que constituirán la esencia del proceso de diagnóstico posterior.

Los Datos pueden ser de distintos tipos:

- Paramétricos: presión arterial, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, temperatura, etc.
- Subjetivos: los síntomas del paciente.

- Objetivos: los signos del paciente.
- Históricos: elementos históricos de la vida del paciente.
- Económicos y Sociales: el contexto del paciente

A medida que avanza en esta búsqueda, el médico irá agrupando estos datos de distintas maneras tratando de determinar la causa o causas que expliquen los mismos y haciendo conjeturas sobre los posibles mecanismos biológicos, psicológicos o físicos que llevaron al paciente a esta situación. Estas conjeturas son hipótesis de bajo nivel que pueden motivar la solicitud de nuevos datos bioquímicos o imagenológicos que puedan orientar la búsqueda. Para llegar a estas conjeturas o hipótesis de bajo nivel, el médico, mediante un proceso intelectual, apeló a todos sus aprendizajes y experiencias previas tratando de dar a estas hipótesis un fundamento lógico y ajustado a ciencia. Finalmente, con toda la información en mano el médico puede elaborar hipótesis tratando de llegar a un diagnóstico clínico.

- Hipótesis 1
- Hipótesis 2
- Hipótesis 3

Estas hipótesis necesitan ser sometidas a un proceso de confirmación o descarte, de comprobación o no de su nivel de explicación de los síntomas y signos del paciente. Podrán o no solicitarse nuevos estudios a la luz de estas nuevas hipótesis, pero en este proceso es necesario ir descartando hipótesis:

- No es la H1
- No es la H2
- Puede ser la H3

Pareciera que la H3 es la hipótesis que mejor explica el estado del paciente y deberíamos asumirla como la más certera y verdadera, aun cuando puedan quedar algunas dudas sobre su veracidad. Este proceso de descartar hipótesis requiere poner en juego todos los elementos previos conocidos que puedan aportar a la búsqueda de la causa o causas. Toda la formación del médico, todos los estudios realizados, todas las escuelas consultadas deberían estar en este momento al servicio de la explicación de los síntomas y signos que presenta este paciente concreto. Incluso las subjetividades de ambos actores, médico y paciente, están en juego en este proceso.

En el ejemplo que presentamos del Dolor en Fosa Ilíaca Derecha, y en el supuesto que en un primer momento sólo contamos con

este síntoma, cabría formular las siguientes hipótesis iniciales:

- H1: Apendicitis aguda.
- H2: Cólico renal.
- H3: Ruptura ovárica por folículo.
- H4: Adenitis mesentéricas.
- H5: Enfermedad inflamatoria pélvica

Es obligatorio aquí profundizar la entrevista inicial y realizar un examen físico completo que nos permita incorporar más DATOS a los iniciales: sexo, edad, forma de comienzo de los síntomas, tono de la pared abdominal, estado de las amígdalas, etc., que no es más que la aplicación rigurosa del método semiológico que es esencial en la formación médica. Así podremos incorporar más datos a los iniciales:

- Sexo masculino
- 16 años.
- PA 120/80; FC 85/min; FR 16/min; temp. 37,6
- Dolor en FID que comenzó en epigastrio y luego se localizó allí.
- Estado nauseoso.
- Abdomen blando, doloroso en FID, sin dolor a la descompresión.
- Puño percusión lumbar no dolorosa.
- Amígdalas normales.

En este momento podríamos comenzar a descartar algunas de las hipótesis iniciales:

- No es la H3: ruptura ovárica.
- No es la H4: adenitis mesentérica.
- No es la H5: enfermedad pélvica

Casi podríamos afirmar que se trata de una apendicitis aguda en sus comienzos, pero todavía cabría descartar al Gran Simulador que es el cólico renal. Para ello, y para confirmar la presunción de una apendicitis aguda, solicitamos los primeros estudios:

- Hemograma
- Orina completa

Estos nos incorporan nuevos datos:

- 11.000 glóbulos blancos
- Orina normal sin oxalatos

Podríamos descartar un cólico renal observando al paciente que se encuentra inmóvil en la camilla de examen. Al mismo tiempo

podríamos ahorrar dinero y tiempo y no solicitar una ecografía abdominal que nos proporcionará datos no siempre certeros para el diagnóstico, y podemos mandar al paciente sin demora a la cirugía y evitar que la apendicitis aguda evolucione a peritonitis apendicular.

Este es solo un esquemático ejemplo de pensamiento crítico en el contexto clínico de un paciente imaginario. La realidad puede ampliar al infinito la generación de hipótesis en el intento de alcanzar la verdad absoluta. Pero la verdad relativa alcanzada en este proceso sirve para pasar a la acción y ayudar a las personas.

Por otra parte, en medicina los problemas no son sólo de pacientes aislados sino también de grupos de personas con problemas similares, como el embarazo adolescente o el suicidio de niños. Aquí el problema es más complejo y debemos seleccionar metodologías de investigación, como verificación o comprensión o entre investigación cuantitativa o cualitativa. Pero eso será tema de otro artículo.

