

INTERDISCIPLINA - #9

REVISTA

DE LAS JORNADAS DE
JÓVENES INVESTIGADORES

LA EDUCACIÓN Y LA CIENCIA
TRANSFORMAN REALIDADES



Asociación de Universidades
GRUPO MONTEVIDEO



UNIVERSIDAD
NACIONAL ✦
DE TUCUMÁN

Revista de las Jornadas de Jóvenes Investigadores
Eje Interdisciplinario, Volúmen 9.

© 2025, Asociación de Universidades del Grupo Montevideo.

ISSN 3121-2220

Tucumán, Argentina. Noviembre de 2025.



**Asociación de Universidades
GRUPO MONTEVIDEO**



**UNIVERSIDAD
NACIONAL ♦
DE TUCUMÁN**

Contenido

Relación entre el autoconcepto y la doble excepcionalidad en estudiantes escolares: Una revisión sistemática de la literatura.....	5
<i>Daniela Madrid</i>	
Nanopartículas y Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal: una estrategia para mejorar los	22
<i>Rafael Parra</i>	
Desarrollo de un sistema de etiquetado por proximidad para identificar proteínas asociadas a R-loops en el procesamiento co-transcripcional de pri-miARNs en Arabidopsis.....	39
<i>Josefina Fernández</i>	
Primera infancia y derecho al cuidado: propuesta de estándares de calidad para Centros de Cuidado en Mendoza.....	51
<i>Julieta Giordano</i>	
Aplicación a campo de biocontroladores y extractos naturales para el control de Sclerotium cepivorum.....	69
<i>Guillermina Casagrande</i>	
Evaluación de propiedades fotofísicas y fotodinámicas de puntos cuánticos de carbono para desarrollo de tratamiento contra cáncer de piel.....	88
<i>Martín Lemos</i>	
Inocuidad del extracto acuoso de <i>Hibiscus sabdariffa</i> en células humanas tratadas en <i>in</i> <i>vitro</i>	96
<i>Desiree Lezcano</i>	
Análisis del secretoma proteico de un aislado de <i>Macrophomina phaseolina</i> en respuesta a tejido de hospedero.....	102
<i>Belén Lafuente</i>	
Rutas de conexión, accesibilidad y orientación espacial en campus universitarios: análisis del NETI/UNAPI en la UFSC.....	124
<i>Ana Lúcia Córdova</i>	

Multiplicidade Lógica na Indústria da Moda: uma análise sobre os movimentos fast e slow fashion.....	139
<i>Marissa Lima</i>	
Organização em série do comportamento: performance de ratos na tarefa de inversão a meio de sesión usando labirinto em T.....	159
<i>Gabriel Gobbo</i>	
Nanomateriais à base de sais básicos lamelares para carreamento de curcumina.....	168
<i>Verônica Biselli</i>	
Educación Inclusiva como perspectiva formativa de la identidad local: experiencias de heroísmo comunitario en Valparaíso.....	189
<i>Noemí Arancibia</i>	

5.- Inclusión

Relación entre el autoconcepto y la doble excepcionalidad en estudiantes escolares:

Una revisión sistemática de la literatura

Autora: Madrid Romero, Daniela; daniela.madrid.r@usach.cl

Co-autora: Gómez Arízaga, Maria Paz

Orientadora: Gómez Arízaga, Maria Paz; maria.gomez.ar@usach.cl

Universidad de Santiago de Chile (USACH)

Resumen

Este estudio tiene como objetivo aportar a la comprensión de la relación entre la condición de doble excepcionalidad (2e) y el autoconcepto en estudiantes escolares. Se realizó una revisión sistemática de la literatura con base en el método PRISMA a través del análisis de artículos empíricos obtenidos a partir de diversas bases de datos electrónicas. Los hallazgos indican que los estudiantes escolares 2e construyen su autoconcepto general en relación con vivencias que se encuentran estrechamente relacionadas con su condición. A pesar de ser capaces de identificar tanto sus fortalezas como sus debilidades sociales y académicas, existe la tendencia a desarrollar un autoconcepto general negativo, esto como resultado de experiencias desfavorables relacionadas a la incomprensión de su 2e en el contexto educativo y la ausencia de medidas óptimas para su adaptación social y académica. Se destaca la necesidad de realizar nuevas investigaciones empíricas que indaguen a fondo en la situación del autoconcepto en estudiantes 2e, especialmente en el contexto Latinoamericano. Es imprescindible que los profesionales de la psicología se instruyan en la materia a fin de otorgar acompañamiento psicológico a los estudiantes escolares 2e, con el objetivo de incidir en la mejora de su autoconcepto y, por consiguiente, en la mejora de su bienestar personal.

Palabras clave: doble excepcionalidad, autoconcepto, autoestima

Introducción

El autoconcepto es descrito por Esnaola et al. (2008) como el producto de un conjunto multidimensional de percepciones parciales que el sujeto tiene de sí mismo. En ese sentido, un autoconcepto general puede ser comprendido como el resultado de, por una parte, un autoconcepto académico, y por otra, de un autoconcepto físico, personal y social. Las personas configuran su autoconcepto en torno a sus vivencias e interpretaciones (Van Zanden et al., 2015) y este influye de manera importante en la satisfacción personal y el desarrollo de la personalidad, es por eso que desde la educación primaria y secundaria se tiende a establecer como uno de los objetivos principales el generar una imagen positiva de sí mismo en los alumnos (Esnaola et al., 2008).

Por otra parte, la alta capacidad (en adelante AC) ha sido definida y teorizada a través de distintos enfoques y modelos explicativos. Una de las definiciones es la que aporta el informe Marland (1972), que define a los individuos con AC como quienes poseen un rendimiento demostrado y/o capacidad potencial en cualquiera de las siguientes áreas: (a) capacidad intelectual general, (b) aptitud académica específica, (c) pensamiento creativo o productivo, (d) artes visuales y representacionales, (e) habilidad psicomotora y (f) habilidad de liderazgo (citado en Conejeros et al., 2012).

Dentro de la esfera de la AC, es posible encontrar la condición de doble excepcionalidad (en adelante 2e), en donde coexiste la AC con algún tipo de necesidad de apoyo. En este caso, la situación en torno al autoconcepto mantiene una complejidad distinta que ha sido menos estudiada, puesto que la 2e significa tanto la manifestación de AC, como la de algún diagnóstico o discapacidad que represente una barrera para el desarrollo del potencial (Sánchez, 2022).

Esta combinación de habilidades avanzadas y dificultades en el aprendizaje implica que los estudiantes 2e no pueden ser comprendidos por alguna de estas categorías de manera separada, ya que se manifiesta en el individuo una mezcla única y particular de aspectos propios de cada condición. Sin embargo, es común en estos estudiantes que una de sus excepciones enmascare a la otra y, como consecuencia de lo anterior, los estudiantes 2e suelen no ser identificados como tales y tienden a perderse en el sistema (Yssel et al., 2020). Esta situación puede influir significativamente en el autoconcepto de estos estudiantes, dado que, como se mencionó anteriormente, es con base en sus vivencias e interpretaciones que las personas construyen su autoconcepto y, tanto las percepciones contradictorias del resto en cuanto a sus capacidades, como la falta de

atención escolar a sus necesidades de aprendizaje podrían representar dificultades que influyan negativamente en su autoconcepto académico (Gómez-Arízaga et al., 2016).

Es debido a lo anteriormente descrito, que se hace necesario estudiar el autoconcepto de estudiantes 2e en sus diferentes dimensiones, en vista de las particularidades que estos experimentan dada su condición y el efecto que esto produciría en su autoconcepto.

Se busca entonces responder a la siguiente pregunta de investigación: ¿De qué manera influye la condición de doble excepcionalidad en el autoconcepto de estudiantes escolares 2e?

En razón de lo expuesto, este estudio tiene como objetivo aportar a la comprensión de la relación entre la condición de 2e y la formación del autoconcepto en estudiantes escolares 2e.

Alta capacidad. La AC da cuenta de la posesión y uso de habilidades innatas excepcionales, que se expresan de forma espontánea. Estas habilidades también se conocen como aptitudes y se manifiestan en al menos un área específica, situando al individuo con AC entre el 10% superior de sus compañeros. Por otra parte, la literatura ofrece una distinción del concepto de AC con el término "talento", este último referiría al dominio excepcional de competencias desarrolladas de manera sistemática, incluyendo conocimientos y

habilidades, en al menos un campo de actividad. Asimismo, este nivel de dominio colocaría al individuo entre el 10% superior de sus compañeros (Gagné, 2015, 2018).

En la actualidad, se ha adoptado una visión de la AC como un constructo multidimensional, que considera diferentes componentes y habilidades (Sastre-Riba, 2020). Sin embargo, también se ha comenzado a comprender la importancia del entorno, el contexto y otras variables no puramente intelectuales que pueden influir en el desarrollo de la AC. Estas variables son maleables y se relacionan con aspectos psicosociales (Quiles Robles y Lozano Blasco, 2020; Tourón, 2020).

Doble excepcionalidad. Según Reis y colaboradores (2014), la 2e se expresa en aquellos estudiantes que muestran un potencial de rendimiento alto o creatividad en uno o varios campos, como matemáticas, ciencias, tecnología, artes sociales, artes visuales, espaciales, escénicas u otras áreas, a su vez que presentan una o más discapacidades. Estas discapacidades pueden incluir trastornos emocionales o de conducta, discapacidades físicas, trastornos de aprendizaje específicos, trastornos del habla y lenguaje o trastornos del neurodesarrollo, como el trastorno del espectro autista (TEA) y el trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH). Estas discapacidades y habilidades excepcionales se combinan, lo que resulta

en una población de estudiantes que pueden tener dificultades para demostrar un rendimiento académico elevado o manifestar problemas específicos asociados a la discapacidad, lo cual puede dificultar la identificación o atención de la AC. Asimismo, sus habilidades superiores pueden ocultar sus discapacidades. Por lo tanto, la identificación de estudiantes doblemente excepcionales requiere una evaluación integral en los ámbitos de AC y discapacidades, ya que una no excluye la otra (Reis et al., 2014).

En cuanto a la prevalencia de la condición, es posible afirmar que en una investigación realizada por Barnard-Brak y colaboradores en 2015, se encontró que aproximadamente el 9,1% de las personas que poseen alguna forma de diversidad funcional también pueden ser identificadas como estudiantes con Alta Capacidad (Conejeros-Solar et al., 2018).

Autoconcepto. Como se expuso con anterioridad, el autoconcepto es el resultado de un conjunto multidimensional de percepciones parciales que el sujeto tiene de sí mismo (Esnaola et al., 2008). Según Loayza (2019), es posible identificar cuatro autoconcepto: dimensiones del autoconcepto:

Autoconcepto académico. En el ámbito educativo, el autoconcepto abarca la concepción que el estudiante tiene sobre sus habilidades o capacidades de aprendizaje y se considera como una

actitud que influye en el rendimiento académico.

Autoconcepto emocional. Esta área del autoconcepto está relacionada con la experiencia interna de las personas, y afecta tanto las circunstancias cotidianas de la vida como las cuestiones académicas.

Forma parte de los autoconceptos no académicos y se describe como la percepción personal y el juicio de las cualidades emocionales de una persona, ya sean negativas o positivas, desagradables o agradables, que tiene sobre sí misma.

Autoconcepto social y familiar. Esta dimensión del autoconcepto se refiere a la relación que la persona mantiene con los demás. Se trata de la percepción personal de las habilidades sociales en diferentes ámbitos y contextos, a partir de la cual se interpreta las acciones y respuestas de otras personas.

Autoconcepto físico. El autoconcepto físico se puede entender como la representación mental de diversos aspectos físicos de una persona, que se consolida y cambia a lo largo del tiempo debido a los cambios anatómicos propios de cada etapa de desarrollo, incluyendo aspectos como el sexo y todo lo relacionado con ello.

Objetivos

El objetivo general de este escrito es aportar a la comprensión de la relación

entre la condición de 2e y la formación del autoconcepto en estudiantes escolares 2e. Para ello, se plantean como objetivos específicos: identificar las investigaciones empíricas existentes que aborden la relación entre la condición 2e y el autoconcepto en población escolar; determinar las características comunes y recurrentes en el autoconcepto de los estudiantes 2e; examinar los factores contextuales reportados en la literatura que inciden en la construcción del autoconcepto en estudiantes 2e.

Materiales y Métodos

Se realizó una revisión sistemática de la literatura basada en el Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA, por sus siglas en inglés) (Page et al., 2021), un enfoque riguroso y metódico que tiene como objetivo recopilar, evaluar y sintetizar la evidencia científica disponible sobre un tema de investigación específico, lo que permite indagar a profundidad en diferentes estudios empíricos que entreguen información oportuna para comprender la relación existente entre la condición de 2e y la construcción del autoconcepto en estudiantes 2e.

Para la búsqueda de artículos empíricos relacionados al autoconcepto en estudiantes 2e, se utilizaron las siguientes bases de datos: Scopus, Web of Science (WoS) y Scientific Electronic Library Online (SciELO).

Para ello, se utilizó la siguiente fórmula booleana: ((twice exceptional) AND (self concept)); OR ((doble excepcionalidad) AND (autoestima)) OR ((twice exceptional) AND (self esteem)). La búsqueda se realizó el 30 de junio de 2023, obteniéndose un total de 36 artículos.

Todos los artículos fueron evaluados con base en criterios de elegibilidad. Los criterios de inclusión para la selección de los trabajos fueron: (a) que se tratara de investigaciones empíricas, cualitativas, cuantitativas o mixtas; (b) que analizaran categorías vinculadas al autoconcepto de estudiantes 2e (autoimagen, autoestima, sentido del sí mismo, autoconocimiento, autopercepción); (c) que analizaran estudiantes 2e que se encuentran cursando la educación primaria o secundaria; (d) que se tratara de investigaciones realizadas en los últimos 10 años.

Por otra parte, los criterios de exclusión para la selección de los trabajos fueron: (a) que se tratase de libros; (b) que se aborde el autoconcepto únicamente en estudiantes con AC; (c) que se aborde el autoconcepto únicamente en estudiantes con discapacidad (d) que no establecieran un análisis cualitativo, cuantitativo o mixto de los datos.

La búsqueda de la información en las fuentes bibliográficas fue realizada el 30 de Junio del 2023 y se encontró un total de 36 artículos mediante la utilización de las

bases de datos mencionadas. El proceso de adquisición de artículos a través de bases de datos se llevó a cabo de la siguiente manera: para la búsqueda de trabajos que investiguen la relación entre doble excepcionalidad y autoconcepto, en Scopus, se evidenciaron nueve artículos, en Web of Science cinco y en Scielo, nueve. De esta manera, se encontraron un total de 22 documentos.

Respecto a la búsqueda de artículos que investiguen la relación entre autoestima y doble excepcionalidad, en

Scopus se encontraron nueve estudios, en Web of Science tres y en Scielo dos.

En suma, se encontró un total de 36 documentos. A continuación, del total se excluyeron 16 estudios duplicados, quedando 20 estudios. Posteriormente, se eliminaron nueve estudios con base en criterios de exclusión e inclusión: cinco por tratarse de un libro, cinco por tratarse de revisiones sistemáticas de la literatura. Finalmente, la muestra quedó compuesta por las 10 investigaciones señaladas en la Tabla 1.

Tabla 1. Resumen investigaciones empíricas sobre autoconcepto en estudiantes 2e.

Referencia	Participantes	Método	Resultados
Wang, C. y Neihart, M., (2015)	6 estudiantes 2e	Cualitativo	Los resultados indican que los estudiantes 2e podrían poseer un autoconcepto académico alto relacionado con su éxito académico.
Towned, G. y Brown, R. (2016)	1 estudiante 2e	Estudio de caso	Los hallazgos demuestran que la construcción del autoconcepto académico de los estudiantes 2e está influenciado por fuerzas socioculturales de su entorno, especialmente la relación con los profesores y con sus pares.
Ramsay, P., (2016)	3 docentes de clases para alumnos con AC y 2e	Cualitativo	Los hallazgos indican que los estudiantes 2e quieren ser percibidos como iguales por sus compañeros de clase, por lo que renunciarán a las estrategias y tecnología de asistencia para minimizar sus diferencias.
Landau, A. D., (2023)	10 estudiantes 2e	Mixto	Los resultados indican que los estudiantes 2e expresan un autoconcepto más allá de los parámetros de la definición operativa actual, al manifestar valoraciones propias principalmente negativas en sus narrativas autodescriptivas.

Lummiss, M., (2017)	8 estudiantes 2e	Estudio de caso	Se encontró que los estudiantes 2e a menudo percibían los componentes de las AC y de las dificultades de aprendizaje como entidades separadas., construyendo su autoconcepto en torno a características positivas relacionadas a la AC y características negativas relacionadas a las dificultades de aprendizaje.
Gomez Arizaga, M. P., et al. (2016)	4 estudiantes 2e	Cualitativo	Los hallazgos demuestran que los estudiantes presentaban una noción de la discrepancia de su condición, aún a pesar de desconocerla. Los estudiantes son conscientes de sus dificultades y de sus habilidades, tanto en el ámbito académico como social.
Ronksley, M. (2019)	8 estudiantes 2e	Cualitativo	Se encontró que los estudiantes 2e reflejan sentimientos de ser diferentes a sus compañeros y problemas con las relaciones interpersonales.
Townend, G. (2015)	3 estudiantes 2e	Mixto	Los hallazgos indican que existe una relación entre el autoconcepto de los estudiantes 2e y aspectos psicosociales relacionados principalmente con el contexto escolar, las prácticas de los docentes y la relación con sus pares.
Best, L.J, (2017)	372 estudiantes 2e, 372 estudiantes AC, 372 estudiantes con discapacidad, 372 no identificados bajo alguna categoría	Mixto	Los hallazgos indican que los estudiantes AC reportaron niveles más altos de autoestima que los estudiantes 2e, los no identificados y los con discapacidad. Los estudiantes AC presentaban un locus de control más internalizado, mientras que los estudiantes 2e, los no identificados y aquellos con discapacidad presentaban un locus de control más externalizado.
Alsamani, O., et., al., (2023)	14 docentes de escuela primaria	Cualitativo	Los hallazgos indicaron que los docentes relacionan las habilidades de los estudiantes 2e con la AC, mientras que relacionan ciertos desafíos académicos que atraviesan con sus discapacidades. Asimismo, identifican que tales estudiantes luchan con una baja autoestima.

Resultados y Discusión

A partir de la identificación y diferenciación de las temáticas principales que los artículos empíricos abordaban, se realizó una división de los resultados obtenidos en dos categorías: (a) características comunes del autoconcepto en estudiantes 2e y (b) impacto del entorno educativo en el autoconcepto de los estudiantes 2e. Cada categoría está dividida en dos subcategorías como recurso para la organización de los resultados expuestos en ellas.

Características comunes del autoconcepto en estudiantes 2e. Las investigaciones empíricas revisadas proporcionan información coincidente en torno al autoconcepto de estudiantes 2e. Esta categoría presenta las características comunes encontradas en las distintas investigaciones en torno al autoconcepto de estudiantes 2e.

Predominancia de un autoconcepto negativo. Esta subcategoría refiere a percepciones de docentes y estudiantes 2e en las que se encuentran aspectos compartidos que indicarían la predominancia de un autoconcepto negativo en estos estudiantes.

Un estudio cualitativo que exploró mediante entrevistas las experiencias de tres docentes de clases especiales para alumnos con AC y 2e, encontró que los maestros afirman que los estudiantes 2e se sienten diferentes de sus compañeros e

intentan minimizar su diferencia rechazando herramientas educativas tecnológicas que cubran las necesidades de aprendizaje asociadas a su discapacidad (Ramsay, 2016). Por otra parte, en un estudio de caso realizado con un estudiante 2e que buscaba obtener una comprensión más profunda del autoconcepto académico de estudiantes doblemente excepcionales, se utilizó como instrumento de medición del autoconcepto la Escala de Autoconcepto para Niños de Piers-Harris 2 (PH2), los resultados denotaron puntajes muy bajos de autoconcepto académico y de autoconcepto en general. Asimismo, se encontró a partir de entrevistas que el estudiante se percibía a sí mismo como atípico en relación con el resto de las personas (Townend y Brown, 2016). A continuación, una investigación mixta que estudiaba el autoconcepto de 10 estudiantes 2e, reveló que las narrativas autodescriptivas de los estudiantes poseían predominantemente afectos negativos, entendiendo los afectos como adverbios o adjetivos que se usan para describir sentimientos o emociones. A este respecto, se encontró en sus narrativas que el afecto negativo se encontraba comúnmente relacionado a la discapacidad (Landau, 2023). Luego, un análisis longitudinal mixto que examinaba el autoestima y el locus de control de 372 estudiantes 2e, en relación con estudiantes con AC, estudiantes con discapacidad y estudiantes que no pertenecían a ninguna de estas categorías,

encontró que los estudiantes en el grupo de AC reportaron niveles significativamente más altos de autoestima que los estudiantes 2e, mientras que los estudiantes con discapacidad poseían los niveles más bajos de autoestima (Best, 2017). En esta misma línea, otro estudio cualitativo que buscaba reconocer las percepciones de 14 maestros de escuela primaria sobre las características de estudiantes 2e, encontró mediante entrevistas que los docentes perciben que los estudiantes 2e poseen baja autoestima y que este rasgo los hace atravesar dificultades en el ámbito escolar (Alsamani, et al., 2023).

Autoconocimiento de fortalezas y debilidades. Esta subcategoría refiere a percepciones comunes de estudiantes 2e en las que se refieren a la identificación de sus propias fortalezas en aspectos sociales y académicos de su contexto escolar.

En una investigación cualitativa que exploró mediante entrevistas las experiencias y autoimagen de 4 estudiantes 2e, se encontró que los estudiantes se describen a sí mismos con conciencia de la discrepancia existente entre sus dificultades y de sus habilidades, tanto en el ámbito académico, como social. Esta situación se presenta acompañada de la intención de mejorar especialmente en sus habilidades sociales (Gomez-Arizaga, et al., 2016). Asimismo, un estudio cualitativo que examinaba mediante

entrevistas el autoconcepto académico y su relación con el logro académico de 6 estudiantes 2e, reveló los estudiantes eran conscientes de sus debilidades, relacionándolas específicamente a aquellas clases en las que obtenían resultados negativos, y sus fortalezas, relacionadas a las clases en las que obtenían buenos resultados. De manera que la obtención de buenas calificaciones aportaba a un autoconcepto académico positivo, que a su vez incrementa el logro académico de los estudiantes 2e (Wang y Neihart, 2015). Por otra parte, en un estudio de caso que buscaba investigar la influencia de las etiquetas en el autoconcepto de ocho estudiantes 2e mediante entrevistas, se encontró que los estudiantes perciben en sí mismos tanto fortalezas como debilidades en el ámbito académico y social, esta autopercepción estaba influenciada por su 2e, que afectaba tanto negativamente como positivamente su autoconcepto, dado que relacionaban sus fortalezas con las AC y sus debilidades a su discapacidad (Lummiss, 2016).

Impacto del entorno educativo en el autoconcepto de los estudiantes 2e. Los estudios empíricos presentados en esta categoría proporcionan información en torno a la influencia que ejerce el entorno educativo en la construcción del autoconcepto estudiantes de 2e.

Relación con sus pares y profesores. Esta subcategoría hace referencia a la

información recopilada en torno a la influencia que tiene la relación con sus pares y profesores en la construcción del autoconcepto de los estudiantes 2e. En el estudio cualitativo realizado por Wang y Neihart (2015), mencionado anteriormente, se encontró además que los estudiantes 2e describían que el apoyo de sus amigos, padres y profesores contribuía de manera importante en su autoconcepto académico, de manera que cuando eran felicitados por estos aumentaba la confianza en sí mismos y su motivación. Por otra parte, un estudio cualitativo que buscaba investigar el autoconcepto académico de tres estudiantes 2e encontró mediante instrumentos de medición del autoconcepto y entrevistas, que el autoconcepto académico de estos estudiantes es influenciado por su contexto escolar, en primer lugar, por los maestros y, en segundo lugar, por sus compañeros. Los participantes identificaban las interacciones con los maestros y las retroalimentaciones que recibían de estos como esenciales para su autoconcepto académico (Townend, 2014). Acerca de esto, un estudio de caso que exploró mediante entrevistas las experiencias de vida de ocho estudiantes 2e, encontró en las narrativas de los estudiantes que estos eran identificados como diferentes y anormales por el resto, lo que influía negativamente en la formación de su autoconcepto. Los niños se esforzaban por

comprenderse a sí mismos y este proceso se veía obstaculizado por las opiniones estigmatizadas de sus compañeros y profesores en torno a sus AC y sus discapacidades (Ronksley-Pavia, 2019).

Relación con la educación especial.

Esta subcategoría se enfoca en la información recopilada en torno a los efectos que tiene en la construcción del autoconcepto la asistencia a clases que proveen medidas de educación especial para las necesidades de aprendizaje de los estudiantes 2e.

A partir del mismo estudio de caso mencionado anteriormente, realizado por Townend y Brown (2016), se encontró mediante la realización de entrevistas que el autoconcepto del estudiante 2e se veía influenciado por aspectos socioculturales de su entorno, uno de ellos era el reconocimiento y apoyo en torno a sus necesidades de aprendizaje como estudiante doblemente excepcional. El asistir a clases especiales para alumnos con AC y el recibimiento de medidas educativas de apoyo a su discapacidad había mejorado su autoconcepto académico, esto a su vez influenciaba positivamente su autoconcepto social debido a que se le hacía más fácil relacionarse con sus compañeros y no se sentía inadecuado en su contexto. En contraste, en el estudio mixto realizado por Landau (2023), mencionado anteriormente, los 10 participantes asistían a una escuela especial para estudiantes 2e, sin embargo, se encontró que la educación especial para

sus necesidades de aprendizaje no aseguró un autoconcepto general positivo, dado que los estudiantes utilizaban frecuentemente un lenguaje afectivo negativo en las narrativas sobre sí mismos. Por otra parte, en el estudio de caso realizado por Lummiss (2016) al que se ha hecho referencia con anterioridad, se encontró que el autoconcepto de los estudiantes 2e que recibían una educación especial podía verse afectado tanto positivamente como negativamente en las dimensiones sociales y académicas. Los estudiantes tenían percepciones más positivas del autoconcepto académico cuando percibían que sus necesidades educativas estaban cubiertas, sin embargo, algunos estudiantes sentían que esto no sucedía a pesar de su asistencia a clases especiales para su discapacidad o su AC. Además, los estudiantes que se encontraban en clases de educación especial para alumnos con AC o con discapacidades experimentaban un mayor rechazo social por parte del resto de los alumnos, lo que afectaba negativamente su autoconcepto social y general.

Conclusiones

El objetivo de esta investigación fue aportar a la comprensión de la relación existente entre la condición de 2e y la formación del autoconcepto en estudiantes escolares 2e, indagando en la manera en que esta condición puede influir en el autoconcepto de los estudiantes. A partir

de los resultados de la investigación, se desprende que los estudiantes escolares 2e construyen su autoconcepto general en relación a experiencias que se encuentran estrechamente relacionadas con su condición.

En ese sentido, el entorno educativo y el apoyo de sus compañeros y profesores se constituyen como un factor importante en la formación de un autoconcepto positivo en estos estudiantes. Sin embargo, dada su condición de 2e, estos tienden a ser estigmatizados y percibidos por el resto como diferentes, impactando negativamente en su autoconcepto. Así mismo, los métodos educativos especiales que buscan cubrir sus necesidades de aprendizaje pueden influir positivamente en su autoconcepto en la medida en la que estos facilitan su adaptación académica y social. No obstante, se observa que esto último no siempre ocurre, ya que en ocasiones estos métodos educativos aumentan su sensación de inadecuación social y académica, lo que perjudica su autoconcepto.

De esta manera, se comprende que la 2e influye en la construcción del autoconcepto de los estudiantes en la medida en que el autoconcepto se construye a partir de las vivencias, y en la medida en que su 2e es un factor importante para el tipo y calidad de interacciones que surgirán en el contexto escolar del estudiante.

Además, el autoconcepto de los estudiantes 2e se configura a partir de la

autopercepción de dificultades y fortalezas que se encuentran vinculadas con su condición, relacionando sus logros a su AC y sus fracasos a la discapacidad. Al respecto, es interesante que a pesar de ser capaces de identificar sus fortalezas y debilidades, existe la tendencia a desarrollar un autoconcepto general negativo y a tener una autopercepción de diferencia y anormalidad. Se conjetura a partir de lo anterior que la influencia negativa que nace de malas experiencias vinculadas a su condición de 2e, incide en mayor medida en la formación de su autoconcepto.

Se entiende que esto puede deberse a que muchos de estos estudiantes se encuentran casi inevitablemente inmersos en comunidades educativas en las que usualmente su 2e es socialmente incomprendida y su sentido de pertenencia se ve perjudicialmente afectado, puesto que no logran identificarse completamente con quienes poseen AC, o bien con quienes poseen alguna discapacidad ni tampoco con el resto de sus compañeros. Se observa también que comúnmente se utilizan estrategias pedagógicas que se enfocan de manera separada en sus necesidades de aprendizaje, lo que puede surgir a partir del entendimiento de su doble excepcionalidad como categorías divididas. Sería interesante tomar en cuenta que estos estudiantes tienen necesidades de aprendizaje particulares

caracterizadas por la manifestación conjunta de sus excepciones a la hora de tomar medidas para apoyar su desarrollo académico. Por otra parte, se repara en que estas estrategias educativas hacen énfasis en el ámbito académico y no toman en cuenta la necesidad de trabajar en la adaptación social de los estudiantes 2e. Se presume que factores como los anteriormente descritos estarían perjudicando el desarrollo de un autoconcepto positivo en el caso de los estudiantes 2e.

Es importante trabajar en el aumento de investigaciones científicas de actualidad que indaguen a fondo la situación del autoconcepto en estudiantes 2e, puesto que fueron escasos los estudios encontrados que tomaran como eje central esta temática, especialmente en Latinoamérica. Lo anterior a fin de comprender desde las propias voces de estos estudiantes cómo se perciben a sí mismos y a partir de esto identificar aquellos obstáculos que impiden el desarrollo de un autoconcepto positivo y las posibles intervenciones para eliminar estos obstáculos. Además, sería importante realizar investigaciones que aborden cómo la presencia o ausencia de políticas públicas enfocadas en las necesidades de los estudiantes 2e pueden influir en la formación de su autoconcepto, a fin de comprender a mayor cabalidad aquellos aspectos políticos, económicos y socioculturales que podrían estar a la base de las dificultades que enfrentan los estudiantes 2e a la hora de

construir su autoconcepto.

Se hace importante la necesidad de que existan profesionales de la psicología en las escuelas que se encuentren al tanto de las dificultades que atraviesan los estudiantes 2e y cómo estas pueden afectar negativamente en la formación de su autoconcepto. En ese sentido, es de gran relevancia que los profesionales de la psicología adquieran conocimientos en torno a la temática y desarrollen las competencias necesarias para asesorar a los docentes y trabajar con los estudiantes en pos de un desarrollo positivo de su autoconcepto y la consecuente mejora de su satisfacción personal. Finalmente, es necesario mencionar que este estudio

presenta limitaciones, por lo que se debe tener en cuenta que no se contemplaron los diferentes tipos de 2e que presentaban los participantes de las investigaciones como un factor influyente en la construcción del autoconcepto, un aspecto que limita la obtención de información rica en torno a la temática. Además, se abordó casi en su totalidad investigaciones de contexto anglosajón, por lo que los resultados de la investigación podrían encontrarse sesgados por un factor sociocultural propio de un contexto específico, lo que podría afectar la representatividad de estos.

Bibliografía

- Alsamani O.A., Alsamiri Y. A. y Alfaidi S. D. (2023) Elementary school teachers' perceptions of the characteristics of twice-exceptional students [Percepciones de docentes de primaria de las características de estudiantes con doble excepcionalidad]. *Frontiers in education*, 8, 1-8. <https://doi.org/10.3389/feduc.2023.1150274>
- Best, L. J. (2017). *Self-Esteem and locus of control: a longitudinal analysis of twice-exceptional learners* [Autoestima y Locus de Control: un Análisis Longitudinal de los Aprendices Doblemente Excepcionales] [Tesis doctoral, Florida State University]. Repositorio institucional de Florida State University http://purl.flvc.org/fsu/fd/FSU_SUM_MER2017_Best_fsu_0071E_13723
- Conejeros, M.L., Cáceres, P. y Riveros, A. (2012). Educación de talentos académicos en Chile: una década de aprendizajes e investigación. En Catalán, J. (Ed). *Investigación orientada al cambio en psicología educacional* (pp. 39-74). Editorial Universidad de La Serena.
- Conejeros-Solar, M. L., Gómez-Arizaga, M.P., Sandoval-Rodríguez, K. y Cáceres-Serrano, P. A. (2018). Aportes a la comprensión de la doble excepcionalidad: Alta capacidad con trastorno por déficit de atención y alta capacidad con trastorno del espectro autista. *Revista Educación*, 42(2) 645-676. <https://doi.org/10.15517/revedu.v42i2.25430>
- Esnaola, I., Goñi, A. y Madariaga, J. M. (2008). El autoconcepto: Perspectivas de investigación. *Revista de Psicodidáctica*, 13(1), 69-96. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=17513105>
- Gagné, F. (2015). De los genes al talento. *Revista de Educación*, 368(1), 66-91. https://doi.org/10.4438/1988-592X_RE-2015-368-289
- Gagné, F. (2018). Academic talent development: Theory and best practices. In S. I. Pfeiffer (Ed.), *APA Handbook of Giftedness and Talent* (pp.163-184). American Psychological Association. <https://doi.org/10.1037/0000038-011>
- Gómez-Arizaga, M. P., Conejeros-Solar, M. L., Sandoval-Rodríguez, K. y Armijo-Solís, S. (2016). Doble excepcionalidad: análisis exploratorio de experiencias y autoimagen en estudiantes chilenos. *Revista de Psicología (PUCP)*, 34(1), 5-37. <http://dx.doi.org/10.18800/psico.201601.001>
- Landau, A. D. (2023). *Defining twice exceptional learners: a study of self concept* [Definiendo a los aprendices

- doblemente excepcionales: un estudio de autoconcepto] [Tesis de Doctorado, City University of New York]. CUNY Academic Works
https://academicworks.cuny.edu/gc_etds/5154
- Loayza Gonzalez, D. (2019). Autoconcepto, una revisión del constructo. *Scientia et Fide*, 1(1), 29-33.
<https://usel.edu.pe/revistas/index.php/ojsusel/issue/view/1>
- Lummiss, M. (2016). *Self-perceptions of twice-exceptional students: the influence of labels and educational placement on self-concept for G/LD post-secondary students* [Auto percepciones de estudiantes doblemente excepcionales: la influencia de etiquetas y colocación educativa en el autoconcepto de estudiantes 2e en educación terciaria] [Tesis de Maestría, University of Ottawa]. Repositorio de la University of Ottawa
<https://ruor.uottawa.ca/handle/10393/11105>
- Martin, V., Renaud, J., & Dagenais, P. (2013). Les normes de production des revues systématiques: Guide méthodologique [Las normas de producción de revisiones sistemáticas: Guía metodológica] Francia: Institut national d'excellence en santé et en services sociaux.
<https://www.inesss.qc.ca/fileadmin/d>
[oc/INESSS/DocuMetho/INESSS_Normes_production_revues_systematiques.pdf](https://www.inesss.qc.ca/fileadmin/d/oc/INESSS/DocuMetho/INESSS_Normes_production_revues_systematiques.pdf)
- Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., .. & Alonso Fernández, S. (2021). Declaración PRISMA 2020: una guía actualizada para la publicación de revisiones sistemáticas. *Revista española de cardiología*, 74(9), 790-799.
<https://doi.org/10.1016/j.recesp.2021.06.016>
- Quílez Robres, A., & Lozano Blasco, R. (2020). Modelos de inteligencia y altas capacidades: una revisión descriptiva y comparativa. *Enseñanza & Teaching*, 38(1), 69-85.
<https://doi.org/10.14201/et20203816985>
- Ramsay-Cohen, P. (2016). Where Do They Belong?: Teacher Experiences with Twice-Exceptional Students in Streamed Gifted Classes. [¿A dónde pertenecen? Experiencias de profesores con alumnos doblemente excepcionales en clases de alumnos dotados] [Tesis de Maestría, University of Toronto]. Repositorio de la University of Toronto
<https://hdl.handle.net/1807/72275>
- Reis, S. M., Baum, S. M., y Burke, E. (2014). An operational definition of twice-exceptional learners. [Una definición operacional de los

- aprendices doblemente excepcionales] *Gifted Child Quarterly* 58(3), 217–230.
<https://doi.org/10.1177/0016986214534976>
- Ronksley-Pavia, M., Grootenboer, P., y Pendergast, D. (2019). Privileging the voices of twice-exceptional children: An exploration of lived experiences and stigma narratives. [Privilegiando las voces de los niños doblemente excepcionales: Una exploración de las experiencias vividas y las narrativas sobre el estigma] *Journal for the Education of the Gifted*, 42(1), 4-34.
<https://doi.org/10.1177/0162353218816384>
- Sánchez, B. (10 febrero 2022). *Qué es la doble excepcionalidad en altas capacidades*. Mamá Valiente
<https://www.mamavaliente.es/2022/02/10/que-es-la-doble-excepcionalidad-en-altas-capacidades/>
- Sastre-Riba, S. (2020). Moduladores de la expresión de la alta capacidad intelectual. *MEDICINA (Buenos Aires)*, 80, 53-57.
<http://www.scielo.org.ar/pdf/medba/v80s2/v80s2a12.pdf>
- Tourón, J. (2020). Las Altas Capacidades en el sistema educativo español: reflexiones sobre el concepto y la identificación. *Revista de Investigación Educativa*, 38(1), 15-32.
<https://doi.org/10.6018/rie.396781>
- Townend, G. (2014). *Academic self concept in twice-exceptional students: An exploratory investigation* [Autoconcepto académico en estudiantes doblemente excepcionales: una investigación exploratoria] [Tesis doctoral, Griffith University]. Repositorio de la Griffith University
<https://api.semanticscholar.org/CorpusID:148919166>
- Townend, G., y Brown, R. (2016). Exploring a sociocultural approach to understanding academic self-concept in twice-exceptional students. [Exploración de un enfoque sociocultural para comprender el autoconcepto académico en alumnos con doble excepcionalidad] *International Journal of Educational Research*, 80, 15-24
<https://doi.org/10.1016/j.ijer.2016.07.006>
- Van Zanden, B., Marsh, H. W., Seaton, M., y Parker, P. (2015). Self-concept: From unidimensional multidimensional to and beyond. [Autoconcepto: De unidimensional a multidimensional y más allá] En J. D. Wright (Ed.), *International encyclopedia of the social & behavioral sciences* [Enciclopedia internacional de las ciencias sociales y conductuales] Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08097086-8.25089-7>
- Yssel, N., Speirs Neumeister, K. y Burney, V. (2020) *Students with Special Needs*

Who Are Gifted and Talented (Twice Exceptional). [Alumnos con necesidades especiales que son dotados y talentosos (doblemente excepcionales)] En U. Sharma y S. Salend (Eds). *Oxford Research Encyclopedia of Education*. [Enciclopedia Oxford de Investigación en Educación] Oxford University Press.

Wang, C. W., y Neihart, M. (2015). Academic Self-Concept and Academic

Self-Efficacy: Self-Beliefs Enable Academic Achievement of Twice-Exceptional Students. [Autoconcepto académico y autoeficacia académica: Las autocreencias posibilitan el rendimiento académico de los alumnos doblemente excepcionales] *Roeper Review*, 37(2), 63–73.
<https://doi.org/10.1080/02783193.2015.1008660>

1. DDHH en América Latina: desafíos presentes y futuros

Nanopartículas y Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal: una estrategia para mejorar los biofertilizantes.

Autor: Rafael Parra E. mail rjparracontreras@estudiantes.unsam.edu.ar Co-autor(es):
Sannazzaro, A; Estrella, M.J; Soler-Illia, G Orientador/a: Pieckenstein Fernando Luis
INTECH-UNSAM

Resumen

El uso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) constituye una estrategia sostenible para optimizar la nutrición y el desarrollo de los cultivos. Estas bacterias no solo estimulan el crecimiento vegetal, sino que también incrementan la tolerancia de las plantas frente a patógenos. Algunas cepas presentan, además, la capacidad de solubilizar fósforo inorgánico, producir sideróforos y formar biofilms, lo que favorece su funcionalidad en la rizósfera. Sin embargo, para que se establezca una interacción efectiva entre las PGPB y las plantas, las bacterias deben colonizar de manera efectiva la rizósfera, algo que a menudo se ve limitado por la competencia microbiana y la baja supervivencia en el suelo. En este contexto, la nanotecnología surge como herramienta prometedora para mejorar su adhesión a las raíces y favorecer su persistencia en condiciones adversas.

En el presente proyecto se evalúa el efecto de nanopartículas de TiO_2 y montmorillonita, sobre funciones clave de cepas PGPB caracterizadas en el Laboratorio de Interacciones Planta–Microorganismo del Instituto Tecnológico de Chascomús. Se analizan parámetros como el crecimiento, solubilización de fosfatos, la producción de sideróforos y formación de biofilms, todo esto ante diferentes concentraciones de NPs. Los resultados aportarán información para el diseño de bioinsumos basados en nanotecnología, promoviendo una agricultura más eficiente y ambientalmente sostenible.

Palabras clave: PGPB, Nanotecnología, Biofertilizantes

Introducción

En los últimos años, con el rápido desarrollo de la tecnología agrícola y la creciente responsabilidad sobre la protección del medio ambiente, la demanda de nuevos materiales y tecnologías en el ámbito de la producción agrícola se ha vuelto cada vez más urgente. El uso prolongado de productos químicos, pesticidas y fertilizantes puede mitigar los desafíos de la seguridad alimentaria a largo plazo. Sin embargo, esta práctica conlleva riesgos como la contaminación, la pérdida de fertilidad del suelo, el impacto sobre especies no objetivo, la resistencia a enfermedades e insectos, la disminución de la biodiversidad y los daños a los seres humanos y los animales. En este contexto, los bioformulados basados en microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPM, por sus siglas en inglés *plant growth-promoting microorganisms*) se presentan como una alternativa sustentable (Castagno et al., 2021). No obstante, su efectividad suele verse limitada por problemas de estabilidad, persistencia y adaptación al ambiente edáfico.

Por otra parte, la nanotecnología ofrece herramientas innovadoras para optimizar los procesos agrícolas *per se* o bien complementando la acción de los PGPM. Los productos nanotecnológicos presentan propiedades únicas derivadas de su escala

nanométrica, como el tamaño de partícula, la relación superficie-volumen, la carga superficial y la capacidad de penetración. Asimismo, en comparación con la tecnología agrícola tradicional, la nanotecnología agrícola ofrece numerosas ventajas relacionadas con mejoras en la eficiencia productiva, reducciones en los costos de insumos y una menor ecotoxicidad. En este sentido, organismos internacionales como la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) promueven activamente la incorporación de la nanotecnología en la agricultura, destacando su potencial para contribuir al desarrollo de sistemas agrícolas más sostenibles (FAO, 2017). Sin embargo, el conocimiento sobre la interacción de estos sistemas con las plantas y la microbiota del suelo es aún poco claro. Diversos estudios han demostrado que los nanofertilizantes, gracias al reducido tamaño de sus partículas, son absorbidos con mayor rapidez y liberan nutrientes de forma más controlada que los fertilizantes convencionales, favoreciendo un mayor crecimiento y acumulación de biomasa. Siguiendo esta idea, Kumar *et al.* (2023) observaron que el uso de nano-urea, debido a su elevada superficie específica, permitió un suministro más eficiente de nitrógeno. En este estudio, la sustitución del 33% del nitrógeno convencional por nano-nitrógeno resultó en rendimientos

superiores tanto en arroz como en trigo. Además, se ha demostrado que las nanopartículas pueden transformar la estructura del suelo al modificar la energía superficial y mejorar la retención hídrica, al tiempo que incrementan la conductividad del agua y la estabilidad de los agregados. Estas alteraciones también pueden modular el pH y la distribución de nutrientes, impactando en la estructura y la funcionalidad de las comunidades microbianas de la rizosfera (Zhang *et al.*, 2024). A modo de ejemplo, estudios como el de Xin *et al.* (2022) evidencian que la aplicación de nanopartículas de carbono (NPC) al suelo mejora su capacidad de retención de agua y estimula la funcionalidad microbiana, promoviendo indirectamente el crecimiento vegetal. Las NPC pueden adherirse a la superficie de las raíces, estimulando la actividad enzimática de las comunidades microbianas del suelo y mejorando así la fertilidad y calidad del suelo. De manera similar, trabajos como los de Palmqvist *et al.* (2015) y Timmusk *et al.* (2017) demostraron que las nanopartículas de TiO_2 fomentan una adherencia más estable de las PGPR a las raíces de las plantas, lo que promueve una mejor colonización de la rizósfera por parte de estas.

Finalmente, vale la pena señalar que en el contexto local, la aplicación de nanofertilizantes comerciales mostró la capacidad de incrementar la productividad

de cultivos forrajeros en la Pampa Deprimida del Salado (PDS) (INFOCAMPO, Junio 2025). Sin embargo, dicho efecto, así como los de otros nanoproductos de uso agrícola, no pueden ser explicados únicamente por la cantidad de nutrientes aportados al suelo. De este modo, es razonable suponer que los efectos de tales nanofertilizantes resulten de un efecto sobre la microbiota del suelo, que indirectamente impacta sobre el crecimiento de los cultivos. En este contexto, comprender la influencia de las nanopartículas sobre la funcionalidad de las comunidades microbianas de la rizósfera, la nutrición y el crecimiento de los cultivos, es fundamental para el desarrollo de estrategias de producción agrícola más sostenibles. Recíprocamente, resulta de interés conocer en qué forma la microbiota del suelo contribuye a la asimilación de nanofertilizantes por parte de los cultivos. El presente proyecto se fundamenta en la experticia de los Laboratorios de Interacciones Planta-Microorganismo y Microbiología del Suelo del Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECH), en el aislamiento y caracterización taxonómica y funcional de cepas bacterianas nativas con actividad promotora del crecimiento vegetal (PGPB) (Romero *et al.*, 2016). Se cuenta con una colección de bacterias solubilizadoras de fósforo, productoras de sideróforos y fitohormonas, adaptadas a las condiciones

restrictivas típicas de los suelos de la PDS (Cumpa et al., 2021), y se han descrito nuevas especies de PGPB (González et al., 2025; Estrella, 2019). También se han identificado bacterias capaces de conferir tolerancia a la deshidratación en plantas de eucalipto (Chain et al., 2020) y con potencial de biocontrol frente a patógenos fúngicos (Romero et al., 2016).

La experiencia acumulada y la disponibilidad de esta colección constituyen la base del presente trabajo, cuya hipótesis plantea que las nanopartículas pueden favorecer la colonización radicular y potenciar la actividad promotora del crecimiento de bacterias benéficas. Para ello, se emplean las cepas M91 (*Pantoea eucalypti*), ba510 (*Rahnella aquatilis*), ba52 (*Pseudomonas rhodesiae*) y F32R1 (*Enterobacter ludwigii*), previamente utilizadas en el laboratorio en forma de consorcios bacterianos, con compatibilidad comprobada y reconocidas actividades PGPB, como la solubilización de fósforo y la producción de sideróforos. El proyecto se orienta a evaluar el efecto de nanopartículas de TiO_2 y montmorillonita sobre la viabilidad bacteriana, la expresión de sus funciones PGPR, la formación de biofilms y la colonización de la rizósfera en plantas de soja.

Finalmente, este proyecto se apoya también en la experiencia del Instituto de Nanosistemas (UNSAM) en la síntesis,

caracterización y aplicación tecnológica de nanomateriales (Britto et al., 2023; Scilletta et al., 2019, 2021; Bellino et al., 2013). La interacción entre ambos grupos de trabajo genera una sinergia única que abre nuevas oportunidades en el campo emergente de la bionanofertilización.

Objetivos:

El presente proyecto plantea como objetivo general evaluar el efecto de nanopartículas de TiO_2 y montmorillonita sobre la colonización de la rizósfera de las plantas y su influencia en la actividad promotora del crecimiento vegetal (PGPB) de las bacterias estudiadas.

Objetivos específicos (OEs):

- **OE1.** Evaluar la viabilidad de las cepas M91, ba510, ba52 y F32R1 ante diferentes concentraciones de NPs.
- **OE2.** Evaluar la actividad solubilizadora de fósforo en medio NBRIP y la producción de sideróforos en medio agar CAS, por parte de las 4 cepas bajo diferentes concentraciones de NPs.
- **OE3.** Determinar la capacidad de las bacterias para solubilizar fertilizantes nanoparticulados, proporcionados previamente por acuerdo con la empresa Kioshi Stone, y comparar su eficiencia con respecto a fertilizantes tradicionales. Materiales y métodos
- **OE4.** Evaluar la capacidad de formación de biofilms por parte de las 4 cepas,

tanto de manera individual como en consorcio, bajo diferentes concentraciones de NPs.

- **OE5.** Evaluar la colonización de las bacterias en raíces de plantas de soja, así como su capacidad de producir biofilms en estas.

1. Ensayos de viabilidad bacteriana en presencia de NP:

Se evaluará la respuesta de las cepas M91, βα510, βα52 y F32R1 frente a diferentes concentraciones de nanopartículas de TiO₂ y montmorillonita. Para ello, se realizan curvas de crecimiento en microplacas midiendo la densidad óptica a 600 nm (OD₆₀₀) en intervalos de tiempo determinados, con el fin de obtener la cinética de crecimiento. En paralelo, se efectuarán recuentos de colonias en placas (UFC/mL) en puntos seleccionados de la curva, a fin de corroborar los resultados obtenidos por espectrofotometría.

2. Ensayos de solubilización en presencia de las NPs:

Las las cepas M91, βα510, βα52 y F32R1 se cultivaron en medios líquidos suplementados con concentraciones definidas de NPs (TiO₂ y montmorillonita). Posteriormente, se sembrarán en medios diferenciales: NBRIP para evaluar la solubilización de fósforo y Agar CAS para detectar producción de sideróforos. La actividad de solubilización se evidencio

mediante la formación de halos de clarificación o coloración diferencial en la periferia de las colonias. El diámetro de los halos se medirá y comparará entre tratamientos con fertilizantes nanoparticulados y fertilizantes tradicionales, a fin de determinar diferencias en la eficiencia.

3. Ensayo en placa multiwell para el desarrollo de Biofilms

La cuantificación de biofilms de las bacterias M91, βα510, βα52 y F32R1 tanto de manera individual como en consorcio, se realizó en placas de microtitulación de 96 pocillos (tipo ELISA), siguiendo el método de O'Toole (2011). Para la formación de biofilms de una sola especie, los aislados se cultivaron a 28 °C durante 24–48 h en medio de cultivo M9. Cada pocillo recibió 160 µl de cultivo (≈10⁷ UFC/ml) y se incubó durante 24–48 h a 28 °C. Posteriormente, los pocillos se lavaron tres veces con agua destilada esteril y se tiñeron con cristal violeta al 0,1% durante 10 min. Luego de eliminar el exceso de colorante con dos lavados sucesivos con agua destilada esteril, el cristal violeta retenido por el biofilm se extrajo con ácido acético glacial al 33%. La absorbancia de este extracto se midió a 570 y 595 nm en un lector de placas ELISA. El nivel de formación de biofilm (débil, moderado o fuerte) se calculó usando la fórmula de Christensen, según lo descrito por

Stepanović et al. (2000).

4. Colonización de raíces y rizosfera

Se evaluó la colonización de raíces y rizósfera por los aislados bacterianos M91, ba510, ba52 y F32R1 tanto individualmente como en combinación. Para esto las semillas de soja fueron esterilizadas y remojadas durante al menos 2 h en cultivos bacterianos frescos; los controles se remojaron en agua estéril. Las semillas se sembraron en agar agua y en macetas y se mantuvieron en un invernadero con clima controlado, regando regularmente con solución Hoagland.

Para el ensayo de colonización bacteriana de la raíz, se extrajo 1 g de raíz de una plántula desarraigada y se limpió gradualmente en agua destilada (estéril) para eliminar las bacterias adheridas a la superficie de la raíz. Se colocó un gramo de raíz asépticamente en un tubo epéndrof, se diluyó en PBS estéril y se mezcló a máxima velocidad. Luego se cuantificaron las unidades formadoras de colonia (UFC) en placas selectivas con rifampicina (30 µg/ml), incubadas a 28 ± 2 °C durante 48 h. La colonización de la rizósfera se evaluó de manera similar, recolectando el suelo fuertemente adherido a las raíces y realizando diluciones seriadas para el conteo de UFC. Los recuentos se realizaron a los 10 y 20 días después de la siembra y se expresaron como UFC/g de raíz o suelo.

Asimismo, raíces de soja cultivadas durante 10 y 20 días, previamente inoculadas de la misma manera, se lavaron suavemente con agua destilada estéril. Se tomaron 100 mg de tejido radicular, que se sumergieron en 2 ml de cristal violeta al 0,1% durante 15 minutos. Tras eliminar el exceso de tinción por decantación y lavar con agua corriente, las raíces fueron decoloradas con 4 ml de ácido acético al 30% durante 10 minutos. La intensidad de color de la solución resultante se determinó espectrofotométricamente a 570–595 nm, como medida indirecta de la formación de biofilms en la superficie radicular (O'Toole, 2011). Así mismo para un ensayo más cualitativo se realizó tinción de las raíces con naranja de

5. Preparación de muestras para la observación microscópica de raíces

La observación microscópica de raíces se realizó en raíces de soja de 10 y 20 días de cultivo inoculadas previamente como se mencionó en la sección anterior. El colorante utilizado fue naranja de acridina al 0,01 % (p/v), preparado en PBS. Se seleccionaron varias plantas al azar, se extrajeron las partes aéreas y las raíces se sumergieron en naranja de acridina durante 5 minutos. Las muestras se protegieron de la luz durante este tratamiento. Posteriormente, las raíces se fijaron entre un portaobjetos y un cubreobjetos. La observación se realizó

con un microscopio de fluorescencia Nikon EFD-3, utilizando un aumento de 50X.

6. Evaluación de la solubilización de fertilizantes nanoparticulados

Se analizó la capacidad de solubilización de los aislados M91, ba510, ba52 y F32R1 en medios de cultivo sintéticos suplementados con fertilizantes nanoparticulados elaborados a partir de sales insolubles de calcio, magnesio, fósforo, azufre, boro, manganeso, cobre e hierro (provistos por la empresa *Kioshi Stone*). Para cada nutriente, se formularon medios de cultivo carentes de sales solubles del mismo, con el objetivo de evitar interferencias en la evaluación de la solubilización. En cada ensayo se incluyeron controles apropiados: medios sin bacterias y medios suplementados con fertilizantes convencionales. Los cultivos fueron incubados a 28 ± 2 °C durante 48–72 h. La solubilización de nutrientes se evaluó mediante la formación de halos de clarificación alrededor de las colonias bacterianas, complementada con ensayos en medio NBRIP (para solubilización de fosfatos) y en agar CAS (para producción

de sideróforos).

Resultados.

Crecimiento de las bacterias en medios suplementados con NPs

No se observó una disminución en la viabilidad de las bacterias tras la exposición a TiO_2 : las curvas de crecimiento obtenidas con $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de TiO_2 mostraron una tasa de crecimiento específica (pendiente de $\ln(\text{OD})$ en fase logarítmica) comparable a la del control. La curva correspondiente a $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ presentó, sin embargo, una OD de fondo mayor atribuible a la dispersión de luz por las partículas de TiO_2 ; por este motivo la diferencia en la posición entre ambas curvas. Además, los recuentos de $\text{UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ realizados tras la exposición a 50, 100 y $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de TiO_2 no mostraron una reducción significativa respecto del control (me falta incluir los análisis estadísticos). Por último, resta realizar ensayos equivalentes con montmorillonita para completar la comparación entre materiales.

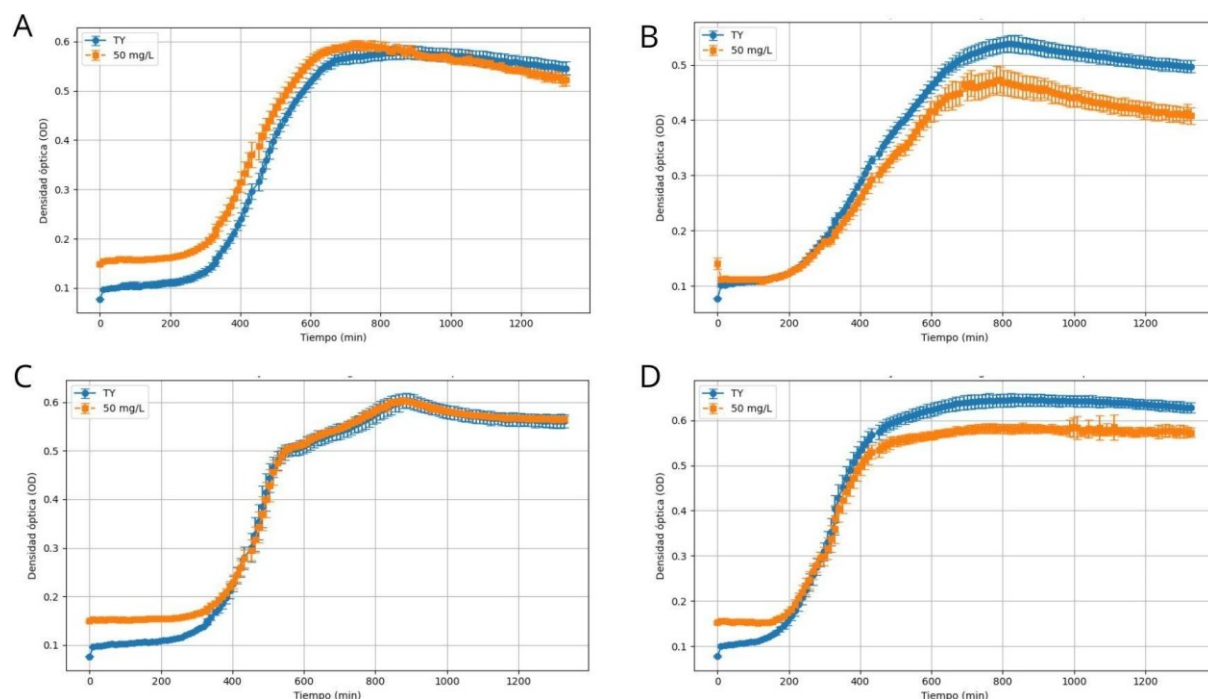


Figura 1. Curvas de crecimiento de las cepas M91 (A), ba510 (B), ba52(C) y F32R1 (D) en TY y TY+50 mg/L de TiO_2 .