El pensamiento crítico jerarquiza la tarea médica específica de recolección de datos mediante las técnicas de la Semiología tradicional y el Pensamiento médico ajustado a evidencia y al método hipotético deductivo de la investigación científica. Al mismo tiempo, y sin dejar de reconocer la ayuda de los medios auxiliares de diagnóstico, pone en valor la alta complejidad del razonamiento médico adquirido en años de entrenamiento. Usar el método hipotético deductivo en el estudio de un paciente es usar el método de la investigación científica para determinar las causas de sus síntomas con la finalidad de hacer una óptima intervención terapéutica. No estamos haciendo una investigación científica en sentido estricto, ya que para ello deberíamos haber elaborado un proyecto previo especificando las condiciones estrictas en las que analizaremos las variables en estudio. Pero sí estamos tratando de comprender la realidad de un ser humano con el objetivo final de cambiarla para mejor.

Es obvio que entrenar al estudiante en el pensamiento crítico no es cosa sencilla. El alumno, ante el cúmulo de materias que debe cursar, preferirá el método más esquemático que le permita la memorización de determinados aspectos teóricos en el menor tiempo posible. En ese sentido la palabra del docente transmitiendo información se convertirá en la fuente principal de datos que deben ser almacenados, sin pasar por un proceso de análisis, evaluación, y síntesis, simplemente porque garantizarán la aprobación de un examen. Es la “educación bancaria” de Paulo Freire en el que “se depositó” determinada

cantidad de contenidos en la cabeza del estudiante, sin la necesaria elaboración y construcción de conocimientos significativos por parte del alumno.

Lo que puede permitir al alumno superar esta acumulación de contenidos no significativos es enfrentarlo con la práctica real de su futura profesión. En el proceso de enseñanza aprendizaje la articulación entre teoría y práctica es esencial. La teoría es la información inicial proporcionada por los textos o el docente cuya acumulación memorística no es aprendizaje. El aprendizaje comienza a construirse en la cabeza del alumno cuando contrasta esa información con la realidad. Es la práctica la que da sentido a la teoría y da comienzo a la espiral del conocimiento. Es la vida real, la práctica concreta, acompañada, supervisada y controlada por el docente, la que puede poner al alumno en la posición de determinar sus propias necesidades de aprendizaje. Pararse frente a un paciente real es lo que le mostrará sus propias carencias y lo enfrentará a lo que necesita aprender. Lo que un estudiante de Medicina necesita aprender no es ligar un síntoma con un método de diagnóstico. Eso lo coloca en un plano de inferioridad respecto del método de alta complejidad. Lo que el estudiante necesita aprender es a generar sus propios mecanismos de pensamiento de manera que ellos sean de pensamientos de alta complejidad. El pensamiento crítico es manejar pensamientos complejos que permitan explicar la esencia de los fenómenos. Es buscar datos, generar hipótesis, descartarlas hasta llegar a la más verdadera. Sólo se consigue en la práctica concreta. Y pensar la práctica genera la mejor teoría y consolida los aprendizajes. El rol del docente es orientar al alumno en este proceso de generar sus propios aprendizajes.

## CONCLUSIONES

1. El Pensamiento Crítico en Medicina es la utilización del método hipotético deductivo en un contexto de diagnóstico clínico y de problemas sanitarios.
2. Las herramientas de la Semiología Médica y del Razonamiento Clínico son esenciales en la recolección de Datos y en la generación de Hipótesis.
3. La transmisión de información por parte del docente no garantiza la construcción de aprendizajes significativos por parte del alumno.

4. Es necesario incorporar al alumno a la práctica real y concreta, con acompañamiento y supervisión del docente, para consolidar aprendizajes significativos por parte del alumno.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

- Bunge, M. 2012. Filosofía para médicos. Buenos Aires. Gedisa S.A.
- Foucault M. El nacimiento de la clínica: Una arqueología de la mirada médica. 2ª Ed. Argentina 2008. Siglo XXI.
- Freire, P. 1984. La importancia de leer y el proceso de liberación. Siglo XXI. Mexico.
- Freire, P. 1970. Pedagogía del oprimido. Siglo XXI. México.
- Mardones J M, Ursúa N .Filosofía de la ciencias humanas y sociales. Ed.Fontamara SA, 1982.



## PREVENCIÓN DEL SUICIDIO

### CENTRO DE ESTUDIO DE LAS AUTOAGRESIONES (C.E.A.)

La O.M.S ha designado el día 10 de Setiembre como el "Día Internacional de la Prevención del Suicidio". Al respecto, la Universidad de San Pablo -T, ha autorizado la creación de un "Centro de Estudio de las Autoagresiones" (C.E.A.), que desarrollara sus actividades en las instalaciones del Campus universitario en San Pablo, Tucuman. Este centro incluirá en una primera etapa, acciones de investigación, docencia y extensión, con participación estudiantil, así como asesoramiento a profesionales y Conferencias en instituciones educativas.



Informes y/o entrevistas,  
"Instituto de Salud y Calidad de Vida"  
USP-T

Prof. Dr. Angel E. Sanchez  
Salud Mental 1  
USP-T



**APLICACIÓN DEL EXAMEN CLÍNICO OBJETIVO ESTRUCTURADO (ECO) EN LA  
EVALUACIÓN DEL CICLO BÁSICO DE LA CARRERA DE MEDICINA DE LA  
UNIVERSIDAD DE SAN PABLO –TUCUMÁN**

**OSCE APPLICATION IN EVALUATION OF BASIC CICLE OF MEDICINE CAREER IN SAN  
PABLO TUCUMAN UNIVERSITY**

**Valverde M.H<sup>1\*</sup>, Deza H<sup>1</sup>, D'Urso Villar M<sup>1</sup>, Almendro G<sup>1</sup>, Balderrama Chávez E<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Instituto de  
Salud y Calidad de Vida, USPT. E-mail: mvalverde@uspt.edu.ar**

**RESUMEN**

El plan de estudio de Medicina de la USP-T está basado en competencias. Al finalizar el Ciclo Biomédico (CB) se realiza una evaluación integradora utilizando un Examen Clínico Objetivo Estructurado (ECO).

*Objetivos:*

- Brindar a los docentes las herramientas y el soporte teórico necesario para diseñar y aplicar el ECO.
- Elaborar y aplicar un ECO a los alumnos al finalizar el Ciclo Biomédico.
- Analizar los resultados del ECO aplicado.

*Metodología:* estudio descriptivo de corte transversal. Se realizó un curso sobre ECO para docentes del CB y se elaboró un ECO, formado por 10 estaciones de 5 minutos. Se aprueba con 70% de estaciones correctas. Se recuperan las desaprobadas exigiendo el 100% para aprobar. Materias evaluadas: Anatomía, Bioquímica, Histología e Inglés Médico, Emergentología I. Aprendizaje Clínico Temprano I y II, Nutrición e Historia de la Medicina. Se aplicó el ECO a alumnos en los años 2016, 2017 y 2018. *Resultados:* Del total de docentes del CB (62), el 58% realizó el curso de capacitación. Rindieron 37 alumnos en 2016, aprobó el 92% (34) y el 8% (3) recuperó; 30 en 2017, el 100% (30) aprobó; 32 en 2018, el 97% (31) aprobó y el 3% (1) recuperó. *Conclusiones:* el ECO permite evaluar las competencias del CB. Fue muy positivo para alumnos y docentes. Capacitar a docentes, estudiar y analizar los resultados, detectar las debilidades del proceso enseñanza- aprendizaje, refuerza la tarea de enseñar competencias y colaborar con los alumnos en aquellas que registraron falencias.

**PALABRAS CLAVE:** evaluación, competencias, ECO

**ABSTRACT**

The Curriculum in the medical career at the University of San Pablo - Tucuman, is based on competence in skills. At the end of the Biomedical Cycle (BC) an integrative evaluation is performed using as an instrument an OSCE (Objective Structured Clinical Examination). *Objective:* Provide teachers with the tools and theoretical framework to design and carry out OSCE examination. Elaborate and carry out OSCE exam when students finish the Biomedical Cycle. Analyze OSCE results. *Methodology:* descriptive cross-sectional study. A training course in OSCE were taken by Biomedical Cycle's teachers. They elaborated an OSCE. The exam is structured in 10 stations of 5 minutes each. The exam is passed with 70% of the stations answered correctly. Failed stations were recovered and a 100% correct answers are required to pass. The subjects evaluated are: Anatomy, Biochemistry, Histology and Medical English, Emergentology I, Early Clinical Learning I and II, Nutrition and History of Medicine. The students who passed all the subjects of the BC in 2016, 2017 and 2018 participated. *Results:* From the total number of teacher's of the biomédicas cycle (62), 58% took a training course. 37 students were evaluated in 2016, 92 % (34) of the students passed the stations and 8% (3) had to sit for a make-up test; 30 in 2017, 100% passed; 32 students in 2018, 97% (31) passed and 3% (1) sat for a make-up test. *Conclusions:* the competences of the BC were evaluated by OSCE. Was a positive experience for teachers and students. Train teachers, study and analyze the results obtained, detect weaknesses in the teaching-learning process, reinforce the task of teaching skills and collaborate with students in those practices that recorded failures.

**KEYWORDS:** evaluation, competencies, OSCE

## INTRODUCCIÓN

La evaluación es un componente esencial del proceso de enseñanza y aprendizaje (National Board of Medical Examiners 3750 Market Street Philadelphia, PA 19104).

Evaluación educacional es el **proceso** de identificar, obtener y proporcionar información útil y descriptiva acerca del valor y el mérito de las metas, la planificación, la realización y el impacto de un objeto determinado con el fin de servir de guía para **la toma de decisiones**, solucionar los problemas de responsabilidad y promover la comprensión de los fenómenos. (Stufflebeam y Shinkfield, 1988.)

¿Que son las competencias? “Se entiende por competencia al uso que un sujeto hace de sus conocimientos, aptitudes, actitudes y buen juicio para resolver adecuada y oportunamente situaciones vinculadas a su profesión” (Brailovsky, 2012). Por lo tanto la competencia es algo complejo y la evaluación de ésta no puede realizarse con una única estrategia, sino que es necesario aplicar diversos métodos de evaluación que en forma parcializada permitan verificar la adquisición de diferentes competencias.

Una de las estrategias adecuadas y recomendadas para evaluar competencias, fundamentalmente en el área clínica, es el ECOE (examen clínico objetivo y estructurado), cuya sigla en inglés es OSCE.