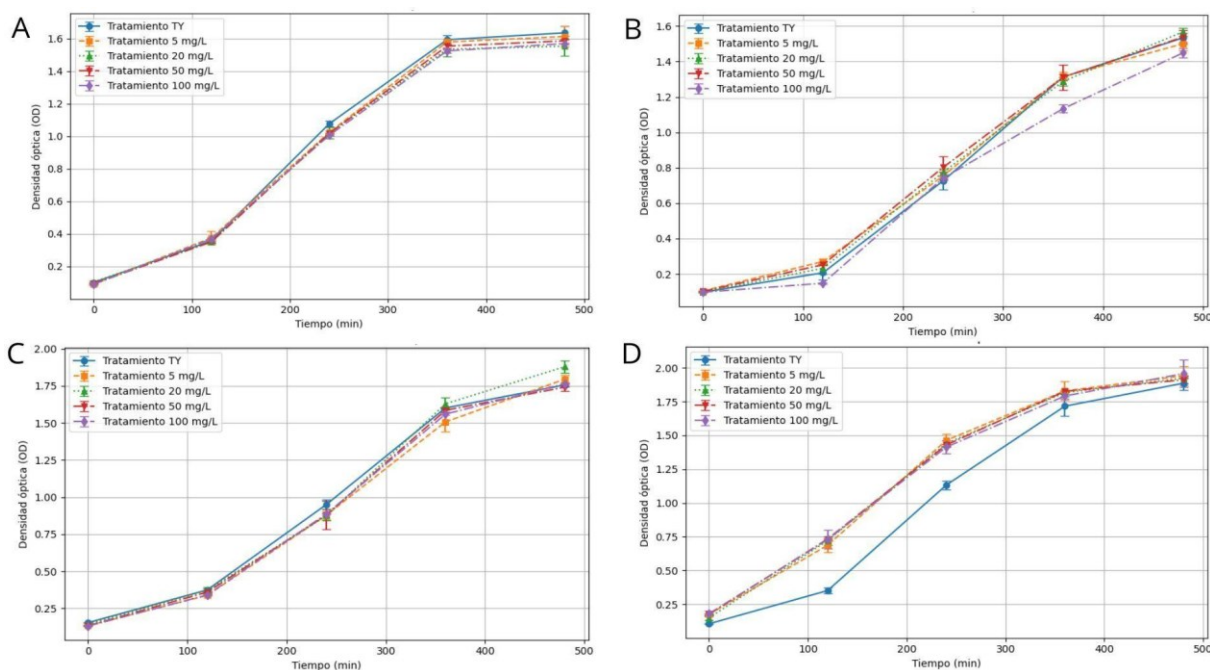


Figura 2. Curvas de crecimiento de las cepas M91 (A), ba510 (B), ba52(C) y F32R1 (D) en TY y TY diferentes concentraciones de Montmorillonita (5, 20, 50 y 100 mg/L).

Pruebas de solubilización de Fósforo y Hierro en presencia de NPs de TiO_2 .

No se observó diferencia en la solubilización de fósforo en medio NBRIP ni en la producción de sideróforos por las bacterias: la presencia de 50 y 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de TiO_2 y de montmorillonita no alteró estas funciones en comparación con el control (me falta incluir las pruebas estadísticas). Esperamos realizar ensayos adicionales

con concentraciones superiores de nanopartículas para determinar si existe un umbral de inhibición. Asimismo, resta evaluar la solubilización por los consorcios bacterianos en presencia de las nanopartículas. Cabe destacar que Timmusk *et al.* (2017) reportaron 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de TiO_2 como una concentración adecuada para su empleo.

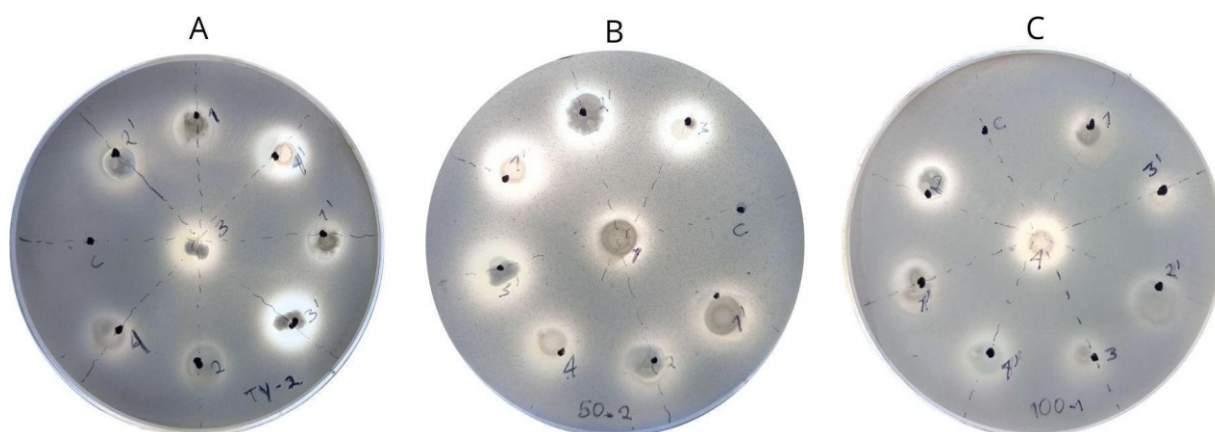


Figura 3. Halos de solubilización de fósforo en medio NBRIP de las cepas M91, ba510, ba52 y F32R1 crecidas previamente en TI sólo (A), TY+50 mg/L (B) y TY+100 mg/l de TiO_2 (C).

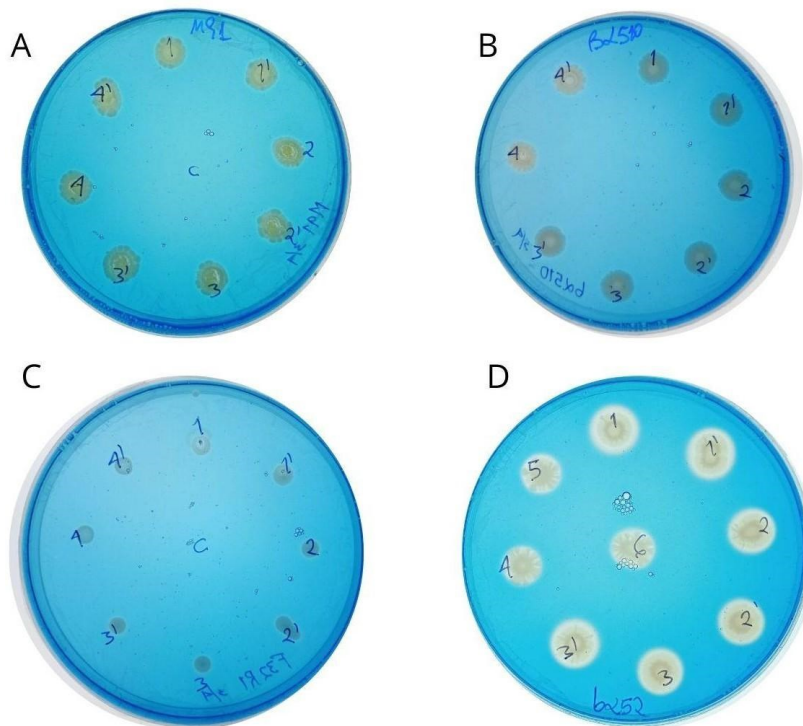


Figura 4. Halos de solubilización de hierro en agar CAS de las cepas M91 (A), bα510 (B), bα52 (C) y F32R1 (D) crecidas previamente en TY sólo, TY+20 mg/L, TY+50 mg/l y TY+100 mg/l de TiO₂.

Producción de Biofilm

Se optimizó el análisis de formación de biofilm para las cepas M91, bα510, bα52 y F32R1. La cepa con mayor capacidad de producción fue F32R1, seguida por bα52; en tanto que bα510 mostró producción moderada y M91 no presentó formación detectable. El rango de desarrollo de la biopelícula (débil, moderado, fuerte) se estableció de acuerdo al criterio propuesto por Stepanović et al. (2000):

- F32R1: fuerte
- bα52: moderado
- bα510: moderada
- M91: débil

Asimismo, los análisis de los consorcios formados por las cuatro cepas revelaron que estos generan una cantidad significativamente mayor de biofilm en comparación con las cepas individuales (Figura 5, Figura 6 y Figura 7). También espero realizar las evaluaciones de producción de biofilms con las combinaciones de 2 y tres bacterias.

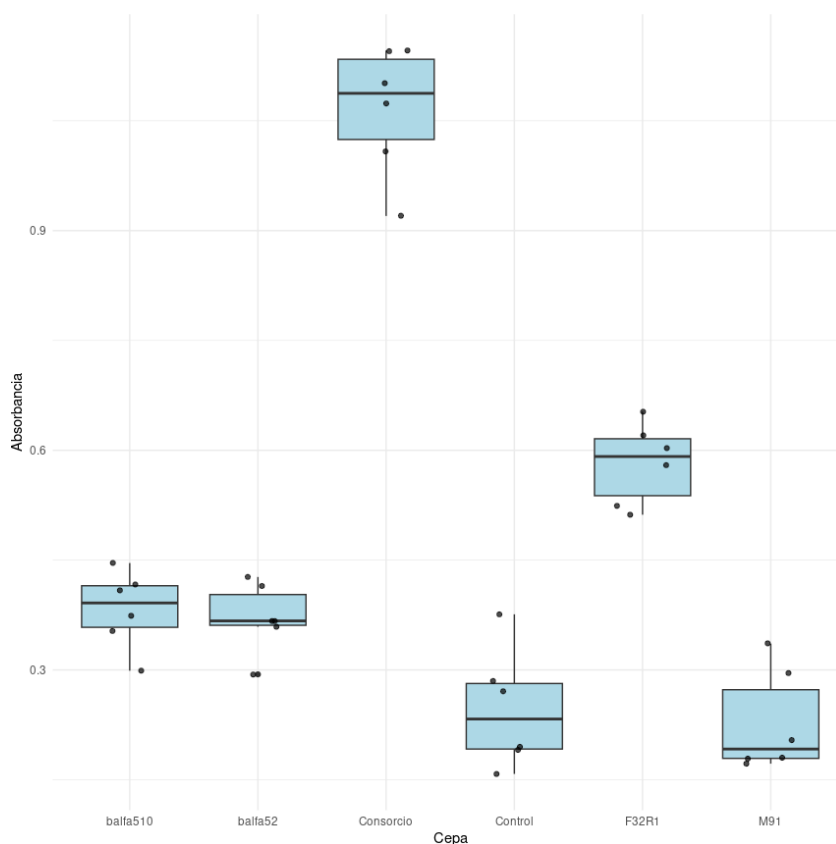


Figura 5. Producción de biofilm por cepas bacterianas individuales y en consorcio.

Se muestran los valores de absorbancia (medidos a 570 nm tras tinción con cristal violeta) correspondientes a las cepas ba510, ba52, F32R1, M91, al consorcio de las cuatro cepas y al control sin bacterias. El consorcio presentó los valores de absorbancia más altos, indicando la mayor capacidad de formación de biofilm, seguido por la cepa F32R1. Las cepas ba510 y ba52 mostraron producción moderada, mientras que M91 presentó valores bajos, comparables al control. Las cajas representan los rangos intercuartílicos, la línea central la mediana y los puntos individuales los valores experimentales.

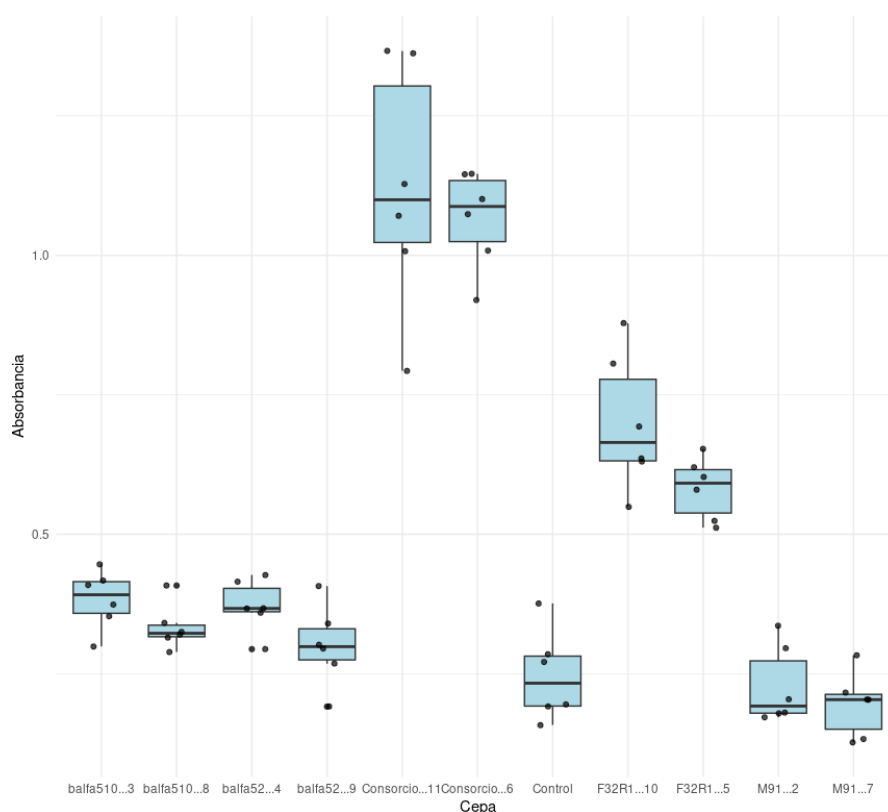


Figura 6. Producción de biofilm por cepas bacterianas individuales y en consorcio.

Se muestran los valores de absorbancia (570 nm) obtenidos en la cuantificación de biofilm para las cepas bα510, bα52, F32R1 y M91, sus respectivos consorcios y el control sin bacterias. El consorcio bacteriano presentó las absorbancias más elevadas, indicando la mayor capacidad de formación de biofilm, seguido por la cepa F32R1. Las cepas bα510 y bα52 mostraron valores intermedios, mientras que M91 presentó absorbancias bajas, cercanas al control. Las cajas representan los rangos intercuartílicos, la línea central la mediana y los puntos corresponden a los valores experimentales individuales.

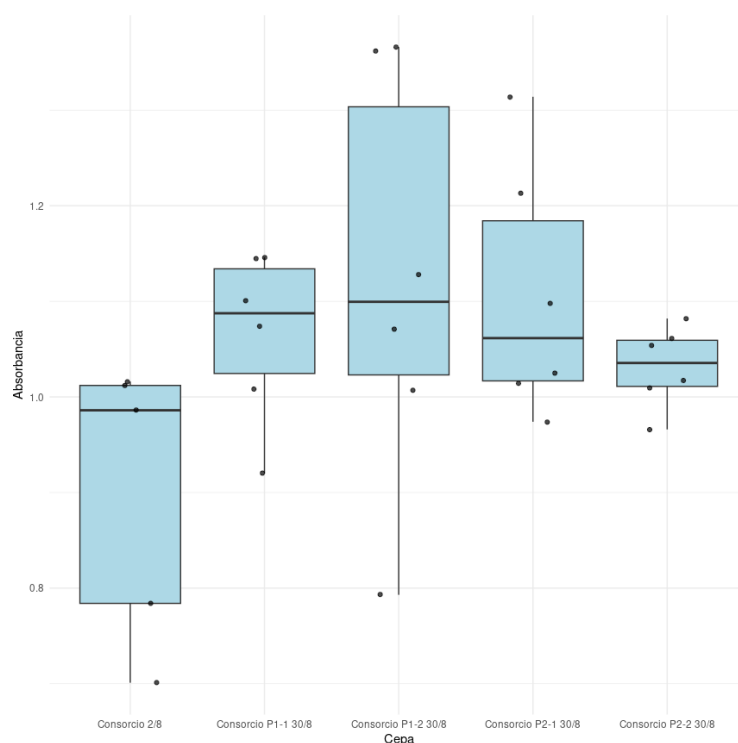


Figura 7. Producción de biofilm por los consorcios de las cuatro cepas. Conclusiones hasta el momento

Conclusiones

- Hasta ahora las conclusiones que tengo es que la exposición a TiO_2 ($50\text{--}150\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) así como Montmorillonita ($50\text{--}100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) no redujo la viabilidad ni la tasa de crecimiento de los aislados evaluados; sin embargo, la presencia de partículas ($\approx 600\text{ nm}$) provoca una OD de fondo por dispersión que debe corregirse y confirmarse mediante recuentos de $\text{UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$.
- La presencia de 50 y $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de TiO_2 o de montmorillonita no afectó la solubilización de fósforo ni la producción de sideróforos en los aislados evaluados. Se requieren ensayos con

concentraciones mayores y con consorcios bacterianos para confirmar un posible efecto inhibitorio.

- La formación de biofilm es una característica heterogénea entre cepas individuales, con F32R1 destacándose como la más eficiente. Sin embargo, la combinación en consorcio potencia significativamente la producción, lo que evidencia que la interacción microbiana favorece el establecimiento de comunidades adheridas y resilientes. Este hallazgo refuerza la importancia de evaluar bacterias tanto individualmente como en consorcio al considerar aplicaciones biotecnológicas

Bibliografía

- Bellino, M. G., Golbert, S., De Marzi, M. C., Soler-Illia, G. J. A. A., & Desimone, M. F. (2013). Controlled adhesion and proliferation of a human osteoblastic cell line by tuning the nanoporosity of titania and silica coatings. *Biomaterials science*, 1(2), 186–189.
<https://doi.org/10.1039/c2bm00136>
- Boroumand, N., Behbahani, M. & Dini, G. (2020). Combined Effects of Phosphate Solubilizing Bacteria and Nanosilica on the Growth of *Land Cress* Plant. *J Soil Sci Plant Nutr* 20, 232–243..
<https://doi.org/10.1007/s42729-019-00126-8>
- Britto, F., Penelas, M., Lombardo, M., Soler-Illia, G. (2023). Nanomaterials from the Bench to Industry.
https://www.researchgate.net/publication/368803008_Nanomaterials_from_the_Bench_to_Industry
- Castagno, L. N., Sannazzaro, A. I., Gonzalez, M. E., Pieckenstain, F. L., & Estrella, M. J. (2021). Phosphobacteria as key actors to overcome phosphorus deficiency in plants. *Annals of Applied Biology*, 178(2), 256–267.
<https://doi.org/10.1111/aab.12673>
- Chaín, J.M., Tubert, E., Graciano, C., Castagno, L.N., Recchi, M., Pieckenstain, F.L., Recchi, M; Estrella, M.J; Gudeslat, G; Amodeo, G; Barol, I. (2020). Growth promotion and protection from drought in *Eucalyptus grandis* seedlings inoculated with beneficial bacteria embedded in a superabsorbent polymer. *Sci. Rep.* 10:1-17
- Cumpa, L., Moriconi, J., Dip, D., Castagno, L., Puig, M., Maiale, S., Santa-María, G., Sannazzaro, A., & Estrella, M.J. (2021). Prospecting phosphate solubilizing bacteria in alkaline-sodic environments reveals intra-specific variability in *Pantoea eucalypti* affecting nutrient acquisition and rhizobial nodulation in *Lotus tenuis*. *Applied Soil Ecology*, Volume 168, <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104125>
- Estrella, M.J., Fontana, M.F., Cumpa, L.M., Torres Tejerizo, G.A., Diambra, L., Hansen, L.H., Pistorio, M., Sannazzaro, A.I. (2019). *Mesorhizobium intechi* sp. nov. isolated from nodules of *Lotus 1 tenuis* in soils of the Flooding Pampa, Argentina. *Systematic and Applied Microbiology. Systematic and Applied Microbiology*. [doi: 10.1016/j.syapm.2019.126044](https://doi.org/10.1016/j.syapm.2019.126044)
- INFOCAMPO. (2023, 27 de octubre). De la mano de la nanotecnología, la

- fertilización balanceada potencia el rinde de la soja.
<https://www.infocampo.com.ar/de-la-mano-de-la-nanotecnologia-la-fertilizacion-balanceada-potencia-el-rinde-de-la-soja/>
- INFOCAMPO. (2025, 24 de Junio). En la Cuenca del Salado, las nanopartículas de calcio podrían elevar hasta 18% el rendimiento de las pasturas.
<https://www.infocampo.com.ar/en-la-cuenca-del-salado-las-nanoparticulas-de-calcio-podrian-elevar-hasta-18-el-rendimiento-de-las-pasturas/>
- Fetsiukh, A., Conrad, J., Bergquist, J., & Timmusk, S. (2021). Silica Particles Trigger the Exopolysaccharide Production of Harsh Environment Isolates of Growth-Promoting Rhizobacteria and Increase Their Ability to Enhance Wheat Biomass in Drought-Stressed Soils. *International Journal of Molecular Sciences*, 2(12), 6201.
<https://doi.org/10.3390/ijms22126201>
- Kumar, A., Sheoran, P., Devi, S., Kumar, N., Malik, K., Rani, M., Kumar, A., Dhansu, P., Kaushik, S., Bhardwaj, A. K., Mann, A., & Yadav, R. K. (2024). Strategic Switching from Conventional Urea to Nano-Urea for Sustaining the Rice-Wheat Cropping System. *Plants (Basel, Switzerland)*, 13(24), 3523.
<https://doi.org/10.3390/plants13243523>
- O'Toole GA (2011) Microtiter dish biofilm formation assay. *J Vis Exp* 2011:2437
- Päll, T., Zagal-Venegas, E., Pavlicek, T., Nevo, E., & Timmusk, S. (2024). *Comparative analysis of microbial communities of soils under contrasting microclimates*. bioRxiv.
<https://doi.org/10.1101/2024.11.27.625671>
- Pezzon, M., Catalano, P. N., Pizarro, R. A., Desimone, M. F., Soler-Illia, G. J. A. A., Bellino, M. G., & Costa, C.S. (2017). Antibiofilm effect of supramolecular templated mesoporous silica coatings. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 77, 1044–1049.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.04.022>
- Romero, F.M., Marina, M., Pieckenstein, F.L. (2014). The communities of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) leaf-endophytic bacteria, analyzed by 16S-ribosomal DNA pyrosequencing. *FEMS Microbiol Lett* 351:187-194.
- Romero, F.M., Marina, M., Pieckenstein, F.L. (2016). Novel components of leaf-endophytic bacterial

- communities of field-grown tomato plants and their potential for plant growth promotion and biocontrol of tomato diseases. *Res. Microbiol.* 167:222-233.
- Sannazzaro, A.I., Otond, J., Bailleres, M., Andersen, M., Gualano, L., Biscayart, J., Biscayar, Tt., Pieckenstain, F.L., Estrella, M.J. (2024). Tratamientos de semillas con bacterias fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfato adaptadas a suelos alcalino-sódicos para la producción de *Lotus tenuis* en la Cuenca del Salado. *Revista MDA* 5: 76-80.
- Sannazzaro, A.I., Torres Tejerizo, G.A., Fontana, M.F., Cumpa, L.M., Hansen, L.H., Pistorio, M., Estrella, M.J. (2018). Mesorhizobium sanjuanii sp. nov. isolated from nodules of Lotus tenuis in saline-alkaline lowlands of Flooding Pampa, Argentina. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68: 2936-2942. doi: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002924>
- Scilletta, N. A., Pezzoni, M., Desimone, M. F., Soler-Illia, G. J. A. A., Bellino, M. G., & Catalano, P. N. (2021). Determination of Antibacterial Activity of Film Coatings Against Four Clinically Relevant Bacterial Strains. *Bio-protocol*, 11(2), e3887. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3887>
- Scilletta, N. A., Pezzoni, M., Desimone, M. F., Soler-Illia, G. J. A. A., Catalano, P. N., & Bellino, M. G. (2019). Transforming an inert nanopolymer into broad-spectrum bactericidal by superstructure tuning. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 178, 214–221. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.02.056>
- Stepanović, S., Vuković, D., Dakić, I., Savić, B., Švabić-Vlahović, M., 2000. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *J. Microbiol. Methods* 40, 175–179. [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(00\)00122-6](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(00)00122-6)
- The Future of Food and Agriculture: Trends and Challenges* (FAO, 2017); <https://reliefweb.int/report/world/future-food-and-agriculture-trends-and-challenges>
- Timmusk, S., Seisenbaeva, G., & Behers, L. (2018). Titania (TiO₂) nanoparticles enhance the performance of growth-promoting rhizobacteria. *Sci Rep* 8, 617. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18939-x>
- Xin, X., Nepal, J., Wright, A. L., Yang, X.,

He, Z. (2022). Carbon nanoparticles improve corn (*Zea mays* L.) growth and soil quality: Comparison of foliar spray and soil drench application.

J. Clean. Product. 363, 132630. doi:
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.132630>

Zhang, H., Zheng, T., Wang, Y., Li, T., Chi, Q. (2024), Multifaceted impacts of nanoparticles on plant nutrient absorption and soil microbial communities. *Front. Plant Sci.* 15:1497006. doi:
10.3389/fpls.2024.1497006

9.- Desafíos de biotecnología y bioquímica

Desarrollo de un sistema de etiquetado por proximidad para identificar proteínas asociadas a R-loops en el procesamiento co-transcripcional de pri-miARNs en *Arabidopsis*

Autor: Fernández, Josefina; josefinafernandez2202@gmail.com

Orientador/a: Manavella, Pablo A.; pablomanavella@ihsm.uma-csic.es

Gonzalo, Lucía; luciigonzalo@gmail.com

Universidad Nacional del Litoral / Instituto de Agrobiotecnología del Litoral

Resumen

Los microARNs (miARNs) son esenciales en la regulación de la expresión génica de organismos superiores. En plantas, su biosíntesis comienza con la transcripción de los genes *MIRNA* por la ARN polimerasa II (ARNPII) para dar lugar a transcriptos primarios llamados pri-miARNs, que son reconocidos por el procesador formado por DICER-LIKE 1 (DCL1), HYPONASTIC LEAVES 1 (HYL1) y SERRATE (SE). Luego de sucesivos pasos de clivaje, los miARNs maduros se asocian a proteínas ARGONAUTA (AGO) para ejercer su función en el silenciamiento génico. Recientemente se ha demostrado que, además de ocurrir de manera post-transcripcional, el procesamiento de los pri-miARNs puede llevarse a cabo de manera co-transcripcional, cuando estos continúan unidos a la ARNPII. Curiosamente, se ha visto que la presencia de un híbrido ARN:ADN (R-loop) cerca del sitio de inicio de la transcripción de los genes *MIRNA* promueve el procesamiento co-transcripcional de los pri-miARNs, mediante un mecanismo aún desconocido. Para tratar de dilucidar esto, nos propusimos encontrar proteínas que actúen en este proceso, desarrollando un sistema de etiquetado por proximidad empleando la biotina ligasa TurboID. Se utilizó una versión inactiva de Cas9 (dCas9) fusionada a TurboID, para dirigirla específicamente a los *loci MIRNA* que poseen R-loops y sus pri-miARNs se procesan mayormente de forma co-transcripcional. De esta manera, se incorporarán moléculas de biotina a las proteínas cercanas a los R-loops, pudiendo identificarlas posteriormente por precipitación con estreptavidina y espectrometría de masas. De esta forma, encontraremos posibles nuevos actores involucrados en el mecanismo por el cual los R-loops favorecen el procesamiento co-transcripcional de pri-miARNs.

Palabras clave: miARN, procesamiento co-transcripcional, TurboID.

Introducción

Las plantas, al ser organismos sésiles, han desarrollado una amplia gama de mecanismos para regular la expresión génica, lo que les permite adaptarse a diversas condiciones ambientales, incluidas adversidades climáticas, disponibilidad de nutrientes y diferentes tipos de estrés, tanto bióticos como abióticos. Entre estos mecanismos, se destaca la acción de ARN pequeños, moléculas de aproximadamente 20 a 24 nucleótidos de longitud, que desempeñan un papel central en las vías de silenciamiento génico transcripcional (TGS del inglés Transcriptional Gene Silencing) y post-transcripcional (PTGS del inglés Post-Transcriptional Gene Silencing) en organismos superiores (Manavella et al., 2019; Zhan & Meyers, 2023). Los ARN pequeños se han clasificado en subfamilias según sus orígenes, mecanismos de biogénesis, proteínas involucradas en cada vía, y en sus modos de acción (Axtell, 2013). Una de estas subfamilias son los micro ARNs (miARNs), moléculas de 21 nucleótidos que, mediante complementariedad de bases, reconocen ARN mensajeros (ARNm) diana y regulan su expresión por clivaje o inhibición de la traducción (Bologna & Voinnet, 2014). Esto convierte a los miARNs en las principales moléculas encargadas del PTGS en organismos superiores.

La biogénesis de los miARNs comienza

con la transcripción, por parte de la ARN polimerasa II (ARNPII), de los genes *MIRNA* para producir transcritos primarios con una estructura característica de tallo-bucle, denominados pri-miARNs. La región de ARN bicatenario de los pri-miARNs es reconocida por DICER-LIKE 1 (DCL1), HYPONASTIC LEAVES 1 (HYL1) y SERRATE (SE), principales proteínas del complejo de procesamiento o microprocesador (Achkar et al., 2016; Mencia et al., 2023). Luego de sucesivos pasos de procesamiento, el miARN maduro es cargado en ARGONAUTE 1 (AGO1) formando el complejo efector RISC (siglas en inglés para Complejo de Silenciamiento Inducido por ARN), el cual finalmente induce el silenciamiento génico. Inicialmente, se creía que la biogénesis de miARNs en plantas seguía un mecanismo del tipo paso a paso, similar al que se desarrolla en animales, pero descubrimientos recientes han revelado que en plantas este proceso es dinámico y continuo (Achkar et al., 2016; Cambiagno et al., 2021; Gonzalo et al., 2022).

Trabajos anteriores demostraron que el microprocesador se ensambla en los loci *MIRNA* durante su transcripción, proceso favorecido por HASTY (HST) al reclutar a DCL1 hacia los pri-miARNs nacientes por interactuar con el complejo Mediator (Cambiagno et al., 2021; Fang et al., 2015). Esto posibilita que el procesamiento de los pri-miARNs pueda ocurrir mientras aún

están siendo transcritos por la ARNP_{II}, proporcionando evidencia de un acoplamiento entre la transcripción y el procesamiento de miARNs (Gonzalo et al., 2022). Esta evidencia demuestra la existencia de un balance entre el procesamiento canónico (post-transcripcional) y el procesamiento asociado a la transcripción (co-transcripcional) de los pri-miARNs.

Curiosamente, se observó que el procesamiento co-transcripcional de pri-miARNs se ve favorecido por la presencia de R-loops, una estructura de tres hebras compuesta por un híbrido ADN:ARN y una hebra libre de ADN, cercanos al sitio de inicio de la transcripción (SIT) de los genes *MIRNA*. Además, los pri-miARNs en los que prevalece el procesamiento co-transcripcional por sobre el post-transcripcional, originan miARNs que son capaces de abandonar la célula en la que fueron sintetizados, ya sea, célula a célula vía plasmodesmo, o hacia órganos distantes a través del floema, para cumplir su función de silenciamiento (Gonzalo et al., 2022). Estos descubrimientos han planteado nuevos interrogantes ¿Podemos dilucidar por qué los R-loops cerca del SIT de los genes *MIRNA* promueven el acoplamiento entre la transcripción y el procesamiento de miARNs? El procesamiento co-transcripcional, ¿proporciona neofuncionalización a ciertos miARNs?

Durante el desarrollo de este trabajo, se ha generado un sistema de etiquetado por proximidad, con el objetivo de identificar proteínas específicamente asociadas a R-loops cercanos al SIT de genes *MIRNA*. El análisis posterior de las proteínas identificadas en este estudio contribuirá a responder las preguntas previamente planteadas.

Objetivos

Objetivo General

Desarrollar un sistema de etiquetado por proximidad dirigido a *loci MIRNA* que presenten R-loops cercanos a su SIT, con el fin de identificar las proteínas asociadas a estas estructuras.

Objetivos Particulares

- Obtención de líneas estables de *Arabidopsis thaliana* portadoras del constructo dCas9-TurboID y guías de ARN (gARNs) para los genes MIR165A y MIR160B.
- Selección de líneas respecto a los niveles de expresión de la fusión dCas9-TurboID y la capacidad de biotinylación.
- Comprobación del correcto direccionamiento de la proteína de fusión dCas9-TurboID a los loci deseados.
- Obtención de plantas dobles transgénicas de *Arabidopsis thaliana*, conteniendo las construcciones (1) dCas9-TurboID/gARN y (2) dCas9-RNaseH/gARN o dCas9-

dRNasaH/gARN.

- Purificación de proteínas biotiniladas y preparación de las mismas para su identificación por espectrometría de masas.

Materiales y Métodos

Diseño de las gARN

Se utilizó el programa CRISPR-P 2.0 para generar guías que se unan específicamente a los genes *MIR165A* y *MIR160B*, diseñadas para dirigir al complejo a la región donde se conoce que se forman los R-loops. Para cada gen se seleccionaron las tres guías con mejor score, teniendo en cuenta que no hibride con otra región del genoma, la posibilidad de formar estructuras secundarias que interfieran en el proceso y la posición sobre el R-loop. Las guías seleccionadas se representan gráficamente según su hibridación en los loci *MIRNA* en la Figura 1.

Obtención de los vectores con las construcciones dCas9-TurboID y la gARN

Los vectores fueron sintetizados por la empresa VectorBuilder. Para confirmar que las construcciones sean las esperadas y no contengan mutaciones que influyan negativamente en los próximos pasos

experimentales, se secuenció el plásmido completo con tecnología *Nanopore* por la empresa Eurofins.

Mediante el uso de la proteína dCas9, variante que posee los sitios catalíticos inactivos, junto con gARNs buscaremos dirigir la proteína TurboID a los R-loops ubicados en genes *MIRNA*. En ese contexto, la proteína TurboID -una biotina ligasa inespecífica-, marcará con biotina todas las proteínas asociadas a los R-loops blanco (Branon et al., 2018). Además, usaremos el constructo dCas9-TurboID sin ninguna gARN como control, para determinar el nivel de biotinilación no específica. Todos los vectores sintetizados se encuentran resumidos en la Tabla 1.

Transformación bacteriana, Floral-Dip y selección de plantas de *Arabidopsis thaliana*

Los vectores generados en el apartado anterior, se utilizaron para transformar, en primera instancia, células de *Escherichia coli DH5α* mediante electroporación, para asegurar su almacenamiento a largo tiempo. A su vez, se transformaron *Agrobacterium tumefaciens* GV3101 con los mismos vectores para, finalmente,

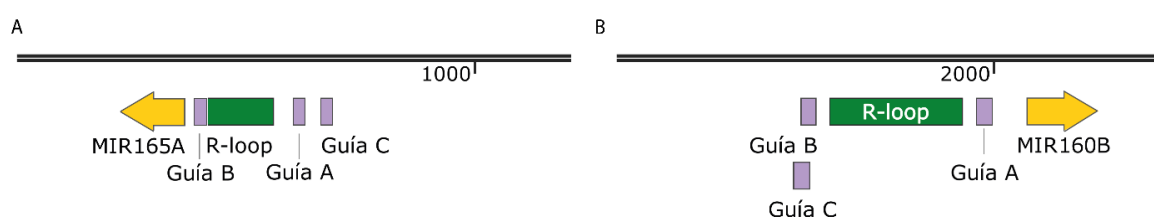


Figura 1. Representación esquemática donde se muestran los *MIR165A* (A) y *MIR160B* (B) (flechas amarillas), la posición donde se produce el R-loop (cajas verdes) y las posiciones donde hibridan las gARN diseñadas sobre cada locus (cajas lilas).

Vector	Construcción	Gen	Guía	Secuencia de la guía (5'-3')
pJF04	dCas9-TurboID	MIR165A	Guía B	TCATGATAATCGATCTTAGCAG
pJF05	dCas9-TurboID	MIR160B	Guía B	TCAAAATGCACCTTTATGTT
pJF06	dCas9-TurboID	MIR160B	Guía A	TATCCACCAATCATATTTAA
pJF07	dCas9-TurboID	MIR165A	Guía A	AAACCCTAGCTTTTTCAAAA
pJF08	dCas9-RNasaH	MIR165A	Guía C	CGCAGTTACTGCTTATATTT
pJF09	dCas9-RNasaH	MIR160B	Guía C	CTTGGCCTTCAAAATGCACC
pJF10	dCas9-dRNasaH	MIR165A	Guía C	CGCAGTTACTGCTTATATTT
pJF11	dCas9-dRNasaH	MIR160B	Guía C	CTTGGCCTTCAAAATGCACC
pAI10	dCas9-TurboID	-	-	-

Tabla 1. Resumen de los vectores generados durante el desarrollo del trabajo.

mediante la técnica Floral-Dip, transformar plantas de *Arabidopsis thaliana*. Las transformaciones se realizaron en el ecotipo Col-0 y en la línea mutante *rdr6*. RDR6 es una ARN polimerasa dependiente de ARN que juega un rol central en el silenciamiento génico. Se eligió trabajar con esta mutante para disminuir posibles procesos de silenciamiento génico en las sucesivas generaciones. Las semillas obtenidas de estas plantas fueron seleccionadas por resistencia al antibiótico kanamicina, otorgada por la construcción incorporada.

Genotipado

Para verificar la integración de las construcciones de interés al genoma, a las plantas que superaron la selección por kanamicina, se les extrajo ADN genómico a partir de una hoja de roseta. Luego, se realizaron reacciones de PCR, utilizando un oligonucleótido que hibrida sobre la secuencia de la guía (Forward) y otro que hibrida sobre el promotor de la fusión

dCas9-TurboID (Reverse). Además, se realizó un control negativo reemplazando el ADN genómico por agua y un control positivo utilizando el plásmido empleado para la transformación correspondiente. Los productos de las PCR se visualizaron en geles de agarosa al 1,5%.

Clonado de gARN en vectores portadores de las construcciones dCas9-RNasaH y dCas9-dRNasaH

Se realizó por la técnica de clonado denominada GoldenGate. En primera instancia, se hibridaron los oligonucleótidos diseñados para formar las gARN dirigidas a los genes *MIR165A* y *MIR160B*. La formación de este híbrido genera extremos 3' sobresalientes, compatibles con los extremos generados por la enzima de restricción BsaI, necesarios en los siguientes pasos. Para este método se mezcló en un mismo tubo una de las gARN, el vector correspondiente, la enzima de restricción BsaI y la T4 ADN ligasa. Luego, en

termociclador se realizó un ciclado de sucesivos pasos de corte y ligación, los cuales producirán la correcta integración de la guía al vector. Es necesario destacar que la secuencia generada luego de la ligación del gARN y el vector, es diferente a la reconocida por BsaI, impidiendo que ésta vuelva a cortar. Se verificó la integridad de los vectores obtenidos mediante reacciones de PCR y secuenciación Sanger por la empresa MacroGen, los mismos se resumen en la Tabla 1.

Además de dirigir TurboID a los loci *MIRNA* con R-loops, se emplearán otras guías para localizar en estas regiones la enzima RNaseH. Esta enzima tiene la capacidad de clivar específicamente el ARN en que se encuentra formando parte de los híbridos ADN:ARN, desarmando así los R-loops. Estas construcciones serán posteriormente utilizadas para co-transformar plantas de *Arabidopsis thaliana* y funcionarán como controles. En última instancia, se compararán las proteínas biotiniladas en presencia de R-loops —mediante la utilización de la versión inactiva dRNaseH— con aquellas detectadas cuando se emplee la versión activa de RNaseH, en ausencia de R-loops. Esta comparación permitirá identificar proteínas que se asocian específicamente a los loci *MIRNA* por la presencia de estas estructuras.

En la Figura 2 puede observarse un

esquema del escenario que pretendemos generar con las construcciones generadas.

Análisis de la expresión de la construcción dCas9-TurboID en las líneas generadas

Con el fin de analizar la expresión a nivel transcripcional de la construcción introducida, se extrajo ARN de plántulas de *Arabidopsis thaliana* de 15 días. Se realizó una transcripción reversa (con oligonucleótido dT) seguida de PCR cuantitativa (RT-qPCR) para determinar los niveles de transcripto; para esto se utilizaron oligonucleótidos que hibridaban en la secuencia codificante para dCas9.

Por otro lado, se analizaron los niveles de proteína mediante la técnica de *Western blot*. Para esto se realizó una extracción de proteínas en plántulas de 15 días de *Arabidopsis*. Se utilizó un anticuerpo anti-HA (etiqueta presente en la fusión dCas9-TurboID), y un anticuerpo secundario anti-IgG de ratón fusionado a HRP para su revelado.

Análisis de la capacidad de biotinilación

Se utilizaron plántulas de 15 días para realizar el tratamiento con biotina durante 3 horas. Luego de este tiempo se procedió a la toma de muestra, con las cuales posteriormente se realizó la extracción de proteínas seguida de *Western blot*, revelando con estraptavidina conjugada a HRP.

Análisis del direccionamiento de la construcción a los loci esperados

Se tomaron plántulas de 15 días a las

Locus	Oligonucleótido Forward (5'-3')	Oligonucleótido Reverse (5'-3')	Tamaño del producto (en pares de bases)
MIR165A	GTGAATGGTGATGATGGTGTTATG	AGGAATGACGACCTGTTTCTG	97
MIR160B	GATCGACGTATAAGCTATCCACC	GCCAGGCACGACTATTATTCC	91
MIR408	CCCTAAGAAATAACACAAACACAAA GG	CTCTCTCATTACCGCTTTGTCT TC	106

Tabla 2. Oligonucleótidos utilizados para la amplificación de los fragmentos de interés en el experimento de ChIP.

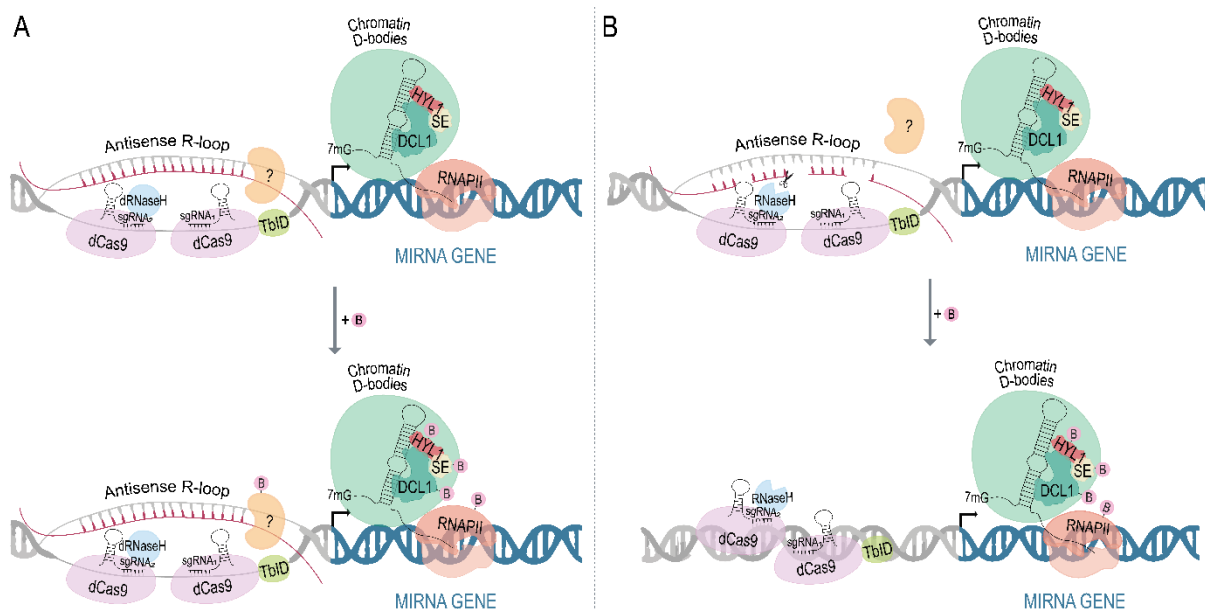


Figura 2. Esquema representativo del funcionamiento del sistema dCas9-TurboID/dCas9-dRNasaH (A) y dCas9-TurboID/dCas9-RNasaH (B)

cuales se les realizó una inmunoprecipitación de la cromatina (ChIP) utilizando el anticuerpo anti-HA (el cual reconoce la construcción dCas9-TurboID). Con las muestras de ADN resultantes del ChIP, se realizaron reacciones de PCR utilizando oligonucleótidos específicos para hibridar en los *loci de los genes MIR165A* y *MIR160B*, donde estaban dirigidas las gARN y donde se posicionaría la dCas9-TurboID. Dichos oligonucleótidos se detallan en la Tabla 2. Como control de la especificidad obtenida en el experimento de ChIP, se adicionó un tercer par de

oligonucleótidos, específico para hibridar en el locus del gen *MIR408*. Los productos de estas PCR se visualizaron en geles de agarosa al 2%.

Resultados y Discusión

Siguiendo la metodología descrita se logró detectar la incorporación al genoma de la construcción de interés en las plantas transformadas con los vectores pJF04, pJF05, pJF06, pJF07 y pAI10, lo que sugiere que estas plantas serían potencialmente capaces de expresar la fusión dCas9-TurboID y las gARN

correspondientes.

De las plantas que dieron positivas en el genotipado, se seleccionaron cinco líneas independientes de las construcciones JF04, JF05 y JF06, y dos líneas de la construcción JF07, todas en el *background* mutante *rdr6*. Con el objetivo de analizar la expresión de la construcción dCas9-TurboID, se analizaron los niveles de transcripto en las líneas seleccionadas mediante RT-qPCR (Figura 3). Los niveles de ARN de dCas9-TurboID se relativizaron a los niveles de actina y a la línea que presentaba la expresión más baja de este transcripto.

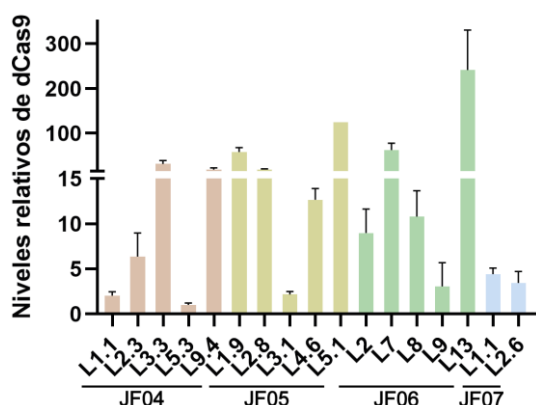


Figura 3. Niveles de transcripto de dCas9-TurboID en las diferentes líneas JF04, JF05, JF06 y JF07. Las barras de error representan el error estándar de la media.

Se decidió continuar trabajando con las dos líneas que presentan mayores niveles de transcripto. Estas fueron: L3.3 y 9.4 para JF04, L1.9 y 5.1 para JF05, L7 y 13 para JF06 y L1.1 y 2.6 para JF07.

Posteriormente, se incubaron con biotina 15 plántulas de 15 días por línea, utilizando agua como control (Mock). También se

incorporaron en este paso plántulas correspondientes a la construcción AI10 (dCas9-TurboID sin guías) y mutantes *rdr6* sin transformar. Luego del tratamiento se extrajeron proteínas y se realizaron dos *Western blot*. Con el primero se verificó la correcta expresión a nivel proteico de la construcción dCas9-TurboID de las líneas JF04, JF05, JF06, JF07 y AI10 (Figura 4, puntas de flecha). En estos *Western blots* se pueden observar productos de fragmentación de la construcción dCas9-TurboID que mantienen la etiqueta de HA. Además, cabe destacar que las diferentes líneas analizadas poseen diferentes niveles proteicos entre ellas. Favorablemente, en las muestras de plantas *rdr6* sin transformar, no se detectan interacciones inespecíficas. En el *Western blot* realizado, utilizando estraptavidina conjugada a HRP, se analizó la actividad de TurboID, la cual se observó por la acumulación de proteínas biotiniladas en las plantas tratadas con Biotina en comparación con los controles negativos (Figura 5).

Por lo tanto, podemos afirmar que las plantas transgénicas obtenidas son capaces de biotinilar proteínas gracias a la presencia de TurboID. Se destaca que para la línea control AI10 (sin guías, pero con dCas9-TurboID) no se observaron diferencias entre las plantas tratadas con biotina y las controles (Figura 5), aunque son capaces de expresar la fusión dCas9-

TurboID (Figura 4). Deberemos estudiar

se continuó trabajando con una línea de

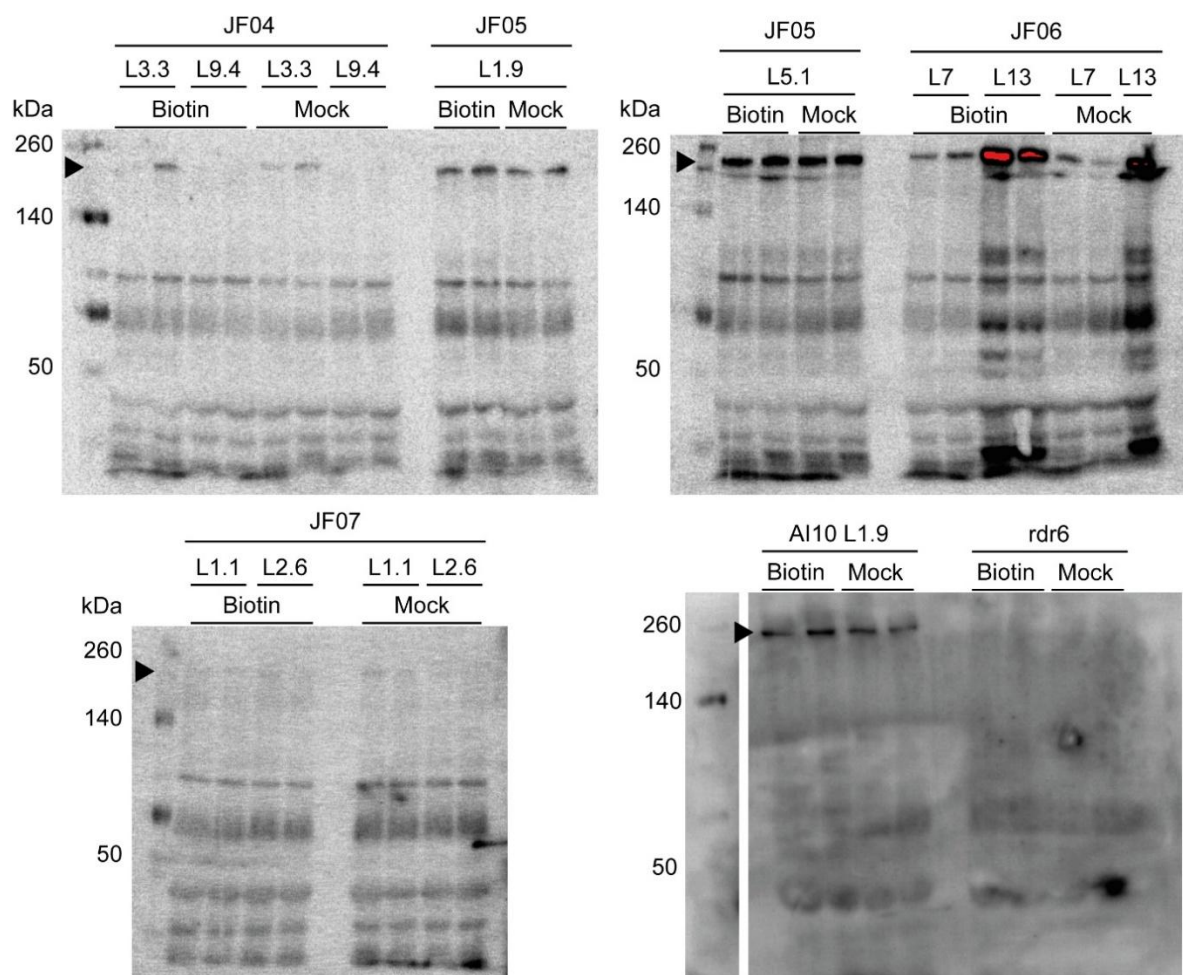
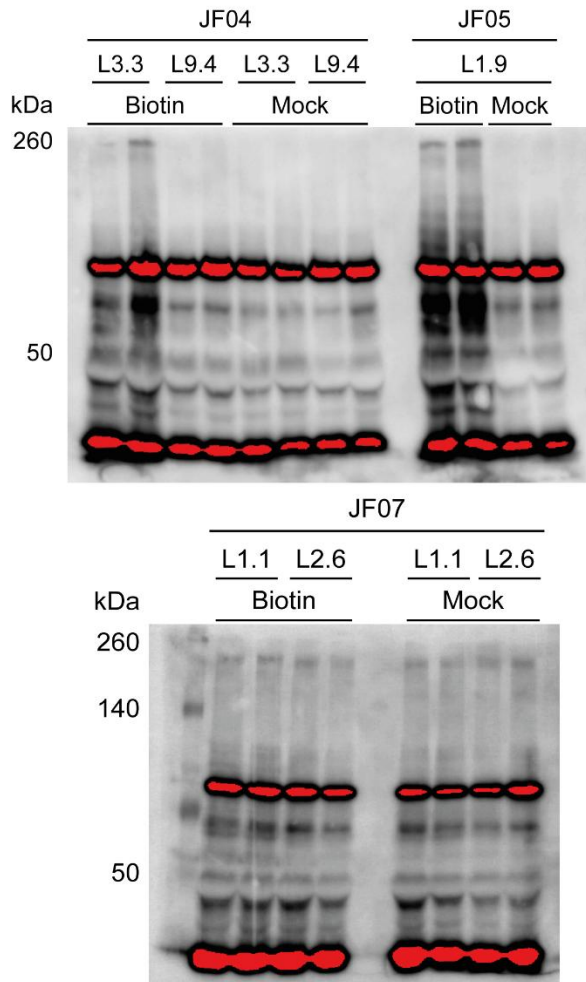


Figura 4. Western blot para verificar la presencia de la fusión dCas9-TurboID. La misma tiene un peso molecular de aproximadamente 200 kDa y se señala con el triángulo. En las muestras utilizadas como control negativo (plantas *rdr6* sin transformar) se evidencia la ausencia de la proteína de fusión.

con más profundidad el motivo por el cual la biotinilación no es efectiva y repetir este ensayo para poder realizar conclusiones adecuadas. Como el objetivo de este trabajo es producir la biotinilación específica de proteínas asociada a los R-loops en los *loci* de los genes de interés, se realizó una inmunoprecipitación de la cromatina (ChIP) para confirmar la unión de dCas9-TurboID en estas posiciones por acción de la gARN. Para este experimento,

cada construcción: L3.3 para JF04, L1.9 para JF05, L7 para JF06, L1.1 para JF07 y L1.9 para AI10. Se esperaría la inmunoprecipitación específica de fragmentos de ADN correspondientes a los *loci MIR165A* (en las líneas JF04 y JF07) y *MIR160B* (en las líneas JF05 y JF06), debido a que las gARN de dCas9 posicionarán a la fusión en esas regiones del genoma. Para este ensayo se utilizan dos controles, uno denominado INPUT, que

representa los fragmentos de ADN antes



detecta amplificación. Además, en las

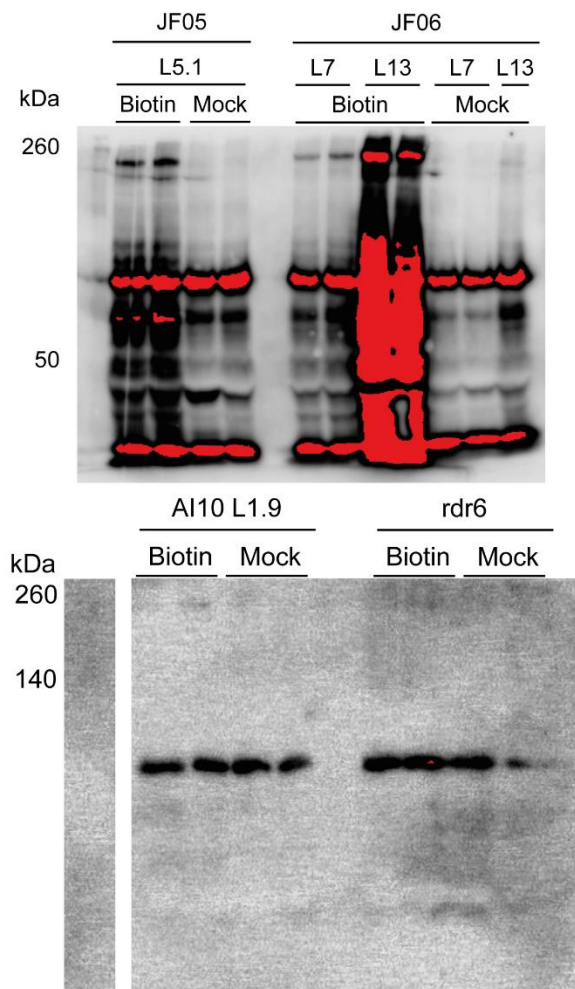


Figura 5. Western blot con estraptavidina-HRP para verificar la presencia de biotina.

de la inmunoprecipitación (todo el genoma), y el control IgG, en el que la inmunoprecipitación se realiza con un anticuerpo anti-IgG (el cual no debería de unir ADN). Los resultados obtenidos se observan en la Figura 6.