La evaluación de las competencias adquiridas durante el cursado de la carrera de medicina siempre ha sido un desafío para los docentes y un padecimiento para los estudiantes

El tradicional **EXAMEN ORAL (EO)** continúa siendo, en algunos países, el “rito de promoción” más aplicado en la carrera de medicina. El EO aporta un medio de evaluación del conocimiento del estudiante y a veces también es una herramienta de evaluación en el contexto clínico. Al estudiante que está siendo examinado, después de evaluar a un Paciente real (generalmente sin ser controlado por un observador), se le hacen una serie de preguntas sobre el Paciente. Si durante el desempeño con el Paciente el estudiante no es observado, este tipo de evaluación no cumple con los criterios de “muestra cómo”, como actualmente lo hace el Examen Basado en Competencias. Además, diferentes alumnos examinados viendo a un mismo Paciente, implica una muestra limitada y de baja confiabilidad, que son las mayores limitaciones en este tipo de evaluación<sup>1</sup>. Debido a estas limitaciones, el EO ya no se aplica más en las evaluaciones para certificación por muchos comités de especialidades en EEUU y Canadá.

La evaluación de habilidades en escenarios en donde son educados (salas

hospitalarias, generalmente) es muy atractiva y ciertamente pareciera que posee una aparente mayor validez que el modelo de examen tradicional. Sin embargo, los problemas con la evaluación durante el entrenamiento tiene un sinnúmero de inconvenientes: falta de normativas (estandarización); limitada observación del desempeño, escasa muestra de habilidades evaluadas, son todos temas preocupantes. Mientras estas evaluaciones son importantes para la **evaluación formativa**, pueden no tener la adecuada confiabilidad y validez para ser útiles y son altamente riesgosas cuando son aplicados en la **evaluación sumativa**<sup>2</sup>.

La Evaluación en base al Desempeño no es un concepto nuevo. “Lo fundamental de las pruebas de evaluación basadas en el desempeño es que el candidato debe **mostrar cómo** y/o ser observado **haciendo** el comportamiento que debe ser evaluado” (Dauphinee, 1995)<sup>3</sup>

Miller<sup>4</sup> expresó que “Ninguna sola prueba de evaluación puede aportar todos los datos necesarios para juzgar algo tan complejo como los servicios asistenciales de un médico exitoso” y propuso un marco de referencia para la evaluación de las habilidades clínicas que progresan a lo largo de cuatro niveles:

- Saber
- Saber cómo
- Mostrar cómo
- Hacer

Este mismo marco de referencia puede ser aplicado para la evaluación de cualquier conjunto de habilidades.

El desempeño clínico debe ser medido aplicando una prueba basada en el desempeño. Para practicar competentemente la profesión médica, el clínico necesita poseer las competencias necesarias en un número variable de habilidades. La idea de implementar un examen basado en competencias para la evaluación de esta amplia gama de habilidades puede parecer una tarea imposible de realizar. En consecuencia, durante muchos años la evaluación de los estudiantes de Medicina se focalizó en evaluar el conocimiento usando exámenes escritos, que son más fácilmente administrados, cubren contenidos más amplios y han probados ser confiables.

La mejor manera de usar Pacientes para evaluar a los Estudiantes es usando **PACIENTES ESTANDARIZADOS** en escenarios clínicos simulados. Cualquier persona puede ser debidamente entrenada para asumir el papel de Paciente, aportando una Historia consistente, un buen estilo en la comunicación y hallazgos físicos.

Harden & Gleeson<sup>5</sup> – introdujeron la idea del ECOE. En este tipo de examen los estudiantes

van moviéndose cada 5' en "estaciones" en las que se les presenta un escenario clínico específico y tienen que demostrar habilidades clínicas específicas de la Historia Clínica (Interrogatorio y Examen Físico). Una característica clave del ECOE es que cada estudiante realiza la misma serie de tareas y son calificados usando un esquema estandarizado de puntuación. Este tipo de examen fue uno de los primeros en ser usado para evaluar competencias de profesionales médicos y es considerado el prototipo ideal para la evaluación del desempeño. Un ECOE, en general, comprende un circuito de estaciones de corta duración (5'-10'; algunos duran hasta 15'), en los que cada alumno es examinado individualmente con la presencia de uno o dos observadores imparciales con **Pacientes Reales o Simulados** (actores; simuladores electrónicos; alumnos de cursos superiores; docentes).

Como lo sugiere su nombre un ECOE (Examen Clínico Objetivo y Estructurado)<sup>5</sup>, es un *examen clínico* porque está diseñado para evaluar la aplicación de conocimientos clínicos teóricos en un Paciente real o simulado. Cuando se requieren demostrar conocimientos teóricos, las preguntas elaboradas en cada estación están estandarizadas y el examinado sólo debe responder a lo que está consignado en la hoja de calificación; si al examinado se le preguntan otros temas, no habrá calificaciones para tales respuestas.

Es *objetivo*: porque todos los examinados son evaluados usando exactamente la misma estación. En un ECOE los examinados tienen una calificación por cada paso de la estación que han ejecutado correctamente, con lo que hace que la evaluación de la habilidad clínica sea más objetiva, en lugar de ser subjetiva.

Es *estructurado*: porque para cada estación se ha seleccionado una tarea muy específica. Cuando se utilizan Pacientes Simulados un detallado guión es provisto para asegurar que la información que dan al examinado es la misma para todos los examinados, incluyendo emociones que el Paciente debería tener durante toda la consulta. Las instrucciones son cuidadosamente escritas para asegurar que cada candidato tiene que completar una tarea muy completa.

Cada Estación tiene un observador-examinador diferente durante todo el examen, en oposición al método de evaluación clínica tradicional, donde un docente será asignado para evaluar a todos los candidatos durante la prueba. Los estudiantes rotan a través de todas las estaciones, hasta completar todas las del circuito elaborado. De esta manera, todos los estudiantes tienen que pasar por todas las estaciones. Se considera que es una mejora sustantiva respecto a los métodos tradicionales de evaluación clínica, ya que las

estaciones, al ser estandarizadas, permiten una comparación entre pares más justa y que un procedimiento complejo pueda ser evaluado sin poner en riesgo la salud de los Pacientes.

El ECOE debe estar cuidadosamente estructurado, de tal manera que incluya partes de todos los elementos de la disciplina evaluada, así como también una amplia gama de habilidades a evaluar<sup>5</sup>.

Las pruebas basadas en la evaluación de competencias fueron requeridas para los exámenes de certificación en el Consejo Médico de Canadá; en el Consejo General de Médicos del Reino Unido; en la Comisión Educativa para Médicos Graduados en el Exterior de Estados Unidos<sup>6</sup>. Ahora el ECOE es utilizado en más de 50 países en todo el mundo; además se ha programado en Canadá un ECOE Nacional, que debe ser rendido por todos los graduados de las escuelas de medicina para obtener la licencia y así poder ejercer la profesión<sup>7</sup>.

A través del tiempo el ECOE ha sido adaptado para la evaluación de múltiples habilidades: confección de una Historia Clínica; interpretación de exámenes imagenológicos; resultados de ECG y de exámenes de laboratorio relacionados con el Paciente entrevistado; habilidades en la comunicación; habilidades técnicas y habilidades docentes. La utilización de modelos genitales, rectales y mamarios, simuladores de ruidos cardiorrespiratorios con mayor complejidad, han permitido ampliar la gama de habilidades que pueden ser evaluadas. Las habilidades quirúrgicas, como la escisión de un quiste sebáceo o escisión y drenaje de un absceso; la realización de una sutura en una herida simple<sup>8</sup>; han sido incluidas dentro de las evaluaciones en el desempeño de competencias quirúrgicas básicas<sup>9</sup>.

Dependiendo de la complejidad de la habilidad a ser evaluada la duración de las estaciones puede variar de 5-30 minutos. Por lo tanto, el formato y el contenido de las estaciones múltiples de la Evaluación Basada en el Desempeño pueden variar para satisfacer las necesidades de los diversos grupos a examinar<sup>10</sup>.

Hay escasas controversias respecto a que el estilo del examen aplicando el ECOE aporta una mayor validez a la evaluación de las habilidades clínicas que un examen escrito u oral. Con el debido entrenamiento de todos los participantes en la conducción y presentación de este tipo de examen, la confiabilidad del ECOE en términos de la interpretación del Paciente estandarizado, la concordancia entre los evaluadores, confiabilidad del examen y la estandarización de múltiples sitios de prueba, ha demostrado ser aceptable.

La Confiabilidad puede ser sustancialmente mejorada con mayores números de estaciones y

alumnos examinados. Algunos autores han sugerido que se necesitan alrededor de 20 estaciones para obtener el mínimo de Confiabilidad. Sin embargo, en un examen de alto nivel y con un gran número de candidatos, el N° de Estaciones se redujo de 20 a 12 sin que hubiera una reducción significativa en la Prueba de Confiabilidad (Test Reliability. Blackmore D, 2004).

La Factibilidad de la Evaluación del Desempeño Basada en pruebas tipo ECOE<sup>10</sup> debe ser tenida en cuenta. Un ECOE de 25 estaciones de más de 8 hs podría aportar excelente confiabilidad y validez, pero no es una prueba realista. En Dundee la norma es un ECOE con 25-35 estaciones, de 4'-5'. De esta manera el examen implica una prueba de 100-120' de duración por examinado. Algunos exámenes de mayor complejidad pueden tener ligeramente una mayor duración<sup>10</sup>.

Con la aprobación de Resolución N° 1314/2007 del Ministerio de Educación, Ciencia y Tecnologías de la Nación<sup>11</sup>, se aprueban los contenidos curriculares básicos, la carga horaria mínima, los criterios de intensidad de la formación práctica y los estándares para la acreditación de las carreras de Medicina, así como la nómina de actividades profesionales reservadas para quienes hayan obtenido el título de Médico. Con estas nuevas disposiciones las carreras de medicina debieron reformular sus planes de estudio para hacer una propuesta académica, para la formación de médicos, basados en competencias, concepción ésta que primó en la elaboración del currículum de Medicina de la USP-T.

El plan de estudio de la carrera de Medicina de la USP- T es una propuesta académica para la formación de médicos, basada en competencias.

Como las competencias mínimas exigidas son de complejidad creciente a medida que el estudiante avanza en su carrera decidimos que era factible elaborar un ECOE para el Ciclo Básico, examen integrador, cuya aprobación es una de las exigencias para ser promovidos al Ciclo Clínico.

En educación médica y en particular en las carreras de medicina es necesario que los docentes conozcan y sepan aplicar diversas estrategias de evaluación que permitan verificar la adquisición de las competencias necesarias para un adecuado ejercicio de la profesión. La evaluación del proceso de enseñanza y de aprendizaje debe ser concordante con los objetivos educacionales propuestos.

La capacitación docente en materia de estrategias de evaluación es muy importante y dada las características de este método de evaluación, ECOE, es necesario que el equipo docente encargado de diseñarlo y aplicarlo

conozca acabadamente las particularidades del mismo.