Podemos observar que, las reacciones realizadas con oligonucleótidos que hibridan en el locus MIR160B (Figura 6A) fueron exitosas en amplificar el producto esperado en las muestras de las IPs de las líneas JF05 y JF06, mientras que en sus respectivos controles negativos no se

líneas JF04 y JF07, las cuales poseen gARN dirigidas a otro locus, sólo se detecta amplificación en los INPUTs, como es de esperar. Respecto a las IPs realizadas en las líneas JF04 y JF07, las cuales poseen guías específicas hacia el locus del MIR165A, no se obtuvieron los resultados esperados, no pudiéndose detectar amplificación (Figura 6B). Podrían repetirse las PCRs con oligonucleótidos diferentes, pero igualmente específicos para este locus, o cambiar las condiciones de la reacción optimizando el resto de las

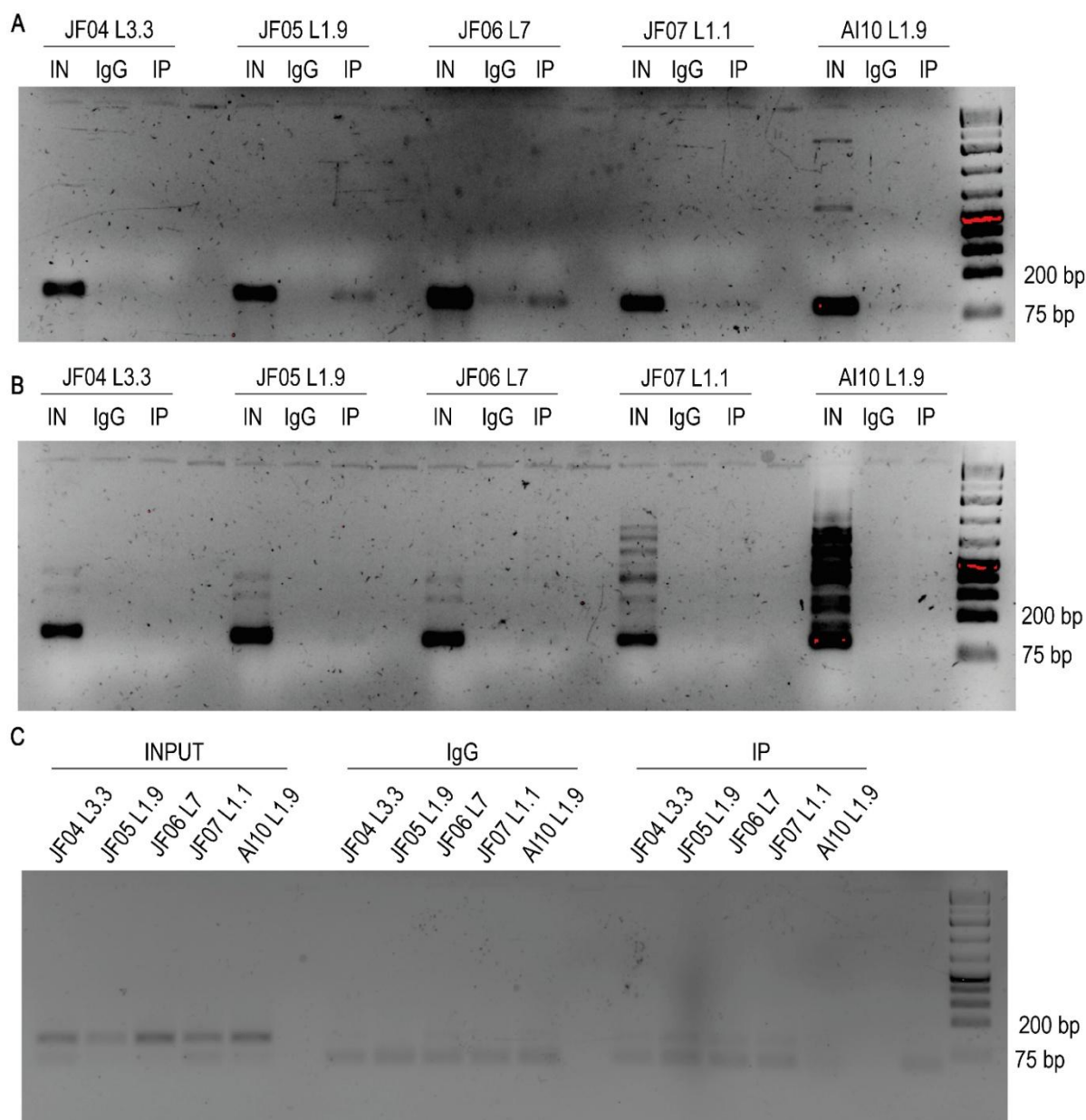


Figura 6. PCR realizadas luego del experimento de ChIP, con oligonucleótidos específicos para los loci *MIR160B* (A), *MIR165A* (B) y *MIR408* (C). IN=INPUT, IP=muestras provenientes de la inmunoprecipitación.

variables. Igualmente, no podemos descartar que la gARN utilizada no sea funcional, o que experimentalmente hayamos fallado para estas muestras, por lo que debe repetirse el experimento con una mayor cantidad de muestra y también se debe considerar la incorporación de más réplicas. Debemos destacar que las

reacciones realizadas con oligonucleótidos para el locus *MIR408*, fueron negativas tanto para la IP como el control negativo, solo pudiéndose detectar en el INPUT, este resultado es el esperado, ya que la dCas9-TurboID no debe localizarse en esa posición. Se confirmó así la especificidad de las guías diseñadas (Figura 6C).

Respecto a los vectores generados con las construcciones dCas9-RNasaH/dRNasaH y las respectivas guías, luego de llevado a cabo método de clonado *Golden Gate* y las transformaciones de bacterias *E. coli*, se corroboró su clonado por reacciones de PCR con oligonucleótidos específicos, obteniéndose resultados positivos para todos los clones analizados. Las construcciones que contiene cada vector se resumieron en la Tabla 1. Además de esta confirmación por PCR, los vectores fueron corroborados y confirmados mediante secuenciación Sanger. Estos vectores se utilizaron para transformar células de *A. tumefaciens*, las cuales se emplearon para la transformación de plantas de *Arabidopsis* mediante *Floral-Dip*. La transformación resultó exitosa, obteniéndose la primera generación de transgénicas. Estas deberán ser propagadas y genotipadas, para luego realizar las cruza con las líneas portadoras de la construcción dCas9-TurboID.

Conclusiones

Durante el desarrollo de este trabajo, fue posible la obtención de líneas estables de *Arabidopsis* capaces de expresar la construcción dCas9-TurboID con sus respectivas gARNs. La fusión proteica expresada resultó ser funcional, ya que se detectó la incorporación de biotina a las proteínas extraídas de plantas tratadas.

Pudo corroborarse, además, que en el caso de las líneas JF05 y JF06 las reacciones de biotinilación pueden estar dirigidas a al *locus* esperado, ya que se evidenció la capacidad de la gARN de posicionar la fusión en la región de interés. Más allá de los avances conseguidos, se debe continuar con este proyecto para lograr un sistema de etiquetado por proximidad que garantice la direccionalidad a los loci deseados, además de lograr las condiciones de ausencia o presencia de los R-loops, para abordar a resultados concluyentes respecto a las proteínas que podrían estar implicadas en promover el procesamiento co-transcripcional. Los pasos a seguir son:

- Tratamiento de las plantas portadoras de dCas9-TurboID con RNasaH para deshacer los R-loops. Esta tarea se plantea como plan de contingencia en caso de no poder obtenerse las plantas dobles transgénicas dCas9-TurboID + dCas9-RNasaH/dRNasaH. Si bien no será un tratamiento específico para los R-loops de interés como si lo sería utilizando las dCas9 con las guías, en el laboratorio ya se ha desarrollado esta técnica con buenos resultados (Gonzalo et al., 2022)
- Incubación con biotina y purificación de proteínas biotiniladas con beads magnéticas conjugadas a estraptavidina.
- Espectrometría de masas y análisis de

las proteínas identificadas cerca de los *loci MIRNA*, tanto en ausencia como en presencia de los R-loops.

Referencias Bibliográficas

- Achkar, N. P., Cambiagno, D. A., & Manavella, P. A. (2016). miRNA Biogenesis: A Dynamic Pathway. In *Trends in Plant Science* (Vol. 21, Issue 12, pp. 1034–1044). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.09.003>
- Axtell, M. J. (2013). Classification and comparison of small RNAs from plants. In *Annual Review of Plant Biology* (Vol. 64, pp. 137–159). <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120043>
- Bologna, N. G., & Voinnet, O. (2014). The diversity, biogenesis, and activities of endogenous silencing small RNAs in Arabidopsis. In *Annual Review of Plant Biology* (Vol. 65, pp. 473–503). Annual Reviews Inc. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-035728>
- Branon, T. C., Bosch, J. A., Sanchez, A. D., Udeshi, N. D., Svinkina, T., Carr, S. A., Feldman, J. L., Perrimon, N., & Ting, A. Y. (2018). Efficient proximity labeling in living cells and organisms with TurboID. *Nature Biotechnology* 2018 36:9, 36(9), 880–887. <https://doi.org/10.1038/nbt.4201>
- Cambiagno, D. A., Giudicatti, A. J., Arce, A. L., Gagliardi, D., Li, L., Yuan, W., Lundberg, D. S., Weigel, D., & Manavella, P. A. (2021). HASTY modulates miRNA biogenesis by linking pri-miRNA transcription and processing. *Molecular Plant*, 14(3), 426–439. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.12.019>
- Fang, X., Cui, Y., Li, Y., & Qi, Y. (2015). Transcription and processing of primary microRNAs are coupled by Elongator complex in Arabidopsis. *Nature Plants*, 1(6). <https://doi.org/10.1038/NPLANTS.2015.75>
- Gonzalo, L., Tossolini, I., Gulanicz, T., Cambiagno, D. A., Kasproicz-Maluski, A., Smolinski, D. J., Mammarella, M. F., Ariel, F. D., Marquardt, S., Szweykowska-Kulinska, Z., Jarmolowski, A., & Manavella, P. A. (2022). R-loops at microRNA encoding loci promote co-transcriptional processing of pri-miRNAs in plants. *Nature Plants*, 8(4), 402–418. <https://doi.org/10.1038/s41477-022-01125-x>
- Manavella, P. A., Yang, S. W., & Palatnik, J. (2019). Keep calm and carry on: miRNA biogenesis under stress. In *Plant Journal* (Vol. 99, Issue 5, pp. 832–843). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/tpj.14369>
- Mencia, R., Gonzalo, L., Tossolini, I., & Manavella, P. A. (2023). Keeping up with the miRNAs: current paradigms of the biogenesis pathway. *Journal of Experimental Botany*, 74(7), 2213–2227. <https://doi.org/10.1093/jxb/erac322>

Zhan, J., & Meyers, B. C. (2023). Plant Small RNAs: Their Biogenesis, Regulatory Roles, and Functions. *Annual Review of Plant Biology*, 74(Volume 74, 2023), 21–51.
<https://doi.org/10.1146/ANNUREV-ARPLANT-070122-035226/CITE/REFWORKS>

A. Eje Interdisciplinario 5– Inclusión

Primera infancia y derecho al cuidado: propuesta de estándares de calidad para Centros de Cuidado en Mendoza

Autor: Julieta Agostina Giordano Email: julietagiordano96@gmail.com

Orientador/a: Nadia Tordi; Email: nadiaanahitordi1982@gmail.com

Universidad Nacional de Cuyo/ Facultad de Derecho

Resumen

En la provincia de Mendoza, los Centros de Cuidado de Primera Infancia cumplen un papel esencial en la garantía de derechos de niñas y niños, pero carecen de un marco normativo que establezca estándares de calidad claros y homogéneos. Esta investigación, enmarcada en el Proyecto SIIP IV “Adecuación normativa de estándares de calidad en los Centros de Cuidado de primera infancia en la provincia de Mendoza” de la Universidad Nacional de Cuyo, se propone elaborar lineamientos provinciales que orienten la mejora de estos espacios, tomando como referencia los marcos internacionales de derechos humanos, la legislación nacional vigente y experiencias comparadas de buenas prácticas. Se adoptó una metodología de enfoque mixto: por un lado, el análisis documental y normativo de leyes, tratados y políticas públicas; por otro, la recolección de información empírica mediante encuestas y entrevistas a actores institucionales clave. El abordaje combina la perspectiva jurídica con la realidad cotidiana de los Centros de Cuidado de Primera Infancia, integrando la mirada de quienes gestionan y trabajan en ellos. Este estudio obtuvo como resultado herramientas concretas para la formulación de políticas públicas inclusivas, equitativas y sostenibles, que aseguren condiciones adecuadas de infraestructura, proyecto pedagógico, accesibilidad, participación familiar y formación continua del personal, fortaleciendo así la protección y el desarrollo integral en la primera infancia.

Palabras clave: Primera Infancia, Centros de Cuidado de Primera Infancia, Estándares de Calidad

Introducción

La primera infancia es reconocida como una etapa crucial para el desarrollo integral de niñas y niños, en la que se sientan las bases para su bienestar presente y futuro. Durante estos primeros años se consolidan dimensiones físicas, cognitivas, socioemocionales y culturales que inciden de manera decisiva en su trayectoria vital (UNICEF, 2017). En este sentido, garantizar entornos seguros, estimulantes y protectores constituye una obligación prioritaria de los Estados, de conformidad con lo establecido en la Convención sobre los Derechos del Niño (Organización de las Naciones Unidas [ONU], 1989).

Los Centros de Cuidado de Primera Infancia cumplen un rol esencial en la provisión de servicios que integran cuidado, educación y acompañamiento familiar, contribuyendo a la igualdad de oportunidades desde los primeros años de vida (Boronat Pont, Buffa, Fridman & Karolinski, 2020). En la provincia de Mendoza, existen dos tipos de espacios que desarrollan estas funciones: los Centros Educativos de Primera Infancia (ex SEOS) y los Centros de Desarrollo Infantil y Familiar (CDIyF).

No obstante, la provincia carece de una normativa específica que establezca estándares de calidad aplicables a estos espacios, lo que provoca disparidades en aspectos como la infraestructura, los recursos humanos, las propuestas

pedagógicas y las condiciones de accesibilidad (Gobierno de Mendoza, Dirección de Políticas de Cuidado, 2022).

El presente trabajo, enmarcado en el proyecto SIIP IV aprobado por Resolución de Rectorado de la UNCuyo N°E-4428, Línea estratégica N°54: “Adecuación normativa de estándares de calidad en los Centros de Cuidado de Primera Infancia en la provincia de Mendoza”.

A los fines de este trabajo, la expresión Centros de Cuidado de Primera Infancia se utilizará para referirse de manera conjunta a los Centros Educativos de Primera Infancia (ex SEOS) y a los Centros de Desarrollo Infantil y Familiar (CDIyF).

Objetivos

Objetivo general

- Crear estándares provinciales de calidad que regulen los Centros de Cuidado de la Primera Infancia.

Objetivos Específicos

- Analizar publicaciones científicas, normativa, doctrina, que posibiliten un conocimiento teórico para la construcción de los estándares de calidad.
- Realizar un diagnóstico respecto a las distintas realidades provinciales de los Centros de Cuidado de Primera Infancia entre ellos Centros Educativos de Primera infancia (ex SEOS) y Centros de Desarrollo Infantil y Familiar (CDIyF).

- Realizar recomendaciones para mejorar la calidad de los Centros de cuidado de primera infancia de la Provincia de Mendoza.

Materiales y métodos

El presente estudio se construyó a partir de una estrategia metodológica mixta cuantitativa y cualitativa de tipo exploratorio sobre aspectos normativos, conceptuales, operativos y opiniones del personal de los Centros de Cuidado de la Primera Infancia en Mendoza.

La investigación se desarrolló en dos etapas:

En la primera etapa, se exploró y relevó información sobre el diseño de los Centros de Cuidado de Primera Infancia, analizando normativas y políticas públicas. También se elaboraron Estándares de Calidad, tomando como referencias normativas y principios internacionales.

La segunda etapa, se analizó la situación de los Centros de Cuidado de Primera Infancia a partir de las percepciones de los actores involucrados en su gestión. Para ello, se diseñó y administró un formulario en línea mediante Google Forms, compuesto por preguntas cerradas y abiertas, estructurado en seis apartados: (A) infraestructura y accesibilidad, (B) proyecto pedagógico, (C) participación familiar, (D) articulación de trabajo en red institucional de los Centros de Cuidado de Primera Infancia, (F) recursos humanos —

formación, estabilidad y cantidad— y (G) enfoque integral e inclusivo en atención a las necesidades de niñas y niños. En total se realizaron ciento ochenta encuestas a docentes, auxiliares y personal de Centros de Desarrollo Infantil y Familiar (CDIyF) y Centros Educativos de Primera Infancia (ex SEOS) de la provincia.

Además se realizaron diez entrevistas semiestructuradas a directoras de Centros de Desarrollo Infantil y Familiar (CDIyF) y Centros Educativos de Primera Infancia (ex SEOS), seleccionadas aleatoriamente. Las entrevistas se llevaron a cabo de forma presencial y telefónica, abordaron los mismos ejes temáticos que el cuestionario en línea, permitiendo ampliar y profundizar la información obtenida en las encuestas. Esta triangulación metodológica posibilitó contrastar la normativa vigente con la situación real de los centros, identificando fortalezas, debilidades y áreas de mejora.

Resultados y discusión

1- Aspecto normativo

Partiendo del aspecto normativo internacional, la Convención sobre los Derechos del Niño (Organización de las Naciones Unidas [ONU], 1989) establece, en su artículo 23, que los servicios de cuidado deben ser gratuitos siempre que sea posible y orientarse a garantizar que el niño acceda de manera efectiva a la educación, logre su integración social y favorezca su desarrollo individual, incluido

el cultural y el espiritual. En el caso de niñas y niños con discapacidad, impone la obligación de asegurar prestaciones que cumplan con las condiciones necesarias para su adecuado aprovechamiento. Por su parte, la Observación General N.º 7 (Comité de los Derechos de Niño, 2006) enfatiza la necesidad de que los servicios de cuidado de la primera infancia se ajusten a estándares de calidad, tanto en lo referido a la infraestructura como a la formación de los profesionales responsables.

En el ámbito nacional se encuentra La ley n° 26.061 (2005), de Protección Integral de derechos de niñas, niños y adolescentes (en adelante NNA), en ella se consagran específicamente los derechos de las NNA a vivir en familia y al acceso a la educación. Además, contamos con la ley 26.233 Centros de Desarrollo Infantil. Promoción y regulación (2007), esta ley da un marco regulatorio a los Centros de Desarrollo Infantil y los define como espacios destinados a la atención integral de niños y niñas de hasta cuatro años. También estableció los principios rectores de funcionamiento de los Centros de Desarrollo Infantil entre ellos se encuentra:

- a) Integralidad de los abordajes;
- b) Atención de cada niña y niño en su singularidad e identidad;
- c) Estimulación temprana a fin de optimizar su desarrollo integral;
- d) Igualdad de oportunidad y trato;
- e) Socialización e integración con las

familias y los diferentes actores del nivel local; f) Respeto a la diversidad cultural y territorial; g) Desarrollo de hábitos de solidaridad y cooperación para la convivencia en una sociedad democrática; h) Respeto de los derechos de niños y niñas con necesidades especiales, promoviendo su integración.

Por último, se destaca la Estrategia Nacional Primera Infancia Primero (ENPIP – Decreto 750/2019), la misma es una política pública Nacional orientada a garantizar los derechos de niñas y niños, cuyo propósito es reducir las brechas sociales y territoriales que inciden en el desarrollo integral de la primera infancia. Se trata de una propuesta intersectorial y federal.

A nivel provincial se encuentra la ley 9.139 de Sistema de Protección Integral de derechos de NNA (2019), en su artículo 27 establece como misión principal de los Centros de Desarrollo Infantil es garantizar el crecimiento y desarrollo saludable de niños y niñas de hasta cuatro años en situación de vulnerabilidad social.

Además, se afianzo la misión con el decreto provincial 2470/2019, con el mismo se implementó Plan Nacional de Primera Infancia, allí se establecieron metas para el cuidado, atención y educación para el período 2021/2023, con diferentes líneas de intervención, entre ellas se planteó una línea de educación y cuidado, que consiste en:

- a) Ampliar cobertura y oferta de salas

de 2 y 3 años. b) Establecer estándares básicos de calidad de la atención de los servicios de cuidado de niños y niñas en la Provincia. c) Incrementar la cantidad de educadores a cargo de los espacios de primera infancia. d) Incrementar las capacidades y habilidades del equipo docentes y equipos de orientación de nivel inicial y educadores de los espacios de primera infancia. e) Planificar una estrategia tendiente a la profesionalización de los agentes a cargo de la educación y cuidado de la primera infancia. (Dirección General de Escuelas, 2020)

De este modo, en los ámbitos internacional, nacional y provincial se ha desarrollado un conjunto de normativas y planes de acción orientados a garantizar la protección integral de la primera infancia.

2- Situación de los Centros de Cuidados de Primera Infancia en la Provincia de Mendoza.

En nuestra provincia existen dos espacios que trabajan sobre el cuidado y educación de niñas y niños, el primero de ellos son los Centros Educativos de Primera infancia (ex SEOS), que tienen como misión garantizar el servicio educativo, nutricional y social a niños y niñas de 45 días a 14 años, además llevan a cabo estrategias de vinculación sistemática y sostenida con las familias y actores comunitarios, una de sus características principales es que implementan estrategias de articulación

con el nivel inicial, nivel primario y educación especial. Surgieron por convenios con asociaciones y municipios, en la actualidad existen 441 instituciones distribuidas en toda la Provincia de Mendoza, y concurren 23.765 niñas y niños. (Dirección de protección y restitución de derecho, s.f)

El segundo espacio son los Centros de Desarrollo Infantil y Familiar (CDIyF) estos dependen de Dirección de Protección y Restitución de Derechos; que tienen como misión la atención integral de niños y niñas desde los 45 días hasta los 12 años. El Centro tiene como misión favorecer la crianza, el desarrollo, el cuidado, la educación no formal y el fortalecimiento de los vínculos familiares y comunitarios. En la actualidad existen 39 centros, distribuidos geográfica y estratégicamente según aquellas zonas de mayor vulnerabilidad socioeconómica y concurren 2.617 niños y niñas. (Gobierno de Mendoza, s. f.)

Ambas instituciones comparten el objetivo de garantizar la implementación de las políticas educativas dispuestas por la Subsecretaría de Educación y en la actualidad se encuentran bajo la órbita del Ministerio de Educación, Cultura, Infancias y Dirección General de Escuelas de la Provincia de Mendoza. (Gobierno de Mendoza, s. f.)

Frente a lo expuesto se advierte que existe una variedad de propuestas de espacios de cuidado para la primera infancia, que se

encuentran distribuidos en todo el territorio de la provincia de Mendoza; por lo cual resulta necesario conocer con profundidad su realidad, aspectos edilicios, su proyecto pedagógico, evaluación de competencias, la participación de la familia y la comunidad en estos centros, la articulación del trabajo en red con otras instituciones, recursos humanos con los que cuentan, entre otros.

3- Estándares normativos de calidad

En primer lugar debemos definir los estándares normativos de calidad, estos son un conjunto de dimensiones (calidad, cobertura, fortaleza institucional y políticas públicas) e indicadores que servirán como metas de cumplimiento progresivos, que deben ser garantizados en primer lugar a partir de la intervención de los distintos niveles de Estado y, corresponsablemente, por las mismas instituciones, de modo tal de generar condiciones de equidad en el acceso, en el desarrollo y crecimiento para todos los niños y niñas (Bonat Pont, Buffa, Fridman, Karokiski, 2020)

Una guía de estándares es un recurso útil y necesario para empezar a crear una cultura de autoevaluación y responsabilidad de las instituciones. Además, brinda a las familias seguridad al elegir un Centro que cumpla con los estándares de calidad.

A continuación, profundizaremos 6 categorías: A.- Infraestructura y

accesibilidad, B.- Proyecto Pedagógico, 3.- Participación familiar, C.- Articulación de trabajo en red institucional de los Centros de Cuidado de Primera Infancia, D.- Recursos humanos: formación, estabilidad y cantidad, E.- Enfoque integral e inclusivo en atención a las necesidades de las niñas y niños.

A. Infraestructura y accesibilidad

La infraestructura y accesibilidad de los centros de primera infancia hace referencia a las características físicas que integran sus dimensiones y estructura arquitectónica, las cuales posibilitan el desarrollo de las actividades diarias destinadas a niñas y niños. En primer lugar, se consultó al equipo de los Centros de Cuidado de Primera Infancia acerca de su capacidad para atender la demanda de la comunidad. A partir de las encuestas realizadas, se constató que el 76,5 % de los establecimientos cuentan con lista de espera. (Encuestas al personal, *datos internos*, 2024), lo que evidencia la insuficiencia de la capacidad edilicia para responder a los requerimientos comunitarios.

En segundo lugar, se consultó sobre las condiciones que presentan los centros de primera infancia; una de la directora sugirió que el edificio tiene 86 años y presenta falencias, por ejemplo, en las conexiones eléctricas antiguas, falta de puertas en los baños, falta de mesada en la cocina y no

presentan internet en gran parte del edificio. (comunicación personal, 2024).

Con relación con los baños adaptados para niños y niñas, se observó que muchos Centros no cuentan con esta infraestructura. En particular, uno de los edificio relevado carece de sanitarios aptos para niñas y niños, contando únicamente con dos baños de uso familiar (directora, comunicación personal, 2024).

Estándares de Infraestructura y accesibilidad sugerimos:

Infraestructura y seguridad general:

- Fortalecer la capacidad operativa de los Centros de Primera Infancia para dar respuesta adecuada a la demanda comunitaria.
- Implementar un plan de emergencia para casos de siniestro, que incluya: plano de evacuación; asignación de roles y responsabilidades a cada integrante de la institución; identificación de riesgos potenciales en el entorno; y establecimiento de rutas de evacuación claras y señalizadas. Este plan deberá contar con la aprobación de una entidad competente y complementarse con la realización periódica de simulacros.

- Instalar matafuegos en lugares estratégicos, de fácil acceso y debidamente señalizados.

Materiales y mobiliario

- Garantizar que los materiales utilizados en la construcción y mantenimiento de los Centros sean no tóxicos, ignífugos y que las pinturas empleadas sean lavables.
- Proteger ventanas en pisos altos con rejas que prevengan caídas, asegurando que puedan abrirse fácilmente por adultos en caso de incendio.
- Incorporar rampas que permitan el acceso a personas en sillas de ruedas.
- En caso de que existan escaleras, estas deberán contar con superficie antideslizante y barandas o rejas protectoras para resguardar a niños y niñas.

Instalaciones eléctricas y energéticas

- Ubicar tomacorrientes y enchufes a una altura mínima de 1,50 m para impedir el acceso de niños y niñas, asegurando que todas las instalaciones cuenten con puesta a tierra. Las cajas de llaves y tomas deberán instalarse a una altura superior a 1,10 m.
- Realizar y controlar las instalaciones de gas exclusivamente por gasistas matriculados.

- Asegurar que todas las instalaciones cumplan con las normas técnicas del ente regulador correspondiente.

frescos y secos a las condiciones necesarias para su correcta preservación.

Sistema de agua potable

- Garantizar que el agua destinada a niños y niñas sea potable,
- Limpiar el tanque de agua de la institución cada seis meses.
- Contar con instalaciones de agua fría y caliente para su uso en las distintas dependencias del Centro.

Sanitarios

- Disponer de al menos un inodoro y un lavamanos cada seis niñas o niños, con dimensiones adecuadas a su edad.
- Asegurar la provisión permanente de toallas limpias y en perfecto estado de higiene, así como de papel higiénico.
- Garantizar que el personal cuente con un baño exclusivo para su uso.

Almacenamiento y manipulación de alimentos

- Cumplir con lo establecido en el *Código Alimentario Argentino*.
- Exigir que el personal de cocina cuente, como mínimo, con un curso de manipulación de alimentos vigente.
- Adecuar los espacios de almacenamiento de productos

B. Proyecto pedagógico

El proyecto pedagógico hace referencia al conjunto de acciones e interacciones realizadas por los agentes educativos, de manera intencional y planificada, para proveer experiencias retadoras y significativas que favorezcan el proceso de aprendizaje y desarrollo de los niños y niñas. (Ministerio de Desarrollo Social, s.f) Además, La Corte Interamericana de Derechos Humanos ha establecido que los Estados deben garantizar que los sistemas educativos cuenten con la flexibilidad suficiente para responder a las necesidades y al desarrollo de cada NNyA. (2025).

De las entrevistas a directivos surge que los Centros llevan a cabo actividades recreativas y pedagógicas, mediante proyectos y planificaciones, además se atienden al niño, niña de forma integral, estando atento al desarrollo. (comunicación personal,2024).

Además, es muy importante para el desarrollo infantil, el monitoreo de los logros acordes a la edad de cada niño y niña. Cuando el equipo docente los observa detenidamente, pueden registrar si están alcanzando los hitos del desarrollo "típico" en su desarrollo físico, cognitivo, lingüístico, emocional y social. Se reconoce

la capacidad del habla y el desarrollo del lenguaje, sus habilidades para resolver problemas, habilidades motoras finas y gruesas, habilidades sociales y comportamientos. Además, intentan identificar las habilidades que poseen para ver si hay alguna "señal de alerta" o área de desarrollo que necesita apoyo adicional. Por lo que se torna necesario que puedan monitorear sus acciones y lleven un registro de los hitos del desarrollo.

De las entrevistas advertimos que algunas instituciones utilizan algún sistema de seguimiento. Cada docente, tiene ficha de cada niño o niña, teniendo un control, por ejemplo, si va al baño, como es su alimentación, si puede leer, además observa la conducta individual y grupal, estos seguimientos se hacen semanal o mensualmente. (comunicación personal, 2024). Sin embargo, se advierte que no existe un registro unificado e integral, quedando el monitoreo a la buena voluntad del docente o de la institución.

Cabe señalar, que las evaluaciones de resultados son una herramienta importante para medir el éxito de los Centros de Cuidado de Primera Infancia. A través de la evaluación de los resultados, es posible medir el progreso de los niños y niñas en áreas como el desarrollo cognitivo, social y emocional, lo que puede ayudar a identificar áreas en las que se necesitan

mejoras y ajustes en el plan de estudios. Además, las evaluaciones de resultados pueden ayudar a los padres a comprender mejor el progreso de sus hijos y a identificar áreas en las que pueden necesitar apoyo adicional en casa.

Estándares de calidad del Proyecto pedagógico sugerimos:

Dimensión administrativa-organizativa:

- Organizar horario de funcionamiento y; distribución de tareas y división del trabajo; organigrama; criterios y procedimientos de ingreso de niños y niñas (inscripción, documentación, período de adaptación inicial); organización de los grupos que conforman las salas; uso y organización de los espacios comunes; equipamiento y recursos disponibles.

Dimensión pedagógica:

- Designación de las/os educadoras/res a cargo de cada sala; planificación y evaluación de las propuestas; elaboración de cronogramas de actividades; organización de los sectores de juego, descanso, higiene y alimentación; selección y presentación de materiales educativos.

- Implementar un sistema informático de registro de datos que permita organizar y resguardar la información de niñas y niños de manera segura y actualizada.
- Diseñar e implementar actividades dirigidas a niñas y niños que favorezcan de manera integral el desarrollo físico, cognitivo, lingüístico y socioemocional.

C. Participación familiar

Es importante destacar que las familias son imprescindibles, ya que es el ámbito más adecuado para la crianza y el cuidado de los niños y niñas. La participación de las familias en los Centros de Cuidado de Primera Infancia es crucial para el desarrollo integral de los niños y niñas. Al involucrarse en la educación y cuidado de sus hijos e hijas, los padres y madres pueden crear un ambiente más seguro y acogedor en sus hogares, lo que a su vez mejora el bienestar emocional y social.

De las entrevistas con el cuerpo directivo establecen que los padres participan constantemente, de talleres, reuniones, capacitaciones. Además, las familias están muy comprometidas, ante la inasistencia o cualquier otro inconveniente que pueda afectar la permanencia del niños y niñas en el Centro, los referentes afectivos se comunican con la dirección para dar a conocer el por qué inasistencia o llevan los certificados pertinentes. De esta manera

los padres garantizan la continuidad del aprendizaje. *(comunicación personal, 2024).*

Estándares de calidad Participación familiar sugerimos:

- Elaborar una planificación anual, mensual y semanal de las actividades a desarrollar con las familias, incorporando instancias de evaluación de estas. Entre las posibles acciones se incluyen:
 - Talleres para compartir actividades con niñas y niños.
 - Espacios para intercambiar sugerencias o abordar temas de interés para las familias.
 - Celebraciones de fechas significativas.
 - Capacitaciones a cargo de especialistas.
- Acompañar a las familias mediante el registro sistemático de la salud integral de niñas y niños, con el fin de facilitar la articulación con diferentes instituciones, tales como centros de salud, equipos técnicos interdisciplinarios y otros organismos gubernamentales que se requieran.

D. Articulación de trabajo en red institucional de los Centros de Cuidado de Primera Infancia

La importancia de que los Centros de Primera Infancia trabajen en red con otras instituciones radica en reconocer que el desarrollo y el bienestar de niñas y niños, en esta etapa crucial de sus vidas, requieren un enfoque integral y colaborativo.

Además, permite establecer canales de comunicación y coordinación entre las diferentes instituciones que intervienen en el cuidado y desarrollo de los niños y niñas. Esto garantiza una continuidad en la atención, evitando brechas o duplicidades en los servicios.

De los resultados de la encuesta y de las entrevistas se desprende que el trabajo con la comunidad es significativo. La institución se encuentra situada entre dos barrios que presentan una alta problemática social, en los cuales, en muchos casos, se vulneran derechos. Frente a ello, se articulan acciones con diversas instituciones, como el centro de salud y organismos de protección, entre otros (Directivo, comunicación personal, 2024).

Estándares de calidad de articulación de trabajo en red institucional sugerimos:

- Desarrollar una planificación anual, mensual y semanal de encuentros y talleres de capacitación dirigidos a las educadoras de los Centros, en

articulación con otras organizaciones.

- Fomentar el establecimiento de vínculos entre los Centros y distintas organizaciones comunitarias y barriales, así como con centros de salud, ANSES y otras dependencias gubernamentales pertinentes, por ejemplo, a través de la participación en mesas territoriales.

E. Recursos humanos: formación, estabilidad y cantidad

Resulta fundamental realizar acciones orientadas a garantizar que los Centros de Cuidado de Primera Infancia cuenten con el personal idóneo y suficiente para cada uno de los espacios de atención en lo relacionado con los procesos pedagógicos, administrativos y de servicios.

Es así como la Corte Interamericana de Derechos Humanos establece que los Estados deben asegurar la calidad de los programas educativos, esto es incluye la capacitación y sensibilización del equipo docente y la implementación de medidas que garanticen el bienestar y la consolidación de la autonomía en los espacios educativos. (CortelDH,2025)

De las encuestas al personal de los Centros de Cuidados de Primera Infancia surge que la totalidad del equipo docente presenta estudios universitario completo. Sin embargo, se encuentra mucha

heterogeneidad en cursos y posgrados realizados. Además, una gran parte del equipo docentes auxiliares no presenta secundario completo. (*datos internos, 2024*)

Otro dato que surge de la encuesta es que el 60 % del personal hace más de 10 que trabaja en la institución. (Encuestas al personal, *datos internos, 2024*). Es un hallazgo relevante ya que el hecho de que tenga una trayectoria extensa en años trabajando en la institución indica que poseen una amplia experiencia y conocimiento. Sin embargo, es necesario considerar posibles desafíos relacionados con la falta de renovación y la resistencia al cambio. Es posible que el personal se encuentre arraigado a ciertas prácticas o rutinas y pueda haber una necesidad de actualizar conocimientos y abordajes pedagógicos para adaptarse a los nuevos desafíos y necesidades de los niños y niñas.

Estándares de calidad sobre recursos humanos sugerimos:

- Registrar a todo el personal del Centro en la base de datos administrativa del departamento de Personal correspondiente, dejando constancia en sus legajos de los años de servicio, formación académica, cursos realizados, traslados y currículum vitae.

- Garantizar que todo el personal reciba una remuneración acorde al tiempo de dedicación y a las tareas desempeñadas en la institución.
- Asegurar que la totalidad del personal cuente con cobertura de salud y seguro de riesgos del trabajo.
- Disponer que, en todas las salas, al menos una de las personas a cargo posea título docente terciario o universitario.
- Implementar una plataforma de capacitación para personal ingresante y personal en funciones, que ofrezca cursos de formación continua. Establecer incentivos económicos, como remuneración diferenciada, para quienes obtengan certificaciones y acrediten formación profesional, y promover la participación a través de un sistema de becas.
- Establecer que las salas que atiendan a niñas y niños de hasta un año cuenten con un adulto cada cinco niños o menos.

F. Enfoque integral e inclusivo en atención a las necesidades de las niñas y niños

Un ambiente educativo protector para la primera infancia debe ofrecer un enfoque integral que aborde las necesidades de los niños y niñas en áreas de salud, nutrición,

higiene, seguridad y bienestar emocional. Además, se debe proporcionar un ambiente de aprendizaje seguro y estimulante que fomente el desarrollo cognitivo y social de los niños y niñas.

Otro punto para destacar es la necesidad de incluir a niños y niñas con discapacidad ya que la integración de niños y niñas con discapacidad en los Centros de Cuidado de Primera Infancia es de suma importancia, ya que promueve la inclusión y la igualdad de oportunidades desde temprana edad, lo que permite desarrollar habilidades sociales, emocionales y cognitivas en un entorno diverso. (Corte IDH,2025)

De las encuestas a las instituciones de los centros de cuidados de primera infancia surge que el 90% recibe niños y niñas que presentan Certificado Único de Discapacidad, vemos favorable esta medida, sin embargo, es necesario mejorar la capacidad y condiciones edilicias para recibir en forma íntegra y apropiada a la demanda.

Estándares sobre Enfoque integral e inclusivo sugerimos:

- Asegurar que todos los Centros cuenten con las condiciones y recursos necesarios para incluir a niñas y niños con discapacidad, adecuando el contexto institucional en su totalidad para favorecer la accesibilidad e inclusión plena.

- Implementar instancias de formación continua para el personal de los Centros, orientadas a la detección temprana de riesgos en el desarrollo psicomotor de niñas y niños.

Conclusiones

El análisis realizado permite afirmar que la primera infancia requiere un abordaje integral que articule políticas públicas, normativa específica y estándares claros de calidad, a fin de garantizar el pleno ejercicio de los derechos de niñas y niños. La investigación evidenció que, en la provincia de Mendoza, si bien existen diversas instituciones que brindan cuidado y educación en los primeros años, persiste la ausencia de estándares de calidad que unifiquen criterios y orienten su funcionamiento.

Las encuestas y entrevistas realizadas mostraron fortalezas, como el compromiso del personal y la articulación con la comunidad, pero también debilidades significativas vinculadas a la infraestructura, la accesibilidad, la formación continua del personal y la heterogeneidad en la implementación de proyectos pedagógicos. Asimismo, se identificó la necesidad de reforzar la inclusión de niñas y niños con discapacidad, garantizando adecuaciones edilicias, recursos humanos capacitados y prácticas inclusivas sostenidas.

En este contexto, la elaboración de estándares provinciales de calidad se presenta como una herramienta imprescindible para homogeneizar criterios, promover la equidad territorial y fortalecer la calidad de la atención. Dichos estándares, alineados con los marcos internacionales de derechos humanos y la legislación nacional, deben contemplar dimensiones clave como: infraestructura y seguridad, proyecto pedagógico, participación familiar, trabajo en red interinstitucional, formación y estabilidad del personal, y enfoque integral e inclusivo. Finalmente, este trabajo contribuye a visibilizar la necesidad de construir políticas públicas sostenibles, con financiamiento adecuado y mecanismos de monitoreo y evaluación permanentes, que aseguren que todos los Centros de Cuidado de Primera Infancia de Mendoza brinden un servicio de calidad, equitativo y respetuoso de los derechos fundamentales de niñas y niños, promoviendo así su desarrollo integral desde los primeros años de vida.

Bibliografía

Argentina. (2005). *Ley N.º 26.061 de Protección Integral de los Derechos de Niños, Niñas y Adolescentes*. Recuperado de <https://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/11>

0000-

114999/110778/norma.htm

Argentina. (2007) Ley 26.233 de Centros de Desarrollo Infantil. Promoción y regulación. Recuperado de <https://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/125000-129999/127532/norma.htm>

Argentina. (2019). *Decreto N.º 750/2019. Estrategia Nacional de Primera Infancia Primero*. Recuperado de <https://www.boletinoficial.gob.ar/detalleAviso/primera/220299/20191031>

Boronat Pont, V., Buffa, G., Fridman, D., & Karolinski, M. (2020). Servicios de cuidado para la primera infancia: ¿Cómo instalar la temática en la agenda del sector cooperativo? *Revista Idelcoop*, 232, 53-68. Recuperado de <https://biblioteca.clacso.edu.ar/Argentina/idelcoop/20210106083846/Revista232.pdf>

Comité de los Derechos del Niño. (2005). *Observación general N.º 7: Realización de los derechos del niño en la primera infancia*. Recuperado de

<https://www.plataformadeinformacion.org/wp-content/uploads/2018/09/observacion-general-7-realizacion-derechos-nino-primer-infancia-2005.pdf>

Corte Interamericana de Derechos Humanos. (2025). El contenido y el alcance del derecho al cuidado y su interrelación con otros derechos. Opinión consultiva OC-31/25. 12 de junio de 2025. Recuperado de https://www.corteidh.or.cr/docs/opiniones/seriea_31_es.pdf

Dirección General de Escuelas (2020). *Mendoza junto a UNICEF por los derechos de las niñas y los niños más pequeños*. Recuperado de <https://www.mendoza.edu.ar/mendoza-junto-a-unicef-por-los-derechos-de-las-ninas-y-los-ninos-mas-pequenos/>

Gobierno de Mendoza, Dirección de Protección y Restitución de Derechos. (s.f). *Educación y cuidado en la primera infancia*. Recuperado de <https://www.mendoza.gov.ar/wp-content/uploads/sites/77/202>

[2/11/Educacion-y-Cuidado1.pdf-1.pdfhttps://www.mides.gob.pa/wp-content/uploads/2024/06/Estandares_calidad.pdf](https://www.mides.gob.pa/wp-content/uploads/2024/06/Estandares_calidad.pdf)

Gobierno de Mendoza. (s. f.). *Oficinas de atención local y Centros de Desarrollo Infantil y Familiar (OALes y CDIF)*. Recuperado de <https://www.mendoza.gov.ar/desarrollosocial/dpydpd/oales-y-cdif/>

Mendoza. (2019). Ley Provincial N.º 9139. Régimen Jurídico de Protección de las Personas Menores de Edad. Recuperado de <https://www.argentina.gob.ar/normativa/provincial/ley-9139-123456789-0abc-defg-931-9000mvorpyel/actualizacion>

Ministerio de Desarrollo Social de Panamá. (s.f). Estándares de calidad para los servicios de atención, cuidado y educación de la primera infancia. Recuperado de https://www.mides.gob.pa/wp-content/uploads/2024/06/Estandares_calidad.pdf

Organización de las Naciones

Unidas. (1989). *Convención
sobre los Derechos del Niño.*

Recuperado de
[https://www.unicef.org/es/co
nvencion-sobre-los-
derechos-del-nino](https://www.unicef.org/es/convencion-sobre-los-derechos-del-nino)

Secretaría Nacional de Niñez,
Adolescencia y Familia.

(2021). *Abordaje integral y
cuidados de la primera
infancia.* Recuperado de

[https://www.argentina.gob.ar
/sites/default/files/2022/08/c
uadernillo_abordaje_integral
_y_cuidados_de_la_primera
_infancia_paraweb2022178
36.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2022/08/cuadernillo_abordaje_integral_y_cuidados_de_la_primera_infancia_paraweb202217836.pdf)

UNICEF. (2017). *La primera infancia
importa para cada niño.*

Recuperado de
[https://www.unicef.org/media
/48896/file/UNICEF_Early_
Moments Matter for Every
_Child SP.pdf](https://www.unicef.org/media/48896/file/UNICEF_Early_Moments_Matter_for_Every_Child_SP.pdf)

4. Sustentabilidad

APLICACIÓN A CAMPO DE BIOCONTROLADORES Y EXTRACTOS NATURALES PARA EL CONTROL DE *Sclerotium cepivorum*

Autor: Casagrande, Guillermina¹, guillermina.casagrande@mi.unc.edu.ar

Co-autores: Pettrignani, María Emilia¹, memiliapetrignani@mi.unc.edu.ar, Vázquez Carolina,
carolinavazquez@agro.unc.edu.ar

Orientadores: Ayoub, Ibrahim¹, iayoub@unc.edu.ar; Bigatton, Ezequiel Darío¹,
ezequielbigatton@gmail.com

¹Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias. Agropecuarias,

Resumen

El ajo (*Allium sativum* L.) es afectado por *Sclerotium cepivorum*, hongo causante de la podredumbre blanca. Este estudio evaluó la eficacia del extracto de ajo (GE), aceites esenciales (AE) de *Origanum vulgare* y *Tagetes minuta*, y *Trichoderma atroviridae* (TA) y *T. harzianum* (TH) en reducir la viabilidad de esclerocios y su impacto sobre los microorganismos que intervienen en la fertilidad del suelo. Los AE se obtuvieron de *Tagetes minuta* L. y *Origanum vulgare* L. El ensayo se realizó en 28 parcelas inoculadas con 100 esclerocios/100g de suelo. Se realizaron siete tratamientos: **C**: control (sin aplicaciones), **T1**: GE + GE (doble aplicación); **T2**: GE + GE + AE de *O. vulgare*, **T3**: GE + GE + AE de *T. minuta*, **T4**: GE + GE + TH, **T5**: GE + GE + TA, **T6**: GE + GE + TH+ TA. Se realizó un diseño en bloques completos aleatorizados con cuatro repeticiones. GE se aplicó a los 30 y 60 días, AE (1500 ppm) a los 100 días, y *Trichoderma* (4×10^8 esporas) a los 130 días. Se determinó: densidad, viabilidad de esclerocios y abundancia de los grupos microbianos. El número de esclerocios disminuyó aproximadamente un 40% con las aplicaciones de los AE y de *Trichoderma* spp. La mayor reducción se observó con la doble aplicación (GE + GE) en combinación con TA y TH (70,52%). Todos los grupos microbianos del suelo analizados (excepto los microorganismos heterótrofos) se vieron afectados por las aplicaciones de extracto de ajo, AE y *Trichoderma* spp. El grupo más afectado fueron los nitrificadores (83-94%). La triple combinación (T6) disminuyó significativamente la cantidad y viabilidad de esclerocios, ofreciendo una alternativa sostenible y ecológica al uso de fungicidas sintéticos. Se requieren estudios adicionales para avanzar en formulaciones comerciales aplicables bajo buenas prácticas agrícolas.

Palabras clave: Esclerocios, Biocontroladores, Ajo.

Introducción

El ajo (*Allium sativum* L.) es una especie que se ubica dentro de la familia de las amarilidáceas y que presenta múltiples usos, tanto culinarios como medicinales. Argentina produce el 1% del volumen de ajo comercializado mundialmente. En Argentina, la producción de ajo se encuentra concentrada principalmente en la región cuyana (Mendoza y San Juan), seguido en orden de importancia Córdoba, Buenos Aires, Río Negro, Salta, Tucumán, Santa Cruz y Chubut.

El ajo argentino es reconocido en los mercados internacionales por su alta calidad, y más del 50% de la producción se destina a la exportación ya sea como producto fresco o refrigerado (INDEC, 2024). En el año 2024, el país exportó alrededor de USD 113 millones en este producto, de los cuales aproximadamente USD 92,9 millones (82 %) se destinaron a Brasil, el principal comprador.

El rendimiento y la calidad del ajo pueden verse seriamente afectados por la presencia de diversos fitopatógenos fúngicos (Camiletti et al., 2016). Entre ellos, *Sclerotium cepivorum* Berk, se destaca como uno de los patógenos más destructivos, responsable de causar pudrición y muerte en las plantas (Pinto et al., 2000; Conles et al., 2008;

Camiletti et al., 2016). La pudrición blanca del ajo (PBA), causada por *S. cepivorum*, constituye una de las enfermedades más importantes que afectan a especies del género *Allium*, con pérdidas de rendimiento que, en campos severamente infestados, pueden afectar el 50 % de la producción total (Amin et al., 2014; Lourenço et al., 2018).

Como consecuencia de los efectos negativos sobre el ambiente, la ineficiencia de los fungicidas sintéticos para penetrar en los esclerocios y la falta de resistencia de *Allium* spp. a *S. cepivorum* (Pinto et al., 2000; Elshahawy et al., 2017), el control biológico mediante microorganismos antagónicos, productos naturales o aceites esenciales (AE) puede incluirse como una herramienta en las estrategias de manejo integrado para controlar la PBA (Camiletti et al., 2016; Elshahawy et al., 2017; Lourenço et al., 2018).

S. cepivorum es un hongo ascomycota capaz de producir estructuras de resistencia denominadas esclerocios. Los esclerocios le permiten sobrevivir a condiciones ambientales adversas, e incluso pueden reducir la efectividad de los tratamientos químicos. Es importante destacar que, en ausencia del huésped, los

esclerocios no pueden germinar y la latencia exógena es inducida por microorganismos nativos del suelo (Coley-Smith 1960; Coley-Smith et al., 1987; Coley-Smith, 1990; Crowe, 1995).

El control de la PBA se ha basado tradicionalmente en la aplicación de fungicidas químicos (Velásquez-Valle, et al. 2016). Sin embargo, en el contexto de nuevas tendencias productivas y una creciente preocupación social por la sostenibilidad, el uso de estos productos está siendo cuestionado debido a sus efectos negativos sobre el ambiente (Chirinos, 2009; March et al., 2010; Blair et al., 2015; Santra y Banerjee, 2020). El manejo químico de la PBA requiere aplicaciones repetidas de fungicidas a lo largo del ciclo del cultivo (Utkhede y Rahe, 1979; Zewide et al., 2007). A pesar de su eficacia, se estima que menos del 1 % del total de fungicida aplicado alcanza su sitio de acción (Roy et al., 2014), mientras que el resto se dispersa en el ambiente, generando impactos negativos, especialmente en la microbiota del suelo. Estos compuestos tóxicos no pueden ser metabolizados fácilmente por los microorganismos edáficos, lo que provoca alteraciones en la estructura de la comunidad microbiana, así como una reducción en su crecimiento y actividad metabólica (March et al., 2010; Roy et al., 2014).

Por lo tanto, el control de *S. cepivorum* en ausencia del cultivo de ajo requiere la aplicación exógena de compuestos análogos a los exudados por las raíces de *Allium* (sulfóxidos de alquenil cisteína), los cuales inducen la germinación de los esclerocios. Este proceso permite exponer el micelio fúngico (más susceptible) a fungicidas o productos naturales con bioactividad. Entre los compuestos más activos se encuentran el disulfuro de dialilo y el disulfuro de N-dipropilo (Davis et al., 2007; Conles et al., 2008). Pocos días después de la aplicación de estos compuestos, pueden emplearse estrategias de biocontrol, como el uso de biocontroladores o productos naturales.

El género *Trichoderma* incluye numerosas especies de gran importancia económica por su efectividad y potencial como agentes de control biológico. Las especies de *Trichoderma* son ampliamente utilizadas como biocontroladores de enfermedades fúngicas causadas por géneros como *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium* y *Fusarium*. Su eficacia se debe a múltiples mecanismos, como la producción de metabolitos antifúngicos (antibióticos, enzimas hidrolíticas), y su capacidad de micoparasitismo (Suárez-Mesa et al., 2008; Harman et al., 2012; Bastakoti et al., 2017; Sood et al., 2020).

Aunque existen cientos de especies y cepas de *Trichoderma*, las más utilizadas en programas de biocontrol son *T. harzianum* y *T. atroviride* (Sood et al., 2020). Algunos estudios han demostrado que *T. harzianum* puede inhibir el crecimiento micelial de *S. cepivorum* entre un 50 % y un 92 %, y reducir la formación de esclerocios entre un 40 % y un 89 %, gracias a la producción de enzimas líticas que degradan la pared de los esclerocios, afectando su viabilidad (Leta y Selvaraj, 2012; Dilbo et al., 2015; Elshahawy, 2017). Además, *T. harzianum* despliega una serie de mecanismos de acción como la producción de metabolitos secundarios y antibióticos, y posee una elevada tasa metabólica lo cual favorece la competencia por nutrientes y espacio (Francisco-Francisco, 2012; Akhtar y Javaid, 2018). Por su parte, *T. atroviride* ha demostrado reducir el crecimiento de *S. cepivorum* en más de un 60 %, siendo una alternativa viable al uso de fungicidas sintéticos, ya sea en forma individual o combinada con otras especies de *Trichoderma*, debido a su capacidad para sincronizar su desarrollo con la presencia del patógeno y controlarlo (Francisco, 2011; Mahdizadehnraghi et al., 2015).

La actividad antimicrobiana de productos naturales, como los aceites esenciales (AE), ha sido ampliamente estudiada en condiciones *in vitro*, tanto

en forma individual como en combinación con fungicidas sintéticos (Calderón Cevallos, 2013; Camiletti et al., 2014; Scazzocchio et al., 2016; Camiletti et al., 2016; Xie et al., 2017; Gadban et al., 2020; Santra y Banerjee, 2020). Los AE son compuestos orgánicos volátiles complejos producidos por plantas aromáticas como mecanismo de defensa, y muchos de ellos son considerados seguros para el ser humano y los animales (Santra y Banerjee, 2020). Es ampliamente conocido que su aplicación, junto con el uso de microorganismos biocontroladores, puede reducir significativamente la formación de esclerocios y disminuir la aplicación de fungicidas sintéticos, ya que presentan efectos antifúngicos importantes sin efectos fitotóxicos (Ulacio et al., 2011; Camiletti et al., 2014; Camiletti et al., 2016; Gadban et al., 2020). Es por ello que, los objetivos del presente estudio fueron: i) determinar la efectividad de *T. harzianum*, *T. atroviride*, los AE de *Origanum vulgare* L., *Tagetes minuta* L., y del extracto de ajo en la reducción de la viabilidad de esclerocios de *S. cepivorum* a campo; y ii) evaluar el impacto de estas aplicaciones sobre los grupos microbianos que intervienen en la fertilidad del suelo.

Materiales y métodos

Material vegetal y extracción de AE

Los AE se obtuvieron de plantas aromáticas cosechadas a partir de poblaciones silvestres de suico (*Tagetes Minuta* L.) y poblaciones cultivadas de *Origanum vulgare* L. El material vegetal fue recolectado durante la temporada de crecimiento 2022 en diferentes zonas de la provincia de Córdoba (Argentina). Las hojas de *T. minuta* L. y *O. vulgare* L. utilizadas para la extracción de los AE se secaron al aire a temperatura ambiente y en oscuridad. Para todas las especies, la extracción de los AE se realizó mediante hidrodestilación durante 2 horas utilizando un equipo tipo Clevenger acoplado a una cámara de extracción (Juliani, et. al., 2002). Los AE se mantuvieron en matraces oscuros a -20 °C hasta su uso (Asensio et al., 2015). Por otra parte, el extracto acuoso de ajo (hidrodestilado) se obtuvo a partir de 500 g de bulbos de *Allium sativum* L., a partir de los cuales se obtuvieron 500 mL de extracto de ajo GE).

Caracterización química de los AE y del extracto de ajo

El análisis de los AE y del extracto de ajo fueron realizados mediante cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) (PerkinElmer® Clarus 600) acoplado a un detector de ionización de llama (FID). Se utilizó una columna capilar DB-5 (30 m, 0,25 mm de diámetro interior y 0,25 mm de espesor de recubrimiento). (Gas

Carrier: He; flujo de 0,9 mL/min). La identificación de los compuestos fue realizada por análisis del patrón de fragmentación de cada uno y su posterior comparación con los datos reportados en la biblioteca NIST.

Microorganismos

Las cepas de *T. harzianum* y *T. atroviridae* fueron aisladas de suelos agrícolas de la provincia de Córdoba por el Laboratorio de Manejo Integrado de Plagas y Fitopatología (FCA-UNC) e identificadas por el Instituto de Biotecnología del Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVYA) INTA Castelar.

Preparación del ensayo

El estudio se realizó en 28 parcelas de 0,24 m² pertenecientes al invernadero de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba (Córdoba, Argentina). Estas parcelas no presentaban esclerocios hasta el comienzo del ensayo. El fitopatógeno (*S. cepivorum* Berk) fue proporcionado por el Laboratorio de Manejo Integrado de Plagas y Fitopatología (FCA-UNC) y recolectado de campos de ajo en la localidad de Jesús María (Córdoba, Argentina). Los esclerocios utilizados en el experimento se cultivaron en una mezcla de arena y cascarilla de arroz en una proporción de 20:1 p/p (Punja y Rahe, 1992) y se enterraron a 5 cm de

profundidad para eliminar la latencia constitutiva (Coley-Smith *et al.*, 1987; Mc Lean *et al.*, 2005; Miñambres *et al.*, 2010). Las parcelas fueron inoculadas con los esclerocios en una proporción de 100 esclerocios cada 100 g de suelo. Se realizó un diseño en bloques completos aleatorizados con cuatro repeticiones.