#### *Objetivos*

- Crear un espacio para la capacitación docente en materia de evaluación, con el propósito de brindar a los docentes de la carrera de Medicina de la USP-T las herramientas y el soporte teórico necesario para elaborar el ECOE.
- Evaluar la aplicación de un ECOE en los alumnos del Ciclo Biomédico al finalizar el mismo.
- Analizar los resultados del ECOE aplicado.

#### **METODOLOGÍA**

El proyecto se desarrolló en la Carrera de Medicina del Instituto de Salud y Calidad de Vida de la Universidad de San Pablo –Tucumán. Participaron los docentes del Ciclo Biomédico (CB) que corresponde a los dos primeros años de la carrera; y los alumnos de 2° año que tenían aprobadas todas las materias del CB, de las cohortes 2014, 2015 y 2016.

La capacitación de los docentes se realizó en talleres de entrenamiento para conocer y utilizar los instrumentos de evaluación de competencias y en talleres específicos para poder elaborar y aplicar un ECOE (preparación de las estaciones, calificación y devolución). Se realizaron cuatro encuentros de 6 hs cada uno, con desarrollo del marco teórico y luego reunión en grupos pequeños para trabajar en las competencias a evaluar y preparar estaciones.

Como este examen es integrador, se explicó a los alumnos que en las estaciones del ECOE se evalúan las competencias o el nivel de dichas competencias alcanzado al cursar las materias del CB y que son las bases sobre las que se construyen las competencias que establece la Resolución N° 1314, que se adquirirán en los Ciclos Clínico y Profesional

Con anterioridad a la aplicación del ECOE, se efectuaron reuniones con los alumnos de 2° año para que conozcan este instrumento de evaluación, su estructura y requisitos de aprobación y de recuperación. Se efectuaron ensayos o simulacros del mismo con estaciones preparadas para tal fin.

El ECOE se aprueba con el 70% de las estaciones realizadas correctamente. Se recuperan las estaciones desaprobadas y se exige el 100% correcto para aprobar. .

En los meses de abril de los años 2016, 2017 y 2018 se aplicaron los ECOE a los alumnos que tenían las condiciones académicas para poder rendirlos, correspondientes a las cohortes 2014, 2015 y 2016 respectivamente

Luego de la aplicación del ECOE, se analizaron los resultados; el número de estaciones realizadas

correctamente por los alumnos y las que no se aprobaron, las calificaciones obtenidas. Se procedió a hacer la devolución correspondiente a los docentes y a los alumnos evaluados.

**RESULTADOS**

*De la capacitación docente:*

El Ciclo Biomédico de la carrera de Medicina de la USP-T corresponde a los dos primeros años de la misma con un total de 19 materias. En primer año se cursan 8 correspondiendo a: Anatomía, Bioquímica, Citología-Embriología- Histología e

Inmunología Básica, Aprendizaje Clínico Temprano I (ACT I), Emergentología I, Antropología Médica, Inglés Médico I y Liderazgo y Medicina I. Las 11 asignaturas restantes son de segundo año y corresponden a: Salud Pública, Fisiología, Aprendizaje Clínico Temprano II (ACT II), Inglés Médico II, Liderazgo y Medicina II, Nutrición, Biología Molecular, Metodología de la Investigación, Bioestadística, Informática Médica I e Historia de la Medicina. El número total de docentes de este ciclo es 62, distribuidos 30 en primer año y 32 en segundo año (gráfico N° 1).

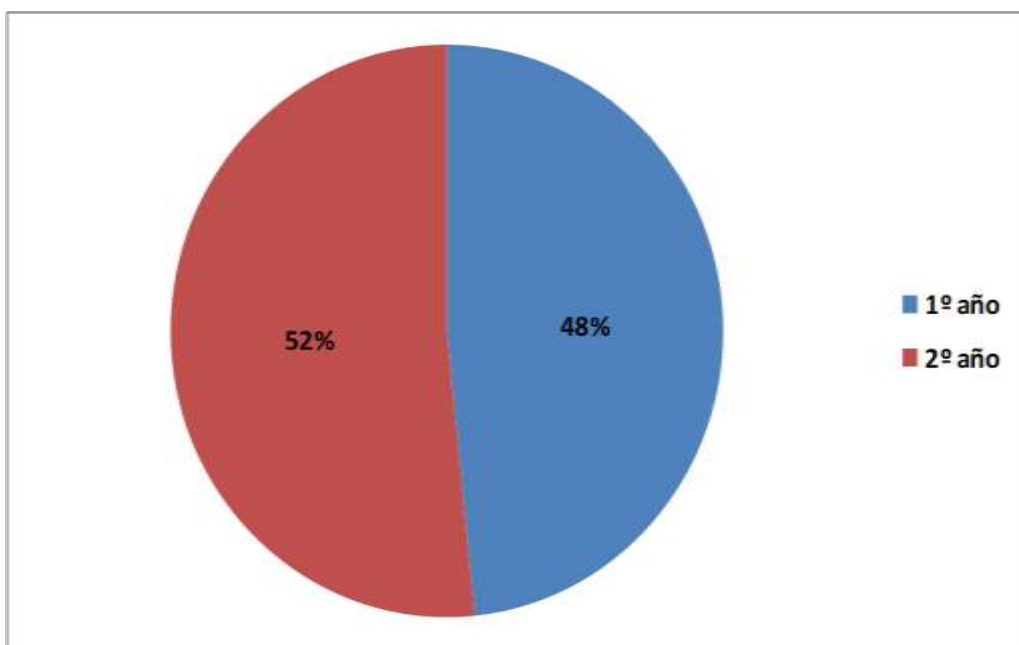


Gráfico N° 1: Distribución de docentes del Ciclo Biomédico (n=62)