Aplicaciones de *Trichoderma* spp., AE y extracto de ajo

Cuarenta y cinco días después de la inoculación de los esclerocios, se aplicaron siete tratamientos de la siguiente manera: **C:** control (sin aplicaciones), **T1:** GE + GE (doble aplicación); **T2:** GE + GE + AE de *O. vulgare*, **T3:** GE + GE + AE de *T. minuta*, **T4:** GE + GE + *T. harzianum*, **T5:** GE + GE + *T. atroviridae*, **T6:** GE + GE + *T. harzianum* + *T. atroviridae*. El GE (80 mL) se aplicó a los 30 y 60 días. Los AE se aplicaron a una concentración de 1500 ppm en la superficie del suelo a los 100 días. Los microorganismos se aplicaron a los 130 días en forma individual y combinada con una concentración de 4×10^8 esporas.

Densidad y viabilidad de los esclerocios

Las densidades de inóculo y las viabilidades de los esclerocios se determinaron después de 20 días y 60 postratamiento. De cada parcela se tomó una muestra compuesta de 100 g

de suelo a 5 centímetros de profundidad. Las muestras de suelo se secaron al aire durante 24 horas, se tamizaron a través de una malla de 2 mm y se almacenaron a 4 °C hasta su procesamiento. Los esclerocios se recolectaron con tamices de 18 y 80 mallas. Posteriormente, los esclerocios se desinfectaron (solución de cloro activo al 1% durante 1-3 minutos), y luego se lavaron con agua estéril y se colocaron en placas de Petri conteniendo agar agua al 2%. Los esclerocios se incubaron durante 7 días a 25 °C en condiciones de oscuridad. Después de la incubación, se evaluó la abundancia de esclerocios germinados (Conles, 2008) con el objetivo de determinar el porcentaje de viabilidad.

Grupos microbianos del suelo

En cada parcela, se tomaron cuatro muestras compuestas de suelo (0-20 cm de profundidad). Las muestras de suelo se secaron al aire durante 24 h y se tamizaron a través de una malla de 2 mm. Todas las muestras se almacenaron a 4-5° C hasta el momento de su procesamiento. En cada muestra compuesta, se tomaron 10 g de suelo que se colocaron en 90 mL de agua de peptona estéril (10 g de peptona; 5 g de NaCl). Posteriormente, se prepararon diluciones al décimo. En cada muestra, se estimó el impacto del uso de los controladores biológicos y los productos naturales en las comunidades

microbianas que intervienen en la fertilidad del suelo (microorganismos celulolíticos, amonificadores, nitrificadores y fijadores de nitrógeno) (Merlo et al., 2014). Los amonificadores, nitrificadores y celulolíticos se estimaron mediante recuento en medio líquido por el método del número más probable (NMP) (Merlo et al., 2014). También se determinó la abundancia de los microorganismos heterótrofos aeróbicos totales y de los microorganismos fijadores de nitrógeno de vida libre mediante recuento en medio sólido en medio de cultivo agar nutritivo y en medio NFB, respectivamente (Merlo et al., 2014). Todas las muestras se incubaron a 28-30°C de 5 a 21 días, dependiendo de cada grupo microbiano (Abril et al., 2009). La abundancia de grupos metabólicos microbianos se expresó como log₁₀ por gramo de suelo (log g).

Análisis estadísticos

Los datos obtenidos fueron analizados mediante modelos mixtos lineales/generalizados generales o modelos de ajuste y la diferencia menos significativa (LSD; $p \leq 0,05$), después de probar los supuestos de normalidad y homocedasticidad. Todos los datos se analizaron utilizando el software Infostat para Windows (Di Rienzo et al. 2019).

Resultados

Caracterización química de los AE y del extracto de ajo

En el análisis químico se encontró una diversidad de compuestos siendo los componentes mayoritarios del extracto de ajo los siguientes: dialil sulfuro, trisulfuro de di-2-propenilo y 3-vinil-1,2-ditiociclohex-5-ona; estos tres componentes superaron aproximadamente el 82% del extracto total (Tabla 1).

Tabla 1. Composición química del extracto natural de ajo identificado por GC-MS y porcentajes de área relativa. Ordenados por abundancia decreciente.

Compuestos	Abundancia relativa (%)
Dialil disulfuro	48,7
Di-2-propenil-trisulfuro	24,3
3-vinilo-1,2-ditiociclohex-5-ona	10,1
Disulfuro de metil-2-propenilo	5,6
2-vinilo-1,3-ditiina	3,7
1,2-ditolano	2,1
Sulfuro de metil-2-propinilo	1,7
Sulfuro de metil-2-propinilo	1,7
1.3 Dithiane	0,7
4-metilnonano	0,6
Sulfuro de metilo alilo	0,3
Sulfuro de propileno	0,2

Por otra parte, los resultados obtenidos a través de la caracterización realizada por GC-MS, indicaron que *O. vulgare* los componentes principales fueron los alcoholes (alifático y aromático): hidrato de (Z)-sabineno y timol. En cuanto a los resultados obtenidos en el AE de *T. minuta*, el componente principal y de significativa

abundancia fue verbenona, un biciclo alifático (Tabla 2).

Tabla 2. Porcentajes relativos de los principales terpenoides en los aceites esenciales de *Origanum vulgare* L. y *Tagetes minuta* L.

Compuestos	<i>O. vulgare</i>	<i>T. minuta</i>
verbenona	-	78,2
hidrato (Z)-sabineno	23,0	-
timol	18,7	-
limoneno	-	9,7
γ-terpineno	7,1	-
terpinen-4-ol	6,2	-
o-cimeno	5,2	-
sabineno	3,9	-
hidrato (E)-sabineno	3,3	-
β-cariofileno	2,8	-
(E)-β-o-Cimeno	2,8	-
α-terpineno	2,6	-
α-terpineol	2,3	-
(Z)-tagetona	-	2,2
(E)-tagetona	-	2,0
β-felandreno	1,9	-
β-mirceno	1,8	-
cinerona	-	1,8
metil-eugenol	-	1,7
biciclogermacreno	1,7	-
borneol	1,5	-
β-pineno	1,4	-
carvacrol	1,3	-
germacreno D	1,2	-
acetato de linalol	1,1	-

Densidad y viabilidad de los esclerocios

El número de esclerocios viables disminuyó aproximadamente un 40%

con las aplicaciones de los AE y de *Trichoderma* spp. (Tabla 3). La mayor reducción se observó con la aplicación de doble extracto de ajo (GE + GE) en combinación con *T. atroviridae* y *T. harzianum* (70,52%). Asimismo, la reducción diaria de la pendiente de viabilidad fue de -0,4692 esclerocios.día⁻¹ (Tabla 3). La menor reducción se obtuvo con la doble aplicación (GE + GE) del extracto de ajo (25,56 %). Los AE mostraron un comportamiento similar entre ellos y permitieron una reducción de 12,15% y 11,52% por encima del tratamiento con extracto de ajo. En cuanto a los tratamientos con *Trichoderma*, *T. atroviridae* fue mejor que *T. harzianum*, sin embargo, la aplicación separada de ambas especies no pudo equiparar el tratamiento combinado.

Grupos microbianos del suelo

Todos los grupos microbianos del suelo analizados (excepto los microorganismos heterótrofos) se vieron afectados por las aplicaciones de extracto de ajo, aceites esenciales y *Trichoderma* spp. El número de microorganismos nitrificadores se disminuyó significativamente a los 130 días de las aplicaciones. Los AE (*O. vulgare* y *T. minuta*) en combinación con la aplicación doble aplicación de GE fueron los tratamientos que más afectaron a este grupo que lo redujeron

significativamente en un 94% y 83% respectivamente (Fig. 1).

Tabla 3. Reducción de la viabilidad de esclerocios. La pendiente se calculó utilizando el número de esclerocios al inicio (día 0) y el número de esclerocios al final del ensayo (103 días). **GE:** extracto de ajo. **AE:** aceite esencial. **TA:** *T. atroviridae* **TH:** *T. harzianum*

Pendiente	Tratamiento
+0.0907	Control
-0.1020	GE + GE
-0.2426	GE + GE + AE de <i>O. vulgare</i>
-0.2103	GE + GE + AE de <i>T. minuta</i>
-0.3438	GE + GE + <i>T. atroviridae</i>
-0.2847	GE + GE + <i>T. harzianum</i>
-0.4692	GE + GE + TA + TH

La mayor disminución de la abundancia de los microorganismos amonificadores se observó en los tratamientos combinados con *T. minuta*, y *T. atroviridae* y la combinación de ambos tricondermas (Fig. 1). En el caso de los microorganismos celulolíticos, todos los tratamientos afectaron la abundancia de los grupos funcionales, excepto la doble aplicación de extracto de ajo y el control (Fig. 1). Por último, los microorganismos fijadores de nitrógeno sólo fueron afectados por la doble aplicación de extracto de ajo en combinación con el AE de *O. vulgare* (Fig. 1).

Discusión

Las principales estrategias para el manejo de *S. cepivorum* se centran en la prevención de infecciones enfocándose principalmente en las etapas clave de su ciclo vital. Esto incluye: 1) reducir la viabilidad y la capacidad de germinación de los esclerocios, y 2) inhibir la germinación de ascosporas para limitar las etapas iniciales del establecimiento del patógeno (Ajiboye et al., 2025). La aplicación de tratamientos directamente al suelo puede reducir la persistencia de patógenos al alterar sus estructuras de supervivencia, como los esclerocios, y, en consecuencia, reducir la cantidad de inóculo primario disponible para nuevas infecciones (Ben et al., 2017; Ferreira y Musumeci, 2021). Astorga Quirós et al. (2014), observaron que aislados nativos de *Trichoderma* controlaron en forma efectiva a *S. cepivorum* en cultivos de ajo. Asimismo, Pérez et al. (2015) y Bastakoti et al. (2017), informaron que cepas de *Trichoderma* mostraban una reducción del crecimiento de micelio de *S. cepivorum* y una disminución de la producción de esclerocios. En el mismo sentido, el uso de *Trichoderma viride* redujo la incidencia de la enfermedad por *S. cepivorum* en un 94,4% con respecto al control (no tratado). Leta y Thangavel (2013), informaron observaron una disminución del 90,5% al 43,78% en la incidencia de la enfermedad después de la aplicación de

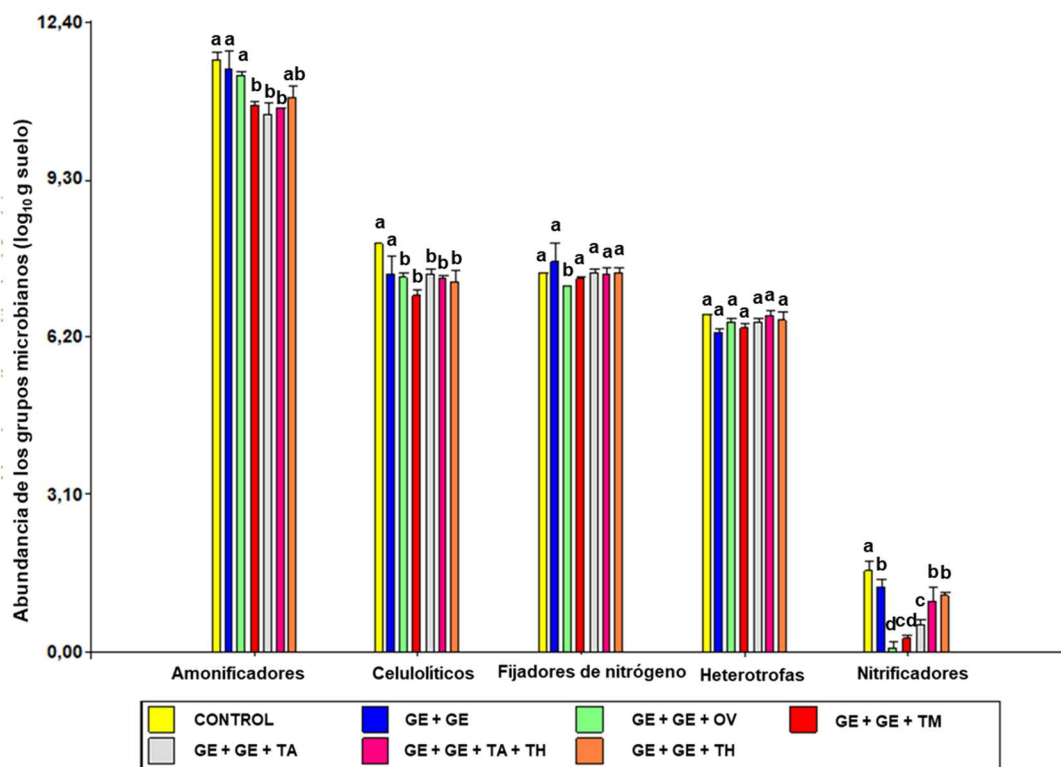


Figura 1. Efecto de las aplicaciones de los AE, el extracto de ajo y los biocontroladores sobre la abundancia (log10 g de suelo) de los grupos microbianos

una cepa de *Trichoderma harzianum*. El uso de diferentes cepas de *Trichoderma asperellum* en cultivo dual (12 días) inhibió el crecimiento de *S. cepivorum* entre un 69% y un 80% (Rivera-Méndez et al. 2020), porcentajes similares a los determinados en nuestro estudio.

Se evaluaron diferentes cepas de *Trichoderma* por su capacidad para inhibir el desarrollo micelial de *S. cepivorum*. Todas las cepas probadas causaron una reducción significativa en el crecimiento de hongos, con niveles de inhibición que oscilaron entre el 30% y el 50% en comparación con el control no

tratado (da Silva Medrado, et. al., 2022). La evaluación *in vitro* de tres agentes de biocontrol fúngico (*T. viride*, *T. harzianum* y *T. hamatum*) contra un aislado virulento de *S. cepivorum* reveló una inhibición significativa del crecimiento micelial, con *T. hamatum* (100%), seguido de *T. viride* (64,58%) y *T. harzianum* (63.54%) (Hussain et al., 2017).

En cuanto a la acción de *Trichoderma* sobre los esclerocios, Silva et. al. (2022), demostraron que *T. asperelloides* y *T. lentiforme* colonizaron el 100% de los esclerocios

de *S. cepivorum*; sin embargo, solo *T. asperelloides* inhibió consistentemente la germinación de los mismos en todas las concentraciones probadas. Mientras que *T. lentiforme* mostró una efectividad reducida, con solo el 69% de los esclerocios no germinados o no viables. Estos autores, no observaron diferencias significativas entre cepas en cuanto a la degradación de los esclerocios (Silva et. al., 2022). Otros autores encontraron que *T. aggressivum f. europaeum* TAET1 presentó una fuerte supresión de *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Mycosphaerella melonis* al limitar su desarrollo micelial, y que fue notablemente capaz de inhibir la germinación de los esclerocios en *S. sclerotiorum* (Lahlali et al., 2022; Montesinos, 2021; Ayaz et al., 2023; Sánchez).

Por otra parte, Awurum y Kenneth (2013), realizaron un estudio destinado a evaluar el potencial antifúngico de varios extractos de hojas de plantas en condiciones *in vitro*. Sus resultados demostraron que todos los extractos probados eran capaces de suprimir el crecimiento micelial de diversos hongos fitopatógenos. Los AE de menta y albahaca dulce demostraron una inhibición hongos dependiente de la dosis. Si bien, sus componentes principales: mentona y mentol (AE de menta), y eugenol y linalol (AE de albahaca dulce), no mostraron actividad

antifúngica significativa; las combinaciones de linalol y eugenol provocaron una inhibición total de *Rhizopus stolonifer* y *Mucor* sp. En cuanto a la composición AE de *O. vulgare*, nuestros resultados difieren de los reportados por Wu, et. al. (2023), quien encontró niveles más bajos de timol (2,5% vs. 18,7%) y niveles más altos de carvacrol (73% vs. 1,3%). Es ampliamente conocido que el timol es un potente antifúngico y que exhibe bioactividad contra numerosos fitopatógenos (Wogiatzi, et. al., 2009). Otros estudios demostraron que el AE de *O. vulgare* presentó actividad antifúngica de amplio espectro, actuando eficazmente contra diversos patógenos fúngicos postcosecha. Por otro lado, la verbenona es otro compuesto constituyente en este caso del AE de *T. minuta* demostró notables efectos inhibidores contra patógenos bacterianos (Moldoch, et. al., 2025).

Es conocido que los AE presentan actividad biológica, principalmente asociada con compuestos fenólicos y terpénicos presentes en sus aceites esenciales (Adamczyk et al., 2013; Kadoglidou et al., 2014). Por lo tanto, se ha sugerido que los AE poseen una gran influencia en el ciclo de los nutrientes, regulando procesos microbianos edáficos (Kainulainen & Holopainen, 2002).

Distintos autores mostraron que ciertos AE presentes en diferentes

especies de plantas aromáticas fueron capaces de estimular el crecimiento de poblaciones microbianas del suelo. En este sentido, Lopes de Oliveira et al. (2018), reportaron que algunos microorganismos pueden metabolizar los AE y sus componentes mayoritarios utilizándolos como fuente de C y energía. Por otra parte, otros estudios demostraron que determinados AE y sus compuestos resultan tóxicos para ciertos grupos bacterianos posiblemente debido a su acoplamiento durante la fosforilación oxidativa y la inhibición de la síntesis de ATP (Houdkova et al., 2017). Esto coincide con lo encontrado en nuestro estudio, donde el grupo de microorganismos nitrificadores fue el más afectado. Esto se debe principalmente a que este grupo es escaso en el suelo y presenta una lenta tasa de crecimiento.

Conclusiones

Las estrategias de manejo de *S. cepivorum* se enfocan en prevenir la infección mediante la reducción de la viabilidad de los esclerocios y la inhibición de su germinación. En este trabajo se encontró que la triple combinación (doble aplicación de extracto de ajo + *T. atroviridae* + *T. harzianum*) disminuye en forma significativa la cantidad y viabilidad de esclerocios en el suelo. Esto demuestra que estos enfoques son efectivos para disminuir la presencia y el crecimiento

del patógeno, ofreciendo alternativas sostenibles, ecológicas y menos perjudiciales que los fungicidas sintéticos, contribuyendo a un control integral y ambientalmente responsable de la pudrición blanca. Finalmente, se requieren estudios más profundos con el fin de avanzar en formulaciones comerciales que puedan ser aplicadas dentro del marco de estrategias de buenas prácticas agrícolas para la producción de ajo.

Bibliografía

- Abril, A., Noe, L., & Merlo, C. (2009). Inoculación de semillas.: calidad de los inoculantes disponibles en la región central de Argentina.
- Ajiboye, T. O., Visser, H. G., Erasmus, E., & Schutte-Smith, M. (2025). Recent strategies for controlling the white mould fungal pathogen (*Sclerotinia sclerotiorum*) using gene silencing, botanical fungicides and nanomaterials. Sustainable Food Technology, 3(2), 612-636.
- Akhtar, R., & Javaid, A. (2018). Biological management of basal rot of onion by *Trichoderma harzianum* and *Withania somnifera*. Planta Daninha, 36, e018170507.
- Amin, M., Tadele, S., & Selvaraj, T. (2014). White rot (*Sclerotium cepivorum*-Berk) an aggressive pest of onion and garlic in Ethiopia: An overview. Journal of Agricultural

- Biotechnology and Sustainable Development, 6(1), 6-15.
- Amira, M. B., Lopez, D., Mohamed, A. T., Khouaja, A., Chaar, H., Fumanal, B., ... & Venisse, J. S. (2017). Beneficial effect of *Trichoderma harzianum* strain Ths97 in biocontrolling *Fusarium solani* causal agent of root rot disease in olive trees. *Biological Control*, 110, 70-78.
- Asensio, C. M., Grosso, N. R., & Juliani, H. R. (2015). Quality preservation of organic cottage cheese using oregano essential oils. *LWT - Food Science and Technology*, 60(2), 664-671.
- Astorga-Quirós, K., Meneses-Montero, K., Zúñiga-Vega, C., Brenes-Madriz, J., & Rivera-Méndez, W. (2014). Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo. *Tecnología en Marcha*, 27(2), 82-91.
- Awurum, A. N., & Kenneth, O. (2013). Phytochemical toxicity on seed-borne mycoflora of two onion (*Allium cepa* L.) cultivars. *Continental Journal of Biological Sciences*.
- Ayaz, M., Li, C. H., Ali, Q., Zhao, W., Chi, Y. K., Shafiq, M., ... & Huang, W. K. (2023). Bacterial and fungal biocontrol agents for plant disease protection: Journey from lab to field, current status, challenges, and global perspectives. *Molecules*, 28(18), 6735.
- Bastakoti, S., Belbase, S., Manandhar, S., & Arjyal, C. (2017). *Trichoderma* species as biocontrol agent against soil borne fungal pathogens. *Nepal Journal of Biotechnology*, 5(1), 39-45.
- Blair, A., Ritz, B., Wesseling, C., & Freeman, L. B. (2015). Pesticides and human health. *Occupational and Environmental Medicine*, 72(2), 81-82.
- Calderón Cevallos, D. E., & Guerrero Ricaurte, A. I. (2013). Análisis del efecto antibacterial de aceites esenciales de *Lepechinia rufocampii* y *Minthostachys tomentosa* sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella thyphimurium*.
- Camiletti, B. X., Asensio, C. M., Gadban, L. C., Pecci, M. D. L. P. G., Conles, M. Y., & Lucini, E. I. (2016). Essential oils and their combinations with iprodione fungicide as potential antifungal agents against white rot (*Sclerotium cepivorum* Berk) in garlic (*Allium sativum* L.) crops. *Industrial Crops and Products*, 85, 117-124.
- Camiletti, B. X., Asensio, C. M., Pecci, M. D. L. P. G., & Lucini, E. I. (2014). Natural control of corn postharvest fungi *Aspergillus flavus* and *Penicillium* sp. using essential oils from plants grown in Argentina.

- Journal of Food Science*, 79(12), M2499-M2506.
- Chirinos, R., Betalleluz-Pallardel, I., Huamán, A., Arbizu, C., Pedreschi, R., & Campos, D. (2009). HPLC-DAD characterisation of phenolic compounds from Andean oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) tubers and their contribution to the antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 113(4), 1243-1251.
- Clarkson, J. P., Scruby, A., Mead, A., Wright, C., Smith, B., & Whipps, J. M. (2006). Integrated control of *Allium* white rot with *Trichoderma viride*, tebuconazole and composted onion waste. *Plant Pathology*, 55(3), 375-386.
- Coley-Smith, J. R. (1960). Studies of the biology of *Sclerotium cepivorum* Berk. IV. Germination of sclerotia. *Annals of Applied Biology*, 48(1), 8-18.
- Coley-Smith, J. R., Mitchell, C. M., & Sansford, C. E. (1990). Long-term survival of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* and *Stromatinia gladioli*. *Plant Pathology*, 39(1), 58-69.
- Coley-Smith, J. R., Parfitt, D., Taylor, I. M., & Reese, R. A. (1987). Studies of dormancy in sclerotia of *Sclerotium cepivorum*. *Plant Pathology*, 36(4), 594-599.
- Conles, M., (2008). Epidemiología y control químico de la podredumbre blanca del ajo y la cebolla (*Sclerotium cepivorum* Berk) en la provincia de Córdoba. *Tesis doctoral*.
- Crowe, F. J. (1995). First report of the large sclerotial form of *Sclerotium cepivorum* in North America. *Phytopathology*, 85, 1038.
- da Silva Medrado, P. H., Junior, A. L. G., dos Santos, G. C., Júnior, J. B. T., & Itako, A. T. (2022). Efficiency of different strains of *Trichoderma* on the control of *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii* and *Sclerotium cepivorum*. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 44.
- Di Rienzo, J; Casanoves, F; Balzarini, M; Gonzalez, L; Tablada, M; Robledo, C. 2017. InfoStat versión 2019. Grupo InfoStat, F.C.A., Universidad Nacional de Córdoba, Argentina
- Dilbo, C., Alemu, M., Lencho, A., & Hunduma, T. (2015). Integrated management of garlic white rot (*Sclerotium cepivorum* Berk) using some fungicides and antifungal *Trichoderma* species. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 6(1), 1.
- dos Santos, N. S. T., Aguiar, A. J. A. A., de Oliveira, C. E. V., de Sales, C. V., e Silva, S. D. M., da Silva, R. S., & de Souza, E. L. (2012). Efficacy of the application of a coating composed of chitosan and *Origanum vulgare* L. essential oil to control *Rhizopus stolonifer* and

- Aspergillus niger* in grapes (*Vitis labrusca* L.). *Food Microbiology*, 32(2), 345-353.
- Edris, A. E., & Farrag, E. S. (2003). Antifungal activity of peppermint and sweet basil essential oils and their major aroma constituents on some plant pathogenic fungi from the vapor phase. *Food / Nahrung*, 47(2), 117-121.
- Ferreira, F. V., & Musumeci, M. A. (2021). *Trichoderma* as biological control agent: Scope and prospects to improve efficacy. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37(5), 90.
- Francisco-Francisco, N., Ortega-Ortiz, H., Benavides-Mendoza, A., Ramírez, H., Fuentes-Lara, L. O., & Robledo-Torres, V. (2012). Inmovilización de *Trichoderma harzianum* en hidrogeles de quitosano y su uso en tomate (*Solanum lycopersicum*). *Terra Latinoamericana*, 30(1), 47-57.
- Gadban, L. C., Camiletti, B. X., Bigatton, E. D., Distéfano, S. G., & Lucini, E. I. L. (2020). Combinations of *Tagetes filifolia* Lag. essential oil with chemical fungicides to control *Colletotrichum truncatum* and their effects on the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Journal of Plant Protection Research*, 60(1).
- Greff, B., Sáhó, A., Lakatos, E., & Varga, L. (2023). Biocontrol activity of aromatic and medicinal plants and their bioactive components against soil-borne pathogens. *Plants*, 12(4), 706.
- Harman, G. E., Herrera-Estrella, A. H., Horwitz, B. A., & Lorito, M. (2012). *Trichoderma*-from basic biology to biotechnology. *Microbiology-Reading*, 158(1), 1.
- Houdkova, M; J Rondevaldova; I Daskocil & L Kokoska. (2017). Evaluation of antibacterial potential and toxicity of plant volatile compounds using new broth microdilution volatilization method and modified MTT assay. *Fitoterapia*, 118: 56-62.
- INDEC, 2024. Informes Técnicos, 9(47).
- Infante, D. et. al., (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de Protección Vegetal*, 24(1), 14-24.
- Juliani, H. R., Biurrun, F., Koroch, A. R., Oliva, M. M., Demo, M. S., Trippi, V. S., & Zygadlo, J. A. (2002). Chemical Constituents and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Lantana xenica*. *Planta Medica*, 68(8), 762-764.
- Lahlali, R., Ezrari, S., Radouane, N., Kenfaoui, J., Esmaeel, Q., El Hamss, H., ... & Barka, E. A. (2022). Biological control of plant pathogens: A global perspective. *Microorganisms*, 10(3), 596.
- Lee, S.-O., Choi, G.-J., Jang, K.-S., Lim, H.-K., Cho, K.-Y., & Kim, J.-C. (2007). Antifungal Activity of Five

- Plant Essential Oils as Fumigant Against Postharvest and Soilborne Plant Pathogenic Fungi. *The Plant Pathology Journal*, 23(2), 97-102.
- Leta, A., & Selvaraj, T. (2013). Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma* species for the control of onion white rot (*Sclerotium cepivorum* Berk). *Journal Plant Pathology Microbiology*, 4, 159.
- Lopes de Oliveira, G. Verdenelli, R.A., Dominchin, M. F.; Zygadlo, J. A.; & Meriles, J.M. (2018) Impacto de los aceites esenciales y monoterpenos sobre la nitrificación y las comunidades microbianas edáficas. *Ciencia del. suelo*, 36:62-73.
- Lourenço Jr, V., Vieira, B. S., Lopes, E. A., & Villalta, O. N. (2018). Etiology, epidemiology, and management of white rot on onion and garlic: Current knowledge and future directions for Brazil. *Científica*, 46(3), 241-256.
- Mahdizadehnaraghi, R., Heydari, A., Zamanizadeh, H. R., Rezaee, S., & Nikan, J. (2015). Biological control of garlic (*Allium*) white rot disease using antagonistic fungi-based bioformulations. *Journal of Plant Protection Research*, 55(2), 136-141.
- March, G. J., Oddino, C. M., & Marinelli, A. D. (2010). Manejo de las enfermedades de los cultivos según parámetros epidemiológicos (G. J. March & C. M. Oddino, Eds.; 1.a ed., Vol. 1). Biglia Impresores.
- McLean, K. L., Harper, G. E., Frampton, C. M., & Stewart, A. (2005). Dormancy of *Sclerotium cepivorum* sclerotia in New Zealand soils. *New Zealand Plant Protection*, 58, 245-250.
- Merlo, C., Reyna, L., Abril, A., Amé, M. V., & Genti-Raimondi, S. (2014). Environmental factors associated with heterotrophic nitrogen-fixing bacteria in water, sediment, and riparian soil of Suquía River. *Limnologica*, 48, 71-79.
- Miñambres, G. G., Conles, M. Y., Lucini, E. I., Verdenelli, R. A., Meriles, J. M., & Zygadlo, J. A. (2010). Application of thymol and iprodione to control garlic white rot (*Sclerotium cepivorum*) and its effect on soil microbial communities. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(1), 161-170.
- Montalvão, S. C. L., Marques, E., Martins, I., Da Silva, J. P., & De Mello, S. C. M. (2023). Suppression of the phytopathogens *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma* spp. *Biologia*, 78(10), 2941-2952.
- Mołdoch, J., Agacka-Mołdoch, M., Jóźwiak, G., & Wojtunik-Kulesza, K. (2025). Biological activity of monoterpene-based scaffolds: A

- natural toolbox for drug discovery. *Molecules*, 30(7), 1480.
- Narayanasamy, P. (2013). Biological management of diseases of crops (Vol. 673). Dordrecht, The Netherlands:: Springer.
- Ofodile, L. N., Ani, E., & Ayodeji, A. A. (2024). *Trichoderma tomentosum* and *T. Afroharzianum* as potential biocontrol agents for white rot disease *Sclerotium cepivorum* berk of garlic in Ambo, Ethiopia. *Nigerian Journal of Botany*, 37(1), 97-109.
- Pawar, S. V., et. al., (2013). Management of seed/soil diseases of safflower by chemical and biocontrol agents. *African journal of Microbiology Research*, 7(18), 1834-1837
- Pinto, C. M. F., Maffia, L. A., Casali, V. W. D., Berger, R. D., & Cardoso, A. A. (2000). Production components and yield loss of garlic cultivars planted at different times in a field naturally infested with *Sclerotium cepivorum*. *International Journal of Pest Management*, 46(1), 67-72.
- Punja, Z. K., & Rahe, J. E. (1992). *Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi* (L. L. Singleton, J. D. Mihail, & C. M. Rush, Eds.; Vol. 1). APS Press.
- Pérez, A. A., Muñoz, J., Zumelzú, G., Arregui, G. O., Cavaglia, H. M., & Blengini, M. C. (2013). Utilización de *Trichoderma* spp. Como agente biocontrolador de enfermedades fúngicas y promotor de crecimiento vegetal. *Nexo Agropecuario*, 1(1), 21-23.
- Pérez-Torres, E., et. al. (2018). Eficiencia de *Trichoderma harzianum* (cepa a-34) y sus filtrados en el control de tres enfermedades fúngicas foliares en arroz. *Bioagro*, 30(1), 17-26.
- Poudel, M. K., Shrestha, S. M., Manandhar, H. K., Yadav, R. K., & Subedi, S. (2025). In Vitro and In Vivo Evaluation of essential oils against *Sclerotium rolfii* Sacc. *Journal of Agriculture and Forestry University*, 6(1), 158-165.
- Rivera-Mendez, W., Obregon, M., Moran-Diez, M. E., Hermosa, R., & Monte, E. (2020). *Trichoderma asperellum* biocontrol activity and induction of systemic defenses against *Sclerotium cepivorum* in onion plants under tropical climate conditions. *Biological Control*, 141, 104145.
- Roy, B. A., et. al., (2014). Increasing forest loss worldwide from invasive pests requires new trade regulations. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 12(8), 457-465.
- Russo, A., Formisano, C., Rigano, D., Senatore, F., Delfino, S., Cardile, V., & Bruno, M. (2013). Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in

- different environmental conditions. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 42-47.
- Russo, M., Suraci, F., Postorino, S., Serra, D., Roccotelli, A., & Agosteo, G. E. (2013). Essential oil chemical composition and antifungal effects on *Sclerotium cepivorum* of *Thymus capitatus* wild populations from Calabria, southern Italy. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23(2), 239-248.
- Santra, H. K., & Banerjee, D. (2020). Natural products as fungicide and their role in crop protection. In *Natural bioactive products in sustainable agriculture* (pp. 131-219). Singapore: Springer Singapore.
- Saravanakumar, K., et. al., (2017). Effect of *Trichoderma harzianum* on maize rhizosphere microbiome and biocontrol of *Fusarium Stalk rot*. *Scientific reports*, 7(1), 1771.
- Scazzocchio, F., Garzoli, S., Conti, C., Leone, C., Renaioli, C., Pepi, F., & Angiolella, L. (2016). Properties and limits of some essential oils: Chemical characterisation, antimicrobial activity, interaction with antibiotics and cytotoxicity. *Natural Product Research*, 30(17), 1909-1918.
- Silva, L. G., Camargo, R. C., Mascarín, G. M., Nunes, P. S. D. O., Dunlap, C., & Bettiol, W. (2022). Dual functionality of *Trichoderma*: Biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* and biostimulant of cotton plants. *Frontiers in Plant Science*, 13, 983127.
- Sood, M., Kapoor, D., Kumar, V., Sheteiwy, M. S., Ramakrishnan, M., Landi, M., ... & Sharma, A. (2020). *Trichoderma: The "secrets" of a multitiered biocontrol agent*. *Plants*, 9(6), 762.
- Suarez-Mesa, C. L., Barbosa, J. F., Valero, N. O., Carrillo, R. M., & Redondo, A. R. P. (2008). *Trichoderma harzianum* Rifai in vitro antagonism against *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., associated to withering in passion fruit. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 10(2), 35-43.
- Sánchez-Montesinos, B., Santos, M., Moreno-Gavira, A., Marín-Rodulfo, T., Gea, F. J., & Diáñez, F. (2021). Biological control of fungal diseases by *Trichoderma aggressivum* f. *europaeum* and its compatibility with fungicides. *Journal of Fungi*, 7(8), 598.
- Ulacio, D., Jiménez, M. A., & Perdomo, W. (2011). Estrategias de manejo integrado de *Sclerotium cepivorum* Berk., y la pudrición blanca del ajo en Carache, estado Trujillo, Venezuela. *Bioagro*, 23(2), 105-114.
- Utkhede, R. S., & Rahe, J. E. (1979). Wet-sieving floatation technique for isolation of sclerotia of *Sclerotium*

- cepivorum* from muck soil. *Phytopathology*, 69(295), e297.
- Valero Posada, A. M. (2021). Potencial de los aceites esenciales de Tomillo (*Thymus vulgaris*) y Orégano (*Origanum vulgare*) para el Control de *Fusarium* spp. en *Chenopodium quinoa* y su efecto sobre la microbiota del suelo (Doctoral dissertation, Universidad de Boyacá).
- Velásquez-Valle, R., & Reveles-Hernández, M. (2016). Efecto de agentes de manejo alternativo sobre el desarrollo de pudrición blanca de ajo. *Revista mexicana de Micología*, 44, 41-47.
- Wang, J., Qin, T., Chen, K., Pan, L., Xie, J., & Xi, B. (2022). Antimicrobial and antivirulence activities of carvacrol against pathogenic *Aeromonas hydrophila*. *Microorganisms*, 10(11), 2170.
- Wogiatzi, E., Gougoulas, N., Papachatzis, A., Vagelas, I., & Chouliaras, N. (2009). Chemical composition and antimicrobial effects of greek *Origanum* Species essential oil. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 23(3), 1322-1324.
- Wu, T. L., Zhang, B. Q., Luo, X. F., Li, A. P., Zhang, S. Y., An, J. X., ... & Liu, Y. Q. (2023). Antifungal efficacy of sixty essential oils and mechanism of oregano essential oil against *Rhizoctonia solani*. *Industrial Crops and Products*, 191, 115975.
- Xie, Y., Wang, Z., Huang, Q., & Zhang, D. (2017). Antifungal activity of several essential oils and major components against wood-rot fungi. *Industrial Crops and Products*, 108, 278-285.
- Yang, L., Ma, X., Wang, L., Yang, G., Zhou, L., Zhang, Z., & Li, X. (2024). In vitro antifungal activity and mechanism of action of carvacrol against *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. *Plant Protection Science*, 60(2).
- Zewide, T., Fininsa, C., & Sakhuja, P. K. (2007). Management of white rot (*Sclerotium cepivorum*) of garlic using fungicides in Ethiopia. *Crop Protection*, 26(6), 856-866.

7.- Desarrollo de la nanociencia – nanotecnología y sus aplicaciones

Evaluación de propiedades fotofísicas y fotodinámicas de puntos cuánticos de carbono para desarrollo de tratamiento contra cáncer de piel

Autor: Lemos Vilches, Martín; martin.lemosvilches@unahur.edu.ar

Orientadores: Lillo, Cristian; cristian.lillo@unahur.edu.ar; Montanari, Jorge;
jorge.montanari@unahur.edu.ar

Universidad Nacional de Hurlingham (UNAHUR). Laboratorio de Nanosistemas de Aplicación Biotecnológica (LANSAB). Hurlingham, Argentina.

Resumen

Introducción y objetivo: Los puntos cuánticos de carbono (PCC) presentan propiedades fotofísicas que los convierten en potenciales biomarcadores y agentes fototerapéuticos para el tratamiento del cáncer, entre otras enfermedades. A partir de modificaciones en la síntesis (como el dopaje de nitrógeno) se pueden variar dichas propiedades, mejorando por ejemplo su fluorescencia. Nuestra hipótesis es que dichas modificaciones también podrían afectar negativamente el rendimiento de propiedades fotofísicas útiles para el tratamiento localizado de enfermedades. En este trabajo buscamos encontrar candidatos idóneos para hacer una formulación combinada para ambas actividades, lo cual permitiría la aplicación teranóstica de distintos tipos de PCC en cáncer de piel mediante vía tópica.

Metodología: Se sintetizaron stocks de PCC a partir de extractos vegetales por método solvotermal (proceso de oxidación en reactor a altas temperaturas y presión), variando la cantidad de nitrógeno mediante dopaje con urea durante la preparación. Una vez obtenida la suspensión, se purificó el material y se obtuvo su concentración mediante un protocolo de filtración, diálisis y liofilización. La caracterización de los PCC se realizó mediante TEM y espectroscopía UV-Visible y de fluorescencia. Para los rendimientos cuánticos de oxígeno singlete se realizaron ensayos de irradiación a 405 nm con ABDA, un derivado del antraceno que se utiliza como detector indirecto de oxígeno singlete. Por su parte, para los rendimientos cuánticos de fluorescencia se utilizó bisulfato de quinina (QBS) como estándar.

Resultados: Se observa que el dopaje con urea en la síntesis de PCC mejora las propiedades fluorescentes de estos pero disminuye su capacidad de generación de especies reactivas de oxígeno. Por ende, un incremento en el porcentaje de nitrógeno en el nanosistema pareciera estar relacionado con mejores rendimientos de fluorescencia y con menores rendimientos de oxígeno singlete.

Palabras clave: Puntos cuánticos, fotodinámica

Introducción

El cáncer de piel es una enfermedad compleja caracterizada por el crecimiento descontrolado de células en los tejidos de la piel. Debido a que es uno de los tipos de malignidades más comunes en la población caucásica, existe un interés muy fuerte por encontrar alternativas a la quimioterapia y cirugía. Una de las opciones que mejor se adecúa a una forma de tratamiento más específica y localizada es el uso de sistemas nanotecnológicos (Calienni, 2017). Un tipo de nanosistemas con propiedades fotofísicas adaptables a la biomedicina son los puntos cuánticos de carbono (PCC), los cuales son nanosistemas esféricos artificiales compuestos por unos pocos cientos de átomos de carbono. Una de sus principales propiedades fotoquímicas es la fluorescencia, que se genera cuando son irradiados con luz de una frecuencia específica. Sin embargo, estos nanosistemas también pueden generar especies reactivas de oxígeno (ERO) que los vuelven idóneos para terapia fotodinámica mediante vías de procesamiento de la luz alternativas a la fluorescencia. Esto hace que los PCC puedan ser potenciales biomarcadores y agentes fototerapéuticos para el tratamiento del cáncer y otras enfermedades. A partir de modificaciones en la síntesis como el dopaje de nitrógeno se pueden variar dichas propiedades, mejorando por ejemplo su fluorescencia

(Li, 2019). Nuestra hipótesis es que dichas modificaciones también podrían afectar negativamente el rendimiento de otras propiedades fotofísicas como la generación de ERO. Luego de poner a prueba las capacidades fotofísicas de las formulaciones se realizaron ensayos de citotoxicidad en células SK-Mel (línea celular de melanoma humano) (Doustvandi, 2017). Los ensayos de citotoxicidad se llevaron a cabo tanto en oscuridad como bajo irradiación con fuentes de luz de diferentes potencias.

Objetivos

El objetivo de este trabajo consiste en la aplicación localizada de PCC para teragnosis (tratamiento y diagnóstico) contra cáncer de piel. Es por ello que en esta investigación se busca conseguir una combinación a partir de los candidatos de PCC más idóneos para fluorescencia y actividad fotodinámica. La aplicación de estos nanosistemas será por vía tópica, evitando la distribución sistémica con la disminución consecuente de efectos colaterales, y aumentando la especificidad de su acción antitumoral.

Materiales y Métodos

Materiales, síntesis y purificación:

Los stocks de PCC se prepararon a partir de extractos vegetales mediante método solvothermal, el cual consiste en someter a las muestras dentro de un

reactor de acero y teflón a un proceso de oxidación solvotermal a presiones y temperaturas elevadas. Los tipos de PCC dependen de las condiciones de síntesis, por lo que se prepararon diferentes stocks a partir de los siguientes extractos: sandía, arándanos y frutillas. Además, se generaron stocks dopados con nitrógeno para cada condición mediante la adición de urea en la síntesis. Todas las soluciones se prepararon con Agua Milli-Q. Las suspensiones obtenidas se purificaron mediante filtración y diálisis.

Caracterización y cálculo de rendimientos:

Las propiedades fotofísicas de los PCC se caracterizaron mediante espectroscopía UV-Visible y fluorescencia (emisión y excitación). Todas estas mediciones se realizaron en Duetta (HORIBA, Canadá). Los nanosistemas se observaron mediante microscopía de transmisión (JEOL JEM 1200EX II). El potencial zeta se midió por triplicado mediante Dynamic Light Scattering (DLS) y se analizaron los resultados mediante ANOVA de una sola vía. Las mediciones se realizaron en Zetasizer Pro Lab serie ZSV3200 (Malvern Panalytical). El pH de las suspensiones se obtuvo a partir de tiras reactivas. La fluorescencia a 360 nm de excitación se estimó calculando el rendimiento cuántico de fluorescencia usando sulfato de quinina como referencia (Wurth, 2013).

$$\Phi_{fl,\Delta Muestra} = \Phi_{fl,\Delta QBS} \cdot \frac{A_{Muestra}}{A_{QBS}} \cdot \frac{1 - 10^{-Abs_{360nm,QBS}}}{1 - 10^{-Abs_{360nm,Muestra}}}$$

Ecuación 1: Rendimiento de fluorescencia. A es el área bajo la curva del espectro de fluorescencia entre 370 y 700 nm del fotosensibilizador cuando es excitado a 360 nm, Abs es su absorbancia a 360 nm y Φ_{fl} es el rendimiento cuántico de fluorescencia del fotosensibilizador.

La generación de ERO, por su parte, se determinó mediante un ensayo indirecto de consumo de oxígeno con ABDA (un derivado del antraceno que permite medir la generación de oxígeno singlete) durante irradiación a 405 nm (Entradas, 2020). Los rendimientos cuánticos de oxígeno se calcularon a partir de la ecuación 2 considerando el azul de metileno como estándar (Lutkus, 2019):

$$\Phi_{ox,\Delta Muestra} = \Phi_{ox,\Delta AN} \cdot \frac{A_{AM}}{A_{Muestra}} \cdot \frac{K_{Muestra}}{K_{AM}}$$

Ecuación 2: Rendimiento de oxígeno singlete. A es el área bajo la curva del espectro de absorción del fotosensibilizador entre 300 y 500 nm sin presencia de ABDA, K es la pendiente de caída del ABDA en función del tiempo en presencia del fotosensibilizador y Φ_{ox} es el rendimiento cuántico de oxígeno singlete del fotosensibilizador.

Citotoxicidad:

Los ensayos de citotoxicidad se realizaron en células SK-Mel y la viabilidad se evaluó mediante ensayo de MTT a 595 nm. La irradiación se realizó 24 hs después

de incubado el tratamiento y se evaluó por medio de una lámpara LED azul y por láser de 405 nm $\pm$ 10 (50 mW). La estadística inferencial fue evaluada mediante ANOVA de una sola vía.

Resultados y Discusión

Caracterización fisicoquímica:

Los picos de intensidad en los PCC dopados con urea se dan a menores longitudes de excitación y emisión. Las longitudes de excitación de las especies sin dopar se encuentran entre los 360-365 nm mientras que sus variantes dopadas siempre fueron inferiores. Las longitudes de emisión de las especies sin dopar se encuentran entre los 441-447 nm y sus variantes dopadas fueron de nuevo inferiores (Tabla 1). El pH de todas las muestras ronda entre 4 y 5, según tiras reactivas.

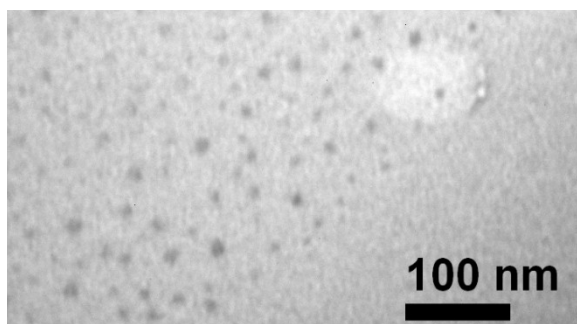


Figura 1: Imagen de microscopía de transmisión de PCC de arándano sin dopar.

Tabla 1: Longitudes de onda máxima de excitación y emisión de cada PCC.

Tipo de	λ_{max} de	λ_{max} de
---------	---------------------------	---------------------------

PCC	excitación	emisión
Sandía	365 nm	447 nm
Sandía dopada	350 nm	435 nm
Arándano	360 nm	443 nm
Arándano dopado	325 nm	415 nm
Frutilla	360 nm	441 nm
Frutilla dopada	320 nm	417 nm

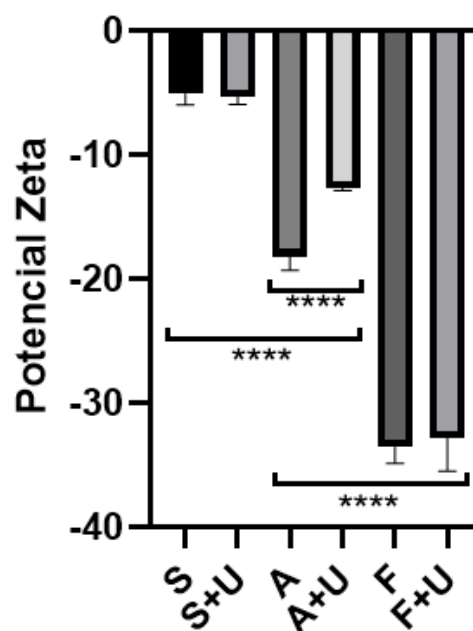


Figura 2: Potencial zeta de todas las formulaciones medidas por DLS. Los valores presentan diferencias significativas dependiendo de la fuente de carbono (siendo los de sandía los de valor más cercano a cero y los de frutilla los de valor más negativo). Con excepción de los PCC de arándano, el dopaje no pareciera generar modificaciones en el potencial zeta de la formulación. S = Sandía. S+U = Sandía dopada. A = Arándanos. A+U = Arándanos dopados. F = Frutilla. F+U = Frutilla dopada.

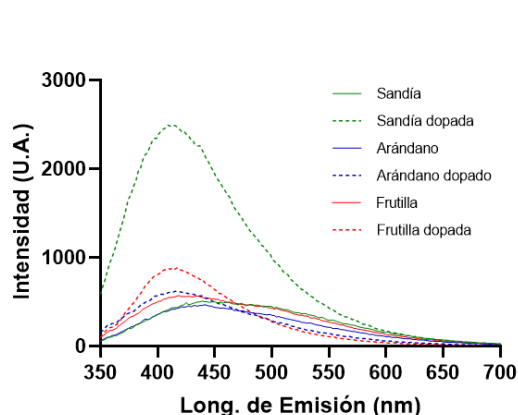


Figura 3: Espectros de emisión de los diferentes PCC a 0,1 mg/ml en agua cuando se excitan a 320 nm. Los PCC dopados presentan mayor intensidad de emisión con respecto a los no dopados.

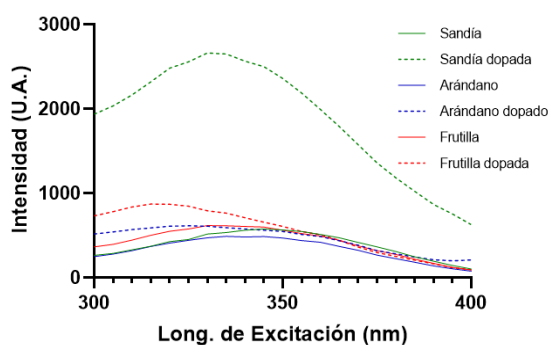


Figura 4: Espectros de excitación a 410 nm de emisión de los diferentes PCC a 0,1 mg/ml en agua.

Rendimientos cuánticos:

Los PCC dopados presentaron un mayor rendimiento de fluorescencia con respecto a sus contrapartes sin dopar, pero un menor rendimiento de oxígeno singlete.

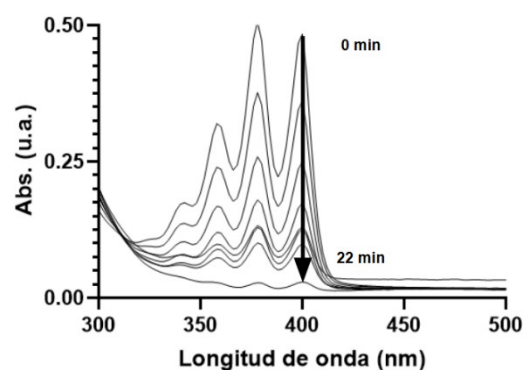


Figura 5: Caída de absorbancia de ABDA en presencia de PCC de arándano sin dopar a 0,1 mg/ml cuando es irradiado a 405 nm.

Tabla 2: Resultados de los rendimientos cuánticos de fluorescencia (Φ_f) y de oxígeno singlete (Φ_{ox}) de los diferentes tipos de PCC, calculados a partir de las ecuaciones 1 y 2.

Tipo de muestra	Φ_f	Φ_{ox}
Estándar	55% (QBS)	52% (Azul de metileno)
Sandía	1,07%	16,66%
Sandía dopada	4,24%	10,22%
Arándano	0,94%	29,37%
Arándano dopado	1,94%	2,26%
Frutilla	0,85%	15,05%
Frutilla dopada	1,93%	10,58%

Citotoxicidad:

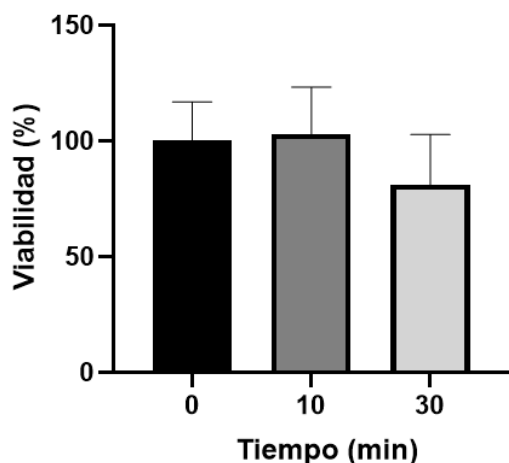


Figura 6: Irradiación de células SK-Mel sin tratar con lámpara LED azul para determinar tiempo mínimo de inhibición. No se observaron diferencias significativas a 10 ni a 30 min. Se determinó el uso de 10 minutos de irradiación en los ensayos siguientes.

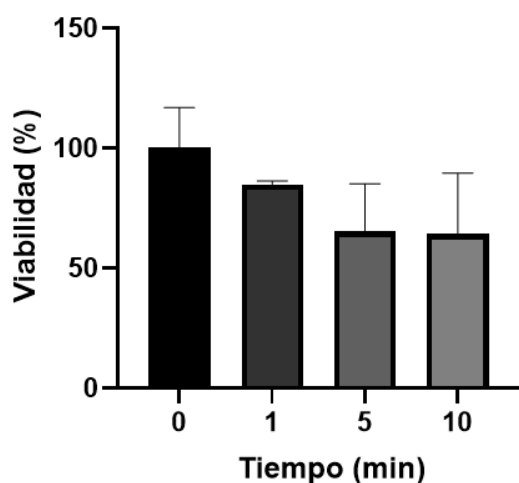


Figura 7: Irradiación de células SK-Mel sin tratar con láser de 405 nm $\pm$ 10 (50 mW) para determinar tiempo mínimo de inhibición. No se observaron diferencias significativas entre los diferentes tiempos, pero sí una caída a 5 min y 10 min con gran dispersión. Se determinó el uso de 1 minuto de irradiación en los ensayos siguientes.

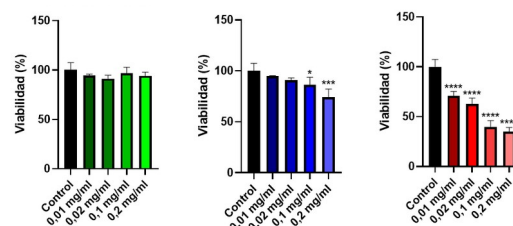


Figura 8: Ensayos de citotoxicidad en oscuridad de los PCC sin dopar de sandía (verde), arándanos (azul) y frutilla (rojo). Se determinó que las mejores concentraciones para los ensayos siguientes son 0,1 mg/ml para sandía y arándanos (la misma con la que se realizaron los ensayos con ABDA) y 0,01 mg/ml para frutilla.

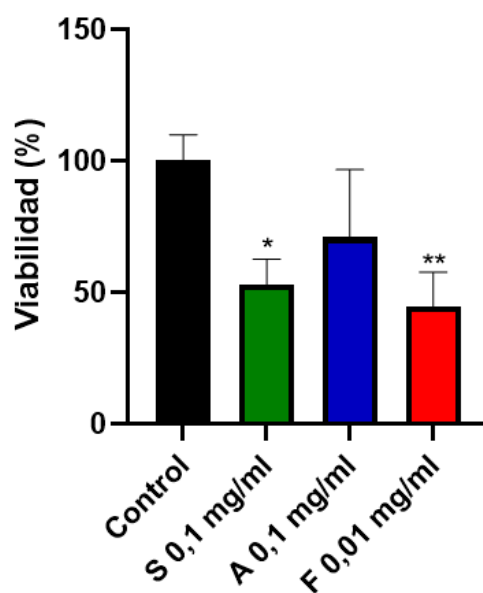


Figura 9: Irradiación con lámpara LED azul de células SK-Mel tratadas con PCC. Se observaron menores viabilidades significativas en los PCC de sandía y de frutilla. S = Sandía. A = Arándanos. F = Frutilla.

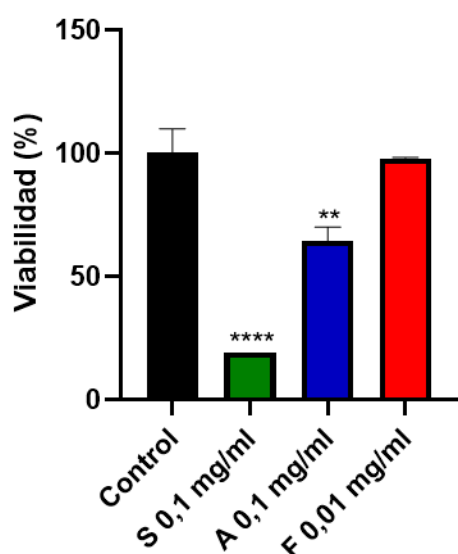


Figura 10: Irradiación con láser de 405 nm $\pm$ 10 (50 mW) de células SK-Mel tratadas con PCC. Se observaron menores viabilidades significativas en los PCC de sandía y de arándanos. S = Sandía. A = Arándanos. F = Frutilla.

Conclusiones

Todos los PCC dopados presentaron una mayor intensidad de fluorescencia en comparación con los PCC sin dopar, en especial los de sandía. En cuanto a oxígeno singlete, la tendencia fue inversa como se esperaba según nuestra hipótesis inicial: los mejores rendimientos se encontraron en los PCC sin dopar (especialmente los de arándano). A su vez todos los PCC sin dopar presentaron efectos citotóxicos cuando fueron irradiados en su concentración máxima sin citotoxicidad intrínseca: los PCC de arándanos solo con láser, los de frutilla solo con lámpara y los de sandía con ambas condiciones. En base a estos resultados, se buscará a futuro combinar PCC de

sandía dopados y de arándano sin dopar en una formulación para maximizar fluorescencia y generación de ERO.

Referencias Bibliográficas

Calienni, M. N., Temprana, C. F., Prieto, M. J., Paolino, D., Fresta, M., Tekinay, A. B., Alonso, S. d. V., & Montanari, J. (2017). Nano-formulation for topical treatment of precancerous lesions: skin penetration, in vitro, and in vivo toxicological evaluation. *Drug Delivery and Translational Research*, 8, 496–514. <https://doi.org/10.1007/s13346-017-0469-1>

Doustvandi, M. A., Mohammadnejad, F., Mansoori, B., Mohammadi, A., Navaeipour, F., Baradaran, B., & Tajalli, H. (2017). The interaction between the light source dose and caspase-dependent and -independent apoptosis in human SK-MEL-3 skin cancer cells following photodynamic therapy with zinc phthalocyanine: A comparative study. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 176, 62–68. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.09.020>

Entradas, T., Waldron, S., & Volk, M. (2020). The detection sensitivity of commonly used singlet oxygen probes in aqueous environments. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 204, 111787.

<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2020.111787>

Li, Y., Bai, G., Zeng, S., & Hao, J. (2019). Theranostic carbon dots with innovative NIR-II emission for in vivo renal-excreted optical imaging and photothermal therapy. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 11(5), 4737–4744. <https://doi.org/10.1021/acsami.8b14877>

Lutkus, L., Rickenbach, S., & McCormick, T. (2019). Singlet oxygen quantum yields determined by oxygen consumption. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 378, 131–135. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2019.04.029>

Würth, C., Grabolle, M., Pauli, J., Spieles, M., & Resch-Genger, U. (2013). Relative and absolute determination of fluorescence quantum yields of transparent samples. *Nature Protocols*, 8(8), 1535–1550. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.087>

Agradecimientos

Dr. Martín Mirenda y Dr. Javier Abbas por proveernos de QBS para calcular los rendimientos cuánticos de fluorescencia.

Financiamiento

PIUNAHUR 2023: “Desarrollo de nanosistemas fototérmicos tópicos para cáncer de piel”

PIUNAHUR 2024: Proy. de Inv. Aplicada, Desarrollo y Transf. (PIADT) de la UNAHUR, “Nanosistemas híbridos para teragnóstica en cáncer de piel y otras enfermedades cutáneas. Nuevas etapas”

PIUNAHUR 2025: “Plataforma bionanotecnológica para aplicación no invasiva de tratamientos tópico-cutáneos”

9.- Interdisciplinario, Desafíos de biotecnología y bioquímica

Inocuidad del extracto acuoso de *Hibiscus sabdariffa* en células humanas tratadas en *in vitro*

Autor: Lezcano, Desiree¹; email: lezcanodesiree105@gmail.com

Co-autor(es): Burgos, Cinthia², Talavera, Liliana²; Da Costa, Matias¹

Orientador/a: Segovia, Edith¹; email: edith.segovia@cemit.una.py

¹Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas-UNA

²Facultad de Ciencias y Tecnología – UNI

Resumen

Hibiscus sabdariffa, conocida comúnmente como flor de Jamaica, rosella o karkadé, es una planta de uso tradicional en la medicina natural y de gran interés en la investigación científica debido a sus múltiples propiedades terapéutica, desde la disminución de la presión arterial alta hasta su capacidad de inducir la apoptosis en células cancerígenas. Numerosos estudios han demostrado que sus extractos, especialmente aquellos que son obtenidos de los cálices, poseen efectos antioxidantes, antihipertensivos, hepatoprotectores e incluso anticancerígenos, gracias a que posee compuestos bioactivos como las antocianinas y el ácido protocatecúico. No obstante, algunos estudios realizados en animales han reportado efectos adversos con la utilización de dosis elevadas por largos periodos de tiempo. Considerando la poca información científica sobre la inocuidad o toxicidad de esta planta, el objetivo de este trabajo fue evaluar la genotoxicidad del extracto acuoso de la rosella en células de sangre periférica humana, mediante las modificaciones en las frecuencias de aberraciones cromosómicas. No se observaron efectos genotóxicos en las células tratadas con 500 µg y 1.000 µg del liofilizado del extracto acuoso, por lo que se concluye que, en las condiciones experimentales utilizadas, el extracto acuoso de *H. sabdariffa* no presenta genotoxicidad en células de sangre periférica humana.

Palabras clave: genotoxicidad, linfocitos, aberraciones cromosómicas

Introducción

Hibiscus sabdariffa L. también conocida como flor de Jamaica o rosella, pertenece a la familia Malvaceae y su origen se atribuye a Sudán y Asia tropical; se reporta que posteriormente fue introducida a otros países, entre los cuales se encuentra México (Correa Sánchez et al., 2011). El cáliz de la rosella es comúnmente utilizado en distintas presentaciones, ya sea como mermelada, licor o en forma de infusión para preparar bebidas (Ochelle, P. O., Torkuma, S. T., & Swande, P. I. 2024). Diversos estudios han evaluado sus compuestos bioactivos y sus efectos sobre la salud, ya que se le han atribuido efectos terapéuticos tales como: hepatoprotectores, antitumorales, hipolipemiantes, antimicrobianos, entre otros (Riaz, G., & Chopra, R., 2018; Ali et al., 2005).

Con relación a sus efectos en cáncer, estudios previos reportan un efecto antitumoral de la *H. sabdariffa* L. en distintos tipos de cáncer. En el estudio realizado por Wu ChengHsun et al. (2016), donde evaluaron el efecto del extracto hidroalcohólico de *H. sabdariffa* L. en células de cáncer de mama se reportó que, del total de las antocianinas del compuesto, el 69% estaba representado por la delfinidina, seguido de cianidina en un 27% y de otras antocianinas 4%.

Así mismo, mostraron que el efecto antitumoral de la *H. sabdariffa* L. se atribuía

a su capacidad para participar como agente quimioprotector, inductor de autofagia y necrosis en las células tumorales de mama.

Por otra parte, una de las propiedades más importantes de las células potencialmente oncogénicas es su capacidad para migrar a otros tejidos, de esto depende que cierto tipo de cáncer sea más agresivo que otro.

En 2018, Riaz y colaboradores realizaron un estudio sobre el efecto de la *H. sabdariffa* L. en células de carcinoma (cáncer derivado a partir de células epiteliales) y mieloma (cáncer derivado de células de médula ósea), en el que observaron que después del estímulo de ambas líneas celulares con el extracto de *H. sabdariffa* L., la viabilidad, proliferación y capacidad de transmigración celular se redujeron en más de un 50%. Otro de los hallazgos resultantes del estudio de *H. sabdariffa* L. en cáncer, es la capacidad del extracto para inducir apoptosis en las células malignas. (Escobar-Millán et al., 2022)

La flor de Jamaica, por su contenido de compuestos bioactivos y las propiedades químicas y actividades funcionales, presenta hipoglucémicas, diuréticas, hipolipemiantes, antiinflamatorias, entre otras actividades (Montalvo-González, et al., 2022).



Figura 1: Planta de rosella

Foto: Ing. Ftal. Manuel Enciso (campo particular).

Objetivo

Evaluar el potencial genotóxico del extracto acuoso de *Hibiscus sabdariffa* (rosella), en células de sangre periférica humana, tratadas in vitro.

Materiales y Métodos

Materiales: Medio de cultivo RPMI con L glutamina, Suero fetal bovino, antibióticos, Fitohemaglutinina, sangre periférica de donante sano, placas de Petri.

Extracto acuoso de flor de *Hibiscus sabdariffa*: se colectaron las flores en el campo particular del Ing. Ftal. Enciso (productor). Las flores fueron lavadas con agua potable, se trituraron las brácteas y se realizó la extracción con agua caliente.

El extracto obtenido fue liofilizado en el Laboratorio de Química y Toxicología del CEMIT-UNA. **Métodos:** Se trataron las células con 2 concentraciones del extracto acuoso liofilizado de rosella, 500 y 1.000 µg/mL, en un volumen de 8 mL de medio completo, el control negativo (medio completo), y el control positivo (0.1 µg/mL de Mitomicina). Brevemente: se inocula aproximadamente 0,5 ml de sangre total

heparinizada en una placa de plástico con 08 ml de medio. Se incuban las células a 37 ° C en atmósfera de CO₂ al 5% durante 48h. y se deja por 24 h a 37 ° C en atmósfera de CO₂ al 5%.

Antes de colectar las células se tratan todas las placas con colchicina (0.6µg/mL) y se deja, a 37° C en atmósfera de CO₂ al 5%, durante 2 h. las células se centrifugan a 2.000 rpm durante 5 minutos. Se retira el sobrenadante, y se re suspende el botón de célula en una solución hipotónica de KCl (0,4%) y se incuban por 15 minutos a 37 °C. Se centrifuga a 2.000 rpm durante 5 minutos. Luego, las células se lavan en solución fijadora (metanol:ácido acético glacial, 3:1 v/v). Se incuban a 22°C durante 20 minutos, y se centrifuga a 2000 rpm durante 5 minutos.

Se repite el proceso de fijación tres veces. Se dejan caer 2-3 gotas de la muestra sobre un portaobjetos limpio, mantenido a 2-4°C, y se deja secar a temperatura ambiente. Se tiñen las muestras (Giemsa al 4% en agua destilada) durante 5 minutos. Para cada tratamiento se cuentan 100 células metafásicas en microscopio de inmersión.

Resultados y Discusión

En las muestras de células tratadas con las 2 concentraciones del extracto acuoso de flor de Jamaica, en ambas concentraciones no se observaron un aumento significativo de la frecuencia de daño en los

cromosomas (Figura 2). La mayor concentración evaluada, está dentro del rango sugerido por la OECD (2016), que sostiene que la concentración de evaluación no debe ser mayor a 2 mg/mL, donde valores superiores tendrían un efecto citotóxico.

Los ensayos de evaluación genotóxica son complementarios, ya hemos observado que el extracto de esta planta no presenta efectos genotóxicos en células de médula ósea de ratones tratados (Paredes-Branda, 2021), también se describe su efecto protector (antigenotóxico), en ratones tratados con arsénico (Ghosh, et al., 2015).

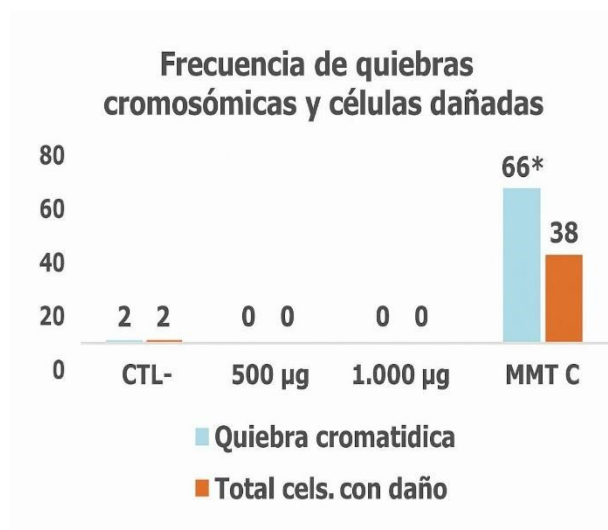


Figura: Frecuencia de aberraciones cromosómicas y de células afectadas en todos los grupos evaluados. CTL-: control negativo, MMC: Mitomicina C. * : estadísticamente significativo

Conclusiones

Bajo estas condiciones experimentales, el extracto acuoso de cáliz de *Hibiscus sabdariffa* no presentó efectos genotóxicos.

Referencias Bibliográficas

- Ali, B. H., Wabel, N. A., & Blunden, G. (2005). Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa* L.: A review. *Phytotherapy Research*, 19(5), 369-375.
- Correa Sánchez, E., Ortiz García, C. F., Torres de la Cruz, M., Bautista Muñoz, C. D. C., Rivera Cruz, M. D. C., Lagunes Espinoza, L. D. C., & Hernández Salgado, J. H. (2011). Etiología de la mancha acuosa de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) en Tabasco, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 29(2), 165-167.
- Escobar-Millán, Z., García-Iglesias, T., Gómez-Leyva, J. F., Ramírez-Alvarado, D., Figueroa-Martínez, R., Torres-Bugarín, O., & García-García, M. R. (2022). Extracto de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.): Efecto antioxidante y terapéutico. *Acta De Ciencia En Salud*, (5), 14-19.
- Ghosh, I., Poddar, S., & Mukherjee, A. (2015). Evaluation of the protective effect of *Hibiscus sabdariffa* L. calyx

- (Malvaceae) extract on arsenic induced genotoxicity in mice and analysis of its antioxidant properties. *Biology and Medicine*, 7(1), 1
- Montalvo-González, E., Villagrán, Z., González-Torres, S., Iñiguez-Muñoz, L. E., Isiordia-Espinoza, M. A., Ruvalcaba-Gómez, J. M., ... & Anaya-Esparza, L. M. (2022). Physiological effects and human health benefits of Hibiscus sabdariffa: A review of clinical trials. *Pharmaceuticals*, 15(4), 464.
- Ochelle, P. O., Torkuma, S. T., & Swande, P. I. (2024). Quality Evaluation of Jam Produced from Fresh and Dried Roselle Calyces (Hibiscus sabdariffa). *Applied Sciences Research Periodicals*, 2(1), 74-95.
- OECD. (2016). Test No. 473: In Vitro Mammalian Chromosomal Aberration Test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4.
- Paredes-Branda, K., Nakayama, H., González, M. C., & Segovia, E. (2020). Evaluación in vivo del efecto genotóxico y citotóxico de los extractos acuosos de dos variedades mutantes de Hibiscus sabdariffa L. *Avances en Ciencias e Ingenierías*, 12(3), 72-79.
- Riaz, G., & Chopra, R. (2018). A review on phytochemistry and therapeutic uses of Hibiscus sabdariffa L. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 102, 575-586.
- Wu, C. H., Huang, C. C., Hung, C. H., Yao, F. Y., Wang, C. J., & Chang, Y. C. (2016). Delphinidin-rich extracts of Hibiscus sabdariffa L. trigger mitochondria-derived autophagy and necrosis through reactive oxygen species in human breast cancer cells. *Journal of Functional Foods*, 25, 279-290.

Financiamiento (Opcional)

Este trabajo forma parte del proyecto N° PINV01-226, financiado por el Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT).

Agradecimientos

Agradezco profundamente al equipo del Laboratorio de Biotecnología del CEMIT y a la Dra. Edith Segovia por su acompañamiento y apoyo constante. Así también, a mis compañeros colaboradores en esta investigación y al Laboratorio de Química y Toxicología del CEMIT-UNA por su colaboración en la preparación del extracto.



9.- Desafíos de biotecnología y bioquímica

Análisis del secretoma proteico de un aislado de *Macrophomina phaseolina* en respuesta a tejido de hospedero

Autor: Lafuente Gamarra, Belén¹; blafuente@qui.una.py

Co-autor(es): Cubilla, Alberto¹; Iehisa, Julio²

Orientador/a: Romero Rodríguez, María Cristina; rromero@qui.una.py

Universidad Nacional de Asunción / ¹Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas, ²Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Químicas

Resumen

Macrophomina phaseolina es un hongo fitopatógeno de plantas, agente causal de la pudrición carbonosa en raíces y tallos de cultivos de relevancia económica y agronómica en Paraguay y el mundo. Su mecanismo molecular de infección no ha sido completamente dilucidado; sin embargo, se sabe que secreta moléculas bioactivas que actúan como toxinas o factores de virulencia, facilitando la colonización del huésped. Aunque su genoma predice múltiples proteínas asociadas a patogénesis, solo el 26 % del secretoma ha sido identificado experimentalmente, evidenciando la necesidad de ampliar la cobertura de identificación experimental, donde estudios en respuesta a tejido hospedero posibilitaría la identificación de proteínas candidatas a posteriores estudios sobre el mecanismo de infección. En este estudio, un aislado de *M. phaseolina* fue cultivado en medio mínimo, con y sin suplemento de raíz de soja a distintas concentraciones, para inducir la secreción de proteínas potencialmente implicadas en la infección. Se analizaron biomasa, rendimiento proteico y perfiles por SDS-PAGE. Mediante LC-MS/MS se identificaron 231 proteínas secretadas por vía convencional en condiciones sin y con suplemento de raíz de soja al 1 %. El análisis funcional, basado en dominios conservados, reveló la presencia de peptidasas y CAZymes. Se observó un incremento tanto en número como en abundancia de proteínas bajo la condición suplementada, destacándose aquellas con funciones potencialmente relacionadas a la patogénesis, como efectores, peptidasas y enzimas que degradan pared celular. Estas proteínas constituyen candidatas relevantes para estudios funcionales dirigidos a esclarecer el mecanismo molecular de infección del hongo.

Palabras clave: fitopatógeno, factores de virulencia, proteoma.

Introducción

Macrophomina phaseolina es un hongo que está presente en el suelo y causa la enfermedad conocida como pudrición carbonosa del tallo y raíz de las plantas, entre sus hospederos, se encuentran soja (*Glycine max*), sésamo (*Sesamum indicum*), algodón (*Gossypium hirsutum*), maíz (*Zea mays*), frutilla (*Fragaria × ananassa*), girasol (*Helianthus annuus*) y estevia (*Stevia rebaudiana* [Berton] Berton), cultivos que tienen gran interés económico y agronómico en Paraguay y el mundo (Lemes Rodrigues et al., n.d.; Marquez et al., 2021; Su et al., 2001).

Los síntomas externos provocados son el envejecimiento de las hojas y clorosis. En el tallo y raíz ocurre desprendimiento de tejido y aspecto negro debido a la formación de microesclerocios que permanecen en los restos de tejido vegetal y se mantienen en el suelo por largos periodos de tiempo (Short, Wyllie, and Ammon V. 1978).

Tiene una distribución geográfica bastante amplia, principalmente en zonas tropicales y subtropicales como África, Asia, Europa, Norteamérica y Sudamérica. Además, debido al cambio climático, su distribución se ha ampliado a zonas previamente no detectadas (Dell'Olmo et al., 2022; Kaur et al., 2012).

El impacto económico que genera la infección por *M. phaseolina* se encuentra

entre las más importantes de los países productores de soja (Estados Unidos de América (EE.UU.), Brasil, Argentina, China, India, Paraguay, Canadá, Indonesia, Bolivia e Italia) (Wrather et al., 2010), afectando la calidad y la cantidad de cultivo generado. En EE.UU., se estimaron pérdidas de 8000 USD por hectárea entre 1996 y 2016 debido a la pudrición carbonosa, siendo la segunda causa más común de pérdida de este cultivo (Bandara et al., 2020).

Diferentes factores contribuyen a la infección por *M. phaseolina*, entre ellos se encuentran los suelos secos con alta relación C:N, humedad menor a 60% y altas temperaturas (30-35°C) (Dhingra & Sinclair, 1973; Kaur et al., 2012). También se ha estudiado el papel que tiene la diversidad genética en la capacidad del patógeno a adaptarse a distintas zonas geográficas y diferentes climas y se ha encontrado en un estudio realizado en EE.UU. y Colombia que el clima contribuye en la variabilidad genética (Ortiz et al., 2023).

El hongo ingresa a la planta a través de las raíces y genera daño en el sistema vascular, impidiendo el paso de agua y nutrientes, causando la muerte prematura de la planta. El mecanismo molecular de infección aún no se conoce completamente. *M. phaseolina* secreta moléculas con diversas funciones que le

permiten contrarrestar la defensa de la planta y generar lesiones para colonizar e infectar al huésped (Pineda-Fretez et al., 2023; Sinha et al., 2022).

Para el control de la infección, se utilizan métodos químicos, prácticas agronómicas y, todavía en investigación y desarrollo, el control biológico (Degani et al., 2023; Rangel-Montoya et al., 2022). Sin embargo, el control representa un gran desafío debido a la baja efectividad y al impacto ambiental que generan los fungicidas químicos (Marquez et al., 2021). Por esto, el enfoque actual busca desarrollar plantas tolerantes o resistentes a la infección del hongo (Basandrai et al., 2021; Pickel et al., 2020) y para esto es necesario conocer la biología de este y su mecanismo molecular de infección.

El tamaño del genoma de *M. phaseolina* es de 50,55 Mb y está compuesto por genes asociados a la virulencia, se han encontrado 537 probables genes PHI (*pathogen-host interaction*). Esto es esperado ya que, al infectar una gran variedad de especies, el hongo necesita diferentes genes de interacción patógeno-huésped (PHI). Estos genes están asociados a diversas funciones como adhesión, vías de señalización, enzimas que degradan pared celular, síntesis de purinas y síntesis de metabolitos secundarios (Islam et al., 2012).

Es sabido que los hongos patógenos

producen moléculas bioactivas que pueden actuar como toxinas o factores de virulencia para favorecer la infección del huésped. En el caso de los hongos fitopatógenos, estas moléculas también le permiten contrarrestar las defensas del huésped (Chooi & Tang, 2012). Un ejemplo son los hongos del género *Fusarium* que producen una gran variedad de micotoxinas como ácido fusárico, fusarina C, naftoquinonas, moniliformina y fumonisinas, principalmente esta última que se ha evidenciado que contribuyen al proceso de infección de la planta de maíz, funcionando como un factor de virulencia y cumpliendo un rol importante en la patogénesis (De La Torre-Hernández et al., 2014), o proteínas secretadas por *F. oxysporum* como las “*Secreted-in-xylem*” (Six) que es primordial en la virulencia del hongo y su infección (Gawehns et al., 2014), también la proteína cerato platanina FoCP1 (Liu et al., 2019) o la metaloproteasa M35 (Zhang et al., 2021), importantes para la virulencia total del hongo, lo que demuestra la participación de las proteínas en la infección.

El genoma de *M. phaseolina* codifica proteínas que pueden tener un rol importante en la patogénesis, contribuyendo a la infección con la producción de sustancias tóxicas y disminuyendo la respuesta inmune del huésped, sin embargo, su función aún no ha sido comprobada experimentalmente

(Islam et al., 2012).

Entre las proteínas secretadas, se han identificado enzimas hidrolíticas y, recientemente, se han identificado proteínas sin actividad enzimática que podrían actuar como factores de virulencia o efectores con diversas funciones (Kaur et al., 2012; Pineda-Fretez et al., 2023; Sinha et al., 2022). Experimentalmente, se han identificado hasta la fecha un total de 250 proteínas secretadas, lo que equivale al 26% de las proteínas potencialmente secretadas en el genoma de *M. phaseolina* (Pineda-Fretez et al., 2023). Esto demuestra la necesidad de ampliar la cobertura de identificación de las proteínas secretadas de manera experimental, lo que brindaría información básica para comprender el mecanismo.

Las proteínas secretadas en su conjunto por una célula, tejido, órgano, hongo, bacteria a un determinado ambiente extracelular bajo un tiempo y una condición determinada se denomina “secretoma”, lo que significa que el secretoma es dinámico y constituye una forma de comunicación intercelular (Wu & Krijgsveld, 2024).

El estudio del secretoma en respuesta a tejido hospedero posibilita la identificación de proteínas candidatas, sobre las cuales se pueden proponer experimentos que brinden información sobre su implicancia en la patogénesis, considerando que no siempre todas las proteínas en el genoma

de un patógeno son secretadas.

Para el análisis del proteoma se utilizan diversas herramientas, la principal es la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (*gel-free* LC-MS/MS), que permite identificar proteínas secretadas por microorganismos en respuesta a la interacción con el huésped (Santos et al., 2017; Zhao et al., 2020).

El enfoque *shotgun proteomics*, o enfoque holístico, se basa en el análisis de una mezcla de proteínas digeridas con proteasas (en general tripsina) y posterior separación por cromatografía líquida (LC) y análisis de los péptidos por espectrometría de masas en tándem (MS/MS). Esto permite obtener espectros de MS/MS experimentales que pueden ser comparados con espectros de masa de péptidos generados *in silico* a partir de una base de datos seleccionada en función a la especie con la que se trabaja mediante softwares específicos como el Proteome Discoverer (Thermo Scientific), MaxQuant (Cox & Mann, 2008), que incluyen algoritmos para la realización de las comparaciones. Finalmente, esto permite asignar identidad a las proteínas presentes en la muestra. La muestra puede provenir de experimentos libre de geles o de geles SDS-PAGE monodimensionales (1DE) o bidimensionales (2 DE) (Matallana-Surget et al., 2010).

Los datos de cromatogramas y espectros de masas generados mediante LC-MS/MS permite cuantificar las proteínas presentes en las muestras (Figura 1). La estrategia más simple es el enfoque libre de marcaje, es decir, las proteínas o los péptidos analizados no se marcan con isótopos. La cuantificación se realiza mediante la medición del área bajo la curva del pico cromatográfico del/los péptido/s precursor/es único/s que permitieron identificar la proteína, o a través del conteo del número de espectros del/los péptido/s precursor/es que permitieron identificar a la proteína determinada (Bantscheff et al., 2007).

Por otro lado, existen herramientas que permiten predecir de manera *in silico* las proteínas secretadas a partir del proteoma predicho del genoma o transcriptoma de organismos secuenciados (Scott et al., 2023).

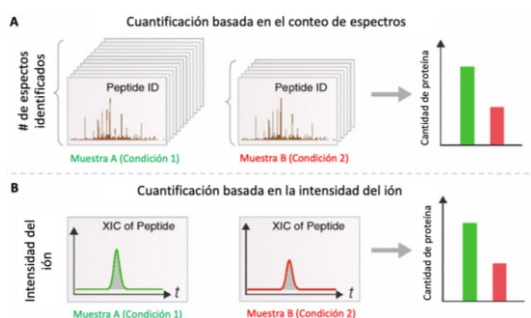


Figura 1. Cuantificación label-free en estudios de proteómica. A) Cuantificación basada en el recuento espectral. Se pueden comparar los números de espectros que identifican a una proteína idéntica en muestras en una condición (verde) versus una condición diferente (roja). B) Cuantificación basada en la intensidad del pico del péptido ión. Se integra la

intensidad de la señal generada por los iones peptídicos asignados a una proteína para deducir la cantidad de esa proteína presente en las muestras de ambas condiciones estudiadas. Adaptado de Lam et al. (Lam et al., 2016).

Las proteínas pueden secretarse por diversas vías (Figura 2), la vía convencional es la que utiliza un péptido señal que guía la translocación de la proteína al espacio extracelular y tiene una estructura conservada, esta estructura permite la comparación por homología de secuencias en la predicción de proteínas secretadas (Sperschneider et al., 2018; Sperschneider & Dodds, 2022).

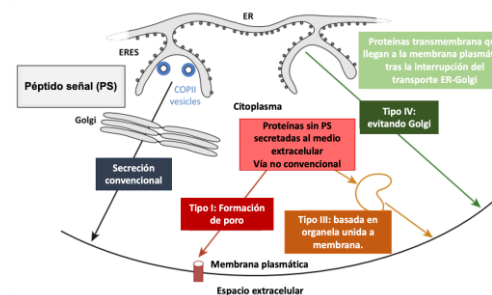


Figura 2. Vías convencional y no convencional de secreción de proteínas. En la vía convencional (gris) las proteínas con péptido señal (PS) son dirigidas al aparato de Golgi y luego secretadas por distintos mecanismos. Las proteínas sin PS (rojas) pueden translocarse a través de la membrana plasmática por medio de un poro (marrón) o mediante un orgánulo unido a una membrana (naranja). Las proteínas transmembrana (verde) se pueden transportar a la membrana plasmática mediante la vía secretora clásica (gris) o la vía de derivación de Golgi (verde). Adaptado de Rabouille (Rabouille, 2017).

Las predicciones se realizan mediante herramientas como SignalP que constituye una base de datos utilizada para predecir

la presencia de péptido señal y la ubicación de los sitios de corte en las proteínas (Teufel et al., 2022) y herramientas para predecir la presencia de regiones transmembrana como TMHMM (transmembrane prediction using cyclic hidden Markov models) (Sonnhammer et al., 1998).

Una vez identificadas las proteínas secretadas, es posible realizar una clasificación funcional, con el objetivo de buscar proteínas que estén implicadas en patogenésis que generalmente incluyen las enzimas que actúan sobre carbohidratos (CAZymes), proteasas, efectores, y otras funciones importantes.

El primer trabajo publicado sobre el análisis del proteoma de *M. phaseolina* fue el realizado por Zaman y col., donde se identificó una gran cantidad de proteínas hidrolíticas intracelulares. Seguidos de Sinha y col., que identificaron proteínas secretadas con la función de degradar pared celular (CWDEs *cell wall degrading enzymes*) y proteasas. Finalmente, Pineda y col. publicaron la identificación de 250 proteínas secretadas clasificadas como CAZymes (incluyendo CWDEs), sin embargo, no se pudo establecer diferencias claras en la secreción de proteínas por el efecto de la infusión de hojas de soja.

Considerando el secretoma *in silico* de *M. phaseolina*, estos trabajos han identificado un bajo número de proteínas, podría

deberse a que las condiciones de cultivo no estimulen significativamente la secreción de proteínas importantes en la patogénesis. En el Departamento de Química Biológica se ha trabajado previamente utilizando infusión de hojas de hospedero como estímulo adicional para detectar la secreción diferencial de proteínas gracias al estímulo agregado, sin embargo, la infusión de hojas podría no contener las moléculas que activan la secreción de moléculas necesarias para la infección, considerando que el tejido de entrada del hongo es la raíz. Además, es necesario seleccionar un medio de cultivo adecuado, debido a que medios como papa dextrosa caldo (PDB, del inglés: potato dextrose broth), podrían estimular la secreción de proteínas, teniendo en cuenta que está compuesto de tejido vegetal; esto dificulta la identificación de las proteínas que son secretadas exclusivamente gracias al estímulo del tejido hospedero.

Por tanto, se busca una condición de cultivo que al agregar tejido hospedero en cantidad adecuada, permita la identificación de proteínas que podrían estar implicadas en el proceso de patogénesis, esto brindaría información importante para una mejor comprensión del mecanismo molecular de infección, la interacción patógeno-huésped y permitiría evaluar la secreción diferencial de proteínas en aislados con diferentes grados de virulencia.

Este trabajo plantea analizar el secretoma proteico de *M. phaseolina* en respuesta a raíz de soja para establecer las condiciones de cultivo óptimas para el análisis cuantitativo de las proteínas secretadas.

Objetivos

- Establecer una concentración óptima de tejido como suplemento para la evaluación del secretoma de *M. phaseolina*.
- Identificar las proteínas secretadas por *M. phaseolina* en respuesta a tejido de hospedero mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC MS/MS).

Materiales y Métodos

1. Microorganismos y material vegetal

El aislado utilizado pertenece al cepario micológico del Departamento de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas, codificado como FCQ72 (Nar) aislado de soja (*Glycine max* L. [Merr.]) proveniente de Naranjal (Departamento de Alto Paraná, Paraguay).

El aislado fue identificado mediante técnicas moleculares, por secuenciación de Sanger de las regiones ITS (Internal Transcribed Spacer 1) 1 y 4 disponible en GenBank con el número de acceso OM802449, adicionalmente se ha secuenciado una región del factor de

elongación α (TEF-1 α) (Machado et al., 2019).

Las raíces utilizadas para suplementar los medios de cultivo fueron obtenidas a partir de las semillas de soja de variedad Nidera A5009 y Sojapar R19, germinadas en condiciones estériles para posterior trasplante y crecimiento en macetas pequeñas que contenían sustrato a base de turba con fotoperiodo 12h/12h. A los 7 días de crecimiento, las raíces fueron lavadas, cortadas y congeladas con nitrógeno líquido para posterior maceración hasta obtener un polvo fino el cual fue pesado y agregado a las botellas de medio de cultivo a una concentración final de 1% (p/v), 2% (p/v) y 4% (p/v).

2. Cultivo de *M. phaseolina*

El aislado fue cultivado en Medio Mínimo (MM) (20 g.L⁻¹ de glucosa; 870 mg.L⁻¹ de K₂HPO₄; 680 mg.L⁻¹ de KH₂PO₄; 1,7 g.L⁻¹ de (NH₄)₂SO₄; 200 mg.L⁻¹ de KCl, 200 mg.L⁻¹ de CaCl₂, 200 mg.L⁻¹ de MgSO₄.7H₂O; 2 mg.L⁻¹ de FeSO₄; 2 mg.L⁻¹ de MnSO₄; 2 mg.L⁻¹ ZnSO₄, pH 6) descrito por Suárez y col. (Suárez et al., 2005). Se inocularon 2 discos de micelio por cada 100 mL de medio de cultivo contenido en Erlenmeyer de 500 mL con y sin suplemento de raíz de soja. Se evaluaron tres concentraciones de tejido para suplemento (p/v) 1%, 2% y 4%, codificadas como S1, S2 y S4, respectivamente, los medios sin suplemento se codificaron

como S0. Los frascos se mantuvieron en oscuridad a 30°C hasta que el micelio del hongo cubrió por completo la superficie del medio, posteriormente se realizó filtración al vacío, separando el medio de cultivo del micelio. Se realizaron cuatro repeticiones por cada condición evaluada, como control se utilizó el medio de cultivo sin microorganismo. El micelio obtenido fue congelado a -80°C para posterior liofilización y cálculo de biomasa. El medio de cultivo se mantuvo a -20°C para posterior liofilización y extracción de proteínas. La condición óptima de cultivo es aquella que permita detectar una secreción diferencial de proteínas entre la condición suplementada y no suplementada mediante SDS-PAGE.

3. Estimación de la biomasa de *M. phaseolina*

El micelio separado por filtración fue liofilizado para eliminar el agua y se registró el peso seco de manera a expresar la biomasa en miligramo de micelio seco por mililitro de medio de cultivo (Papalia et al., 2019). Los datos de biomasa de las condiciones de cultivo fueron comparados mediante ANOVA seguido de una prueba post-hoc de Tukey para detectar diferencias estadísticamente significativas en las condiciones analizadas. Se consideró diferencia estadísticamente significativa un $p < 0,05$.

4. Extracción, cuantificación y separación de proteínas

Las proteínas fueron extraídas del filtrado liofilizado siguiendo el protocolo de precipitación con ácido tricloroacético (TCA)-Acetona y posterior partición con fenol (Wang et al., 2006). Las proteínas extraídas fueron cuantificadas por el método de Bradford (Bradford, 1976). La separación de las proteínas se realizó en función a su peso molecular mediante electroforesis unidimensional en gel de poliacrilamida al 12% en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE) según el protocolo descrito por Laemmli (Laemmli, 1970), fueron separados 20 µg de proteína en cada carril. Posteriormente, los geles fueron teñidos con azul de Coomassie coloidal G-250 según el protocolo descrito por Neuhoff (Neuhoff et al., 1988) y escaneados para su posterior análisis con el densitómetro BioRad® GS-900.

La imagen de los geles fue analizada mediante el Software ImageLab, con el cual se detectó el número y la intensidad de cada una de las bandas en los perfiles proteicos de las condiciones de cultivo analizadas. Este análisis permite obtener valores adimensionales directamente proporcional a la intensidad de las bandas detectadas. Los valores de cada banda fueron sometidos a un proceso de normalización, que consistió en la relación de la intensidad de cada banda con la

sumatoria del total de las intensidades de bandas detectadas en el mismo carril. Los valores normalizados de las bandas detectadas en los medios con y sin suplemento fueron analizados mediante un análisis de componentes principales utilizando el software R (Team, 2013), con el objetivo de visualizar la agrupación de los datos y detectar las bandas que contribuyen en la agrupación.

5. Análisis de proteínas secretadas mediante nLC-MS/MS e identificación de proteínas

El análisis de las proteínas se realizó mediante nLC-MS/MS según el protocolo descrito por Valledor y Weckwerth (Valledor & Weckwerth, 2014). Se separaron 15 µg de proteína mediante SDS-PAGE según Laemmli (Laemmli, 1970), la electroforesis se finalizó cuando la muestra ingresó al gel separador. La tinción se realizó con azul de Coomassie Coloidal G-250 según Neuhoff (Neuhoff et al., 1988) y la banda única, que contenía todas las proteínas, fue cortada con un bisturí, colocada en un tubo de 1,5 mL y enviada a un servicio de espectrometría de masas para el análisis de proteínas mediante nLC-MS/MS.

Las proteínas contenidas en la pieza de gel enviada al servicio fueron sometidas a un proceso de digestión con tripsina, los péptidos resultantes fueron extraídos del gel con acetonitrilo y finalmente desalados pasando por ZipTip C18. Los péptidos

resultantes fueron separados y analizados mediante cromatografía nHPLC (ThermoScientific, modelo EASY-nLC 1000) acoplado al espectrómetro de masas Orbitrap modelo Q-Exactive (Thermo Scientific) provisto con una fuente de ionización por electrospray. Los espectros de masas obtenidos fueron procesados con el algoritmo SEQUEST del software Proteome Discoverer 2.2 (Thermo Scientific), utilizando la base de datos UniprotKB/TrEMBL con restricción a la especie *Macrophomina* spp., *Glycine max*, considerando que el medio fue suplementado con esta especie, proporcionando la identificación de las proteínas. La tolerancia de masa para el ión precursor fue de 10 ppm y tolerancia de masa de iones de fragmentos fijada en 0,05 Da. Solo aquellos péptidos con nivel de confianza alto, asignados por software, fueron utilizados para la identificación de proteínas. La oxidación de metionina y carbamidometilación de cisteína fueron incluidas como modificación variable o fija, respectivamente.

La lista de proteínas identificadas fue comparada con el secretoma *in silico* publicado por Pineda-Fretez y col; (Pineda-Fretez et al., 2023). Se consideraron proteínas secretadas aquellas proteínas que contenían péptido señal y carecían de regiones transmembrana. El secretoma proteico *in silico* cuenta con la clasificación funcional de las proteínas secretadas de

donde se extrajeron los siguientes grupos: CAZymes, peptidasas y presencia o ausencia de dominios conservados. Para estimar un aumento en la secreción de las proteínas por efecto de la raíz de soja, se ha realizado la relación entre la intensidad de los picos de los péptidos que fueron detectados para cada proteína en la condición suplementada y no suplementada, aquellas proteínas con una relación superior a 1,5 fueron consideradas proteínas cuya secreción puede estar estimulada.

Resultados y Discusión

En el presente trabajo se analizó el secretoma proteico de un aislado *M. phaseolina* en respuesta a raíz de soja. Para ello se evaluó el crecimiento y la secreción de proteínas el medio de cultivo con tres concentraciones de raíz, con el objetivo de seleccionar la condición de cultivo que permita evaluar el efecto de la raíz en la secreción de proteínas con potencial implicancia en la patogénesis al medio de cultivo.

1. Características morfológicas y biomasa

Se observó crecimiento de *M. phaseolina* en el medio de cultivo y en todas las concentraciones de suplemento con raíz evaluadas (Figura 3). El micelio del aislado FCQ72 en MM sin suplemento fue de color gris. A medida que aumenta la concentración de tejido vegetal, aumenta la

cantidad de micelio recubriendo el medio de cultivo, por lo que es probable que la raíz de soja estimule el crecimiento.

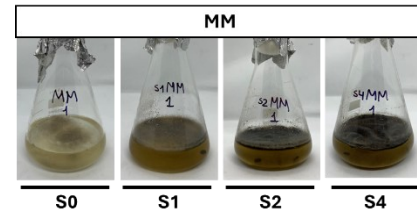


Figura 3. Crecimiento del asilado de *M. phaseolina* FCQ72 en MM con y sin suplemento de raíz. Se observan los micelios correspondientes a cada aislado en cada medio de cultivo. MM: medio mínimo; S0: medio sin suplemento S1: 1% (p/v); S2: 2% (p/v); S4: 4% (p/v).

La biomasa obtenida fue mayor en las condiciones con mayor concentración de suplemento (Figura 4). Se observan diferencias estadísticamente significativas entre todas las condiciones estudiadas, es importante destacar que el aumento de masa por el agregado de raíz no contribuye en un aumento significativo en el peso del micelio seco.

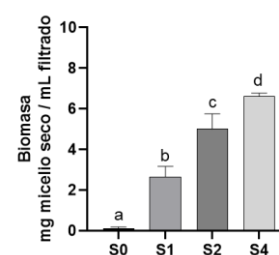


Figura 4. Biomasa de micelio de FCQ72 en los medios de cultivo MM con y sin suplemento de raíz de soja. Se presentan los promedios y la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) ANOVA. *PostHocTukey*.

2. Análisis de secreción de proteínas del aislado FCQ72 en MM con estímulo de raíz

Se analizaron las proteínas secretadas por el aislado FCQ72 en el medio de cultivo MM sin suplemento (MM S0) y con suplemento de raíz a diferentes concentraciones 1%p/v (S1), 2%p/v (S2) y 4%p/v (S4). Se evaluó el rendimiento de extracción de proteínas, los perfiles proteicos mediante SDS-PAGE y se han identificado las proteínas mediante LC-MS/MS.

El rendimiento de extracción de proteínas fue significativamente mayor para el medio mínimo suplementado al 1% (MM S1) en comparación con MM no suplementado (MM S0) (Figura 5), además existe un rendimiento significativamente mayor entre los medios suplementados con raíz al 2% (S2) y 4% (S4).

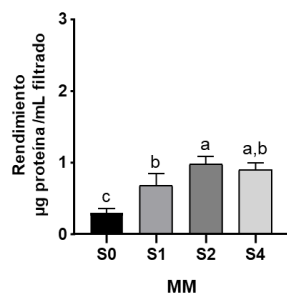


Figura 5. Rendimiento de extracción de proteínas secretadas por FCQ72 al medio de cultivo MM con y sin suplemento de raíz de soja. Se presentan los promedios y la desviación estándar. MM: medio mínimo; S0: sin estímulo; S1: 1%p/v; S2: 2%p/v; S4: 4%p/v.

En la literatura no existen datos de rendimiento de extracción de proteínas

secretadas por *M. phaseolina* en medio MM con suplemento, por tanto, no se pudo realizar la comparación de estos con otros datos similares. Sin embargo, son inferiores a los obtenidos por Pineda-Fretez y col. (Pineda-Fretez et al., 2023), en medio PDB con infusión de hojas de soja.

Se estudió el perfil proteico en las diferentes condiciones de cultivo mediante SDS-PAGE (Figura 6).

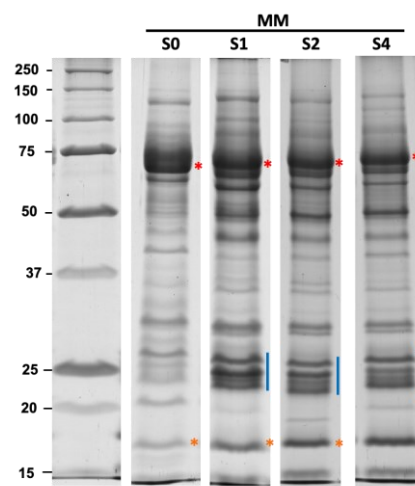


Figura 6. Perfil diferencial de proteínas secretadas por FCQ72 en el medio de cultivo MM con y sin suplemento de raíz de soja. MM: medio mínimo; S0: sin estímulo; S1: 1%p/v; S2: 2%p/v; S4: 4%p/v. PM: Marcador de peso molecular de amplio rango, los valores de PM se expresan en kDa (Precision Plus Protein™ Unstained, BioRad).

En el gel se observan bandas distribuidas entre 150 kDa y 15 kDa, teniendo una banda intensa y consistente en las cuatro condiciones estudiadas de ~75 kDa (Figura 6, asterisco rojo), también se observan bandas intensas para las condiciones suplementadas (S1, S2 y S4) distribuidas

entre 25 y 20 kDa (Figura 6, barra azul) y de ~17 kDa (Figura 6, asterisco naranja). Se observan bandas detectadas exclusivamente en el medio de cultivo suplementado, lo que indica una respuesta diferencial por parte del hongo.

Aún no existen trabajos donde se presente el perfil proteico de *M. phaseolina* en las condiciones estudiadas seleccionadas en este trabajo, por lo que no es posible comparar los resultados obtenidos. Sin embargo, existen trabajos realizados sobre otros hongos donde utilizan condiciones suplementadas o estimuladas que revelan proteínas con funciones importantes en la virulencia y patogénesis (Espino et al., 2010; González-Fernández et al., 2013; Shah et al., 2009; Suárez et al., 2005).

La intensidad normalizada de las bandas detectadas fue sometida a un análisis de componentes principales, lo que permitió agrupar las condiciones analizadas en base a la similitud del perfil proteico (Figura 7 A) y también se identificaron las bandas que contribuyen mayormente a la varianza entre las distintas condiciones analizadas (Figura 7 B).

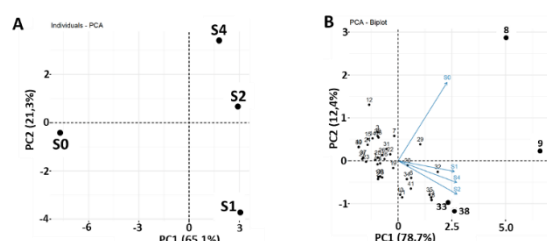


Figura 7. Análisis de componentes principales de la intensidad normalizada de las bandas detectadas en MM por

SDS-PAGE. A) Agrupamiento de las condiciones suplementadas en base a los componentes principales 1 (PC1) y 2 (PC2). B) Contribuciones de cada banda analizada en los PC1 y PC2. PC: Componente principal.

La componente principal 1 (PC1) recoge el 65,1% de la variación total entre las diferentes condiciones de cultivo y con la componente principal 2 (PC2) se recoge 21,3%, PC1 separa la condición no suplementada S0 por un lado y las condiciones suplementadas S1, S2 y S4 por otro lado (Figura 7 A).

Las bandas detectadas en MM y cuyas intensidades normalizadas tienen mayor contribución en la varianza son las bandas 8 (~75 kDa) y 9 (~60 kDa), que corresponden a las bandas mayoritarias detectadas (Figura 6, asterisco rojo).

Por lo tanto, teniendo en cuenta los datos del rendimiento de extracción de proteínas y los perfiles proteicos en las condiciones suplementadas con respecto a la no suplementada, se seleccionaron la condición sin suplemento S0 y la concentración más baja de suplemento S1 para la identificación de proteínas mediante LC-MS/MS.

3. Identificación de proteínas secretadas por FCQ72 en MM con y sin suplemento de raíz

Se identificaron un total de 231 proteínas con péptido señal en su estructura y clasificadas como secretadas por la vía convencional en ambas muestras analizadas MM y S1MM. En la Figura 8 se

indica el número de proteínas identificadas en cada condición analizada. Se ha detectado 25 proteínas exclusivas de la condición suplementada, solo tres proteínas exclusivas de la condición no suplementada y un total de 203 proteínas detectadas en ambas condiciones.

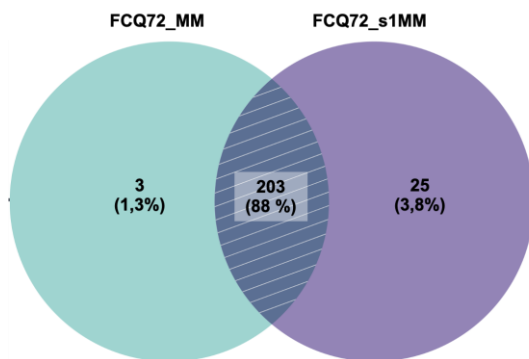


Figura 8. Diagrama de Venn indicando las proteínas identificadas en cada condición. FCQ72_MM: MM no suplementado. FCQ72_s1MM: MM suplementado con raíz al 1%p/v.

El mayor número de proteínas de la condición suplementada con 1%p/v de raíz de soja con respecto al medio no suplementado puede deberse al estímulo ejercido por el tejido hospedero. En la condición no suplementada se ha encontrado un bajo número de proteínas, a diferencia de lo obtenido por Pineda y col. (Pineda-Fretez et al. 2023) en medio PDB, donde se han identificado más de 150 proteínas detectadas exclusivamente en el medio PDB sin infusión.

Se realizó la clasificación funcional de acuerdo a los dominios conservados, identificando proteasas, CAZymes, proteínas con otros dominios y proteínas

sin dominio conservado, en cada condición estudiada (Figura 9). En MM no suplementado se identificó 1 CAZyme, 1 proteína sin dominio conservado y 1 proteína con otros dominios, en la condición suplementada se identificó 3 peptidasas, 9 CAZymes, 9 sin dominio conservado y 4 con otros dominios, finalmente, entre las proteínas detectadas en ambas condiciones se identificó 23 peptidasas, 84 CAZymes, 70 sin dominio conservado y 26 con otros dominios.

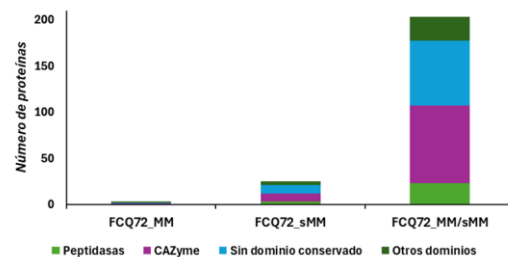


Figura 9. Clasificación funcional de las proteínas identificadas en cada condición. Clasificación funcional en peptidasas (verde claro), CAZyme (lila), proteínas sin dominio conservado (azul) y proteínas con otros dominios (verde oscuro). FCQ72_MM: MM no suplementado. FCQ72_s1MM: MM suplementado con raíz al 1%p/v. FCQ72_MM/s1MM: identificadas en las condiciones suplementada al 1%p/v y no suplementada.

En total se identificaron 26 peptidasas. Las proteínas con función peptidasas podrían ser muy importantes al momento de la infección ya que pueden participar en la degradación de la pared celular, actuando sobre las proteínas, glicoproteínas y las proteínas estructurales de la planta como una serina proteasa de *Fusarium solani* que actúa sobre la pared celular de

tubérculos de papa (Olivieri et al., 2004). También podrían actuar como factores de virulencia, como ha sido descrito en los fitopatógenos de tomate *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae* y *Botrytis cinerea* que secretan una metaloproteasa capaz de modificar quitinasas del tomate, contrarrestando la defensa de la planta y promoviendo la infección (Jashni et al., 2015).

En cuanto a las CAZymes, se han detectado 94. Las CAZymes son enzimas que degradan carbohidratos, actuando principalmente sobre la pared celular para facilitar la infección, debido a que constituye la primera barrera de defensa que el patógeno encuentra al iniciar la infección (Gibson et al., 2011). Se han encontrado 362 genes codificantes de probables CAZymes en el genoma de *M. phaseolina* (Islam et al., 2012) y se han detectado una gran cantidad de ellas en trabajos previos, 93 CAZymes por Pineda et al. (Pineda-Fretez et al., 2023) y 40% de CWDE (Cell wall degrading enzymes) por Sinha y colaboradores (Sinha et al., 2022). Sin embargo, aún no se ha asociado la secreción o la abundancia de estas enzimas con una mayor virulencia de los aislados de *M. phaseolina*.

La presencia de raíz como suplemento podría ejercer un estímulo para mayor secreción de proteínas que podrían estar

implicadas en el proceso de patogénesis, esto se traduce en presencia de nuevas proteínas exclusivas de la condición suplementada o aumento de la secreción de proteínas en la condición suplementada en comparación a la no suplementada como se muestra en la Figura 10, donde se clasifica a estas proteínas de acuerdo a su funcionalidad.

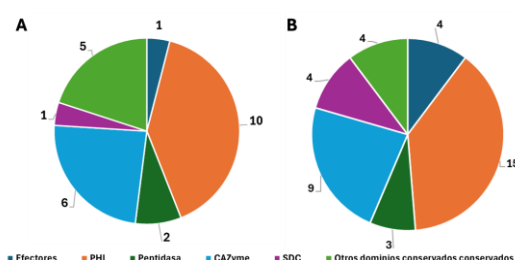


Figura 10. Clasificación funcional de las proteínas exclusivas y aumentadas en FCQ72_s1MM. A) Proteínas cuya secreción aumenta en el medio suplementado. B) Proteínas detectadas exclusivamente en el medio suplementado. Clasificación funcional en efectores (azul oscuro), pathogen-host interaction PHI (naranja), peptidasas (verde oscuro), CAZyme (azul), proteínas sin dominio conservado SDC (lila) y proteínas con otros dominios conservados (verde claro).

Se observa un mayor número de proteínas con función en la interacción patógeno-huésped (PHI), seguido de CAZymes, proteínas con funciones efectoras y peptidasas, lo cual es esperado ya que son proteínas que podrían tener un papel importante en el proceso de colonización e infección del huésped.

El aumento del número y cantidad de proteínas secretadas en MM suplementado

con 1% de raíz de soja pudo deberse al estímulo ejercido por el tejido agregado al medio. Se encontró un aumento especialmente de proteínas implicadas en PHI, proteínas efectoras, CAZymes y peptidasas, las cuales constituyen candidatas para posteriores estudios de su rol e implicancia en el mecanismo de infección de *M. phaseolina*.

Conclusiones

En el presente trabajo se analizó el perfil y se realizó la identificación de proteínas secretadas por un aislado de *Macrophomina phaseolina* en un medio de cultivo con suplemento de raíz de soja a distintas concentraciones y sin suplemento.

Se seleccionó la concentración al 1% para la identificación de proteínas secretadas en respuesta al estímulo del tejido hospedero debido al aumento en el rendimiento de proteínas y a la observación de bandas diferenciales en el perfil proteico entre la condición suplementada y no suplementada.

Se identificaron 231 proteínas secretadas por la vía convencional. Se observó un aumento del número y cantidad de proteínas secretadas en la condición suplementada, en especial de proteínas con funciones que podrían ser importantes

en la patogénesis como las efectoras, peptidasas y CAZymes.

Los datos obtenidos en el presente trabajo sientan las bases para realizar estudios a gran escala comparando las proteínas secretadas por aislados de distintos grados de virulencia en respuesta a tejido hospedero y el estudio del rol que cumplen las proteínas identificadas en el proceso de colonización e infección del hongo.

Bibliografía

- Bandara, A. Y., Weerasooriya, D. K., Bradley, C. A., Allen, T. W., & Esker, P. D. (2020). Dissecting the economic impact of soybean diseases in the United States over two decades. PLoS ONE, 15(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231141>
- Bantscheff, M., Schirle, M., Sweetman, G., Rick, J., & Kuster, B. (2007). Quantitative mass spectrometry in proteomics: A critical review. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 389(4), 1017–1031. <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1486-6>
- Basandrai, A. K., Pandey, A. K., Somta, P., & Basandrai, D. (2021). *Macrophomina phaseolina*–host interface: Insights into an emerging dry root rot pathogen of mungbean and urdbean, and its mitigation

- strategies. *Plant Pathology*, 70(6), 1263–1275.
<https://doi.org/10.1111/PPA.13378>
- Bradford, M. M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *ANALYTICAL BIOCHEMISTRY*, 72, 248–254.
- Chooi, Y. H., & Tang, Y. (2012). Navigating the fungal polyketide chemical space: From genes to molecules. In *Journal of Organic Chemistry* (Vol. 77, Issue 22, pp. 9933–9953). <https://doi.org/10.1021/jo301592k>
- Cox, J., & Mann, M. (2008). MaxQuant enables high peptide identification rates, individualized p.p.b.-range mass accuracies and proteome-wide protein quantification. *Nature Biotechnology* 2008 26:12, 26(12), 1367–1372.
<https://doi.org/10.1038/NBT.1511>
- De La Torre-Hernández, M. E., Sánchez-Rangel, D., Galeana-Sánchez, E., & Plasencia-De La Parra, J. (2014). Fumonisin – Síntesis y función en la interacción *Fusarium verticillioides*-maíz. In *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* (Vol. 17, Issue 1).
- Degani, O., Gordani, A., Dimant, E., Chen, A., & Rabinovitz, O. (2023). The cotton charcoal rot causal agent, *Macrophomina phaseolina*, biological and chemical control. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1272335.
<https://doi.org/10.3389/FPLS.2023.1272335/BIBTEX>
- Dell’Olmo, E., Tripodi, P., Zaccardelli, M., & Sigillo, L. (2022). Occurrence of *Macrophomina phaseolina* on Chickpea in Italy: Pathogen Identification and Characterization. *Pathogens*, 11(8).
<https://doi.org/10.3390/pathogens11080842>
- Dhingra, O. D., & Sinclair, J. B. (1973). Variation Among Isolates of *Macrophomina phaseoli* *Rhizoctonia bataticola* from Different Regions. In *Phytopath. Z* (Vol. 76).
- Espino, J. J., Gutiérrez-Sánchez, G., Brito, N., Shah, P., Orlando, R., & González, C. (2010). The *Botrytis cinerea* early secretome. *Proteomics*, 10(16), 3020–3034.
<https://doi.org/10.1002/PMIC.201000037>
- Gawehns, F., Houterman, P. M., Ichou, F. A., Michielse, C. B., Hijdra, M., Cornelissen, B. J. C., Rep, M., & Takken, F. L. W. (2014). The *Fusarium oxysporum* effector six6 contributes to virulence and suppresses i-2-mediated cell death.