La capacitación docente consistió en 4 encuentros con 6 horas de duración cada uno. El 58% (36) del total de docentes realizaron la

capacitación en elaboración y aplicación de ECOE. 17 correspondían a primer año y 19 al segundo año (gráfico N° 2)

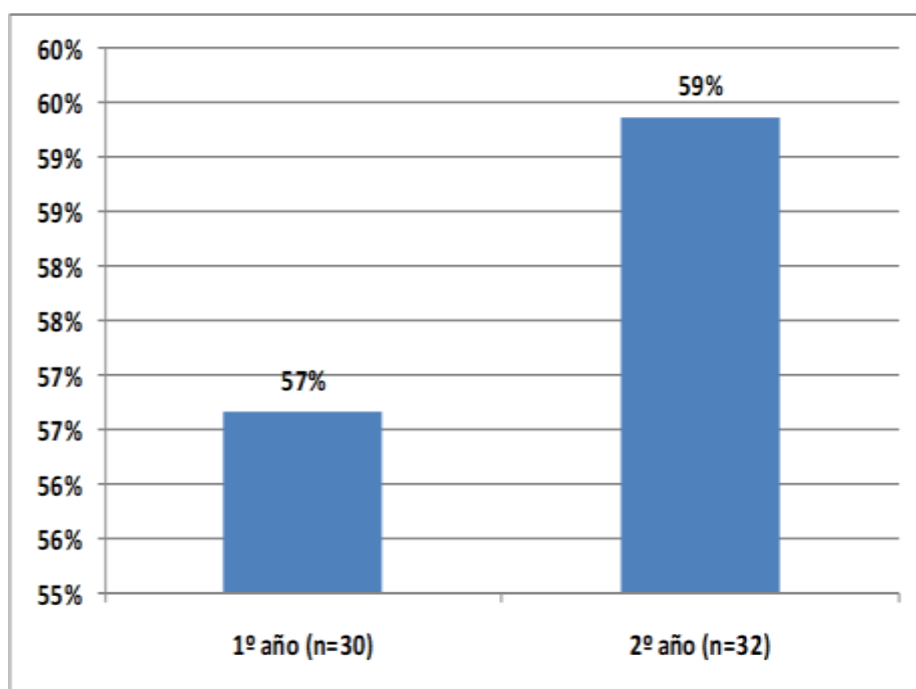


Gráfico N°2: Distribución de docentes del CB que realizaron la capacitación de ECOE según año de la carrera

Los docentes pertenecían a todas las materias del Ciclo Biomédico.

Al finalizar la capacitación, los docentes presentaron tres estaciones de cada materia. Cada estación incluía: a) una hoja donde se indica la competencia a evaluar y el estándar mínimo requerido para aprobar; b) una hoja con la consigna para el alumno; c) una hoja con instrucciones para los examinadores y las pautas de evaluación (tipo lista de chequeo) y en caso de necesitar un paciente simulado, las instrucciones para el paciente. Las estaciones fueron revisadas, corregidas y comprobadas. Se seleccionaron estaciones de Anatomía, Bioquímica, Fisiología, Histología con Inglés Médico, ACT I, ACT II, Emergentología I, Historia de la Medicina, Nutrición y Liderazgo y Medicina. Con las estaciones ya comprobadas se organizaron 7 (siete) ECOE con un circuito de 10 estaciones de 5 minutos cada una. Dos de los ECOE se utilizaron para los ensayos o simulacros con los alumnos. Tres fueron los exámenes aplicados y dos quedaron para las recuperaciones.

#### *De la aplicación del ECOE:*

Se consideraron las cohortes 2014, 2015 y 2016. El total de alumnos de estas cohortes es 101. Los alumnos para acceder a rendir el ECOE deben tener aprobadas todas las materias del Ciclo Biomédico. El número total de alumnos en condiciones académicas para rendir el ECOE fue de 99 alumnos. 37 alumnos rindieron en el año 2016 (cohorte 2014), 30 rindieron en 2017

(cohorte 2015) y 32 alumnos rindieron en 2018 (cohorte 2016).

Para aprobar el ECOE se debe realizar correctamente el 70% de las estaciones, en este caso debe cumplir con los requisitos mínimos establecidos para aprobar en 7 de las 10 estaciones del circuito. Para los alumnos que no cumplen con el 70% exigido, se realiza una recuperación de las estaciones no aprobadas y en este caso deben aprobar todas las que se recuperan.

En el año 2016 aprobaron 34 alumnos (92%) y 3 (8%) recuperaron al menos una estación.

De los 34 alumnos que aprobaron el examen, 7 (19%) aprobaron las 10 estaciones; 13 (35%) aprobaron 9 estaciones; 11 (30%) aprobaron 8 estaciones y 3 (8%) aprobaron 7 estaciones (gráfico N°3).

En el año 2017 aprobaron los 30 alumnos (100%); de ellos 9 (30%) aprobaron las 10 estaciones; 15 (50%) aprobaron 9 estaciones; 3 (10%) aprobaron 8 estaciones y 3 (10%) aprobaron 7 estaciones (gráfico N°4).