- Molecular Plant-Microbe Interactions, 27(4), 336–348. https://doi.org/10.1094/MPMI-11-13-0330-R/SUPPL_FILE/MPMI-11-13-0330-RE5.PDF
- Gibson, D. M., King, B. C., Hayes, M. L., & Bergstrom, G. C. (2011). Plant pathogens as a source of diverse enzymes for lignocellulose digestion. *Current Opinion in Microbiology*, 14(3), 264–270. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2011.04.002>
- González-Fernández, R., Aloria, K., Valero-Galván, J., Redondo, I., Arizmendi, J. M., & Jorrín-Novo, J. V. (2013). Proteomic analysis of mycelium and secretome of different *Botrytis cinerea* wild-type strains. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2013.06.022>
- Islam, S., Haque, S., Islam, M. M., Mannan Emdad, E., Halim, A., Md, Q., Hossen, M., Hossain, Z., Ahmed, B., Rahim, S., Rahman, S., Alam, M., Hou, S., Wan, X., Saito, J. A., & Alam, M. (2012). Tools to kill: Genome of one of the most destructive plant pathogenic fungi *Macrophomina phaseolina*. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-493>
- Jashni, M. K., Dols, I. H. M., Iida, Y., Boeren, S., Beenen, H. G., Mehrabi, R., Collemare, J., & De Wit, P. J. G. M. (2015). Synergistic action of a metalloprotease and a serine protease from *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* cleaves chitin-binding tomato chitinases, reduces their antifungal activity, and enhances fungal virulence. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 28(9), 996–1008. https://doi.org/10.1094/MPMI-04-15-0074-R/SUPPL_FILE/MPMI-04-15-0074-R.ST6.PDF
- Kaur, S., Dhillon, G. S., Brar, S. K., Vallad, G. E., Chand, R., & Chauhan, V. B. (2012). Emerging phytopathogen *Macrophomina phaseolina*: Biology, economic importance and current diagnostic trends. In *Critical Reviews in Microbiology* (Vol. 38, Issue 2). <https://doi.org/10.3109/1040841X.2011.640977>
- Laemmli, U. (1970). Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680–685.
- Lam, M. P. Y., Lau, E., Ng, D. C. M., Wang, D., & Ping, P. (2016). Cardiovascular proteomics in the era of big data: experimental and computational advances. *Clinical Proteomics* 2016 13:1, 13(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/S12014-016-9124-Y>

- Lemes Rodrigues, A. B., Israel de Jesus, J. M., Marques de Paula, K. L., & Gomes da Cunha, M. (n.d.). Charcoal rot of *Stevia rebaudiana* caused by *Macrophomina phaseolina* in Brazil. *Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.634397>
- Liu, S., Wu, B., Yang, J., Bi, F., Dong, T., Yang, Q., Hu, C., Xiang, D., Chen, H., Huang, H., Shao, C., Chen, Y., Yi, G., Li, C., & Guo, X. (2019). A Cerato-Platanin Family Protein FocCP1 Is Essential for the Penetration and Virulence of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense Tropical Race 4. *International Journal of Molecular Sciences* Article. <https://doi.org/10.3390/ijms20153785>
- Machado, A. R., Pinho, D. B., Soares, D. J., Gomes, A. A. M., & Pereira, O. L. (2019). Bayesian analyses of five gene regions reveal a new phylogenetic species of *Macrophomina* associated with charcoal rot on oilseed crops in Brazil. *European Journal of Plant Pathology*, 153(1), 89–100. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1545-1>
- Marquez, N., Giachero, M. L., Declerck, S., & Ducasse, D. A. (2021). *Macrophomina phaseolina*: General Characteristics of Pathogenicity and Methods of Control. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.634397>
- Matallana-Surget, S., Leroy, B., & Wattiez, R. (2010). Shotgun proteomics: Concept, key points and data mining. In *Expert Review of Proteomics* (Vol. 7, Issue 1, pp. 5–7). <https://doi.org/10.1586/epr.09.101>
- Neuhoff, V., Arold, N., Taube, D., & Ehrhardt, W. (1988). Improved protein staining of proteins in polyacrylamide gels including isoelectric focusing gels with clear background at nanogram sensitivity using Coomassie Brilliant Blue G-250 and R-250. *Electrophoresis*, 9, 255–262. <https://doi.org/10.1002/elps.1150090603>
- Olivieri, F. P., Maldonado, S., Tonón, C. V., & Casalongué, C. A. (2004). Hydrolytic activities of *Fusarium solani* and *Fusarium solani* f. sp. eumartii associated with the infection process of potato tubers. *Journal of Phytopathology*, 152(6), 337–344. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2004.00851.x>
- Ortiz, V., Chang, H. X., Sang, H., Jacobs, J., Malvick, D. K., Baird, R., Mathew, F. M., Estévez de Jensen, C., Wise, K. A., Mosquera, G. M., &

- Chilvers, M. I. (2023). Population genomic analysis reveals geographic structure and climatic diversification for *Macrophomina phaseolina* isolated from soybean and dry bean across the United States, Puerto Rico, and Colombia. *Frontiers in Genetics*, 14. <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1103969>
- Papalia, T., Sidari, R., & Panuccio, M. R. (2019). Impact of Different Storage Methods on Bioactive Compounds in *Arthrospira platensis* Biomass. *Molecules*, 24(15). <https://doi.org/10.3390/molecules24152810>
- Pickel, B., Dai, N., Maymon, M., Elazar, M., Tanami, Z., Frenkel, O., Toamy, M. A., Mor, N., & Freeman, S. (2020). Development of a reliable screening technique for determining tolerance to *Macrophomina phaseolina* in strawberry. *European Journal of Plant Pathology*, 157(4), 707–718. <https://doi.org/10.1007/S10658-020-02051-4/METRICS>
- Pineda-Fretez, A., Orrego, A., Iehisa, J. C. M., Flores-Giubi, M. E., Barúa, J. E., Sánchez-Lucas, R., Jorrín-Novó, J., & Romero-Rodríguez, M. C. (2023). Secretome analysis of the phytopathogen *Macrophomina phaseolina* cultivated in liquid medium supplemented with and without soybean leaf infusion. *Fungal Biology*, 127(5), 1043–1052. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2023.04.001>
- Rabouille, C. (2017). Pathways of Unconventional Protein Secretion. In *Trends in Cell Biology* (Vol. 27, Issue 3, pp. 230–240). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2016.11.007>
- Rangel-Montoya, E. A., Delgado-Ramírez, C. S., Sepulveda, E., & Hernández-Martínez, R. (2022). Biocontrol of *Macrophomina phaseolina* Using *Bacillus amyloliquefaciens* Strains in Cowpea (*Vigna unguiculata* L.). *Agronomy*, 12(3), 676. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY12030676/S1>
- Santos, C., Maximiano, M. R., Ribeiro, D. G., Oliveira-Neto, O. B., Murad, A. M., Franco, O. L., & Mehta, A. (2017). Differential accumulation of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* proteins during the interaction with the host plant: Contributions of an in vivo system. *Proteomics*, 17(12). <https://doi.org/10.1002/PMIC.201700086>
- Scott, C. J. R., Leadbeater, D. R., & Bruce, N. C. (2023). A bioinformatic workflow for in silico secretome prediction with the lignocellulose degrading ascomycete fungus

- Parascedosporium putredinis* NO1. Molecular Microbiology, 120(5), 754–762.
<https://doi.org/10.1111/MMI.15144>
- Shah, P., Atwood, J. A., Orlando, R., Mubarek, H. El, Podila, G. K., & Davis, M. R. (2009). Comparative proteomic analysis of *Botrytis cinerea* secretome. Journal of Proteome Research, 8(3), 1123–1130.
https://doi.org/10.1021/PR8003002/SUPPL_FILE/PR8003002_SI_001.XLS
- Short, G. E., Wyllie, T. D., & Ammon V. . (1978). Quantitative Enumeration of *Macrophomina phaseolina* in Soybean Tissues. The American Phytopathological Society.
- Sinha, N., Patra, S. K., & Ghosh, S. (2022). Secretome Analysis of *Macrophomina phaseolina* Identifies an Array of Putative Virulence Factors Responsible for Charcoal Rot Disease in Plants. Frontiers in Microbiology, 13.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.847832>
- Sonnhammer, E. L. L., Von Heijne, G., & Krogh, A. (1998). A hidden Markov model for predicting transmembrane helices in protein sequences. 1, 175–182.
www.aaii.org
- Sperschneider, J., & Dodds, P. N. (2022). EffectorP 3.0: Prediction of Apoplastic and Cytoplasmic Effectors in Fungi and Oomycetes. Molecular Plant-Microbe Interactions, 35(2), 146–156.
<https://doi.org/10.1094/MPMI-08-21-0201-R/ASSET/IMAGES/LARGE/MPMI-08-21-0201-RT6-1644488731661.JPEG>
- Sperschneider, J., Dodds, P. N., Gardiner, D. M., Singh, K. B., & Taylor, J. M. (2018). Improved prediction of fungal effector proteins from secretomes with EffectorP 2.0. Molecular Plant Pathology, 19(9), 2094–2110.
<https://doi.org/10.1111/MPP.12682>
- Su, G., Suh, S. O., Schneider, R. W., & Russin, J. S. (2001). Host specialization in the charcoal rot fungus, *Macrophomina phaseolina*. Phytopathology, 91(2), 120–126.
<https://doi.org/10.1094/PHYTO.2001.91.2.120>
- Suárez, M. B., Sanz, L., Chamorro, M. I., Rey, M., González, F. J., Llobell, A., & Monte, E. (2005). Proteomic analysis of secreted proteins from *Trichoderma harzianum*: Identification of a fungal cell wall-induced aspartic protease. Fungal Genetics and Biology, 42(11), 924–934.

- <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2005.08.002>
- Team, R. C. (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. <http://www.r-project.org>
- Teufel, F., Almagro Armenteros, J. J., Johansen, A. R., Gíslason, M. H., Pihl, S. I., Tsirigos, K. D., Winther, O., Brunak, S., von Heijne, G., & Nielsen, H. (2022). SignalP 6.0 predicts all five types of signal peptides using protein language models. *Nature Biotechnology*, 40(7), 1023. <https://doi.org/10.1038/S41587-021-01156-3>
- Valledor, L., & Weckwerth, W. (2014). An improved Detergent-Compatible Gel-Fractionation LC-LTQ-Orbitrap-MS workflow for plant and microbial proteomics. *Methods in Molecular Biology*, 1072, 347–358. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-631-3_25
- Wang, W., Vignani, R., Scali, M., & Cresti, M. (2006). A universal and rapid protocol for protein extraction from recalcitrant plant tissues for proteomic analysis. *Electrophoresis*, 27(13), 2782–2786. <https://doi.org/10.1002/elps.200500722>
- Wrather, A., Shannon, G., Balardin, R., Carregal, L., Escobar, R., Gupta, G. K., Ma, Z., Morel, W., Ploper, D., & Tenuta, A. (2010). Effect of diseases on soybean yield in the top eight producing countries in 2006. Online. <https://doi.org/10.1094/PHP-2010>
- Wu, W., & Krijgsveld, J. (2024). Secretome Analysis: Reading Cellular Sign Language to Understand Intercellular Communication. *Mol Cell Proteomics*, 23(1), 100692. <https://doi.org/10.1016/j.mcpro.2023.100692>
- Zhang, X., Huang, H., Wu, B., Xie, J., Viljoen, A., Wang, W., Mostert, D., Xie, Y., Fu, G., Xiang, D., Lyu, S., Liu, S., & Li, C. (2021). The M35 Metalloprotease Effector FocM35_1 Is Required for Full Virulence of *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense Tropical Race 4. <https://doi.org/10.3390/pathogens10060670>
- Zhao, S., An, B., Guo, Y., Hou, X., Luo, H., He, C., & Wang, Q. (2020). Label free proteomics and systematic analysis of secretome reveals effector candidates regulated by SGE1 and FTF1 in the plant pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense tropical race 4. *BMC Genomics*, 21(1), 1–12.

<https://doi.org/10.1186/S12864-020-6695-9/FIGURES/8>

Financiamiento

UNESCO - The World Academy of
Sciences (TWAS) No. 22-064
RG/BIO/LA_I-FR3240325145

Agradecimientos

Al Departamento de Química Biológica y
cada profesor colaborador por abrirme las
puertas y darme la oportunidad de
desarrollarme como profesional y como
persona; al Departamento de
Biotecnología por su colaboración en el
desarrollo del trabajo.

5.- Inclusión

Rutas de conexión, accesibilidad y orientación espacial en campus universitarios: análisis del NETI/UNAPI en la UFSC

Autor: Wandscheer, Ana Lúcia Córdova; aluw18@gmail.com

Orientador/a: Pfützenreuter, Andrea Holz; andrea.hp@ufsc.br

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) – Programa de Pós-Graduação em
Arquitetura e Urbanismo (PósARQ)

Resumen

Este artículo presenta un diagnóstico preliminar de las rutas de conexión entre el Núcleo de Estudios de la Tercera Edad/Universidad Abierta a la Persona Mayor (NETI/UNAPI) y los principales polos académicos, culturales y de servicios del Campus Trindade de la Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). La investigación adopta un enfoque exploratorio-descriptivo, con registros de georreferenciación (GPS), observaciones in situ y documentación gráfica para analizar las condiciones de accesibilidad y orientación espacial. Los resultados iniciales muestran contrastes significativos: el trayecto hacia el Departamento de Botánica (950–1000 metros, 12–14 minutos) se caracteriza por barreras como la ausencia de aceras continuas, escalinatas sin alternativas equivalentes y señalización insuficiente; mientras que la ruta hacia la Biblioteca Universitaria (400–450 metros, 5–6 minutos) se presenta como más favorable, con mayor conectividad y presencia de tótems informativos, aunque todavía con limitaciones. Este diagnóstico evidencia que la localización periférica del NETI condiciona los desplazamientos cotidianos y amplifica los desafíos de movilidad inclusiva en el campus. Se trata de un estudio en curso, cuya continuidad prevé la incorporación de metodologías participativas con personas mayores, con el fin de profundizar en sus experiencias y avanzar hacia la construcción de rutas inclusivas y replicables en otros campus universitarios.

Palabras clave: Rutas de conexión, orientación espacial, personas mayores

Introducción

La Universidad Federal de Santa Catarina (UFSC), fundada en 1960 (MEC, 2023), se ha consolidado como una de las principales instituciones públicas de educación superior en Brasil, con una fuerte inserción en la investigación, la extensión y la innovación. Ubicada en Florianópolis, la institución alberga a más de 40 mil estudiantes distribuidos en diferentes áreas del conocimiento (UFSC, 2023), además de centros de referencia orientados a la interacción con la comunidad. En este contexto, se destaca el Núcleo de Estudios de la Tercera Edad (NETI), creado en 1982, pionero en América Latina al proponer un enfoque interdisciplinario para la promoción del envejecimiento activo. El NETI comenzó con actividades orientadas a la educación permanente y, a lo largo de las décadas, expandió sus acciones hacia la formación, la investigación y la extensión, convirtiéndose en un espacio de referencia para la inclusión social y académica de las personas mayores (Forcelini, 2023; Tavares et al., 2022). Actualmente, sus actividades también se organizan en el marco de la Universidad Abierta para las Personas Mayores (UNAPI), que conecta la enseñanza y la extensión universitaria con las demandas del envejecimiento poblacional.

El crecimiento de la población mayor es una realidad destacada en Brasil

y en América Latina. Según la Organización Mundial de la Salud (2020), el número de personas de 60 años o más se duplicará para 2050, alcanzando aproximadamente 2 mil millones en el mundo, de los cuales el 80% vivirá en países en desarrollo. En Brasil, se estima que, en 2030, la cantidad de personas mayores superará a la de niños y adolescentes, configurando un escenario de transición demográfica acelerada (IBGE, 2018, 2023). En América Latina, países como Chile, Uruguay y Cuba ya presentan indicadores avanzados de envejecimiento, con alrededor del 20% de su población conformada por personas mayores, mientras que Brasil sigue esta tendencia a un ritmo acelerado, aunque con mayores desigualdades sociales y menor inversión en políticas públicas para el envejecimiento (CEPAL, 2020; CEPAL, 2022). En este escenario, las universidades públicas asumen un papel estratégico en la formulación de programas que promuevan no solo la educación permanente, sino también la salud, la movilidad y la integración intergeneracional.

En este contexto se inserta el presente estudio, que busca analizar las rutas de conexión, la accesibilidad y la orientación espacial en campus universitarios, con énfasis en el Campus Trindade de la UFSC y en las rutas que conectan el NETI/UNAPI con los

principales polos de atracción de la universidad, como los Departamentos de la UFSC, la Biblioteca Universitaria (BU) y el Centro de Eventos. Aunque el tema de la caminabilidad ha sido explorado en estudios urbanos y de salud pública, existe una laguna significativa en lo que respecta a su aplicación en espacios universitarios. Investigaciones recientes demuestran que, a pesar de los avances en temas como el envejecimiento activo y los entornos inclusivos, todavía son escasos los estudios que analizan la experiencia de las personas mayores en ambientes académicos (Chesser et al., 2020; Dąbek et al., 2024). Otros autores destacan la relevancia de la accesibilidad, de la inclusión intergeneracional y de la promoción de entornos de aprendizaje universales en contextos universitarios, pero también señalan la necesidad de diagnósticos más específicos e intervenciones prácticas (Tanuwidjaja et al., 2018; Zawadzka et al., 2022; Steffan et al., 2022).

La justificación de este trabajo reside en la necesidad de sistematizar diagnósticos y proponer modelos replicables de análisis de rutas de conexión, accesibilidad y orientación espacial en universidades, con el fin de subsidiar políticas públicas y proyectos institucionales más inclusivos. Al resaltar la experiencia del NETI/UFSC, el estudio contribuye a llenar la laguna de

conocimiento sobre movilidad inclusiva en contextos académicos y amplía el debate sobre el derecho a la ciudad y a la educación para todas las edades.

Metas

Meta general:

Presentar un diagnóstico preliminar de las rutas de conexión entre el NETI/UNAPI y los principales polos académicos, culturales y de servicios del Campus Trindade de la UFSC, considerando su localización periférica y las condiciones de accesibilidad y orientación espacial observadas in situ.

Metas específicas:

1. Sistematizar los destinos más frecuentes del NETI/UNAPI en el campus y el tiempo estimado de desplazamiento a cada uno.
2. Representar gráficamente la localización del NETI/UNAPI en el campus y sus principales rutas de conexión mediante un cuadro síntesis y un mapa general.
3. Analizar dos rutas contrastantes (Departamento de Botánica y Biblioteca Universitaria), identificando barreras, potencialidades y elementos de apoyo a la orientación espacial.

Materiales y método

Este estudio adopta un enfoque exploratorio-descriptivo, orientado al análisis de las rutas de conexión, la

accesibilidad y la orientación espacial en rutas utilizadas por personas mayores en el Campus Trindade de la Universidad Federal de Santa Catarina, teniendo como punto de origen la Universidad Abierta a la Persona Mayor (NETI/UNAPI). Para este artículo, se consideraron específicamente las rutas recorridas en los semestres 2025.1 y 2025.2, en función de la programación de clases del NETI/UNAPI y de su articulación con diferentes espacios del campus.

Los trayectos fueron registrados mediante un dispositivo de georreferenciación (GPS), lo que permitió identificar las rutas efectivamente utilizadas y calcular la distancia y el tiempo estimado de desplazamiento. Posteriormente, los registros fueron organizados en planillas electrónicas con el fin de comparar los caminos y seleccionar los recorridos más representativos. Además, la investigadora realizó los trayectos a pie con el propósito de observar las condiciones de accesibilidad, registrar fotográficamente los puntos críticos y documentar la presencia o ausencia de recursos de orientación, como rampas, señalización táctil y tótems informativos.

Dado el alcance del artículo y la complejidad de un análisis normativo integral, se optó por seleccionar dos rutas contrastantes para un estudio más detallado, que serán discutidas en los resultados. La elección de la ruta consideró

su relevancia en relación con las actividades del NETI/UNAPI y la frecuencia de uso por parte de las personas mayores. El análisis se fundamentó en la NBR 9050/2023 (ABNT), aplicada a aspectos puntuales identificados in situ, y se apoyó en referentes teóricos actualizados sobre caminabilidad y accesibilidad. Gehl (2024) resalta que calles y aceras diseñadas a partir de la escala humana, con oferta de asientos confortables y espacios de permanencia, favorecen no solo el caminar sino también la vitalidad social y los encuentros cotidianos. Por su parte, Speck (2022; 2024) subraya que la caminabilidad depende de la combinación de utilidad, seguridad, confort e interés, y agrega que los entornos caminables producen impactos positivos en la salud, la longevidad y la cohesión comunitaria. Estos referentes, articulados con los estudios más recientes sobre envejecimiento en espacios académicos, orientan la interpretación de la ruta seleccionada.

El Cuadro 1 presenta una síntesis de los destinos más frecuentes vinculados al NETI/UNAPI, indicando la distancia y el tiempo promedio de desplazamiento hacia cada uno. Este panorama evidencia que los trayectos superan en muchos casos los 500 metros, lo que exige un esfuerzo físico considerable y expone a las personas mayores a barreras de accesibilidad a lo largo del recorrido. Asimismo, se observa

que los polos de atracción académica y cultural se distribuyen en diferentes direcciones, lo que refuerza la importancia de contar con un análisis espacial integrado.

Cuadro 1– Rutas del NETI/UNAPI hacia polos de atracción en el Campus Trindade (2025.1 y 2025.2)

Destino	Distancia (m) / Tiempo (min)
Biblioteca Universitaria (BU)	400–450 m / 5–6 min
CSE – Bloque B	7 190 m / 3 min
CTC 39 y 40 – Bloques A y B – Arquitectura	850 m / 12 min
Centro de Ciencias de la Salud – Bloque A	500 m / 7 min
Centro de Ciencias de la Salud – Bloque B	500 m / 7 min
Centro de Ciencias de la Salud – Bloque C	500 m / 7 min
Centro de Comunicación y Expresión (CCE) – Bloque A	500 m / 6 min
Centro de Comunicación y Expresión (CCE) – Bloque B	700 m / 10 min
Centro de Comunicación y Expresión (CCE) – Bloque D	400–450 m / 5–6 min
Centro de Cultura y Eventos de la UFSC	650–700 m / 8–9 min
Departamento Artístico Cultural – Teatro Carmen Fossari	26 m / 1 min

Departamento Botánica	de 950–1000 m / 12–14 min
EFI	450–500 m / 6–7 min
Espacio Cultural Género y Diversidad (ECGD/UFSC)	19 m / 1 min
Huerto Didáctico de Plantas Medicinales del HU/CCS	600 m / 8 min
NIMPE	51 m / 1 min

Fuente: Elaboración propia (2025), a partir de datos recolectados con GPS.

La Figura 1 muestra la localización periférica del NETI/UNAPI en el Campus Trindade y sus conexiones con la Biblioteca Universitaria, el Departamento de Botánica y otros polos de atracción. Esta representación espacial permite contextualizar los recorridos y comprender, de manera integrada, la relación del núcleo con el campus universitario.



Figura 1. Localización del NETI/UNAPI y principales polos de atracción en el Campus Trindade/UFSC. Fuente: DPAE/UFSC (2025), con adaptaciones y marcaciones de la autora.

Resultados y discusión

Entre las rutas mapeadas desde el NETI/UNAPI, la más extensa es la que conecta el núcleo con el Departamento de Botánica, con un tiempo estimado de 12 a 14 minutos de caminata y una extensión entre 950 y 1000 metros (Figura 2). El recorrido se presenta como uno de los más complejos del campus, tanto por la distancia como por las barreras de accesibilidad encontradas a lo largo del trayecto.



Figura 2. Trayectos registrados por GPS entre el NETI/UNAPI y el Departamento de Botánica.

La ruta de 12 minutos sigue por detrás del NETI/UNAPI, atravesando áreas de circulación de vehículos y estacionamientos del Foro Desembargador José Arthur Boiteux, del Departamento de Química, del Departamento de Matemática y del Colegio de Aplicación. En estos tramos, la ausencia de aceras continuas y la predominancia de pavimentos irregulares o espacios destinados a automóviles colocan a la persona mayor en situación de vulnerabilidad. La continuidad del trayecto se da por la calle Ingeniero Agrónomo Andrei Cristian Ferreira, hasta la entrada del Departamento de Botánica, cuya área se caracteriza por un pavimento de hormigón destinado a vehículos, sin franja segregada para peatones ni aceras adecuadas.

La ruta de 13 minutos atraviesa el Centro Socioeconómico (CSE/UFSC), utilizando corredores internos hasta llegar al estacionamiento del centro. Uno de los puntos críticos de este recorrido es la escalinata ubicada en la llegada al CSE, que constituye una barrera significativa para las personas mayores o con movilidad reducida, ya que no cuenta con rampas de acceso equivalentes. Después del estacionamiento del CSE, el recorrido sigue hasta el Colegio de Aplicación y se conecta nuevamente con la vía que lleva al Departamento de Botánica.

La ruta de 14 minutos también pasa por el CSE, pero en lugar de atravesar los

corredores, sigue directamente por el estacionamiento, desviando a la izquierda hasta alcanzar el Departamento de Botánica. Aunque evita la escalinata, este camino mantiene la exposición de los peatones a flujos de automóviles, sin infraestructura adecuada de aceras ni cruces seguros.

En todas las rutas se observaron barreras comunes, como la inexistencia de rampas en tramos estratégicos, la escasez de mobiliario urbano que permita pausas durante el trayecto y la predominancia de áreas de estacionamiento sobre los espacios de circulación peatonal. Aunque existen tótems informativos distribuidos en parte del camino, estos no ofrecen una orientación continua ni eficaz, lo que limita su función de apoyo a la movilidad de las personas mayores.

Estas características convierten la ruta del NETI al Departamento de Botánica en un caso emblemático de análisis, ya que sintetiza los desafíos de caminabilidad en el campus, mostrando la coexistencia de usos diversos en un espacio universitario que, sin embargo, carece de infraestructura planificada para garantizar la movilidad inclusiva.

En contraposición a esta ruta más extensa y llena de barreras, también se analizó un recorrido más corto y central, que lleva del NETI/UNAPI a la Biblioteca Universitaria (BU), con aproximadamente 400 a 450 metros de extensión y un tiempo

estimado de 5 a 6 minutos de caminata (Figura 3). Esta ruta es ampliamente utilizada por las personas mayores, dado el carácter central de la BU como polo de actividades académicas, culturales y de convivencia.

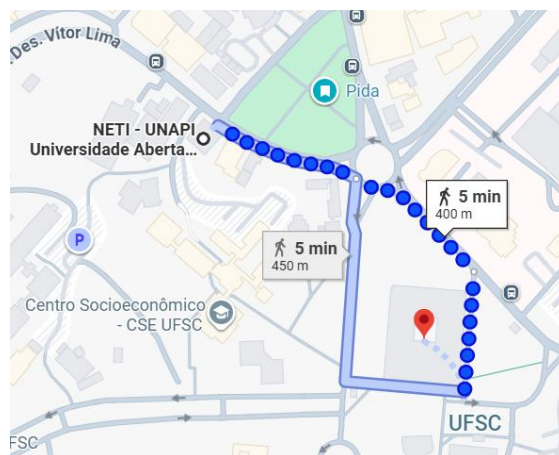


Figura 3. Ruta del NETI/UNAPI hasta la Biblioteca Universitaria, Campus Trindade/UFSC.

El trayecto se inicia en la salida del NETI, en dirección a la vía principal del campus, con acceso por aceras relativamente continuas y en mejores condiciones que en otras rutas. Aunque aún existen puntos con desnivel y tramos con pavimentación irregular, el recorrido presenta mayor regularidad de superficie, lo que facilita la caminata.

Un aspecto relevante es la presencia de tótems informativos y señales de orientación en parte del camino, lo que contribuye a la movilidad autónoma de las personas mayores. Sin embargo, la señalización sigue siendo discontinua y no siempre está ubicada en lugares

estratégicos, lo que exige mejoras (Figuras 4 y 5).



Figura 4. Tótem informativo de la UFSC ubicado próximo al acceso principal del campus. Fuente: elaboración propia (2025)



Figura 5. Tótem de orientación espacial con indicaciones hacia edificios académicos y servicios. Fuente: elaboración propia (2025).

La ruta también se beneficia de la conectividad entre espacios académicos, ya que pasa por áreas de circulación más concurridas, donde hay flujo de peatones, comercios de servicios y acceso a otros edificios. Esta característica ofrece

referencias visuales y sociales que ayudan a la persona mayor en la construcción mental del trayecto. No obstante, el cruce en áreas de estacionamiento aún representa un punto crítico, pues no siempre hay pasos peatonales bien demarcados ni prioridad para quienes caminan.

Así, en comparación con la ruta al Departamento de Botánica, la ruta hasta la BU se presenta “más favorable a la accesibilidad y a la orientación espacial (caminabilidad), tanto por la menor distancia como por la relativa continuidad de las aceras y la mayor densidad de elementos de orientación. Aun así, la falta de áreas de descanso a lo largo del recorrido limita la permanencia y el confort. A pesar de estas limitaciones, la ruta hasta la BU evidencia el potencial de la señalización y de la conectividad entre espacios como elementos clave de orientación espacial, favoreciendo la movilidad autónoma de las personas mayores.

El análisis de la ruta que conecta el NETI/UNAPI con el Departamento de Botánica evidencia las dificultades que enfrentan las personas mayores en entornos universitarios, sobre todo cuando el desplazamiento exige recorrer trayectos largos y atravesar áreas destinadas prioritariamente a vehículos. A lo largo del recorrido se constató la ausencia de aceras continuas, la presencia de desniveles y

escalinatas, la escasez de puntos de descanso y la señalización insuficiente, condiciones que comprometen directamente la accesibilidad y la orientación espacial en el campus. Aunque existen algunos tótems informativos, estos no ofrecen una orientación clara y continua, lo que limita su efectividad para la orientación espacial.

En contraposición, el análisis de la ruta hacia la Biblioteca Universitaria (BU) mostró un trayecto más corto y relativamente más favorable, con mayor continuidad de aceras y presencia de elementos de señalización. Aunque todavía presenta puntos críticos —como cruces en áreas de estacionamiento y señalización discontinua— este recorrido evidencia cómo la conectividad entre espacios y la existencia de referencias visuales y sociales pueden favorecer la orientación espacial y proporcionar una caminata más segura y confiada para las personas mayores.

Estos hallazgos dialogan con la literatura internacional sobre envejecimiento en espacios académicos. Chesser et al. (2020) y Dąbek et al. (2024) destacan que las universidades deben adaptar sus infraestructuras para ofrecer rutas seguras y accesibles, bajo riesgo de limitar la participación de las personas mayores en actividades de enseñanza, investigación y extensión. De manera semejante, Tanuwidjaja et al. (2018),

Zawadzka et al. (2022) y Steffan et al. (2022) refuerzan la necesidad de estrategias institucionales que promuevan la accesibilidad intergeneracional, incluyendo elementos de orientación espacial claros y entornos de aprendizaje universales.

En la literatura nacional, Diniz et al. (2021) señalan que la precariedad de la infraestructura urbana refuerza procesos de exclusión social; Grangeiro (2022) y Azevêdo et al. (2022) destacan la percepción de la persona mayor frente a las barreras físicas y simbólicas que restringen la circulación; mientras que Marques da Costa et al. (2022) y Gonçalves (2023) muestran que las dificultades de desplazamiento también están presentes en espacios institucionales, como universidades y servicios de salud.

Al mismo tiempo, estudios recientes enfatizan que aceras regulares, señalización adecuada, áreas de descanso y conectividad entre espacios estimulan la caminata y la permanencia en ambientes públicos, favoreciendo la salud, la autonomía y la inclusión social de las personas mayores (Besser et al., 2017; Cerin et al., 2017; Cerin et al., 2020; Yilmaz et al., 2018; Caldeira, Silva & Nunes, 2017; Marins et al., 2022; Paiva Neto et al., 2022; Akinci et al., 2022; Crews, 2022; Asiamah et al., 2023; Cavasin et al., 2024; Song et al., 2024).

La NBR 9050/2023 establece parámetros normativos que dialogan directamente con estas evidencias, como la necesidad de rutas accesibles continuas, rampas en sustitución de escaleras, áreas de descanso y señalización táctil y visual. No obstante, la realidad observada en las rutas analizadas muestra que muchos de estos requisitos aún no se cumplen en el campus. La escalinata en la entrada del CSE constituye, por ejemplo, una barrera arquitectónica directa, contraria al principio de equivalencia de rutas accesibles.

Más allá de la dimensión normativa y funcional, el análisis se enriquece al incorporar los aspectos sensoriales. Caminar, para la persona mayor, es una experiencia mediada por múltiples sentidos: el equilibrio y la propiocepción son exigidos en tramos con desniveles y escaleras; la visión orienta la lectura de la señalización y la identificación de referencias arquitectónicas; la audición ayuda a percibir vehículos y peatones alrededor; el tacto y el movimiento complementan la interacción con pisos, pasamanos y referencias táctiles. Steiner (2006) y Higgins (2022) resaltan precisamente el papel central de los sentidos en la mediación de la experiencia humana con el espacio, mostrando que la ausencia de estímulos adecuados o la presencia de barreras físicas genera inseguridad, miedo y desorientación.

Los referentes de Gehl (2024) y Speck (2022; 2024) refuerzan esta perspectiva al destacar que la vitalidad urbana y la caminabilidad dependen de recorridos que sean, al mismo tiempo, útiles, seguros, confortables e interesantes. La ruta hacia el Departamento de Botánica evidencia la carencia de estos atributos, mientras que la ruta hacia la BU demuestra el potencial de una infraestructura mínima de señalización y conectividad para favorecer la movilidad autónoma.

Así, el análisis comparativo de las rutas revela no solo la presencia de barreras físicas, sino también la necesidad de considerar la dimensión sensorial, perceptiva y psicosocial de la movilidad. Garantizar recorridos accesibles, conectados y confortables es condición fundamental para asegurar la presencia activa de las personas mayores en la universidad y, en consecuencia, para fortalecer la intergeneracionalidad y la democratización del espacio académico.

Conclusión

El diagnóstico preliminar de las rutas de conexión entre el NETI/UNAPI y los principales polos académicos y culturales del Campus Trindade evidenció contrastes significativos en términos de distancia, barreras físicas y elementos de orientación espacial. La ruta hacia el Departamento de Botánica, más extensa y

periférica, concentró los mayores obstáculos relacionados con la accesibilidad, mientras que la conexión con la Biblioteca Universitaria, más corta y central en la vida académica, mostró condiciones relativamente más favorables, aunque todavía con limitaciones.

La combinación del Cuadro 1 y del Figura 1 permitió contextualizar los recorridos en la escala general del campus, destacando cómo la localización periférica del NETI condiciona los desplazamientos cotidianos y amplifica los desafíos de movilidad inclusiva. Al mismo tiempo, las observaciones in situ mostraron que los elementos de señalización presentes, aunque puntuales, ofrecen indicios de potencial para orientar trayectos más accesibles.

Estos hallazgos refuerzan la necesidad de integrar la accesibilidad y la orientación espacial como dimensiones centrales en el planeamiento universitario. Al tratarse de un estudio en curso, los próximos pasos contemplan la incorporación de metodologías participativas con personas mayores —entrevistas, grupos focales y el paseo acompañado— con el fin de profundizar en la comprensión de sus experiencias y avanzar hacia la formulación de rutas inclusivas y replicables en otros campus universitarios.

Literatura

- Akinci, C., Ergin, D., & Ceylan, R. (2022). Walkability and elderly well-being: Evidence from urban neighborhoods. *Journal of Urban Design*, 27(6), 1–20. <https://doi.org/10.1080/13574809.2022.xxxx>
- Asiamah, N., Mensah, H. K., & Hagan, J. (2023). Active ageing, mobility and urban walkability. *Cities*, 136, 104220. <https://doi.org/10.1016/j.cities.2023.104220>
- Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). (2023). *NBR 9050:2023 – Acessibilidade a edificações, mobiliário, espaços e equipamentos urbanos* [Accesibilidad a edificaciones, mobiliario, espacios y equipamientos urbanos]. ABNT.
- Besser, L. M., Dannenberg, A. L., & Kumanyika, S. K. (2017). Walking and health: The role of walkable communities. *American Journal of Public Health*, 107(9), 1502–1509. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2017.303865>
- Caldeira, A. M., Silva, L. M., & Nunes, R. A. (2017). Mobilidade urbana e envelhecimento ativo: Um estudo em cidades brasileiras [Movilidad urbana y envejecimiento activo: Un estudio en ciudades brasileñas]. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, 20(2), 250–262.

<https://doi.org/10.1590/1981-22562017020xxx>

Cavasin, R., Pereira, F., & Oliveira, J. (2024). Walkability and accessibility for older adults: New challenges in Brazilian campuses. *Sustainability*, 16(7), 5001. <https://doi.org/10.3390/su16075001>

CEPAL. (2020). *América Latina y el Caribe: población de 60 años o más*. Comisión Económica para América Latina y el Caribe. <https://www.cepal.org>

CEPAL. (2022). *Envejecimiento y derechos de las personas mayores: situación y políticas en América Latina y el Caribe*. Comisión Económica para América Latina y el Caribe. <https://www.cepal.org>

Cerin, E., Nathan, A., van Cauwenberg, J., Barnett, D. W., & Barnett, A. (2017). The neighbourhood physical environment and active travel in older adults. *Journal of Aging and Physical Activity*, 25(2), 206–215. <https://doi.org/10.1123/japa.2016-0060>

Cerin, E., et al. (2020). Urban walkability and cognitive health in older adults: A multi-country study. *Environment and Behavior*, 52(7), 713–740. <https://doi.org/10.1177/0013916519879770>

Chesser, A., Woods, N. K., Reyes, J., & Rogers, N. (2020). Health literacy and older adults: A systematic review. *Gerontology & Geriatric Medicine*, 6(1), 1–13. <https://doi.org/10.1177/2333721420920410>

Crews, D. (2022). Designing walkable cities for ageing populations. *Journal of Urban Health*, 99(4), 640–652. <https://doi.org/10.1007/s11524-022-00602-4>

Dąbek, A., Kurtyka, J., & Kosińska, K. (2024). Inclusive campus design: Accessibility for older adults in higher education. *Sustainability*, 16(3), 1122. <https://doi.org/10.3390/su16031122>

Diniz, F., Lima, R., & Costa, M. (2021). Acessibilidade urbana e envelhecimento: Desafios e perspectivas [Accesibilidad urbana y envejecimiento: Desafíos y perspectivas]. *Revista Kairós Gerontologia*, 24(3), 121–139.

Forcelini, F. (2023). *Gestão de design aplicada no NETI-UNAPI (Universidade Aberta para as Pessoas Idosas): Um guia de serviço centrado no ser humano* [Gestión de diseño aplicada en el NETI-UNAPI (Universidad Abierta para las Personas Mayores): Una guía de servicio

centrada en el ser humano] (Tesis de doctorado). Universidade Federal de Santa Catarina.

Gehl, J. (2024). *Cities for people: 10th anniversary edition*. Island Press.

Gonçalves, M. (2023). Mobilidade e envelhecimento: O caso das universidades públicas brasileiras [Movilidad y envejecimiento: El caso de las universidades públicas brasileñas]. *Cadernos Metrópole*, 25(58), 455–472.

Grangeiro, C. (2022). Barreiras arquitetônicas e envelhecimento ativo: Reflexões sobre o espaço urbano [Barreras arquitectónicas y envejecimiento activo: Reflexiones sobre el espacio urbano]. *Revista de Arquitetura e Urbanismo*, 28(3), 87–104.

Higgins, J. (2022). *Sentir: El poder de los sentidos en la vida cotidiana*. Editorial Debate.

IBGE. (2018). *Projeções da população do Brasil e das Unidades da Federação por sexo e idade: 2010–2060 [Proyecciones de la población de Brasil y de las Unidades de la Federación por sexo y edad: 2010–2060]*. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.
<https://www.ibge.gov.br>

IBGE. (2023). *Indicadores sociodemográficos e de saúde no Brasil [Indicadores sociodemográficos y de salud en Brasil]*. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. <https://www.ibge.gov.br>

Marques da Costa, E., Silva, R., & Andrade, T. (2022). Mobilidade e inclusão: Perspectivas para o ensino superior e a pessoa idosa [Movilidad e inclusión: Perspectivas para la educación superior y la persona mayor]. *Revista Educação e Sociedade*, 43(1), 1–20.

MEC. (2023). *Universidade Federal de Santa Catarina [Universidad Federal de Santa Catarina]*. Ministério da Educação.
<https://emec.mec.gov.br>

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2020). *Decade of healthy ageing 2020–2030 [Década del envejecimiento saludable 2020–2030]*. World Health Organization. <https://www.who.int>

Paiva Neto, O., Souza, A., & Lima, T. (2022). Walkability and active ageing in Brazilian contexts. *Journal of Transport & Health*, 24, 101337.
<https://doi.org/10.1016/j.jth.2022.101337>

Song, H., Zhang, Y., & Wang, L. (2024). Urban environments and walking behavior of older adults. *International Journal of Environmental Research and Public*

Health, 21(1), 233.

<https://doi.org/10.3390/ijerph21010233>

Speck, J. (2022). *Walkable city: 10th anniversary edition*. North Point Press.

Speck, J. (2024). *Walkable city rules: 101 steps to making better places*. Island Press.

Steiner, R. (2006). *La educación de los sentidos*. Editorial Antroposófica.

Steffan, I., Kubiak, T., & Reuter, A. (2022). Designing age-friendly universities: Challenges and opportunities. *Educational Gerontology*, 48(9), 1–15.

<https://doi.org/10.1080/03601277.2022.2043211>

Tanuwidjaja, G., Setijanti, P., & Aulia, F. (2018). Age-friendly campus: A case study. *Journal of Architecture and Urbanism*, 42(1), 45–56.

<https://doi.org/10.3846/20297955.2017.1410532>

Tavares, B., Silva, M., & Costa, R. (2022). Apresentação NETI-UNAPI [Presentación NETI-UNAPI]. Universidade Federal de Santa Catarina.

<https://neti.ufsc.br/apresentacao>

UFSC. (2023). *Anuário estatístico da Universidade Federal de Santa Catarina*

[Anuario estadístico de la Universidade Federal de Santa Catarina]. Universidade Federal de Santa Catarina.

<https://dados.ufsc.br>

Yılmaz, A., Demir, Z., & Özkan, T. (2018). Walkability and elderly participation in public spaces. *Journal of Urban Design*, 23(4), 567–582.

<https://doi.org/10.1080/13574809.2018.1424796>

Zawadzka, A., Wójtowicz, A., & Płoszaj, A. (2022). Intergenerational learning in higher education: University strategies and practices. *Journal of Intergenerational Relationships*, 20(4), 385–402.

<https://doi.org/10.1080/15350770.2022.2064012>

Financiamiento

Este trabajo contó con apoyo financiero de la Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Agradecimientos

La autora agradece al Programa de Pós-Graduação em Arquitetura e Urbanismo (PósARQ/UFSC) por el apoyo institucional y por haberla seleccionado en el proceso de representación internacional.



4. Sustentabilidade

Multiplicidade Lógica na Indústria da Moda: uma análise sobre os movimentos *fast e slow fashion*

Autor: Lima, Marissa; marissagodoy@gmail.com

Orientador: Lopes, Fernando; Fernando.lopes@ufrgs.br

Universidade Federal do Rio Grande do Sul / Escola de Administração

Resumen

Este estudo investiga a multiplicidade lógica na indústria da moda, a partir da coexistência dos movimentos *fast fashion* e *slow fashion* e seus impactos ambientais, sociais e econômicos. O *fast fashion* caracteriza-se pela produção acelerada, massificação e descarte rápido de produtos (Fletcher, 2008; Berlim, 2016), enquanto o *slow fashion* propõe uma abordagem sustentável e ética, valorizando a durabilidade e o consumo consciente (Clark, 2008; Fletcher; Grose, 2012). A presença simultânea dessas lógicas evidencia tensões e desafios no campo organizacional, afetando o comportamento dos consumidores, as estratégias empresariais e as políticas socioambientais (Thornton; Ocasio; Lounsbury, 2012). A lógica do *fast fashion* é criticada pelos impactos negativos que gera, enquanto o *slow fashion* emerge como alternativa, ainda enfrentando barreiras de escala e adesão. Fundamentado na teoria das lógicas institucionais, o estudo analisa como a convivência desses movimentos configura práticas híbridas, adaptações estratégicas e possíveis transformações no setor (Raynard, 2016; Picheth; Crubellate, 2019). Ao discutir os desafios e as possibilidades inscritas na multiplicidade lógica, este estudo contribui para o debate sobre sustentabilidade e mudança institucional no campo da moda.

Palabras clave: Lógicas Institucionais, Multiplicidade Lógica, Slow Fashion.

Introdução

Popularizado a partir do século XIX, o conceito de moda tem sido atribuído a um sistema que integra o simples uso das roupas a um contexto mais amplo, permeado por valores políticos, sociais e sociológicos (Palomino, 2010). Focada inicialmente na *Haute Couture*, produção artesanal feita sob medida, a moda possuía caráter elitizado e era privilégio de poucos, permanecendo assim por um longo período. No entanto, do período recessivo pós-crise, datado em 1929, originou-se o *Prêt-à-porter* que, segundo Lipovetsky (2007), introduziu o estilismo e a produção em série no mercado da moda. Estimulando, sobretudo, o comércio varejista, esse movimento possibilitou o barateamento das peças e a chegada dos grandes magazines.

Já na década de 90, motivados pela aceleração das vendas, fabricações homogêneas e preços baixos (Berlim, 2016), observou-se a substituição do modelo tradicional pelo *fast fashion*. Uma vez que a qualidade e durabilidade dos produtos deixou de ser relevante, novas estratégias foram adotadas a fim de subsidiar o modelo ora praticado. Nesse contexto, a obsolescência programada vem no sentido de minimizar o tempo de vida útil de determinado produto a fim de estimular o consumo (Packard, 1965). Originada também no período pós-crise, a obsolescência como estratégia surgiu com

o objetivo de potencializar a produção e incitar o consumismo, tidos como condições para estabilidade econômica e manutenção dos empregos na época (Packard, 1965).

Genuinamente insustentável, essa estratégia tem contribuído para uma série de impactos no que se refere ao meio ambiente, inclusive a situação dos resíduos sólidos urbanos que, anualmente, contabilizam mais de 2 toneladas (ONU, 2018). Entre o montante mencionado, encontram-se os resíduos provenientes da indústria têxtil e de confecções, estimados em 92 milhões de toneladas por ano (Copenhagen Fashion Summit, 2016) que podem levar até 300 anos para se decompor (Fletcher; Grose, 2012). Esse, no entanto, não é o único impacto ambiental decorrente do processo produtivo. Segundo Lalnunhlmi e Krishnaswamy (2016), a produção têxtil compreende um dos processos industriais mais poluentes do mundo. Para além dos impactos ambientais, o *fast fashion* também está associado a uma série de problemas sociais, sobretudo nos países em desenvolvimento, onde se concentra a maior parte da produção têxtil. Nessas regiões - marcadas por vulnerabilidades econômicas e institucionais, predominam condições precárias de trabalho, baixos salários, jornadas exaustivas e recorrentes violações de direitos trabalhistas. Enquanto as nações consumidoras

concentram os benefícios econômicos do modelo, os custos sociais e ambientais recaem justamente sobre os territórios produtores, reforçando dinâmicas globais de exploração e desigualdade.

Nesse contexto, o movimento *slow fashion* surge com uma proposta de identificar soluções de moda sustentável e estratégias para design, produção, consumo, uso e reutilização (Clark, 2008), abarcando desde a conscientização até a adaptação dos processos produtivos. Contrários em termos de estratégia e principalmente de valores, tais movimentos - *fast* e *slow*, evidenciam a multiplicidade lógica que permeia a cadeia da moda, denotando as diferentes práticas, premissas, crenças e regras que norteiam esse contexto (Thornton; Ocasio; Lounsbury, 2012).

A lógica institucional, conceituada por Friedland e Alford (1991), refere-se aos sistemas de significados e práticas materiais que definem as expectativas e comportamentos em diferentes esferas da vida social. A coexistência de múltiplas lógicas institucionais dentro de um campo organizacional, como a indústria da moda, resulta em uma multiplicidade lógica, na qual diferentes normas e valores competem ou se complementam. Tratando-se especificamente da moda, tem-se o capitalismo como principal motivador dessa dicotomia. Se por um lado, o *fast fashion* ratifica o lucro, a

produção e a aceleração de vendas (Berlim, 2016) - alinhado às premissas do capitalismo; no outro, o *slow fashion* opõem-se à produção em massa e ao consumo desenfreado, oferecendo uma forma mais consciente e ética de estar na moda (Clark, 2008). Este cenário de multiplicidade lógica revela a complexidade das interações institucionais e a necessidade de compreender como essas lógicas influenciam e moldam o campo da moda.

Nesse sentido, o objetivo geral deste estudo consiste em analisar as implicações da coexistência de diferentes lógicas institucionais na indústria da moda, examinando o antagonismo de seus movimentos, *fast* e *slow fashion*, bem como o impacto de suas práticas materiais e construções simbólicas.

Seu desenvolvimento se justifica pela necessidade de compreender como as diferentes lógicas institucionais - *representadas pelos movimentos fast e slow fashion*, influenciam a indústria da moda. O *fast fashion*, com sua ênfase na produção em massa e no consumo acelerado, contribui significativamente para problemas ambientais, como a geração de resíduos têxteis e o uso insustentável de recursos naturais. O *slow fashion*, por outro lado, propõe práticas mais conscientes e sustentáveis; mas a coexistência dessas lógicas dentro do mesmo campo organizacional cria tensões

e desafios que precisam ser investigados, especialmente no que se refere aos seus impactos ambientais e sociais. Assim, o estudo busca fornecer *insights* que possam contribuir para a transformação da indústria da moda em direção a um futuro mais sustentável e equitativo.

A Indústria da Moda e o Fast Fashion

Termo originado do latim, moda significa modo, maneira ou comportamento (Palomino, 2010). O conceito surgiu no final da Idade Média, século XV, na cidade de Borgonha, província da França. Abastados pelo comércio, que lhes possibilitou melhores condições de vida e subsistência, os burgueses passaram a reproduzir os tecidos, o jeito de se vestir e se portar da nobreza que, insatisfeita em assemelhar-se a essa recém-criada classe social, passou a utilizar códigos internos, atualizados sistematicamente, e dificultar a cópia dos modelos (Lipovetsky, 1989). Nesse contexto, o desejo de se sentir único e, ao mesmo tempo, conectar-se a um grupo pelo modo de se vestir (Erner, 2005), configura a moda. O período histórico narrado marca não somente a conceituação do termo, mas também uma das premissas fundamentais da moda, sua constante modificação.

Marcada por transformações contínuas, a trajetória da moda tem refletido diferentes mudanças sociais, econômicas e culturais ao longo dos séculos. Democratizando-se

a partir do século XIX, a moda, que até então era privilégio de poucos, tornou-se um sistema acessível e pluralizado (Mackenzie, 2010), atendendo as mais diversas classes sociais. Ponderando a disparidade do poder aquisitivo, as necessidades e os desejos da sociedade, segmentou-se a moda em dois eixos principais: *Haute Couture* e *Prêt-à-porter*.

Introduzida por Charles Frederic Worth, a *Haute Couture*, ou Alta-costura, refere-se à criação em escala artesanal de modelos exclusivos feitos sob medida, característicos pela alta qualidade e valores extraordinariamente elevados (Fédération de la Haute Couture et de la Mode, 2020). O conceito nasceu em Paris, em 1858, e foi motivado pela contratação de Worth como estilista da imperatriz Eugênia, mulher de Napoleão III. Diferentemente das costureiras e alfaiates, o estilista passou a ser reconhecido como criador supremo, o que foi instantaneamente legitimado pela alta sociedade (Erner, 2005).

O *Prêt-à-porter*, ou *ready-to-wear* em inglês, significa pronto para vestir. Estabelecido a partir da crise de 1929 – Grande Depressão, esse modelo surgiu como uma saída às diversas restrições do período recessivo e foi o precursor da produção em série. Naquele momento, abandonou-se a escala artesanal feita sob medida e iniciou-se a confecção de

tamanhos predefinidos. Para Lipovetsky (2007, p. 113):

O Prêt-à-porter fundiu a indústria e a moda, a novidade das ruas e o estilo. Tornou a moda acessível a todos, porém com inspiração nas últimas tendências. Por meio do prêt-à-porter e da introdução do estilismo, o vestuário produzido em série mudou de estatuto, e tornou-se um produto de moda. A indústria associou-se aos estilistas e o prêt-à-porter tornou-se um vestuário com valor, que somou a moda e a estética à produção em série (LIPOVETSKY, 2007, p. 113).

Nota-se, a partir do exposto, que ao preconizar a produção industrial, o *Prêt-à-porter* possibilitou o barateamento das peças e a chegada dos grandes magazines ao mercado de confecções, estimulando sobretudo o comércio varejista. Reconhecendo a importância das cadeias de varejo para o mercado, Provenzano (2014, p. 15), coloca que "os grandes varejistas conseguem oferecer roupas que carregam informação de moda de forma extremamente veloz, a preços competitivos, para um consumidor que procura consumir a tendência". Característica essa atribuída ao *fast fashion*.

Criado na Europa, na década de 90, o *fast fashion* se estabelece como uma estratégia de comercialização à preço baixo, modelos homogêneos e aceleração de vendas (Berlim, 2016). Ao contrário do

modelo tradicional, que se pauta nas agendas internacionais e trabalha com as coleções primavera/verão e outono/inverno, o *fast fashion* dedica-se às microcoleções e chega a lançar um novo acervo a cada quinze dias (Fletcher, 2008).

Focado na geração contínua de lucro em prazos cada vez menores (Berlim, 2016), esse movimento não preza necessariamente pela qualidade do produto, tampouco sua durabilidade. A ideia é comercializar produtos baratos, de baixa qualidade e lançamento continuado, de modo que a viabilidade do negócio se dê pelo volume de vendas e não pelo valor individual das mercadorias.

Sem qualquer apreço ambiental, o *fast fashion* tem sido o principal motivador do comportamento consumista no âmbito da moda (Fletcher, 2008). Responsável por impactos ambientais de grande significância, derivados não somente do processo produtivo, mas principalmente dos resíduos têxteis que são descartados diariamente de maneira inadequada, este modelo ainda é acusado de minimizar o tempo de vida útil dos produtos comercializados e instigar uma nova compra, ratificando sua natureza insustentável. O capítulo seguinte se propõe a abordar mais profundamente a estratégia mencionada e apresentar o contexto no qual se desenvolveu a obsolescência programada.

Obsolescência Programada

O termo estratégia, do grego *strategos*, originou-se na Grécia Antiga e significava, inicialmente, "a arte do general" (Wright; Kroll; Parnell, 2000). Sua conotação voltada para guerra foi utilizada por Sun Tzu no livro "A arte da guerra" (Tzu, 1999) e fomentava um discurso baseado na conquista da vitória em determinados tipos de conflito. Já em termos organizacionais, segundo Mintzberg e Quinn (1991), a expressão passou a ser utilizada em 450 a.C., sendo associada a habilidades gerenciais e administrativas.

Enquanto vertente do conhecimento administrativo, a estratégia tende a integrar diversas teorias e versar sobre diferentes concepções e abordagens. Por permear contextos distintos, o conceito de estratégia pode apresentar significativa variação, sendo entendido, na área da Administração, como "políticas, objetivos, táticas, metas, programas, entre outros" (Mintzberg; Quinn, 1991).

Nesse estudo, especificamente, a compreensão de estratégia coincide com o conceito desenvolvido por Thompson Jr. e Strickland III (2000), que a entendem como uma série de mudanças competitivas e abordagens comerciais, dispostas a alavancar o desempenho organizacional e os resultados da empresa.

Tida como uma solução à crise de 1929, pior e mais longo período de recessão econômica do século XX (Lipovetsky,

2007), a obsolescência programada foi concebida como estratégia e naquele momento foi determinante para estimular o consumo e manter as atividades fabris.

A obsolescência, segundo Leonard (2011), é a condição de um produto ou serviço que, embora esteja em perfeito estado de funcionamento, deixa de ser útil. No decorrer de seus estudos, Packard (1965) apresenta as formas pelas quais um produto pode tornar-se obsoleto.

A obsolescência de função, primeiramente, ocorre quando um produto novo ou significativamente melhorado é introduzido ao mercado e, de maneira mais eficiente, passa a atender as necessidades do cliente. Para Slade (2006), a obsolescência de função, também denominada obsolescência tecnológica, tomou maior proporção a partir da Revolução Industrial e é continuamente estimulada em decorrência dos avanços tecnológicos.

Na obsolescência de desejabilidade, "um produto que ainda está sólido, em termos de qualidade ou performance, torna-se gasto em nossa mente porque um aprimoramento de estilo ou outra modificação faz que fique menos desejável" (Packard, 1965, p. 51). Slade (2016) trata essa tipologia como obsolescência psicológica e coloca que a estratégia consiste em manipular os consumidores, fazendo com que se sintam desconfortáveis ao utilizar um produto

ultrapassado. Ainda segundo o autor, o design passa a ser supervalorizado e dá a falsa impressão de mudança, instigando a compra.

A obsolescência de qualidade, segundo Packard (1965, p. 51), ocorre quando, de maneira planejada, "um produto quebra-se ou se gasta em determinado tempo, geralmente não muito longo". Situações em que a empresa comercializa um bem com probabilidade de vida reduzida, tendo ciência que poderia oferecer um produto com vida útil mais longa (Slade, 2006).

Esta última, foco da discussão pretendida por esse estudo, foi a saída estratégica escolhida pelos líderes empresariais e políticos do século XX para potencializarem a produção e incitar o consumismo. Atrelado ao movimento fabril de minimizar a vida útil dos produtos comercializados, campanhas publicitárias encomendadas pelo governo buscavam conscientizar a população que, naquele momento, o aumento do consumo era condição para estabilidade econômica e manutenção dos empregos (Packard, 1965).

Passada a crise, o discurso permaneceu o mesmo. Obstinados pela ascensão econômica, política e social dos Estados Unidos, defendeu-se o consumo como modo de vida, sem que houvesse qualquer preocupação com o impacto ambiental proveniente do volume de resíduos e descartes (Lipovetsky, 2007).

Hoje, cerca de noventa anos pós-crise, o consumo ainda é visto como o principal responsável pelo crescimento econômico (Leonard, 2011), no entanto, os impactos derivados dessa exploração desmedida já são visíveis e desoladamente mensuráveis.

Segundo a Organização das Nações Unidas (ONU, 2018), o volume de resíduos sólidos urbanos (RSU) descartados anualmente no planeta ultrapassa 2 bilhões de toneladas, cerca de 1,2 kg por dia per capita. Em uma relação diretamente proporcional, "países desenvolvidos produzem mais RSU por habitante porque têm níveis mais elevados de consumo" (ONU, 2015, p. 1). Nesse sentido, os Estados Unidos, primeira potência econômica mundial no que diz respeito ao Produto Interno Bruto - PIB (IMF, 2024), ocupa o primeiro lugar no ranking mundial, responsável por 624 mil toneladas de RSU diários.

Exposto a condições substancialmente distintas, o Brasil, que ocupa a oitava posição no ranking supracitado (IMF, 2024), têm uma produção per capita diária de 387 kg de RSU, o equivalente a 78,6 milhões de toneladas por ano. Segundo especialistas (Abrelpe, 2016), ao analisar comparativamente os resultados de outras nações, percebe-se que, embora caracterize-se como uma economia em desenvolvimento, a produção brasileira de RSU é compatível à de países

desenvolvidos. Por outro lado, o padrão de descarte ainda é precário e se equivale aos países pobres, com lixões a céu aberto e pouca reciclagem (Abrelpe, 2016).

Diante da situação descrita, as discussões acerca da sustentabilidade fazem-se amplamente necessárias. Não somente no sentido de remediar o que já foi feito, mas de evitar que os prejuízos causados ao meio ambiente assumam proporções ainda maiores. No capítulo seguinte busca-se resgatar os conceitos-base da sustentabilidade e aproximá-los do contexto desse estudo, focando na indústria da moda e sobretudo nos resíduos têxteis.

Sustentabilidade

A fim de compreender os impactos negativos provocados pela obsolescência programada e sua estratégia inconsequente de estimular o consumismo, é preciso assimilar o processo histórico que envolve a preocupação com os problemas ambientais e o que vem sendo feito para minimizar a degradação do ambiente, que é resultado da ação do homem.

De maneira tardia, entre os anos 60 e 70, passou-se a notar um maior interesse da sociedade pelos problemas relativos à degradação ambiental (Barbieri, 2004; Pierrí, 2004; Foladori, 2001). Tal movimento vem ocorrer pelo menos três décadas após a crise de 1929 e a adoção da obsolescência como estratégia. Embora

inúmeros marcos tenham sido registrados desde então, o que mais se destaca é o relatório elaborado pela Comissão Mundial para o Meio Ambiente e Desenvolvimento (CMMAD). Em 1987 essa comissão apresentou o informe *Nosso Futuro Comum* e divulgou o termo desenvolvimento sustentável como aquele que satisfaz as necessidades das gerações presentes sem comprometer a capacidade das gerações futuras satisfazerem suas próprias necessidades.

Embora reconheçam a relevância do trabalho desenvolvido pela CMMAD, muitos autores criticam o conceito de desenvolvimento sustentável ora elaborado (Foladori, 2001; O'connor, 2000; Dovers, 1997; Seghezze, 2007) e condenam o caráter antropocêntrico, a falta de universalidade e a priorização do foco econômico da redação. Diante disso, muitas teorias acabaram emergindo, propondo abordagens mais holísticas e integrativas que enfatizam a interconexão entre fatores sociais, econômicos e ecológicos. Essas teorias defendem que a sustentabilidade deve incorporar não apenas o bem-estar humano, mas também a preservação das diversas formas de vida e ecossistemas, sugerindo uma mudança de paradigma para uma perspectiva mais ecocêntrica e inclusiva.

Independentemente das divergências teóricas, radicais ou reformistas, o que se observa é que há um consenso quanto a

necessidade de preservação do planeta. Nesse sentido, é preciso ponderar sobre as estratégias que vem ameaçando a sustentabilidade do meio e os consequentes desdobramentos do seu desenvolvimento. Investigar determinados setores produtivos e analisar as práticas que têm legitimado sua insustentabilidade. Ao mesmo tempo, valorizar com mais afinco modelos alternativos que têm por essência o respeito ao meio ambiente e aos recursos naturais.

Impactos Ambientais da Indústria Têxtil e de Confecções

Segundo dados da Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecções - ABIT (2020), esse segmento industrial é responsável por 5,7% do faturamento da Indústria de Transformação no país que, por sua vez, representa 11% do PIB nacional (Mendonça, 2020). A baixa representatividade frente ao PIB, segundo a Federação das Indústrias do Estado de São Paulo - FIESP (2017, p. 8), se deve a "infraestrutura deficiente, o câmbio excessivamente valorizado, os entraves burocráticos, a elevada carga tributária e os juros e *spread* reais acima da média mundial". Os fatores listados têm comprometido a competitividade da indústria de transformação do país e diminuído seu espaço frente o mercado internacional, contribuindo para uma situação de estagnação econômica.

Visivelmente impactado pela crise, o setor têxtil e de confecções se viu em decréscimo produtivo ao longo de 2016, prejudicado tanto em número de peças, quanto em toneladas. Essa situação acabou atingindo o desempenho financeiro da indústria, que retraiu 5,9% e faturou US\$ 37 bilhões (ABIT, 2020). Ainda assim, o Brasil permanece como o quinto maior produtor têxtil mundial, sendo o único país da América Latina com destaque no ranking (Bezerra et al, 2014). Além disso, é autossuficiente na produção de algodão e dispõe de uma cadeia textil completa, que parte da produção das fibras, passa pelas etapas de fiação, tecelagem, beneficiamento e confecção e chega ao varejo, fortemente representativo. Seu parque produtivo de confecção é o quarto maior do mundo e abrange 25,2 mil empresas formais, gerando 1,5 milhão de empregos diretos e 8 milhões de indiretos, dos quais 75% constituem-se de mão de obra feminina (ABIT, 2020). Diante do contexto apresentado, torna-se nítida a relevância econômica e social desse setor para a economia nacional, no entanto, há de se salientar que, em termos ambientais, a produção têxtil caracteriza-se como um dos processos industriais mais poluentes do mundo (Lalnunhlimi; Krishnaswamy, 2016). Segundo Schonberegger (1999), os impactos decorrentes da cadeia produtiva têxtil percorrem todo o processo fabril, indo desde o plantio do algodão até a

comercialização e seu consequente descarte. Já na fase de cultivo do algodão - principal matéria-prima da indústria têxtil brasileira, a grande quantidade de pesticidas, inseticidas e fertilizantes utilizados ocasionam uma série de danos ao ecossistema local, contaminando o ar, a água e o solo. A fibra sintética, por outro lado, não depende da lavoura ou safra. Ela deriva de matérias-primas simples como o petróleo, por exemplo, que são submetidas a processos industriais e reagentes químicos. Trata-se de um processo altamente tóxico e poluente. Nas etapas de fiação e tecelagem, os impactos ambientais ficam por conta do ruído e do calor proveniente das máquinas. Devido a exposição continuada a esses fatores, não somente o meio ambiente acaba prejudicado, mas também os trabalhadores que, em muitos casos, não dispõem de acompanhamento relativo à saúde ocupacional e segurança do trabalho.

O beneficiamento é o período mais crítico no que se refere a contaminação ambiental. Esse estágio compreende os processos de alvejamento, tingimento, acabamento e estamparia do algodão já fiado e tecido (Santos, 2011) e carece de uma quantidade exorbitante de água. Segundo Leão et al (2002), cada quilo de tecido demanda até 150 litros de água. Desses, 88% são descartados como efluentes líquidos e 12% perdidos por evaporação. No que tange aos efluentes,

dado o grande número de produtos químicos utilizados, o risco de contaminação é elevado. Problemas no abastecimento público, comprometimento do abastecimento industrial e problemas na indústria da pesca, na navegação, agropecuária e recreação são alguns dos possíveis desdobramentos da má gestão dos efluentes têxteis (Ferreira; Spanhol; Keller, 2009).

Na etapa de confecção, final do processo produtivo, o grande vilão é o retalho. Seja por erro na produção ou basicamente pelas sobras de tecido, 10% de toda produção têxtil vira descarte (ABIT, 2020). De acordo com o Sindicato das Indústrias de Fiação e Tecelagem do Estado de São Paulo - Sinditêxtil-SP (2013), mais de 170 mil toneladas de aparas têxteis são descartadas no Brasil anualmente. Desse total, cerca de 90% acabam em aterros sanitários ou lugares impróprios. (Sinditêxtil-SP, 2013). Somente no Bom Retiro, região central de São Paulo e maior polo confeccionista da América Latina, são geradas diariamente 16 toneladas de resíduos têxteis (Zonatti, 2016). Conforme a ABIT (2020), embora existam algumas iniciativas regionais de coleta, separação e armazenamento desse material, grande parte ainda é descartada inadequadamente.

Lamentavelmente, os impactos ambientais não se limitam aos processos produtivos. O descarte do produto final,

realizado pelo cliente varejista, tem se apresentado como um dos principais problemas ambientais contemporâneos. Intensificado pelo *fast fashion* e sua aceleração no que diz respeito a produção, consumo e descarte de peças do vestuário, o volume de resíduos têxteis tem aumentado exponencialmente e motivado uma série de discussões e questionamentos. Segundo o Copenhagen Fashion Summit - CFS (2016), ao longo de 2015 foram descartados 92 milhões de toneladas de resíduos têxteis em todo o mundo. No Brasil, segundo a ABRAMACO (2017), respeitando o mesmo período analisado pela CFS, o volume foi de 170 mil toneladas. Considerando o volume de descartes e o período de decomposição dos materiais, o impacto ambiental torna-se exorbitante. Segundo Fletcher e Grose (2012), o tecido de algodão leva entre 10 e 20 anos para se decompor totalmente. O tecido sintético, porém, pode chegar a 300 anos. À vista disso, nota-se que o problema decorrente do descarte excessivo e inconsciente dos resíduos têxteis não tende a afetar somente a geração atual, mas também as subseqüentes. Ações imediatistas e focadas no curto prazo propendem a resultados não tão efetivos, portanto, é necessário que haja uma mudança de cultura que, de maneira holística, abarque desde a conscientização até a dinâmica dos processos produtivos.

A Alternativa Sustentável do Movimento Slow Fashion

O movimento *slow fashion* é contrário à produção em massa e o consumo desenfreado e surge como uma alternativa sustentável frente ao *fast fashion*. A terminologia foi criada em 2008 pela inglesa Kate Fletcher, consultora e professora de design sustentável do Centre for Sustainable Fashion do London College of Fashion e teve como inspiração o movimento *slow food*. Segundo Fletcher (2008), o *slow fashion* não é um limitador de velocidade, mas uma visão de mundo diferente que promove a variedade e multiplicidade de produção e consumo de moda e celebra o prazer e a diversidade cultural dentro dos limites biofísicos. Trata-se de um termo utilizado para identificar soluções de moda sustentável e estratégias para design, produção, consumo, uso e reutilização, bem como oferecer uma forma mais consciente e ética de estar na moda (Clark, 2008). Partindo desse conceito, serão apresentadas algumas das estratégias relativas a esse movimento, envolvendo não somente a parte operacional, como o design e a produção, mas também a questão comportamental, representada pelo consumo, uso e reutilização. No que se refere ao design, prioriza-se o clássico ao invés das súbitas tendências, o que contribui para longevidade das peças. Ao contrário do *fast fashion*, que chega a

lançar cinquenta e duas coleções por ano, o *slow fashion* foca em criações versáteis e atemporais e, normalmente, trabalha com duas coleções anuais: primavera/verão e outono/inverno. A matéria-prima selecionada tem origem natural e, por vezes, provém de recursos sustentáveis, tal como a reciclagem e o reaproveitamento de recursos, levando em conta não somente a estética da peça, mas principalmente a sua durabilidade.

Na produção observam-se processos mais lentos e programados. A diminuição do impacto ambiental surge como consequência de um ritmo mais saudável, alinhado aos ciclos naturais. A mão de obra humanizada, premissa básica desse modelo, apresenta-se em prol das melhores condições de trabalho e em contrariedade às condições análogas à escravidão, que ainda assolam a indústria da moda. Em relação ao consumo, o movimento *slow fashion* prega pela conscientização e consequente mudança de comportamento, visando os impactos ambientais e sociais. Além disso, segundo Jung e Jin (2016), o modo de pensar, agir e consumir devem ser norteados pelo seguinte raciocínio: "qualidade acima de quantidade" (*quality over quantity*). Segundo os autores (Jung; Jin, 2016), os consumidores são encorajados a comprar menos em volume e maior qualidade ao criar uma melhor compreensão dos produtos que eles consomem. Tal

afirmativa justifica a relevância de se evidenciar os percalços operacionais da indústria têxtil e as possíveis implicações de sua negligência.

O uso está diretamente relacionado a escolha e manejo das peças. Dado o processo de fabricação e a qualidade da matéria-prima utilizada, a durabilidade do produto torna-se um dos diferenciais do *slow fashion*. Nesse sentido, o uso pode ser estendido e não há necessidade de se adquirir uma excessiva quantidade de peças, "menos é mais" (*less is more*) (Johansson, 2010). A última estratégia evidenciada por Clark (2008) diz respeito a reutilização e, nesse contexto, o meio mais comum é o brechó. Os *thrift stores*, termo utilizado em inglês, surgiram com os mercados de pulgas da Europa (Crane, 2006) e chegaram ao Brasil no século XIX, junto à primeira loja de roupas e objetos usados do Rio de Janeiro. Voltado para compra e venda de roupas e artigos de segunda mão, o brechó era comumente associado a mofo, traça e naftalina, opção para aqueles que detinham menor poder aquisitivo. Com o tempo essa imagem foi sendo desconstruída, o que levou à democratização e popularização dos brechós. Hoje o mercado consumidor é formado pelas mais diversas classes sociais, faixas etárias e perfis. Segundo especialistas, além da economia em si, o aumento significativo da demanda por produtos de segunda-mão, pode ser

atribuído à valores como sustentabilidade e consciência de consumo (Sebrae, 2015). Por fim e, ainda no que se refere à reutilização, defendida pelo movimento *slow fashion*, cabe mencionar o *upcycling*. Para McDonough e Braungart (2002), trata-se da transformação de resíduos em produtos de maior significância – conceito correlato à economia circular (Ellen Macarthur Foundation, 2015). Na indústria da moda, engloba também a criação de novas peças a partir de itens antigos ou "fora de moda".

Lógica Institucional

Linha de pesquisa emergente dentro dos estudos organizacionais (Thornton, 2001), a lógica institucional - originada dos estudos de Friedland e Alford (1991), pode ser entendida como um conjunto de "práticas materiais, premissas, valores, crenças e regras através dos quais os indivíduos produzem sua substância material, organizam o tempo e o espaço e dão sentido a sua realidade" (Thornton; Ocasio, 1999, p. 804). Entendimentos comuns e interpretações convergentes (Fligstein; Mcadam, 2011) capazes de formar identidades - individuais, coletivas e organizacionais, e nortear o contexto social.

Abrangendo tanto o material quanto o simbólico, a perspectiva da lógica institucional se diferencia da teoria neoinstitucional inicial ao focar em como as

práticas e normas institucionais são internalizadas e refletidas nas ações e decisões dos atores sociais. Enquanto a teoria neoinstitucional tradicional, desenvolvida por Meyer e Rowan (1977) e DiMaggio e Powell (1983), tende a enfatizar a conformidade com normas estabelecidas e a padronização das práticas organizacionais em resposta a pressões institucionais, a lógica institucional explora a coexistência e a disputa entre diferentes sistemas normativos e simbólicos que estruturam a ação dos atores. Meyer e Rowan (1977) argumentam que as organizações adotam práticas institucionais não apenas para atender a pressões externas, mas também para garantir a legitimidade e a sobrevivência. DiMaggio e Powell (1983) complementam essa visão ao descrever o processo de isomorfismo, pelo qual as organizações se tornam mais semelhantes entre si ao adotar práticas e normas compartilhadas.

A abordagem da lógica institucional considera que as práticas e crenças que constituem uma lógica institucional não apenas orientam o comportamento organizacional, mas também estruturam a forma como os atores interpretam e respondem às suas experiências e contextos. Isso implica em uma análise mais detalhada de como as normas e valores são vivenciados e como influenciam o comportamento

organizacional e a tomada de decisão (Thornton; Ocasio, 2008). A internalização dessas lógicas institucionais sugere que as organizações não apenas adaptam suas práticas para atender às expectativas externas, mas também reinterpretam e ajustam essas práticas com base em suas próprias percepções e experiências.

Além disso, a lógica institucional enfoca o papel das práticas e dos processos simbólicos na criação e manutenção da ordem social, destacando a importância das representações culturais e das normas compartilhadas na construção de significado e identidade organizacional. A literatura enfatiza que os processos simbólicos são fundamentais na criação e reforço das lógicas institucionais. Greenwood, Oliver, Sahlin e Suddaby (2008) destacam que as organizações não são apenas influenciadas pelas lógicas institucionais, mas também desempenham um papel ativo na sua configuração. Esse processo de construção de significado e identidade ocorre através da adoção e adaptação das práticas e normas institucionais, bem como pela negociação e redefinição contínua dessas normas no contexto organizacional.

A perspectiva da lógica institucional oferece uma visão mais rica sobre como as organizações são moldadas pelas expectativas institucionais e como elas, por sua vez, contribuem para a configuração do campo institucional mais amplo. Mais

que isso, a análise das lógicas institucionais permite compreender como as práticas organizacionais são não apenas respostas a pressões externas, mas também reflexos de interpretações internas e negociações contínuas entre diferentes valores e crenças. Esta abordagem é essencial para entender a complexidade das dinâmicas organizacionais e institucionais, fornecendo uma base teórica robusta para a análise das mudanças e adaptações dentro dos campos organizacionais.

Multiplicidade Lógica

A coexistência de diferentes lógicas institucionais em um mesmo campo organizacional - este último definido como um “conjunto de organizações similares e diferentes, porém interdependentes, operando numa arena funcionalmente específica” (Machado-da-Silva; Guarido Filho; Rossoni, 2006, p. 162), é comum em uma ampla variedade de campos (Besharov; Smith, 2014). De acordo com Raynard (2016), essa multiplicidade ocorre devido à sobreposição de prescrições institucionais, criando situações em que diferentes lógicas competem por legitimidade ou cooperam em termos de complementaridade. Friedland e Alford (1991) afirmam que a própria sociedade pode ser entendida como um sistema interinstitucional contraditório, constituído a partir de diferentes lógicas e ordenamentos

institucionais. Segundo os autores, o mercado, o estado, a democracia, a família e a religião são as principais ordens institucionais da sociedade contemporânea, constituintes de 'lógicas centrais' (Friedland; Alford, 1991); algumas vezes congruentes, outras concorrentes. Thornton, Ocasio e Lounsbury (2012) propõem a inclusão de mais duas ordens e defendem a comunidade e as profissões como igualmente importantes no que se refere à sua influência para com a sociedade.

Esse movimento de coexistência, denominado multiplicidade lógica, pode resultar em diferentes consequências; da morte organizacional ao aumento da sustentabilidade. Segundo Besharov e Smith (2014), tais consequências dependem especialmente da forma com que as lógicas são instanciadas dentro das organizações. Thornton, Ocasio e Lounsbury (2012) reforçam essa perspectiva ao afirmar que as lógicas institucionais moldam tanto ações habituais quanto decisões estratégicas, permitindo que os atores dentro de uma organização mobilizem diferentes lógicas para justificar e legitimar suas ações, promovendo mudanças significativas nas práticas organizacionais. A multiplicidade lógica, portanto, não é meramente a coexistência passiva de diferentes lógicas, mas envolve um processo ativo de negociação e adaptação dentro das

organizações, que devem equilibrar essas lógicas para atender às diversas demandas de seus stakeholders.

Picheth e Crubellate (2019) citam a combinação, a hibridização, a emergência de uma nova lógica e a promoção de novos valores e práticas como movimentos possíveis frente à multiplicidade lógica. Segundo os autores, a combinação refere-se à integração de elementos de diferentes lógicas, buscando uma abordagem sinérgica que capture o melhor de cada uma (Picheth e Crubellate, 2019). Essa estratégia visa conciliar práticas e valores aparentemente contraditórios, criando uma síntese que se alinhe com os objetivos da organização. Essa abordagem permite que as organizações adaptem e ajustem suas estratégias para maximizar a eficiência e a coesão interna, equilibrando as demandas de diferentes lógicas institucionais e melhorando sua capacidade de resposta ao ambiente externo (Battilana; Dorado, 2010).

A hibridização representa a fusão de diferentes lógicas para criar uma nova abordagem que transcende as categorias tradicionais. Nesse processo, as organizações podem desenvolver identidades híbridas que combinam elementos aparentemente opostos, gerando inovação e adaptabilidade (Picheth; Crubellate, 2019). Raynard (2016) complementa que as organizações híbridas frequentemente operam em zonas

de ambigüedad institucional, o que lhes permite explorar sinergias entre lógicas concorrentes e, assim, criar modelos operacionais que refletem essa combinação de princípios aparentemente contraditórios. A hibridização é uma forma de inovação organizacional que emerge da necessidade de adaptação a contextos complexos e variados, e permite que as organizações experimentem novas formas de operação e identidade (Greenwood; Oliver; Sahlin; Suddaby, 2008). Esse conceito é fundamental para entender como as organizações podem integrar práticas divergentes para criar soluções inovadoras e eficazes que atendam às múltiplas demandas institucionais (Besharov; Smith, 2014).

A emergência de uma nova lógica refere-se à criação de uma perspectiva única que não é simplesmente uma combinação de lógicas existentes, mas sim uma evolução que surge em resposta à multiplicidade lógica. Essa nova lógica institucional surge especialmente em momentos de alta complexidade, quando as organizações precisam superar as limitações das lógicas existentes para enfrentar novos desafios institucionais (Raynard, 2016). A emergência dessa nova lógica pode oferecer uma abordagem original e eficaz para os desafios enfrentados pelas organizações, permitindo-lhes inovar e redefinir suas práticas e estratégias em um ambiente

institucional em mudança (Dorado, 2005). A capacidade de desenvolver novas lógicas institucionais pode levar a uma transformação significativa das práticas e das normas no campo organizacional, refletindo uma adaptação estratégica que vai além da simples acomodação de lógicas pré-existentes (Pache; Santos, 2013).

A promoção de novos valores e práticas envolve a defesa ativa e a adoção de elementos de uma lógica específica, buscando influenciar as normas e as expectativas do campo organizacional. Isso pode levar a uma transformação mais ampla das práticas e valores predominantes, moldando o próprio campo organizacional (Teixeira; Roglio; Ferreira, 2017). A promoção de novos valores pode ocorrer quando organizações de destaque são capazes de institucionalizar práticas emergentes e criar pressões sobre o campo organizacional, reconfigurando o equilíbrio de poder entre as lógicas (Raynard, 2016). Ao promover esses novos valores, as organizações não apenas adaptam suas operações, mas também desempenham um papel ativo na reconfiguração das normas e expectativas institucionais (Teixeira; Roglio; Ferreira, 2017). Esse processo é fundamental para entender como as organizações podem exercer influência sobre o campo institucional mais amplo e contribuir para a

mudança e a inovação dentro de seu contexto (Scott, 2014).

A multiplicidade lógica tem grande importância para a manutenção da estabilidade e para a capacidade de adaptação das instituições. A presença de várias lógicas permite que as organizações respondam de maneira eficaz a pressões internas e externas, ajustando suas práticas e estratégias conforme necessário (Kraatz & Block, 2008). Esse dinamismo é essencial para a sobrevivência e o sucesso das organizações em ambientes institucionais que estão em constante evolução. A capacidade de integrar diferentes lógicas e de desenvolver práticas híbridas é fundamental para a inovação e a resiliência organizacional pois permite que as organizações criem modelos de negócios e práticas operacionais que são mais eficazes e responsivas às mudanças no ambiente institucional.

A complexidade associada à multiplicidade lógica também pode ser vista como uma fonte de criatividade e inovação. Segundo Thornton, Ocasio e Lounsbury (2012), as lógicas institucionais fornecem um repertório cultural de elementos que os atores podem combinar e recombinar de diferentes formas. Essa capacidade de bricolagem institucional permite que as organizações desenvolvam soluções únicas e inovadoras para problemas complexos, aproveitando a diversidade de

lógicas como uma vantagem competitiva. Assim, a multiplicidade lógica não apenas desafia as organizações a navegar em contextos complexos, mas também oferece oportunidades para a experimentação e a inovação que podem levar a avanços significativos em suas práticas e desempenho. Ao adotar estruturas híbridas e promover a inovação institucional, as organizações não apenas conseguem lidar com as tensões entre lógicas conflitantes, mas também podem redefinir as normas e padrões estabelecidos, moldando o campo organizacional de modo a favorecer a sustentabilidade e a inovação (Raynard, 2016).

Referências Bibliográficas

ABIT – Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecção. (2020). Perfil do setor. <http://www.abit.org.br/cont/perfil-do-setor>

ABRAMACO – Associação Brasileira de Máquinas e Equipamentos para Confecção. (2017). Em um ano são geradas cerca de 170 mil toneladas de lixo têxtil no país. <http://www.abramaco.org.br/2017/09/27/em-um-ano-sao-geradas-cerca-de-170-mil-toneladas-de-lixo-textil-no-pais/>

ABRELPE – Associação Brasileira das Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais. (2016). Atlas brasileiro de emissões de GEE e potencial energético na destinação de resíduos sólidos. http://www.abrelpe.org.br/atlas/atlas_envio.cfm?ano=2013

Barbieri, J. C. (2004). A educação ambiental e a gestão ambiental em cursos

de graduação em administração: objetivos, desafios e propostas. *RAP*, 38(6).

Besharov, M. L., & Smith, W. K. (2014). Multiple institutional logics in organizations: Explaining their varied nature and implications. *Academy of Management Review*, 39, 364–381.

Berlim, L. G. (2016). Transformações no campo da moda: crítica ética e estética (Tese de doutorado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Bezerra, F. D., et al. (2014). Análise retrospectiva e prospectiva do setor têxtil no Brasil e no Nordeste. *Informe Macroeconomia, Indústria e Serviços*, Ano VIII(2).

Clark, H. (2008). SLOW + FASHION - an oxymoron - or a promise for the future...? *Fashion Theory*, 12(4).

Copenhagen Fashion Summit. (2016). *Pulse Report*. <https://www.copenhagenfashionsummit.com/pulse/>

Crane, D. (2006). A moda e seu papel social: classe, gênero e identidade das roupas. São Paulo: Ed. SENAC.

DiMaggio, P. J., & Powell, W. W. (1983). The iron cage revisited: Institutional isomorphism and collective rationality in organizational fields. *American Sociological Review*, 48(2), 147–160.

Dorado, S. (2005). Institutional entrepreneurship, partaking, and convening. *Organization Studies*, 26(3), 385–414.

Dovers, S. R. (1997). Sustainability: Demands on policy. *Journal of Public Policy*, 16, 303–318.

Ellen MacArthur Foundation. (2015). Rumo à economia circular: o racional de negócio para acelerar a transição. <https://www.ellenmacarthurfoundation.org/>

[assets/downloads/Rumo-a-a%CC%80-economia-circular_Updated_08-12-15.pdf](#)

Erner, G. (2005). *Vítimas da moda? Como a criamos, por que a seguimos*. São Paulo: Senac.

Fédération de la Haute Couture et de la Mode. (2020). Home. <https://fhcm.paris/en/>

Ferreira, D. D. M., Spanhol, G. K., & Keller, J. (2009). Gestão do processo têxtil - contribuições à sustentabilidade dos recursos hídricos. *Anais... Niterói*.

FIESP – Federação das Indústrias do Estado de São Paulo. (2017). *Panorama da indústria de transformação brasileira* (6ª ed.).

Fletcher, K. (2008). *Sustainable fashion and textiles: Design journeys* (2ª ed.). Earthscan.

Fletcher, K., & Grose, L. (2012). *Moda & sustentabilidade: design para mudança*. São Paulo: Senac.

Fligstein, N., & McAdam, D. (2011). Toward a general theory of strategic action fields. *Sociological Theory*, 26(1), 1–26.

Foladori, G. (2001). *Limites do desenvolvimento sustentável* (M. Manuel, Trad.). Campinas: Editora Unicamp.

Friedland, R., & Alford, R. (1991). Bringing society back in: Symbols, practices, and institutional contradictions. In W. Powell & P. DiMaggio (Eds.), *The new institutionalism in organizational analysis* (pp. 232–263). Chicago: University of Chicago Press.

Greenwood, R., Oliver, C., Sahlin, K., & Suddaby, R. (2008). *The SAGE handbook of organizational institutionalism*. London: SAGE Publications.

IMF – International Monetary Fund. (2024). GDP, current prices. <https://www.imf.org/external/datamapper/N>

GDPD@WEO/OEMDC/WEOWORLD/AD
VEC

Johansson, E. (2010). Slow fashion - the answer for a sustainable fashion industry? (Master's thesis). The Swedish School of Textiles.

Jung, S., & Jin, B. (2016). From quantity to quality: Understanding slow fashion consumers for sustainability and consumer education. *International Journal of Consumer Studies*.

Kraatz, M. S., & Block, E. S. (2008). Organizational implications of institutional pluralism. In R. Greenwood, C. Oliver, K. Sahlin, & R. Suddaby (Eds.), *The SAGE handbook of organizational institutionalism* (pp. 243–275). London: SAGE Publications.

Lalnunhlmi, S., & Krishnaswamy, V. (2016). Decolorization of azo dyes (Direct Blue 151 and Direct Red 31) by moderately alkaliphilic bacterial consortium. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47, 39–46.

Leão, M. D., et al. (2002). Controle ambiental na indústria têxtil: acabamento de malhas. Belo Horizonte: Projeto Minas Ambiente.

Leonard, A. (2011). A história das coisas: da natureza ao lixo, o que acontece com tudo que consumimos (p. 23). Rio de Janeiro: Zahar.

Lipovetsky, G. (1989). O império do efêmero: a moda e seu destino nas sociedades modernas. São Paulo: Companhia das Letras.

Lipovetsky, G. (2007). A felicidade paradoxal: ensaio sobre a sociedade de hiperconsumo. Lisboa: Edições 70.

Machado-da-Silva, C. L., Guarido Filho, E. R., & Rossoni, L. (2006). Campos organizacionais: seis diferentes leituras e a perspectiva de estruturação. *RAC, Edição Especial*, 159–196.

<https://www.scielo.br/j/rac/a/7yW5wQSFLH7TGn7Gfbbpqkq/?format=pdf&lang=pt>

Mackenzie, M. (2010). *Ismos para entender a moda*. São Paulo: Globo.

McDonough, W., & Braungart, M. (2002). *Cradle to cradle: Remaking the way we make things*. New York: North Point Press.

Mendonça, H. (2020). Mola de emprego e do PIB, indústria brasileira não reage e emperra avanço da economia. *El País Brasil*.
<https://brasil.elpais.com/economia/2020-03-04/mola-de-emprego-e-do-pib-industria-brasileira-nao-reage-e-emperra-avanco-da-economia.html>

Meyer, J. W., & Rowan, B. (1977). Institutionalized organizations: Formal structure as myth and ceremony. *American Journal of Sociology*, 83(2), 340–363.

Mintzberg, H., & Quinn, J. B. (1991). *The strategy process: Concepts, contexts and cases* (2ª ed.). Englewood Cliffs: Prentice-Hall International.

O'Connor, J. (2000). ¿Es posible el capitalismo sostenible? *Ecología Política. Naturaleza, sociedad y utopía*, 27–52.

ONU – Organização das Nações Unidas. (2015). Desenvolvimento sustentável: ONU prevê que mundo terá 50 milhões de toneladas de lixo eletrônico em 2017. <https://nacoesunidas.org/onu-preve-que-mundo-tera-50-milhoes-de-toneladas-de-lixo-eletronico-em-2017/>

ONU – Organização das Nações Unidas. (2018). Humanidade produz mais de 2 bilhões de toneladas de lixo por ano, diz ONU em dia mundial. <https://brasil.un.org/pt-br/81186-humanidade-produz-mais-de-2-bilh%C3%B5es-de-toneladas-de-lixo-por-ano-diz-onu-em-dia-mundial>

Pache, A. C., & Santos, F. M. (2013). Inside the hybrid organization: Selective coupling as a response to competing institutional

logics. *Academy of Management Journal*, 56(4), 972–1001.

Packard, V. (1965). *A estratégia do desperdício*. São Paulo: Ibrasa.

Palomino, É. (2010). *A moda* (2ª ed.). São Paulo: Publifolha.

Picheth, S. F., & Crubellate, J. M. (2019). Mudança, lógicas institucionais e emergência de novos atores: A renaturalização da maternidade no Brasil. *Revista Organizações & Sociedade*, 26(90).
<https://www.scielo.br/j/osoc/a/QmKF9kSpcbLvTC3BCyS7fTL/abstract/?lang=pt>

Provenzano, C. C. (2014). *Moda, inovação e sustentabilidade: estudo de casos múltiplos* (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Raynard, M. (2016). Deconstructing complexity: Configurations of institutional complexity and structural hybridity. *Strategic Organization*, 14(4), 310–335.

Scott, W. R. (2014). *Institutions and organizations: Ideas, interests, and identities*. London: SAGE Publications.

Seghezze, L. (2009). The five dimensions of sustainability. *Environmental Politics*, 539–556.

Sebrae – Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. (2015). Relatório trimestral: Moda. <http://www.sebraemercados.com.br/relatorio-inteligencia-grande-potencial-dos-brechos/>

Sinditêxtil-SP – Sindicato das Indústrias de Fiação e Tecelagem do Estado de São Paulo. (2013). *Matérias: Presidente do Sinditêxtil-SP se reúne com o prefeito de São Paulo*.
<http://www.sinditextilsp.org.br/index.php/materias/itemlist/tag/retalho>

Slade, G. (2006). *Made to break: Technology and obsolescence in America*. Harvard University Press.

Santos, S. (2011). Impacto ambiental causado pela indústria têxtil. http://www.abepro.org.br/biblioteca/ENEGEP1997_T6410.PDF

Teixeira, M. G., Roglio, K. D., & Ferreira, J. M. (2017). Reflexões ao campo de processo decisório a partir da abordagem de lógicas institucionais. *Revista de Administração UFSM*, 10(4).
<https://periodicos.ufsm.br/reaufsm/article/view/19154/pdf>

Thompson Jr., A., & Strickland III, A. J. (2000). Planejamento estratégico: elaboração, implementação e execução. São Paulo: Pioneira.

Thornton, P. H. (2001). Personal versus market logics of control: A historically contingent theory of the risk of acquisition. *Organization Science*, 12(3), 294–311.

Thornton, P. H., & Ocasio, W. (1999). Institutional logics and the historical contingency of power in organizations: Executive succession in the higher education publishing industry, 1958–1990. *American Journal of Sociology*, 801–843.

Thornton, P. H., Ocasio, W., & Lounsbury, M. (2012). *The institutional logics perspective: A new approach to culture, structure, and process*. Oxford: Oxford University Press.

Tzu, S. (1999). *A arte da guerra*. São Paulo: Paz e Terra.

Wright, P., Kroll, M., & Parnell, L. (2000). *Administração estratégica: conceitos*. São Paulo: Atlas.

Zonatti, W. F. (2016). *Geração de resíduos sólidos da indústria têxtil e de confecção: materiais e processos para reuso e reciclagem* (Tese de doutorado). Universidade de São Paulo, São Paulo.

8.- Innovaciones en las ciencias farmacéuticas y biología

Organização em Série do Comportamento: performance de ratos na tarefa de inversão a meio de sessão usando labirinto em T

Autor: Silva, Gabriel Gobbo F. da; gabriel.gobbo@aluno.ufabc.edu.br

Co-autor(es): Machado, Armando Domingos B.; armandom@ua.pt

Silva, Lohan Risério A.; lohan.riserio@aluno.ufabc.edu.br

Reyes, Marcelo Bussotti; marcelo.reyes@ufabc.edu.br

Orientador/a: Caetano, Marcelo Salvador; marcelo.caetano@ufabc.edu.br

UFABC / Centro de Matemática, Computação e Cognição

Resumo

Entender como e quando mudamos nossas escolhas de ação é uma tarefa complexa e cujos processos ainda não são bem compreendidos. Para investigar as bases comportamentais desses fenômenos utilizamos a tarefa de inversão de meio de sessão (MSR). Nela, o animal deve escolher entre dois estímulos, S1 e S2; na primeira metade da sessão apenas a escolha de S1 é recompensada, enquanto escolher S2 é recompensado no restante da sessão. Os primeiros trabalhos realizados com essa tarefa investigaram o comportamento de pombos, que usavam o tempo passado desde o início da sessão para transitar suas escolhas de S1 para S2. Já os estudos com ratos concluíram que seu comportamento estava próximo ao de humanos e primatas, baseando-se no ganho ou não de recompensa após uma escolha. Pesquisas mais recentes apontam na direção de que essas diferenças, em relação aos pombos, se deva ao uso de pistas corporais pelos ratos. Neste contexto, treinamos ratos na tarefa de MSR usando um labirinto em T, o uso desse aparato visa retirar dos animais a possibilidade do uso de pistas corporais durante a realização da tarefa. Os animais foram divididos em 2 grupos, com intervalo entre tentativas (ITI) de 5 s ou 10 s. Os estímulos S1 e S2 eram representados pelos braços esquerdo e direito do labirinto, contrabalanceado entre os animais. O treinamento decorreu até que o desempenho fosse estável, então foram realizadas as sessões de teste. Nos testes ITI foi alterado e com isso pudemos verificar que os ratos estavam usando o tempo decorrido desde o início da sessão, com um possível influência de contagem do número de tentativas.

Palavras-chave: ratos, timing, T-maze

Introdução

Tarefas de aprendizagem com reversão são comumente utilizadas para investigar a capacidade dos sujeitos de adaptar seu comportamento em resposta a mudanças no ambiente (Shettleworth, 2010). Um paradigma experimental recente nessa área é a tarefa de reversão a meio de sessão (midsession reversal task, MSR), na qual o sujeito deve escolher entre dois estímulos, S1 e S2. As escolhas por S1 são recompensadas apenas na primeira metade da sessão, enquanto as escolhas por S2 são recompensadas apenas na segunda metade. As primeiras descobertas com essa tarefa foram relatadas por Cook & Rosen (2010): eles expuseram pombos a uma tarefa de matching-to-sample seguida de uma tarefa de oddity-from-sample, usando dois estímulos de cor (equivalentes a decidir entre S1 e S2), e observaram que os pombos anteciparam a estratégia de oddity antes da reversão das tarefas, além de perseverarem na estratégia de matching após a reversão.

Os autores supuseram que esse desempenho subótimo era resultado dos animais cronometrarem o momento da reversão desde o início da sessão. Para avaliar essa hipótese, eles realizaram sessões de teste nas quais um intervalo de 0, 10 ou 20 minutos foi inserido 28 tentativas antes da reversão, e observaram que a preferência dos pombos pela regra de matching para a regra de oddity mudava

mais cedo quanto maior era o intervalo. Os achados de Cook e Rosen (2010) sugerem que os pombos estavam cronometrando o momento da reversão, e que a imprecisão na estimativa desse intervalo explicaria os erros de antecipação e de perseveração cometidos. Os mesmos resultados foram encontrados com estorninhos (Machado et al., 2023).

Estudos posteriores utilizando essa tarefa mostraram que humanos, macacos rhesus e ratos apresentaram desempenho mais preciso em comparação com os pombos (Rayburn-Reeves et al., 2011, 2013, 2017), cometendo virtualmente nenhum erro de antecipação e poucos erros de perseveração. Isso é considerado uma estratégia baseada em pistas locais, como o resultado da última escolha, ou uma estratégia de “permanecer se ganha, mudar se perde” (win-stay-lose-shift, WSLS). Apesar da extensa literatura explorando o comportamento de pombos nessa tarefa, poucos experimentos investigaram o desempenho de ratos (ver revisões em Rayburn-Reeves & Cook, 2016; Zentall, 2020). Rayburn-Reeves et al. (2018) levantaram a hipótese de que a baixa precisão dos pombos se devia à dificuldade de lembrar o resultado da tentativa anterior, enquanto os ratos seriam capazes de usar pistas corporais para lembrar qual foi sua última escolha. Os autores tentaram reduzir o impacto dessas pistas corporais treinando ratos em caixas operantes modificadas (com

as alavancas posicionadas no painel oposto ao alimentador), esperando observar um desempenho semelhante ao dos pombos. No entanto, essa modificação não teve efeito sobre o desempenho dos ratos.

O primeiro e único estudo a relatar que ratos cometem erros de antecipação e perseveração na tarefa de MSR é o terceiro experimento de McMillan, Kirk e Roberts (2014). Eles expuseram ratos a sessões com 24 tentativas, utilizando um labirinto em T, com os braços direito e esquerdo como estímulos discriminativos. Os resultados mostraram que o desempenho dos ratos foi subótimo, apresentando erros de antecipação e perseveração. Os autores concluíram que o valor das pistas corporais utilizadas pelos ratos era reduzido, e que as escolhas se baseavam principalmente na estimativa do momento da reversão (ou na contagem das tentativas).

Para testar se os sujeitos estariam usando uma estratégia temporal ou de contagem, pode-se manipular o intervalo entre as tentativas (intertrial interval, ITI). Alguns artigos relataram que um aumento ou uma diminuição no ITI durante sessões de teste deslocava as curvas psicométricas para a esquerda ou para a direita, respectivamente, em comparação com as curvas de linha de base com pombos (Machado et al., 2023; McMillan & Roberts, 2012). Esperava-se que esses deslocamentos fossem simétricos, o que não foi observado nos resultados experimentais.

Machado et al. (2023) atribuíram isso ao uso combinado de estratégias de cronometragem e de pistas locais pelos pombos para resolver a tarefa. Assim, a mudança do ITI nas sessões de teste permite diferenciar uma estratégia baseada em tempo de uma baseada em contagem.

Objetivos

No presente estudo, replicamos o procedimento do terceiro experimento de McMillan, Kirk e Roberts (2014), com algumas modificações. Nosso objetivo foi investigar se os ratos utilizam uma estratégia temporal para resolver a tarefa de MSR quando são treinados em um aparato de labirinto em T, com valores de ITI modificados em sessões de teste. Observamos um deslocamento nas curvas psicométricas nas sessões de teste em comparação com a linha de base, compatível com o uso de uma estratégia baseada em tempo.

Metodologia

Sujeitos

Quatorze ratos machos da linhagem Wistar, albinos, com 12 meses de idade, foram obtidos dos Laboratórios do INFAR-UNIFESP (São Paulo, Brasil). Os ratos foram mantidos com 85% do seu peso *ad-libitum* ao longo de todo o experimento. Eles foram alojados em gaiolas de poliestireno, com 2 ou 3 animais por gaiola,

com livre acesso à água, em uma sala com ciclo claro/escuro de 12h/12h. Os procedimentos com os animais foram conduzidos de acordo com protocolo aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do ABC.

Aparelho

O experimento foi conduzido em um labirinto em cruz construído em MDF, com um dos braços bloqueado para transformá-lo em um labirinto em T. Os braços mediam 61,5 cm de comprimento por 10 cm de largura, sendo que o ponto de escolha media 10 cm de comprimento por 10 cm de largura. Os braços de escolha foram posicionados em lados opostos do ponto de escolha, perpendiculares ao braço de partida. Dois bloqueios, feitos do mesmo material que o labirinto, foram utilizados: um para isolar a câmara de partida (formando uma área de 30 cm de comprimento por 10 cm de largura) e outro para bloquear os braços de escolha. Ao final de cada braço de escolha, na parede externa, havia um copo branco de PVC com 3 cm de comprimento, 4 cm de largura e 2 cm de profundidade. O labirinto foi colocado a 1 metro do chão, no centro de uma sala de 2,5 × 2,5 metros que continha uma porta e uma mesa como pistas externas ao labirinto.

Procedimento

Pré-treino. Os ratos passaram por 10 sessões experimentais com 26 tentativas

cada. Em cada tentativa, o rato começava na câmara de partida, e o bloqueio que a separava do restante do labirinto era levantado pelo experimentador, permitindo que o rato explorasse o ambiente. Conforme o rato avançava pelo braço inicial, o experimentador bloqueava a câmara de partida, impedindo o retorno. O mesmo era feito nos braços de escolha assim que o rato atingia o final de um dos braços. Para sete dos sujeitos, o copo de comida do lado direito (S1) continha um pellet de sacarose nas primeiras 13 tentativas (S1+/S2-), e o copo da esquerda (S2) continha o pellet nas 13 tentativas finais (S1-/S2+). Essas contingências foram invertidas para os outros sete ratos, de forma a contrabalançar o experimento e controlar vieses laterais. Os ratos realizavam uma sessão por dia, com limite de 10 minutos ou até completarem as 26 tentativas.

Fase 1. Esta fase consistiu em 46 sessões de treino e 4 sessões de teste, com a introdução de um intervalo entre tentativas (*intertrial interval*, ITI). Um dos ratos adoeceu e foi removido do experimento. Nas sessões de treino, seis sujeitos foram treinados com ITI de 5 segundos (grupo curto) e os outros sete com ITI de 10 segundos (grupo longo). As sessões ocorreram da mesma forma que no pré-treino, mas sem limite de tempo. As sessões de treino duravam aproximadamente 6 minutos para o grupo curto e 8 minutos para o grupo longo.

Nas sessões de teste, os grupos foram submetidos a ITIs invertidos: o grupo Curto foi testado com ITI de 10 segundos e o grupo Longo com ITI de 5 segundos. Além disso, para os ratos do grupo Curto, as escolhas de S1 foram reforçadas entre as tentativas 1 e 13, e as escolhas de S2 foram reforçadas entre as tentativas 7 e 26. Para os ratos do grupo Longo, as escolhas de S1 foram reforçadas durante toda a sessão, e as de S2 entre as tentativas 14 e 26. Nota-se que, nas sessões de teste, para cada grupo há um intervalo de tentativas nas quais a escolha de S1 ou S2 resultava em reforço (tentativas 7 a 13 para o grupo Curto e 14 a 26 para o grupo Longo).

Fase 2. Esta fase foi composta por 36 sessões de treino e 4 sessões de teste. Os sujeitos foram retreinados com ITIs invertidos em relação à Fase 1, ou seja, os ratos do grupo que antes treinaram com ITI de 5 segundos passaram a treinar com ITI de 10 segundos, e vice-versa. As sessões de teste foram idênticas às da Fase 1.

Resultados e Discussão

As três sessões imediatamente anteriores a cada teste foram utilizadas como linha de base (baseline). O desempenho médio de cada grupo nos testes, comparado com o desempenho na linha de base, pode ser observado na Figura 1. Na linha de base, ambos os grupos mostraram alta preferência pelos estímulos S1 e S2 no início e no final da sessão,

respectivamente, cometendo erros antes (erros antecipatórios) e após a reversão (erros perseverativos), com a preferência dos sujeitos mudando do estímulo S1 para S2 por volta da tentativa 12. Nos testes, o ponto médio de mudança do estímulo correto S1 para S2 foi por volta da tentativa 15 para os ratos do grupo longo, com aumento tanto dos erros antecipatórios quanto perseverativos, e em torno da tentativa 10 para os ratos do grupo curto, com aumento apenas nos erros perseverativos.

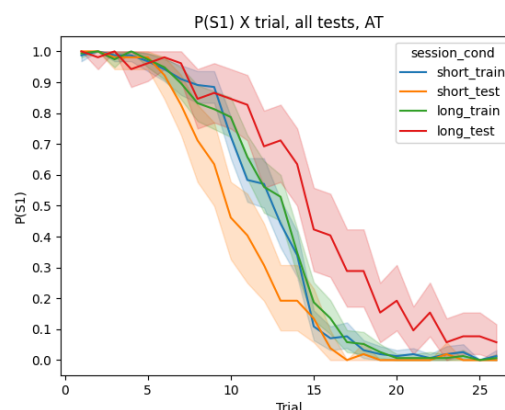


Figura 1: média da probabilidade de escolher S1, para cada grupo experimental, em função do número de tentativas. As bandas representam um intervalo de confiança de 95% em torno da média.

A Figura 2 mostra o valor médio do PSE (point of subjective equality), em função do tipo de sessão (treino e teste), comparado com o PSE esperado com base na hipótese temporal. Um teste de Wilcoxon não indicou diferença significativa entre os grupos na linha de base ($W = 36,000$, $p = 0,542$), mas revelou diferença significativa

entre os grupos nos testes ($W = 0$, $p < 0,01$). Outro teste de Wilcoxon foi realizado para comparar o desempenho de cada grupo nos testes com os dados esperados para um desempenho baseado puramente na estratégia temporal. Para ambos os grupos, não foi encontrada diferença significativa entre os dados dos testes e os dados esperados: $W = 25,500$, $p = 0,191$ para o grupo curto; e $W = 23,000$, $p = 0,127$ para o grupo longo.

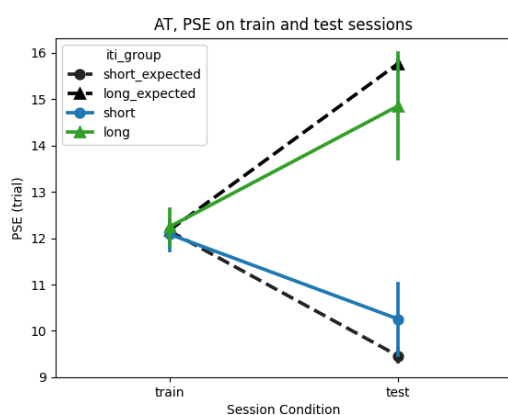


Figura 2: PSE média para cada grupo experimental, nas condições de treinamento e teste (linhas coloridas) e valor esperado do PSE pela hipótese temporal (linhas pretas).

Testamos até que ponto a cronometragem da reversão influenciou o desempenho dos ratos em uma tarefa de reversão a meio de sessão (MSR) em um labirinto em T. Observamos que os ratos anteciparam a reversão quando o ITI era mais longo e perseveraram quando o ITI era mais curto, em comparação com o treino. Esse comportamento dá suporte à hipótese temporal.

Embora erros antecipatórios e perseverativos em torno da tentativa de reversão tenham sido observados durante o treino — de forma semelhante ao relatado no Experimento 3 de McMillan et al. (2014) — concluir que esse comportamento foi resultado exclusivo de uma estratégia baseada no tempo seria prematuro. Isso pode, na verdade, estar confundido com o uso de uma estratégia de contagem, o que destaca a necessidade de uma investigação mais aprofundada sobre as causas do desempenho subótimo dos ratos.

Abordamos essa questão com um procedimento mais preciso, manipulando o ITI durante as sessões de teste em relação à linha de base, o que resultou em um deslocamento do ponto de reversão: para a esquerda no grupo com ITI curto e para a direita no grupo com ITI longo. Esses resultados confirmam nossa hipótese inicial de que os ratos baseariam seu comportamento no momento da reversão, utilizando-o como pista quando outros tipos de informação — como o alinhamento corporal — não fossem úteis para prever a próxima resposta.

No entanto, a tendência sutil do PSE em direção ao centro nas sessões de teste, quando comparado aos resultados esperados, pode indicar o uso de estratégias mistas. O comportamento dos ratos não parece depender exclusivamente de pistas temporais, achado já observado em pombos realizando a mesma tarefa (Santos et al.,

2021). Durante as sessões de treino, os ratos, normalmente, mudavam de S1 para S2 por volta da tentativa 12, independentemente do grupo de ITI. Quando o ITI do grupo curto foi aumentado, a transição para o estímulo S2 ocorreu, em média, na tentativa 10,5 — em vez da tentativa 9,5, como previsto por uma estratégia puramente baseada no tempo. A discrepância entre os resultados esperados e os observados pode ser explicada pelos ratos estarem usando duas pistas adicionais: (i) contagem das tentativas para estimar a reversão ou (ii) seleção de S2 após a primeira escolha não reforçada de S1, sugerindo o uso da estratégia de “manter se ganha, mudar se perde” (win-stay-lose-shift, WSLS). De forma semelhante, quando o ITI foi encurtado para o grupo longo, a transição ocorreu, em média, na tentativa 15 — em vez da tentativa 16 prevista. Essa diferença pode ser atribuída exclusivamente ao uso de uma estratégia de contagem. Nas sessões de teste, a estratégia WSLS preveria uma transição na tentativa 27 para o grupo longo, o que é muito mais tardio do que o valor observado.

Isso pode ser atribuído à “ausência” de pistas locais, ou seja, à maior dificuldade dos ratos em lembrar as contingências de resposta e recompensa da tentativa anterior para guiar suas decisões na tentativa seguinte (McMillan et al., 2014; Rayburn-Reeves et al., 2013). No labirinto em T, os ratos não conseguem usar seus

corpos para “compensar” a perda relativa de memória durante o intervalo entre tentativas (ITI), como pode ser feito em caixas operantes (Rayburn-Reeves et al., 2018; Rayburn-Reeves & Cook, 2016). Como resultado, eles são forçados a basear seu comportamento em pistas “globais”, como o tempo decorrido até a tentativa de reversão ou a contagem do número de tentativas.

Em resumo, expandimos o terceiro experimento de McMillan et al. (2014) ao treinar ratos na tarefa de reversão na metade da sessão utilizando um labirinto em T, e testamos diretamente a hipótese de cronometragem por meio da manipulação do ITI nas sessões de teste. Os resultados mostraram que os ratos utilizaram uma estratégia baseada no tempo, embora combinada com uma estratégia de contagem de tentativas, para realizar a tarefa. Pesquisas futuras podem investigar a possível influência do manuseio dos animais durante a tarefa, o que pode facilitar o comportamento de contagem ao tornar cada tentativa mais distinta — talvez por meio do uso de uma versão automatizada do labirinto em T (por exemplo, um labirinto em forma de 8). Alternativamente, se o comportamento observado neste estudo se deve à impossibilidade de utilizar pistas corporais, então os ratos deveriam apresentar resultados semelhantes quando treinados na ausência dessas pistas também em caixas operantes.

Referências

- Cook, R. G., & Rosen, H. A. (2010). Temporal control of internal states in pigeons. *Psychonomic Bulletin & Review*, 17(6), 915–922. <https://doi.org/10.3758/PBR.17.6.915>
- Machado, A., De Carvalho, M. P., & Vasconcelos, M. (2023). Midsession reversal task with starlings: A quantitative test of the timing hypothesis. *Behavioural Processes*, 208, 104862. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2023.104862>
- McMillan, N., Kirk, C. R., & Roberts, W. A. (2014). Pigeon (*Columba livia*) and rat (*Rattus norvegicus*) performance in the midsession reversal procedure depends upon cue dimensionality. *Journal of Comparative Psychology*, 128(4), 357–366. <https://doi.org/10.1037/a0036562>
- McMillan, N., & Roberts, W. A. (2012). Pigeons make errors as a result of interval timing in a visual, but not a visual-spatial, midsession reversal task. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 38(4), 440–445. <https://doi.org/10.1037/a0030192>
- Rayburn-Reeves, R. M., & Cook, R. G. (2016). The Organization of Behavior over Time: Insights from Mid-session Reversal. *Comparative Cognition & Behavior Reviews*, 11, 103–125. <https://doi.org/10.3819/ccbr.2016.110006>
- Rayburn-Reeves, R. M., James, B. T., & Beran, M. J. (2017). Within-session reversal learning in rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Animal Cognition*, 20(5), 975–983. <https://doi.org/10.1007/s10071-017-1117-3>
- Rayburn-Reeves, R. M., Molet, M., & Zentall, T. R. (2011). Simultaneous discrimination reversal learning in pigeons and humans: Anticipatory and perseverative errors. *Learning & Behavior*, 39(2), 125–137. <https://doi.org/10.3758/s13420-010-0011-5>
- Rayburn-Reeves, R. M., Moore, M. K., Smith, T. E., Crafton, D. A., & Marden, K. L. (2018). Spatial midsession reversal learning in rats: Effects of egocentric Cue use and memory. *Behavioural Processes*, 152, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2018.03.005>
- Rayburn-Reeves, R. M., Stagner, J. P., Kirk, C. R., & Zentall, T. R. (2013). Reversal learning in rats (*Rattus norvegicus*) and pigeons (*Columba livia*): Qualitative differences in behavioral flexibility. *Journal of Comparative Psychology*, 127(2), 202–211. <https://doi.org/10.1037/a0026311>
- Santos, C., Vasconcelos, M., & Machado, A. (2021). Constantly timing, but not always

controlled by time: Evidence from the evolution, and behavior (Second edition).
midsession reversal task. Journal of Oxford University Press.
Experimental Psychology: Animal Learning
and Cognition, 47(4), 405–419. Zentall, T. R. (2020). The midsession
<https://doi.org/10.1037/xan0000263> reversal task: A theoretical analysis.
Learning & Behavior, 48(2), 195–207.
Shettleworth, S. J. (2010). Cognition, <https://doi.org/10.3758/s13420-020-00423-8>

7- Desarrollo de la nanociencia – nanotecnología y sus aplicaciones

Nanomateriais à base de sais básicos lamelares para carreamento de curcumina

Autor: Verônica, Biselli; veronicabiselli@usp.br
Orientador/a: Constantino, Vera; vrlconst@iq.usp
Universidade de São Paulo / Instituto de Química

Resumen

El objetivo es emplear nanomateriales con ácido cinámico (CIN) intercalado en hidróxido de zinc laminar (LZH) como portador de curcumina (CUR). CUR es antimicrobiana, antiinflamatoria y cicatrizante, pero tiene baja biodisponibilidad por alta lipofilidad. CIN, hidrotropo de CUR, forma enlaces intermoleculares que aumentan su hidrosolubilidad; por ello se intercaló en matriz inorgánica para facilitar la entrega de CUR.

La metodología consiste en (1) precipitación a pH constante, lavado y liofilización de LZH-CIN; (2) adsorción de CUR en LZH-CIN variando tiempo, concentración del orgánico y solvente, y secado hasta LZH-CIN-CUR; (3) CHN, DRX, TGA, FTIR-ATR y estabilidad térmica; (4) HPLC para cuantificar CIN y CUR; (5) liberación in vitro en medio fisiológico simulado de piel y aplicación de modelos cinéticos.