En el año 2018 aprobaron 31 alumnos (97%) y 1 (3%) recuperó. De los 31 alumnos que aprobaron, 5 (16%) aprobaron las 10 estaciones, 8 (25%) aprobaron 9 estaciones, 11 (34%) aprobaron 8 estaciones y 7 (22%) aprobaron 7 estaciones (gráficos N°5 y N°6).

Las estaciones más desaprobadas en estos tres años fueron: Fisiología, Bioquímica y Aprendizaje Clínico Temprano. Las competencias involucradas fueron: control de

presión arterial, control de pulso y frecuencia respiratoria, reflejos, oximetría de pulso, proteinograma, entrevistas con pacientes simulados.

Ante estos resultados se decidió revisar, con los docentes respectivos, las estrategias de enseñanza de estas competencias y los instrumentos de evaluación utilizados para garantizar la adquisición de las mismas por todo el alumnado.

### DISCUSIÓN

Si bien no hemos encontrado en la bibliografía información sobre una experiencia de ECOE integrador en los primeros años de las carreras de Medicina, nuestra experiencia muestra que es posible hacerlo y que es muy positivo tanto para los alumnos como para los docentes. La retroalimentación a partir de los resultados obtenidos permite tomar decisiones respecto a las estrategias de enseñanza y a los métodos de evaluación.

Encontramos información sobre ECOE aplicados en materias morfológicas individualmente, como es el trabajo de Companioni Landín<sup>13</sup> y colaboradores, del Instituto de Ciencias Médicas de la Habana, Facultad de Estomatología, publicado en 1999, aunque su objetivo es comprobar el alcance de los objetivos de las materias Anatomía, Histología y Embriología, no un examen integrador como el que nosotros presentamos en este trabajo.

### CONCLUSIONES

Comprobamos que el ECOE permite evaluar las competencias del Ciclo Biomédico de la carrera.

El análisis de los resultados posibilitó reflexionar sobre si las estrategias metodológicas utilizadas para enseñar las competencias fueron las adecuadas o no, lo mismo sobre el modo de corroborar si los alumnos adquirieron las competencias enseñadas en cada una de las materias del Ciclo Biomédico. Esto permitirá realizar los cambios necesarios para enseñarlas y evaluarlas.

Fue muy positivo para los alumnos, ya que comprobaron las competencias que adquirieron y reflexionaron sobre las que les falta adquirir.

Observamos que capacitar a los docentes, estudiar y analizar los resultados, reflexionar sobre la práctica docente, detectar las debilidades del proceso de enseñanza y de aprendizaje y poder corregirlas, fortalecen la tarea docente, lo que optimizará la calidad de la enseñanza en la carrera de Medicina de la USP-T.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Petrusa, E R. Clinical performance assessment. In: Norman G R, van der Vleuten C P M, Newble D I. (eds). International Handbook of Research in Medical Education. Kluwer , Dordrecht , p 673-679.
2. Pantoja Monsalves, M.A; Cabezas González, M.; Illesca Pretty,M y col. Manual de Evaluación para Carreras de la Salud. 2002. Ediciones Universidad de la Frontera. ISBN 956-236-145-4
3. Dauphinee, W D. Assessing clinical performance: where do we stand and what we spect. Journal of American Medical Association. 1995. 274(9): 741-743
4. Miller, G E. The assessment of clinical skills/competence/performance. Academic Medicine. 1990. 65(7): S63-S67
5. Harden, R M y Gleesson, F A. Assessment of Clinical competence using an objective structured clinical examination(OSCE). 1979. Medical Education. 13:41-54
6. Dent, J A. y Harden, R M (eds). A practical guide for medical teachers. 2005.Cap.35. pp. 323-335.Scđ Edition.
7. Adamo, G. Simulated and standardized patients in OSCEs; achievement and challenges 1992-2003. 2003.25(3):262-270
8. Hart, I. Object clinical examination. In: Dent, J, Garden, R M(eds). A practical guide for medical teacher. 1st edn. Churchill Livingstone, Edinburgh, pp 357-368.
9. Friedlich, M Wood, T Regher, G et all. Structured assessment of minor surgical skills (SAMSS) for clinic of clerks. Academic Medicine. 2002. 77(10): S39-S41.
10. Harden RM, Lilley P, Madalena P. The definitive Guide to the OSCE. 2016. Elsevier Ltd. SBN 978-0-7020-5550-8
11. Shumway, J M y Harden, R M. The assessment of learning outcomes for the competent and reflective physician. Medical Teacher. 2003. 25(6):569-584.
12. <http://www.iunir.edu.ar/info/documentos/Resoluci%C3%B3n%201314-07.pdf>
13. Companioni Landín F. A., Bachá Rigal Y., Santos Rodríguez P. E. y Cabrera Duranza M. Examen práctico estructurado por objetivos aplicado en Ciencias Morfológicas. Educ. Med. Super 1999 v.13 N°1 Ciudad de la Habana enero - junio.

IDITEC

REVISTA ACADÉMICA  
DRA

/ EDITORIAL

*Ediciones USP-T*

/ CONTACTO

TEL.: (0381) 453 0630

SEDE CENTRO: 24 de Septiembre 476 (S.M.T.)

SEDE CAMPUS: Av. Solano Vera y Cno. Va. Nougues, San Pablo, Pcia. de Tucumán

E-MAIL: [informes@uspt.edu.ar](mailto:informes@uspt.edu.ar)



**USP-T**

UNIVERSIDAD DE SAN PABLO - TUCUMÁN

w w w . u s p t . e d u . a r