Se obtuvo LZH-CIN validado por DRX, con intercalación de CIN en mono/bicapa, espaciamentos basales de 18,2 Å y 23,8 Å. La adsorción más eficiente fue en solución etanólica de CUR 0,01 mol L⁻¹ por 24 h, generando LZH-CIN-CUR con 26% m/m de CUR. FTIR mostró bandas del COO⁻ de CIN (1528 cm⁻¹), indicando desprotonación en la intercalación, y bandas de CUR sin degradación (1124 cm⁻¹, O-CH₃). En la liberación in vitro, la intercalación de CIN retrasó en 50% el tiempo hasta la liberación máxima vs CIN no intercalado; simultáneamente, CIN aumentó la liberación de CUR vs sistema sin CIN en la matriz. Los modelos de mejor ajuste fueron Higuchi y Peppas, indicando liberación de CIN por difusión e intercambio iónico con fosfatos. Para CUR, ningún modelo ajustó bien; su liberación es bifásica: hasta 24 h acompaña la desintercalación de CIN y luego es impulsada por hidrotropía con CIN en solución.

Palabras clave: nanocarregadores, cinamato, curucmina

Introdução

La piel es el órgano más grande y la interfaz con el medio. Las heridas cutáneas causan malestar, posibles complicaciones e impacto estético; pueden resultar de traumatismos, enfermedades genéticas, desequilibrio del pH o uso inadecuado de cosméticos. Patologías como la dermatitis atópica y la diabetes descompensada perjudican la cicatrización y aumentan el riesgo de infecciones; el tratamiento tópico es crucial.

La búsqueda de nuevas terapias impulsa sistemas nanoestructurados de liberación de fármacos. Entre los nanotransportadores se encuentran los hidróxidos dobles laminares (HDLs) y las sales básicas laminares (SBLs), con fórmulas generales

$M^{2+}_{1-x}M^{3+}_x(OH)_2[(A^{m-})_{x/m} \cdot nH_2O]$ y $[M^{2+}(OH)_2]^{-x}(A^{m-})_{x/m} \cdot nH_2O$, donde M^{2+} representa un catión bivalente (p. ej., Ni^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , etc.), M^{3+} representa un catión trivalente (p. ej., Cr^{3+} , Co^{3+} , Fe^{3+} , Al^{3+} , etc.) y A^{m-} representa un anión orgánico o inorgánico de carga m (como cloruro, carbonato, nitrato) responsable de compensar el exceso de carga positiva presente en las láminas.

Confinar el fármaco en una matriz incrementa su estabilidad química, térmica y fotoquímica. El sal básico laminar de zinc (LZH) se destaca por la síntesis

sencilla, bajo costo, buena estabilidad térmica y viabilidad celular, siendo apto para liberación controlada entre láminas superpuestas. Matrices con Zn^{2+} aportan beneficios, pues el ion se relaciona con la formación de colágeno tipo III, relevante para la piel.

Ácido cinámico y curcumina (CIN y CUR, respectivamente) presentan acciones antimicrobiana, antiinflamatoria, antioxidante y absorción UV; son promisorios para uso tópico y reparación tisular [6–8]. Sin embargo, la curcumina exhibe baja solubilidad en agua $0,6 \mu g mL^{-1}$ y baja biodisponibilidad.

La inmovilización en hidróxidos laminares puede mejorarlas, pero la intercalación habitual exige desprotonación; en medio básico, la curcumina hidroliza (generando ácido ferúlico, acetona y vainillina) y se oxida con mayor facilidad ($pK_a=8,38; 9,88; 10,5$) [10–11], por lo que se prefiere la forma neutra.

La interacción CUR–CIN puede aumentar la solubilidad, la biodisponibilidad y la carga mediante interacciones $\pi-\pi$; esta capacidad del cinamato se denomina hidrotropía.

Por lo tanto, el LZH–cinamato (LZH–CIN) surge como estrategia promisoriosa e innovadora para la carga de CUR, ya que su intercalación, como se indicó, es inviable por las características fisicoquímicas de CUR.

Objetivos

El objetivo principal de este trabajo es validar y perfeccionar el proceso actualmente descrito para la síntesis de LZH intercalando iones cinamato (LZH-CIN) y evaluar las mejores condiciones experimentales (disolvente, concentración, etc.) y métodos (tiempo de adsorción) para la adsorción de curcumina en la matriz LZH-CIN, generando LZH-CIN-CUR. Los objetivos específicos son:

(1) evaluar la influencia del disolvente o mezcla de disolventes en la cantidad de CUR inmovilizada en LZH-CIN, así como del tiempo de contacto; (2) evaluar e interpretar las modificaciones estructurales, texturales, espectroscópicas y térmicas al adsorber CUR; (3) evaluar la estabilidad térmica de la curcumina, en condiciones ambientales controladas, antes y después de la inmovilización en LZH-CIN; (4) desarrollar un método cromatográfico para la cuantificación de curcumina y cinamato en medio fisiológico simulado; (5) realizar ensayos de liberación de CUR, CIN y iones metálicos en medio fisiológico simulado para aplicación tópica en

piel; y (6) aplicar modelos matemáticos de cinética de liberación de fármacos

Materiais e Métodos

Materiais

Los reactivos y disolventes empleados en el presente proyecto se detallan a continuación: cloruro de zinc anhidro (ZnCl_2) – Sigma-Aldrich $\geq 98\%$; ácido trans-cinámico ($\text{C}_6\text{H}_5(\text{CH})_2\text{COOH}$) – Sigma-Aldrich $> 99\%$; hidróxido de sodio en forma de microperla (NaOH) – Synth $\geq 98\%$; curcumina extraída de *Curcuma longa* ($\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_6$) – Sigma-Aldrich $\geq 65\%$; alcohol etílico anhidro ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) – Synth $\geq 99,8\%$; el agua utilizada se obtuvo de un sistema de purificación Millipore con columnas de intercambio iónico para desionización y lámpara UV.

Método de síntesis de LZH-CIN

Se preparó cinamato de sodio neutralizando 1,091 g (0,007 mol) de ácido trans-cinámico con 0,280 g (0,007 mol) de NaOH en 30 mL de agua, bajo agitación; el ácido no se solubilizó completamente. Se añadieron 45 mL de agua, aún sin completa solubilización. Se ajustó el pH a 11 con NaOH 20 mmol/100 mL y, para lograr solubilización completa, se añadieron 20 mL de etanol; entre cada etapa se mantuvieron ~5 min de agitación. Se preparó ZnCl_2 (2,018 g; 15 mmol) en 225 mL de agua y NaOH (1,375 g; 34

mmol) en 175 mL de agua. En un matraz de 3 bocas (1 L) sobre agitador, se añadió la solución de cinamato con barra magnética; se insertaron electrodo de pH y línea de N₂; las soluciones de Zn y base se colocaron en embudos de adición (500 mL) con ecualizador. A 23 °C, se adicionó ZnCl₂ gota a gota, manteniendo pH 7,5 con NaOH vía titulador automático por 2 h, bajo agitación, hasta completar la adición de ZnCl₂. Se retiraron embudos y electrodo, manteniendo atmósfera inerte; se sellaron las tres bocas con tapas esmeriladas y Parafilm. La suspensión permaneció 48 h bajo agitación a temperatura ambiente; se observó espuma persistente y un sólido menos denso que la fase acuosa. Tras 48 h, se utilizó embudo de separación para recolectar la fase menos densa (LZH-CIN); se realizaron 7 lavados con agua hasta ensayo negativo para Cl⁻ (AgNO₃ 0,5 mol L⁻¹). El sólido se secó en desecador bajo presión reducida, se maceró y se caracterizó por DRX, TGA, FTIR y Raman. Para comparación, se caracterizaron el ácido trans-cinámico comercial y LZH-Cl (sintetizado por la directora).

Equipos de caracterización

Los difractogramas de rayos X (DRX) de las muestras sólidas se obtuvieron en un difractómetro Rigaku, modelo Miniflex, usando radiación K α Cu (λ = 1,5418 Å), operando a 30 kV, 15 mA,

con barrido de 3–70° (2 θ) y velocidad de 1° (2 θ) min⁻¹.

Los espectros FTIR se obtuvieron en un Agilent Cary 630 FTIR, registrando de 4000 a 650 cm⁻¹, resolución de 4 cm⁻¹ y acumulación de 128 espectros.

Los espectros FT-Raman se registraron en un espectrómetro Horiba-Jobin-Yvon T64000 (LEM, IQ/USP) con láser de 1064 nm.

La TGA se realizó en un Shimadzu TGA-50, con crisol de alúmina, atmósfera de aire sintético, rampa de 10 °C min⁻¹ y flujo de 50 mL min⁻¹.

Métodos de adsorción de curcumina

Se realizó adsorción en LZH-Cl y LZH-CIN usando solución etanólica saturada y solución etanólica 0,01 mol L⁻¹. La saturada se obtuvo añadiendo curcumina al etanol hasta saturación, seguida de filtración y almacenamiento. La 0,01 mol L⁻¹ se preparó disolviendo 0,4 g en etanol en matraz aforado de 100 mL con ultrasonido. Ambas se almacenaron en frascos protegidos con papel aluminio a 4 °C. En matraces separados, se añadieron 10 mL de cada solución y 0,1 g de LZH-Cl o 0,1 g de LZH-CIN. Los frascos se taparon y agitaron a 200 rpm en carrusel Radleys. En tiempos definidos (2–16 h; 1, 3, 5, 7, 10 días), se centrifugó la solución y el sólido se secó bajo presión reducida en desecador por 1 día. Se obtuvieron LZH-Cl-CUR y

LZH-CIN-CUR, caracterizados por FTIR, DRX y TGA.

Ensayo de estabilidad

Siguiendo la guía ANVISA (mayo/2004), se evaluó la estabilidad a temperatura elevada: curcumina, ácido cinámico, LZH-CI, LZH-CIN y LZH-CIN-CUR (adsorbidos por 1, 5, 7, 10 días en solución saturada) se acondicionaron en frascos de vidrio con tapa, con headspace de 1/3 del volumen, a 50 °C por 15 días. Luego se evaluaron características organolépticas (color, textura, olor) y fisicoquímicas.

Ensayo de liberación in vitro

Los ensayos se realizaron en un disolutor PharmaTest PTWS 820D, cubas de 300 mL, 37 °C, por 48 h, en modo estático (simulando aplicación tópica), con aparato 1 (cesta) según USP. El medio fue tampón fosfato pH 5,5 (Farmacopea Brasileña 6ª ed., cap. 7, 7.4), elegido por representar el pH medio de la piel, con 0,8% (v/v) de Tween 80 para simular membranas lipídicas. Las pastillas se prepararon con 40 mg de material, prensadas a 0,25 T por 2 min; se pesaron tras el prensado; dimensiones ~5 mm de diámetro y 1 mm de espesor. Las alícuotas se tomaron a 1, 3, 6, 12, 24, 36 y 48 h; se retiraron 2 mL y se repusieron 2 mL de medio. Finalmente, las muestras se filtraron con filtro de jeringa PTFE (25 mm, 0,22 µm, Unifil).

Cuantificación de CIN y CUR

Se utilizó un cromatógrafo Shimadzu Prominence; columna Agilent Eclipse XDB-C18, 3,5 µm, 4,6 cm, con precolumna C18. Fase móvil: ácido acético al 1% y acetonitrilo, ambos filtrados (0,45 µm, celulosa, presión reducida). Gradiente: 0,01 min 35% ACN; 3 min 35%; 7 min 52%; 15 min 35%; 26 min 35%. Detección UV-Vis a 273 nm (CIN) y 425 nm (CUR). Se construyeron curvas de calibración en tampón pH 5,0 con 0,8% de Tween 80, en cuadruplicado, de 11 puntos para ambos orgánicos. Concentraciones de CIN para calibración: 0,25; 0,5; 1; 2; 3,125; 6,25; 10; 12,5; 15; 50; 100 µg/mL. Concentraciones de CUR: 0,125; 0,5; 1; 2,5; 5; 8,75; 12,5; 17,5; 25; 50 µg/mL. La validación de la curva se realizó con la hoja "Linear and Quadratic Calibration Curve: Analytical Determination by External Standard and Standard Addition" (Prof. Ivano Gutz, IQ/USP).

Análisis matemático de la liberación in vitro

Los ensayos buscan correlacionar cinética y perfil de liberación con factores de la matriz, aplicando modelos empíricos y semiempíricos dependientes de composición, tamaño, geometría y tipo de matriz. En este estudio in vitro se aplicaron siete modelos seleccionados por la Dra. Michele Aparecida Rocha para sistemas laminares, incluyendo: modelo

de orden cero; modelo de primer orden; modelo de Higuchi; modelo de Korsmeyer–Peppas; modelo de Bhaskar; modelo de difusión parabólica.

Para cada modelo, los datos de liberación (concentración vs. tiempo) se transformaron en ejes x e y según las ecuaciones correspondientes y el ajuste de cada curva se evaluó por regresión lineal, considerando el coeficiente de determinación (R^2). Este análisis estadístico se realizó utilizando el software.

Resultados e discusión

Caracterización de LZH–CIN

El DRX permite investigar la estructura cristalina del material, verificando si ocurrió la intercalación del orgánico y cómo se dispone en el espacio interlaminar. LZH–CIN mostró dos conjuntos de picos, indicados por valores en rojo y azul en la Fig. 1, cuyos espaciamientos basales se calcularon por la Ley de Bragg.

El primer conjunto (rojo) corresponde a 23,8 Å (d_{003}), 11,9 Å (d_{006}) y 8,00 Å (d_{009}). Considerando que el espesor de la lámina de LZH es aproximadamente 7,2 Å, el espacio ocupado por el anión orgánico y moléculas de agua es 23,8–7,2. Este valor supera la mayor dimensión del anión cinamato (10,6 Å) (Fig. 2b), lo que sugiere un arreglo

interdigitado. El patrón de DRX de LZH–CIN también muestra partículas con un espaciamiento basal d_{003} 18,3 Å (conjunto azul en la Fig. 1).

Descontando el espesor de la lámina, el espacio ocupado por el cinamato es 11,1 Å, valor próximo a su mayor dimensión.

Así, puede proponerse un arreglo de monocapa como en la Fig. 2a.

Los picos de reflexión con espaciamiento planar 2,71 Å y 1,56 Å se atribuyen a los planos $hk0$ de la matriz LZH, pues no dependen de la especie intercalada.

Estos valores indican la formación de la fase $[Zn]_5(OH)_8 (A^-)_2$.

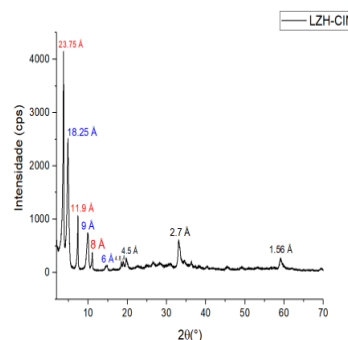


Figura 1 - Patrón de difracción de rayos X de LZH-CIN

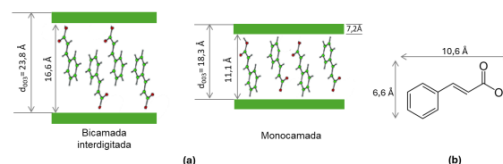


Figura 2 – Disposiciones de CIN en la lámina (a); molécula de CIN y sus dimensiones (b).

En el espectro FTIR de LZH–CIN, la banda a 1666 cm^{-1} , asignada a la

vibración C=O del ácido cinámico, desaparece y la banda a 1625 cm^{-1} (vibración C=C) sufre un desplazamiento. También se observan bandas nuevas a 1528 cm^{-1} y 1375 cm^{-1} en LZH-CIN. Asimismo, desaparece la banda de deformación en el plano del grupo O-H del ácido cinámico a 1416 cm^{-1} . Estos cambios indican posible desprotonación del ácido. La banda a 1528 cm^{-1} se atribuye al estiramiento antisimétrico del carboxilato (vas COO^-), mientras que la de 1375 cm^{-1} al estiramiento simétrico (vs COO^-).

La curva TGA de LZH-CIN muestra una pérdida de $\sim 16\%$ de masa hasta $240\text{ }^{\circ}\text{C}$, atribuible a la liberación de agua de intercalación (picos DTG a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $92\text{ }^{\circ}\text{C}$) y a la deshidroxilación de las láminas (pico DTG a $158\text{ }^{\circ}\text{C}$). A partir de $240\text{ }^{\circ}\text{C}$, ocurre una pérdida marcada de $\sim 34\text{--}35\%$ de masa, con picos DTG a $357\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $478\text{ }^{\circ}\text{C}$, asociada a la descomposición de los aniones cinamato. El ácido cinámico se descompone por encima de $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ (curva TGA no mostrada), por lo que la intercalación incrementó su estabilidad térmica. El contenido de cinamato estimado por TGA es $40,5\%$, y el residuo de ZnO es $\sim 50\%$.

Con base en los datos de TGA, se sugiere la siguiente fórmula para el LZH-CIN sintetizado: $[\text{Zn}_5\text{OH}_8]1,9\text{ClO},1\cdot 3,4\text{H}_2\text{O}$

(pequeña cantidad de cloruro residual del proceso).

Caracterização de LZH-CIN-CUR: influência do tempo na adsorção de curcumina

La adsorción de curcumina en LZH-CIN se evaluó en muestras con tiempos de contacto de 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 13 h, 16 h, 1 día, 3 días, 5 días, 7 días, 10 días y 13 días.

El análisis de los patrones de DRX (Fig. 3) indica que todas las muestras LZH-CIN-CUR mantuvieron los picos del plano hk0 en $2,7\text{ \AA}$ y $1,56\text{ \AA}$, además de los picos de $\sim 24\text{ \AA}$ y $18,5\text{ \AA}$, referentes a bicapa y monocapa, respectivamente. Tras la adsorción, todas mostraron un pico a $29,2\text{ \AA}$ (señalado en la Fig. 3 con una esfera roja), posiblemente asociado a la intercalación de CUR, dado el incremento de $\sim 4\text{ \AA}$ respecto a la fase bicapa. La molécula de CUR tiene dimensiones aproximadas de $1,5\text{ \AA}$ de espesor, $5\text{ \AA}$ de altura y $18,4\text{ \AA}$ de ancho, lo que permite proponer diversos arreglos de intercalación en el espacio de la bicapa que aún deben definirse. La similitud estructural entre CIN y CUR debe favorecer interacciones entre anillos aromáticos. Aunque el pico es constante en todos los difractogramas, en algunas muestras está mejor definido y en otras parece solaparse con el pico de $24\text{ \AA}$; se

observa un patrón: al aumentar el tiempo de adsorción, crece su intensidad relativa respecto al de 24 Å.

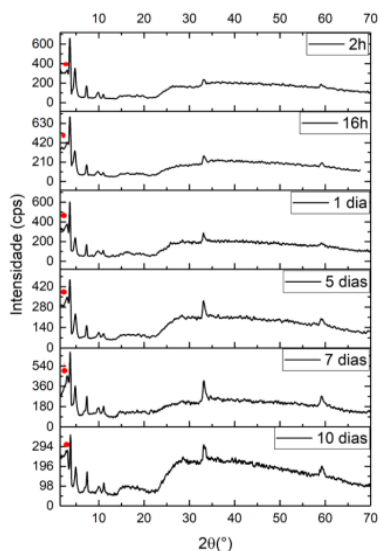


Figura 3 – Patrón de difracción de rayos X de LZH-CIN-CUR 2 h, 16 h, 1, 5, 7 y 10 días

Además, se aprecia un aumento de la línea base y la formación de un halo en (2θ) 20–30° en todos los LZH-CIN tras la adsorción, lo que indica desorden del material durante el proceso y una región amorfa. El desorden ocurre en la dirección del apilamiento de láminas, pues los picos no basales (hk0) permanecen inalterados.

Los espectros FTIR arrojaron dos patrones, ligados a dos grupos de LZH-CIN-CUR: grupo 1, adsorbidos de 2 a 8 h; grupo 2, adsorbidos de 13 h hasta 7 días. Estos grupos también difieren en coloración: el grupo 1 exhibe color

amarillo-naranja claro y el grupo 2 un naranja rojizo.

En el grupo 1, la banda en 1495 cm^{-1} no aparece tan acentuada y existe una banda en 1506 cm^{-1} separada de la de 1495 cm^{-1} , como en LZH-CIN. La banda a 1495 cm^{-1} se forma tras la adsorción de CUR y se relaciona con la superposición de vibraciones C=O de CUR (1500 cm^{-1}) y del grupo COO de CIN (1528 cm^{-1}). En el grupo 2 no se observa una banda definida en 1506 cm^{-1} . Otra diferencia es la banda en 1289 cm^{-1} , presente en LZH-CIN: con la adición de CUR se intensifica y se desplaza a ~1278 cm^{-1} , ya que CUR presenta en esa región vibraciones del grupo C–OH fenólico; sin embargo, en el grupo 1 dicha banda no es intensa ni ancha, lo que sugiere diferencias en interacciones intermoleculares de CUR y/o menor contenido de CUR en ese grupo.

También en el grupo 1 las bandas en 1156 cm^{-1} y 1124 cm^{-1} son menos intensas que en el grupo 2; se atribuyen a vibraciones C–C–H del anillo fenólico y O–CH₃ del grupo metoxi de CUR, respectivamente. La adición de CUR ensancha la banda a 970 cm^{-1} de LZH-CIN, atribuida a vibraciones C–C del anillo aromático de CIN; el ensanchamiento puede deberse a que CUR también vibra en esa región y/o por distintas interacciones π – π asociadas a la

adsorción/intercalación de CUR. Estas alteraciones en LZH-CIN-CUR adsorbidos hasta 1 día (grupo 1) se relacionan probablemente con mayor cristalinidad; a mayor tiempo de adsorción disminuye la cristalinidad y se ensanchan las bandas FTIR, como es conocido.

Los espectros FT-Raman permiten nuevas evaluaciones. En LZH-CIN-CUR adsorbidos por 7 días y 1 día, todos mantienen dos bandas alrededor de 1600 cm^{-1} , presentes tanto en el ácido cinámico como en la curcumina. En CUR, esas dos bandas se asocian a $\text{C}=\text{O}$ y $\text{C}=\text{C}$, mientras que en el ácido cinámico corresponden a $\text{C}=\text{C}$ de la cadena alifática. Surgen además bandas en 1531 cm^{-1} y 1491 cm^{-1} en los LZH sometidos a adsorción; parecen corresponder a la división de las bandas que en FTIR resultan en la banda sobrepuesta a 1494 cm^{-1} , atribuidas a vibraciones COO^- de CIN y $\text{C}=\text{O}$ de CUR, respectivamente, muy características del material con CUR. Como en FTIR, el LZH de 1 día no presenta una banda única e intensa en 1227 cm^{-1} , sino dos en 1248 y 1225 cm^{-1} , desdoblamiento coherente con su FTIR.

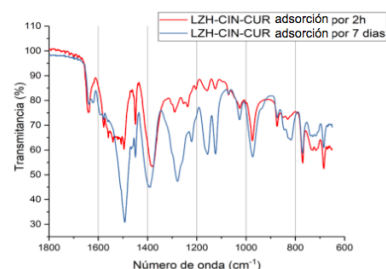


Figura 4 – Espectro vibracional FTIR de LZH-CIN-CUR 2 h y 7 días

La TGA permite cuantificar diferencias de carga de CUR en función del tiempo de adsorción. Se observan dos patrones de pérdida de masa por encima de 300 °C : uno con dos eventos definidos y otro más continuo. Las muestras con dos eventos nítidos concentran la mayor pérdida en el primer evento ($\leq 350\text{ °C}$), mientras que las de patrón único pierden más masa a partir de 360 °C . Ambos eventos se asocian a la descomposición de CIN y CUR; sin embargo, a mayor tiempo y mayor carga de CUR (Tabla 1), la pérdida en el segundo evento aumenta, caracterizada por un pico DTG intenso a 536 °C . La deshidroxilación de láminas y la pérdida de solvente ocurren por debajo de esas temperaturas. En términos de estabilidad térmica, la CUR pura inicia su descomposición $\sim 250\text{ °C}$ (TGA-MS de CO_2) y muestra el primer pico DTG a 295 °C (curva no mostrada), lo cual no se observa cuando está adsorbida en LZH-CIN, indicando mayor estabilidad térmica del colorante en el portador,

independientemente del tiempo de adsorción.

Para calcular la cantidad de CUR adsorbida se usó la proporción de CIN y Zn obtenida por TGA de LZH-CIN. Se consideró la variación de masa a partir de 240 °C (atribuida en LZH-CIN a la descomposición de CIN) y, con ese valor y el residuo final (ZnO), se determinó la relación Zn/Cin en la muestra. Así se obtuvo la capacidad de carga (CC, loading capacity). La eficiencia de carga (EC) se calculó dividiendo la masa total de CUR adsorbida en LZH-CIN-CUR por la cantidad total de CUR en la solución etanólica usada para la adsorción. Los datos se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1 – CC y EC de LZH-CIN-CUR

	LZH-CIN-CUR 2 h	LZH-CIN-CUR 16 h	LZH-CIN-CUR 1 día	LZH-CIN-CUR 3 días	LZH-CIN-CUR 5 días	LZH-CIN-CUR 7 días	LZH-CIN-CUR 10 días
CC	3,90%	24,2%	29,0%	29,3%	30,3 %	33,9 %	31,9%
EC	9,60%	48,0%	57,0%	58,6%	60,6%	67,8%	63,8%

El intervalo analizado será de 1 a 7 días de adsorción, ya que a partir de 7 días el CC disminuye y antes de 1 día la carga es notablemente menor. En ese lapso de 7 días se observa una reducción de ~4% en la carga. La caída de CC es razonable, dado que 29% ya es una carga altamente satisfactoria y, como indican otras técnicas, menor agitación parece mantener la estructura más íntegra. Además, la adsorción por 1 día es más eficiente desde el punto de vista

práctico. En conjunto, el mejor tiempo es 1 día, por maximizar CC y eficiencia del proceso, preservando la estructura del material, crítica para la liberación lenta de bioactivos

Teste de Estabilidade

Após a retirada da estufa, os materiais, tanto precursores como ácidos cinâmico e curcumina quanto os sintetizados como LZH-CIN e LZH-CIN-CUR, não apresentaram alterações perceptíveis visualmente na sua cor, odor, textura ou em qualquer outro aspecto após 15 dias a 50°C.

Os espectros FTIR não apresentaram surgimento ou desaparecimento de bandas importantes em nenhum dos materiais, indicando que todos são estáveis a essas condições de temperatura e no tempo indicado. Esse é um ponto positivo do carregador, já que em termos de temperatura, em uso tópico, poder-se-ia imaginar que essas condições do teste (50 °C) seriam as condições extremas encontradas pelo produto.

Os padrões de DRX dos LZH-CIN-CUR e do LZH-CIN não mostraram alterações significativas após o aquecimento. Alguns tiveram maior definição de picos de 13,3 Å e 6 Å que antes eram poucos definidos, mas além dessas pequenas mudanças, não houve alteração. Conclui-se que a estrutura persiste mesmo após o aquecimento.

Análise da Influência da concentração da solução na adsorção de curcumina

Foram adsorvidos materiais pelos períodos de 1 e 7 dias, em solução de concentração $0,010 \text{ mol L}^{-1}$ de CUR, menor que a saturada, visando maior eficiência do processo. Ao analisar os padrões de DRX dos LZH-CIN-CUR adsorvidos na solução $0,010 \text{ mol L}^{-1}$ por 7 dias e 1 dia, observa-se que ambos mostraram picos de intercalação de curcumina, ambos em $28,8 \text{ \AA}$. Nota-se também que no LZH-CIN-CUR adsorvido na solução $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ por 7 dias o pico de $18 \text{ \AA}$ tem baixíssima intensidade, e parece que a monocamada sofreu desestruturação. Ambos têm aumento da linha de base e halo que indica material amorfo. A diminuição da concentração da solução de adsorção não causou alterações da estrutura do material quando comparado aos LZHCIN-CUR adsorvidos em solução saturada.

Os espectros FTIR (não apresentados) não apresentaram nenhuma diferença em relação ao LZH-CIN-CUR adsorvido em solução saturada.

Obteve-se para LZH-CIN-CUR adsorvido por 7 dias em solução não saturada CC de 27,4% de CUR, ou seja, em torno de 5% a menos que o material adsorvido pelo mesmo tempo em solução

saturada. A curva TGA condiz com a ideia proposta de que os dois eventos estão relacionados a decomposição térmica das bicamadas e monocamadas. Esse LZH-CIN-CUR tem o padrão contínuo de decomposição térmica, o que indica que perde mais massa no segundo evento (31% de massa), que é associado à bicamada. O seu padrão de DRX indica exatamente isso, que ele tem sua monocamada mais desorganizada.

Obteve-se no material adsorvido por 1 dia em solução não saturada 24% de curcumina, ou seja, 5% a menos que o LZH-CIN-CUR adsorvido por mesmo tempo, porém em solução saturada. Esses dados comprovam novamente que o aumento do tempo de adsorção aumenta o carregamento, e comprovam também que a diminuição da concentração de CUR diminui também o carregamento.

Logo conclui-se que ao diminuir a quantidade de curcumina em g/mL em 20%, ao se usar solução $0,010 \text{ mol L}^{-1}$, compromete-se apenas 5% o carregamento. Essa troca parece então positiva, pois favorece-se a eficiência de carregamento (EC) do material. Esse aumento em EC é mais pronunciado no período de adsorção de 1 dia após a diminuição da concentração da solução, sendo esse mais um fator que corrobora a escolha do tempo de 1 dia como tempo ótimo.

Tabela 2 – EC e CC dos LZH-CIN-CUR adsorvidos em soluções saturadas e não saturadas de CUR

	LZH-CIN-CUR 1 dia (saturada)	LZH-CIN-CUR 1 dia (não saturada)	LZH-CIN-CUR 7 dias (saturada)	LZH-CIN-CUR 7 dias (não saturada)
CC	29,1 %	24,0 %	33,9 %	27,4 %
EC	57,7 %	71,5 %	67,6 %	68,5 %

Análise da Influência da presença de água na adsorção de curcumina

Após a realização dos testes em soluções 100% etanólicas de curcumina (saturadas ou não saturadas), foram testados os efeitos da adição de água à solução de curcumina. Em razão da alta hidrofobicidade do corante, existe a possibilidade de que a presença de água na solução faça com que a CUR adsorva-se mais ao LZH-CIN, pois sua afinidade pela solução seria menor.

Por esse motivo, fez-se a adsorção de LZH-CIN em 3 tipos de solução mista etanol:água. A primeira na proporção 6:4, a segunda na proporção 8:2 e a última na proporção 9:1 em mL (volumes de solução etanólica 0,01 mol L⁻¹ de curcumina: água). Todos os ensaios foram feitos com adsorção por 7 dias, já que esse é o tempo que leva ao maior CC.

Tabela 3 – EC e CC dos LZH-CIN-CUR adsorvidos em soluções com água

	LZH-CIN-CUR 9:1	LZH-CIN-CUR 8:2	LZH-CIN-CUR 4:3
CC	29,1 %	20,9 %	17,1 %
EC	80,7 %	65,0 %	71,2 %

A análise dos padrões de DRX dos LZH-CIN adsorvidos na solução mista de diferentes proporções indicou a formação do pico de intercalação de curcumina com 29 Å em todos os LZH-CIN-CUR. Observa-se também que os LZH-CIN-CUR adsorvidos na presença de água têm menor aumento na linha e base que os LZH-CIN-CUR adsorvidos em solução 100% etanólica, pelo mesmo tempo. Essa alteração indica possivelmente menor amorfização do material.

A análise de FTIR pode apontar diferenças no processo de adsorção com soluções 100% etanólicas e com adição de água. Percebe-se que o LZH-CIN-CUR adsorvido na proporção 6:4 tem um deslocamento da banda em 1494 cm⁻¹ para a região de número de onda menor, indicando diferentes interações do grupo COO⁻ do CIN. Possivelmente por alteração do solvente que adentra na lamela. Essa tendência de definição de bandas dos LZH-CIN-CUR adsorvidos em solução mista em comparação com LZH-CIN-CUR adsorvidos em soluções 100% etanólicas pode ser notada também na maior resolução de algumas bandas, como por exemplo a banda em 1294 cm⁻¹ e a banda em 970 cm⁻¹. Observa-se também a definição de bandas referentes

ao cinamato, como as bandas em 1332 cm^{-1} e 1002 cm^{-1} .

Ao comparar-se os carregamentos dos LZH-CIN-CUR adsorvidos em soluções mistas ao LZH-CIN-CUR adsorvido em solução 0,010 mol L⁻¹ etanólica por mesmo tempo, a adição de água mostra-se uma troca positiva apenas na proporção 9:1. O último tem um carregamento maior (29%) se comparado ao adsorvido em solução 0,010 mol L⁻¹ etanólica (27,4%). Nos outros dois LZHCIN-CUR adsorvidos em solução mista, o CC cai bruscamente, mesmo que o EC aumente. Faz-se necessário após esse ensaio, testar-se a adição de água nos LZH-CIN-CUR adsorvidos por apenas um dia, pois, esse tempo foi selecionado como melhor.

Ao realizar a adsorção de LZH-CIN em solução mista 9:1 Por 1 dia não foi possível obter-se um material homogêneo, sendo então descartada a possibilidade de utilizar água na proporção 9:1 na mistura de solventes. Foi então selecionado o material LZH-CIN adsorvido em solução 0,01 molL⁻¹ por 1 dia como melhor material.

Testes de Liberação in-vitro

Para avaliar o efeito do carregador na liberação dos bioativos, realizou-se a liberação do LZH-CIN e de uma mistura física contendo LZH-CI, cinamato de sódio

e curcumina na mesma proporção em massa que do LZH-CIN-CUR adsorvido por 1 dia em solução 0,010 mol L⁻¹ de curcumina, selecionado como melhor método de adsorção. A mistura física (MF) foi preparada macerando os 3 componentes por 5 minutos em um almofariz de ágata.

Primeiramente nota-se que LZH-CIN e MF liberam 99% do cinamato contido, porém a velocidade de liberação é muito diferente. O $T_{1/2}$ é uma medida que indica o tempo necessário para liberar 50% do conteúdo de cinamato. Para o MF o $T_{1/2}$ é de 2h23 já para o LZH-CIN é de 7h22. Esses números indicam que de fato a intercalação do cinamato ao LZH retarda sua liberação, tornando-se então um material para drug delivery retardado como esperado e planejado pelo projeto.

Comparando agora o LZH-CIN-CUR ao LZH-CIN, percebe-se que a presença de curcumina retarda e diminui a quantidade máxima de cinamato liberado em 48 h. O LZH-CIN-CUR libera 88% do cinamato contido, e não 99% como o LZH-CIN. Além disso, o $T_{1/2}$ do LZHCIN-CUR é de 12h17, o que é 1,6 vezes mais lento do que o do LZH-CIN. A adsorção de curcumina no material traz uma organização física dos componentes mais complexa, o que traz maior “resistência” à troca iônica que acontece para a saída do cinamato. Além disso,

supondo que o cinamato esteja funcionando como hidrótopo da curcumina, sua saída agora envolve a complexidade de “arrastar” uma molécula de curcumina para a solução tampão, o que faz a liberação de cinamato do carregador mais lenta.

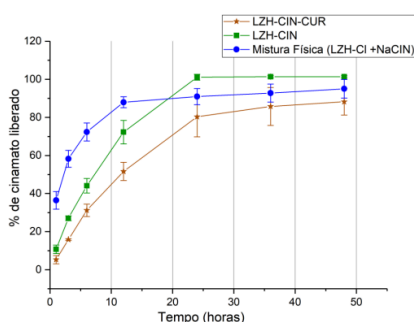


Figura 5 – Curvas de liberação in-vitro de CIN dos materiais LZH-CIN, MF e LZH-CIN-CUR selecionado

Em relação a liberação da curcumina, observa-se na Fig.6 que a liberação é de apenas 12% do seu conteúdo. Esse resultado era esperado, já que a curcumina é uma molécula hidrofóbica, e sua saída para a solução tampão só se daria pela interação dessa com Tween80 (concentração de apenas 0,8%) e interação com CIN.

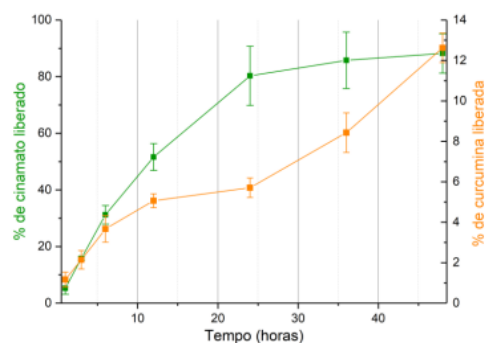


Figura 6 – Curvas dos testes de liberação in-vitro de CIN e CUR do LZH-CIN-CUR selecionado

Porém, é possível notar que, em comparação ao MF, a liberação de CUR no LZH-CIN-CUR é até 67% maior. Esse dado indica que a liberação de curcumina adsorvida ao carregador possui uma cinética de liberação que favorece sua saída do material. Logo pode-se dizer que a adsorção de curcumina ao LZH-CIN aumentou sua solubilidade.

Observa-se um padrão de liberação diferente entre o LZH-CIN-CUR e o MF para a curcumina. No MF, a saída de CUR segue um único padrão, sendo liberada gradualmente e de modo linear. Já no LZH-CIN-CUR, a CUR apresenta dois estágios de liberação. O primeiro estágio, que ocorre até 24 h, tem forma de parábola, seguindo o formato da curva de liberação de cinamato no carregador; a partir de 24 h, a liberação torna-se linear. Esses diferentes padrões sugerem a ocorrência de dois mecanismos de

liberação da curcumina. Sugere-se que, na fase inicial (0–24 h), a liberação de curcumina seja proporcionalmente dependente da saída de CIN, indicando um mecanismo de interação física: à medida que o cinamato se desintercala, facilita a liberação da curcumina, que o circunda. Após a liberação de cerca de 80% do cinamato, a curcumina inicia a dissolver-se em um meio já enriquecido em cinamato solubilizado, e sua cinética é possivelmente governada por efeitos de hidrotropia e por interações entre moléculas de curcumina já em solução.

Para avaliar a lixiviação do metal do carregador durante a liberação in-vitro, foi realizada a quantificação de Zn^{2+} nas alíquotas de 48 h retiradas. Os resultados obtidos via ICP resultaram em menos de 1% da massa de zinco da pastilha em solução, para LZH-CIN, MF e LZH-CIN-CUR. Esses dados indicam que a lixiviação não é o processo principal da liberação dos orgânicos da matriz.

Aplicação dos Modelos Matemáticos

Os modelos matemáticos foram aplicados às curvas de liberação com o objetivo de elucidar o mecanismo que rege a desintercalação do íon CIN e da CUR. Para isso, cada modelo foi ajustado aos dados de liberação acumulada ao longo de 24 h, intervalo em que as curvas exibem comportamento cinético

consistente; após esse período, observam-se alterações no perfil de liberação. Nesse intervalo inicial, para todos os materiais testados, pelo menos 80% do íon cinamato é liberado, tornando as primeiras 24 h o período mais adequado para a análise quantitativa do processo cinético desse bioativo.

Os modelos de Ordem 0, Primeira Ordem e Bashkar não tiveram fittings positivos para nenhum dos materiais.

O modelo de Higuchi é um modelo de liberação para fármacos hidrossolúveis e pouco solúveis, incorporados em matrizes de liberação modificada. Esse modelo pressupõe que a liberação é controlada pela difusão e obedece, portanto, à Lei de Fick, o que faz com que a liberação seja dependente da raiz quadrada do tempo. O modelo foi originalmente proposto para cremes/pomada aplicados à pele, e posteriormente aplicado a outros tipos de matrizes como a polímeros. Foi aplicado o modelo simplificado de Higuchi que expressa a quantidade de fármaco liberado a depender do transporte do fármaco em tempo $t^{1/2}$ (baseado na Lei de Fick). Um gráfico de M_t versus $t^{1/2}$ será linear, se a liberação seguir este modelo.

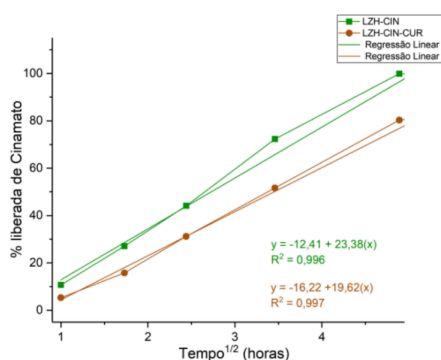


Figura 8 – Curvas de liberação de CIN aplicadas ao modelo de Higuchi para LZH-CIN e LZH-CIN-CUR

Percebe-se que para a MF esse modelo não tem um fitting muito preciso, porém para o LZH-CIN e o LZH-CIN-CUR o fitting é muito bom, com R^2 igual ou maiores que 0,997. Esse dado primeiramente confirma que a intercalação dos bioativos no carregador, em comparação a apenas uma mistura física desses, de fato altera sua liberação, como já observado anteriormente. Esse dado parece indicar também que a liberação do CIN quando intercalado na matriz de LZH segue a lei de difusão de Fick, ou seja, a difusão do fármaco pelas partículas é a etapa determinante da liberação. É importante destacar que o elevado ajuste ao modelo de Higuchi observado tanto para o LZH-CIN quanto para o LZH-CIN-CUR ($R^2 > 0,997$) indica que a adição de CUR não altera o mecanismo de liberação do íon CIN.

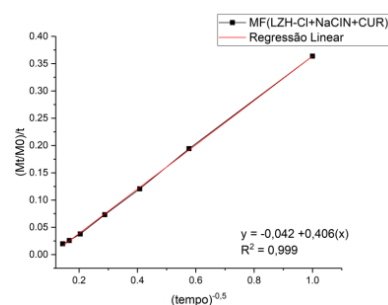


Figura 9 – Curva de liberação de CIN aplicadas ao modelo de Difusão Parabólica para MF

O modelo de Korsmeyer-Peppas é um modelo utilizado para sistemas mais complexos, em que mais de um fenômeno pode estar envolvido e em geral não se sabe bem os mecanismos de liberação envolvidos. Ele avalia uma combinação de liberação por difusão (transporte Fickiano) e liberação via transporte não Fickiano (em geral devido ao relaxamento de cadeias poliméricas em matrizes orgânicas). Nesse modelo a inclinação da curva linear corresponde ao expoente n , o qual indica o provável mecanismo de liberação: $n < 0,5$ indica difusão Fickiana; $1 > n > 0,5$ indica transporte anômalo, que efetivamente combina difusão fickiana e relaxamento da matriz; $n=1$ indica que o mecanismo de transporte é de ordem zero; $n > 1$ sugere um mecanismo que não segue a Lei de Fick, provavelmente relacionado aos outros componentes da matriz.

Para o LZH-CIN-CUR e para o LZH-CIN os R^2 são ambos de 0,990. Além

do mais, os n são ambos maiores que 0,5 e menores que 1. Esses valores indicam então que o transporte é anômalo, combinando a difusão Fickiana, o que concorda com o bom ajuste no modelo de Higuchi, mas com um fator de matriz também existente. Esse dado concorda com os outros, pois existe o carregador que exerce influência na liberação, já que há dissolução desse (mesmo que baixa como indicado pelos dados do ICP), troca iônica para neutralidade da lamela, difusão entre partículas de tamanho diferente, todos processos que influenciam na liberação.

Por fim, o modelo de difusão parabólica é outro modelo que tem sido utilizado para descrever a desintercalação de espécies a partir de hidróxidos duplos lamelares e outros tipos de trocadores iônicos. Esse modelo originalmente descreve a liberação na qual a velocidade é controlada por difusão no interior das partículas de argilominerais que constituem amostras do solo. Esse modelo compreende que a difusão é o fenômeno limitante e é baseado na difusão radial em um cilindro no qual a concentração das espécies que se difundem é constante na superfície do cilindro. Um gráfico de $(M_t/M_0)/t$ versus $t^{-0,5}$ deve ser linear.

A aplicação do modelo para a MF teve um ajuste praticamente perfeito ($R^2=0,999$) para as 48h de liberação,

sendo esse modelo muito adequado para explicar a difusão do cinamato quando apenas interagindo fisicamente com a matriz e não intercalado nessa. Em contrapartida, esse modelo foi muito insatisfatório para descrever a liberação de cinamato dos LZH-CIN e LZH-CIN-CUR, comprovando novamente que a intercalação de CIN na matriz altera sua taxa de liberação, mas não o mecanismo. Isso porque o modelo de difusão parabólica também é um modelo difusivo, porém que considera o tempo total de liberação não apenas 60% do tempo como Higuchi. Ou seja, é um modelo que exige uma fase de estabilização, que ocorre em 48h na MF já que sua liberação é mais rápida, mas não nos LZH que retardam a liberação.

Quanto ao perfil de liberação da curcumina no LZH-CIN-CUR, nenhum dos modelos testados descreveu adequadamente todo o processo cinético porém como já descrito previamente, o processo parece acontecer em 2 estágios.

Conclusões

Nesse projeto realizou-se a síntese e caracterização de SBL de zinco intercalado com ânions cinamato e adsorvido com curcumina, visando a validação e possível otimização do procedimento de adsorção. Foi possível obter as estruturas alvo de forma satisfatória, ou seja, os ânions orgânicos intercalados entre as lamelas,

comprovadas pelas análises de difração de raios X dos compostos. A adsorção de curcumina foi comprovada por técnicas espectroscópicas e análise térmica (TGA). As variáveis testadas em relação à adsorção foram: tempo de adsorção, concentração da solução de adsorção e presença de água na solução de adsorção. Por meio das análises, pode-se concluir que o melhor tempo para adsorção é 1 dia. Visando maximizar a eficiência e a sustentabilidade do processo de carregamento, optou-se pela utilização de solução de curcumina $0,010 \text{ mol L}^{-1}$ em vez de soluções saturadas. Obtiveram-se materiais com carregamento aproximado de 25% de curcumina e 30% de cinamato, conferindo-lhes elevada capacidade de incorporação e boa estabilidade à temperatura, o que os torna promissores para aplicações futuras. Os testes de dissolução in vitro demonstraram que a intercalação do cinamato na matriz retarda sua liberação, contribuindo para um perfil de liberação prolongada, como planejado. Por outro lado, a liberação da curcumina foi melhorada na presença do cinamato, indicando que a estratégia de empregar o efeito hidrotópico do íon sobre a solubilização da curcumina trouxe resultados benéficos. Os modelos matemáticos indicam que a liberação do cinamato ocorre predominantemente por difusão através da matriz, enquanto a

cinética de liberação da curcumina está intimamente influenciada pelo efeito hidrotópico do cinamato e pelas interações físico-químicas entre ambos os bioativos. Entretanto, a cinética de liberação da curcumina ainda requer investigação mais aprofundada em ensaios avançados que simulem adequadamente as condições de aplicação cutânea.

Essas etapas permitirão avaliar a necessidade de novas modificações no carregador — seja alterando a matriz de incorporação, seja desenvolvendo formulações finais em cremes ou pomadas. Adicionalmente, recomenda-se a aplicação de técnicas complementares de caracterização. Cabe em estágios futuros de estudo incluir testes de eficácia, como testes celulares e em ex-vivo, para testar a funcionalidade biológica do material.

Bibliografia

- [1] Proksch E. pH in nature, humans and skin. J Dermatol. 2018 Sep;45(9):1044-1052. doi: 10.1111/1346-8138.14489. Epub 2018 Jun 4. PMID: 29863755.
- [2] Chandana Mohanty, Sanjeeb K. Sahoo, Curcumin and its topical formulations for wound healing applications, Drug Discovery Today, Volume 22, Issue 10, 2017, Pages 1582- 1592, ISSN

- 1359-6446, <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.07.001>.
- [3] Ratan C, Arian AM, Rajendran R, Jayakumar R, Masson M, Mangalathillam S. Nanobased formulations of curcumin: elucidating the potential benefits and future prospects in skin cancer. *Biomed Mater*. 2023 Aug 25;18(5). doi: 10.1088/1748-605X/acf0af. PMID: 37582394.
- [4] Constantino, V.R.L.; Figueiredo, M.P.; Magri, V.R.; Eulálio, D.; Cunha, V.R.R.; Alcântara, A.C.S.; Perotti, G.F. Biomaterials Based on Organic Polymers and Layered Double Hydroxides Nanocomposites: Drug Delivery and Tissue Engineering. *Pharmaceutics* 2023, 15, 413. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020413>
- [5] Nabipour, H., Hu, Y. Layered zinc hydroxide as vehicle for drug delivery systems: a critical review. *J Porous Mater* 29, 341–356 (2022). <https://doi.org/10.1007/s10934-021-01171-4>
- [6] Mohsin SM, Hussein MZ, Sarijo SH, Fakurazi S, Arulselvan P, Hin TY. Synthesis of (cinnamate-zinc layered hydroxide) intercalation compound for sunscreen application. *Chem Cent J*. 2013 Feb 6;7(1):26. doi: 10.1186/1752-153X-7-26. PMID: 23383738; PMCID: PMC3626774.
- [7] Vollono L, Falconi Gaziano R, Iacovelli F, Dika E, Terracciano C, Bianchi L, Campione E. Potential of Curcumin in Skin Disorders. *Nutrientes*. 2019 Sep 10;11(9):2169. doi: 10.3390/nu11092169. PMID: 31509968; PMCID: PMC6770633.
- [8] Chandana Mohanty, Sanjeeb K. Sahoo, Curcumin and its topical formulations for wound healing applications, *Drug Discovery Today*, Volume 22, Issue 10, 2017, Pages 1582- 1592, ISSN 1359-6446, <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.07.1>.
- [9] Satyajit Mondal, Soumen Ghosh, Satya P. Moulik, Stability of curcumin in different solvent and solution media: UV-visible and steady-state fluorescence spectral study, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, Volume 158, 2016, Pages 212-218, ISSN 1011-1344, <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.03.004>
- [10] Priyadarsini KI. The chemistry of curcumin: from extraction to therapeutic agent. *Molecules*. 2014 Dec 1;19(12):20091-112. doi: 10.3390/molecules191220091. PMID: 25470276; PMCID: PMC6270789.

- [11] 1. Sueth-Santiago V, Mendes-Silva GP, Decoté-Ricardo D, Lima MEF de. CURCUMINA, O PÓ DOURADO DO AÇAFRÃO-DA-TERRA: INTROSPECÇÕES SOBRE QUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS. Quím Nova [Internet]. 2015May;38(4):538–52. Available from: <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150035>.
- [12] Rathi, N., Paradkar, A., & Gaikar, V. G. (2019). Polymorphs of curcumin and its cocrystals with cinnamic acid. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 108(8), 2505–2516. doi:10.1016/j.xphs.2019.03.014
- [13] Rocha, M. A., Petersen, P. A. D., Teixeira-Neto, E., Petrilli, H. M., Leroux, F., Taviot-Gueho, C., & Constantino, V. R. L. (2016). Layered double hydroxide and sulindac coiled and scrolled nanoassemblies for storage and drug release. *RSC Advances*, 6(20), 16419–16436. doi:10.1039/C5RA25814F
- [14] Nag, A., Chakraborty, P., Natarajan, G., Baksi, A., Mudedla, A., Subramanian, S. K., & Pradeep, T. (2018). Bent keto form of curcumin, preferential stabilization of enol by piperine, and isomers of curcumin–cyclodextrin complexes: Insights from ion mobility mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 90(15), 8776–8784. doi:10.1021/acs.analchem.7b05231
- [15] Kolev, T. M., Velcheva, E. A., Stamboliyska, B. A., & Spiteller, M. (2005). DFT and experimental studies of the structure and vibrational spectra of curcumin. *International Journal of Quantum Chemistry*, 102, 1069–1079. doi:10.1002/qua.20469
- [16] Nolasco, M. M., Amado, A. M., & Ribeiro-Claro, P. J. A. (2009). Effect of hydrogen bonding in the vibrational spectra of trans-cinnamic acid. *Journal of Raman Spectroscopy*, 40, 394–400. doi:10.1002/jrs.2138
- [17] hakal, S., Chao, K., Schmidt, W., Qin, J., Kim, M., & Chan, D. (2016). Evaluation of turmeric powder adulterated with metanil yellow using FT-Raman and FT-IR spectroscopy. *Foods*, 5(2), 36. doi:10.3390/foods5020036

-
- [18] Silverstein, R. M., Webster, F. X.,
Kiemle, D. J., & Bryce, D. L.
(2005). Spectrometric
identification of organic
compounds (7th ed.). Hoboken,
NJ: Wiley

Financiamento

Agradecemos a CNPq pela bolsa de IC.

5.- Inclusión

Educación Inclusiva como perspectiva formativa de la identidad local: experiencias de heroísmo comunitario en Valparaíso

Autor: Arancibia, Noemí; noemi.arancibia@alumnos.upla.cl

Profesor guía: Olivares Villaroel, José Manuel; jmolivar@upla.cl PROFESOR DEL
SEMINARIO DE PROYECTO INTEGRADO I DEL MAGÍSTER EN INCLUSIÓN EDUCATIVA
UPLA

Universidad de Playa Ancha / Ciencias de la Educación

Resumen

La presente ponencia se inscribe en una línea de investigación orientada a la educación inclusiva como marco de análisis del patrimonio humano en contextos territoriales. Toma como antecedente el proyecto “De Marvel a Blackdiamond: Diacronía del Superhéroe y heroína de la memoria en Valparaíso desde una perspectiva de género”, desarrollado por académicos de la Universidad de Playa Ancha en el marco de Vinculación con el Medio (CD UPA 2395 – CD UPA 2295), instancia en la cual la autora de esta ponencia participó activamente en el trabajo de campo, entrevistas y elaboración de material biográfico.

Sin reproducir dicho proyecto, esta reflexión propone una profundización temática que analiza la experiencia desde la educación inclusiva, comprendida como práctica situada que reconoce la diversidad y promueve la participación activa de la comunidad en la construcción de conocimiento.

Metodológicamente, se retoma el enfoque cualitativo-participativo que permitió identificar figuras locales reconocidas por sus trayectorias significativas en ámbitos como arte y cultura, deporte, comunidad y educación. Desde esta perspectiva, el heroísmo cotidiano se interpreta como dispositivo pedagógico que amplía los referentes formativos, visibiliza experiencias diversas y fortalece procesos de identificación cultural.

El material didáctico elaborado dirigido a segundo ciclo de educación básica es analizado aquí como recurso potencial para promover identidad local, sentido de pertenencia y

formación ciudadana en conforme al sustento de la Educación inclusiva, proyectando posibilidades para prácticas pedagógicas contextualizadas en distintos entornos culturales.

Palabras clave: Educación inclusiva, patrimonio humano, identidad local, Valparaíso.

Introducción

Educación inclusiva como marco formativo

La educación inclusiva se ha consolidado en las últimas décadas como un principio orientador de los sistemas educativos, no sólo en términos de acceso, sino fundamentalmente en relación con la participación, el reconocimiento de la diversidad y la construcción de comunidades de aprendizaje más democráticas.

Más que una estrategia metodológica, la educación inclusiva constituye una perspectiva formativa que promueve la equidad, el diálogo y la valoración de las trayectorias de vida que configuran la experiencia social (UNESCO, 2017). Desde esta mirada, la escuela no se limita a transmitir contenidos, sino que se proyecta como espacio de construcción de identidad y ciudadanía, fortaleciendo el vínculo entre memoria, cultura y comunidad.

En este sentido, el reconocimiento del patrimonio humano y de las historias locales adquiere relevancia pedagógica, pues permite situar el aprendizaje en contextos reales, favorecer el sentido de

pertenencia y contribuir a la construcción de identidad local.

La memoria viva del territorio expresada en las prácticas, saberes y experiencias de sus habitantes se transforma así en un recurso educativo que posibilita procesos formativos más contextualizados y socialmente significativos.

Antecedentes de la experiencia

La reflexión que aquí se presenta se vincula con el proyecto titulado *“De Marvel a Blackdiamond, diacronía del Superhéroe de la memoria en Valparaíso desde una perspectiva de género”*, desarrollado bajo la dirección de Vinculación con el Medio de la Universidad de Playa Ancha, código CD UPA 2395 – CD UPA 2295.

Dicho proyecto fue liderado por los académicos José Manuel Olivares Villaroel, Ignacio Reyes Cayul y Maricel Gomez, autores de la iniciativa y que contó con la colaboración de Gisela Otarola en el área de fotografía y diseño del material.

Quien suscribe participó como colaboradora activa en el proceso investigativo, desarrollando trabajo en terreno, realización de entrevistas, elaboración de biografías, entre otros,

además de formar parte de las actividades y encuentros propios de la experiencia.

El propósito del proyecto original fue la detección y reconocimiento de personas que se distinguen en su espacio comunitario por cualidades consideradas dignas de ser imitadas, relevando su contribución a la memoria porteña y al patrimonio humano de Valparaíso.

La presente ponencia no reproduce dicho proyecto ni constituye una reescritura del mismo. Se propone, en cambio, como una profundización temática que analiza, desde la educación inclusiva, aquellos elementos que permiten reflexionar pedagógicamente sobre la construcción de identidad local y la resignificación del heroísmo comunitario como práctica formativa. En coherencia con el enfoque de patrimonio cultural inmaterial (UNESCO, 2003), las trayectorias y saberes comunitarios se comprenden como un acervo vivo que fortalece la identidad colectiva.

Objetivos

Desde la perspectiva de la educación inclusiva como marco formativo, se propone analizar la reconstrucción de la memoria del patrimonio heroico del Gran Valparaíso, resignificando la figura del superhéroe y heroína como expresión representativa del territorio y sus valores, con el propósito de proyectar esta memoria en contextos educativos y en la formación pedagógica, fortaleciendo la identidad local, dimensión formativa en el

ámbito escolar.

En coherencia con lo anterior, la participación se concibe como una expresión de ciudadanía activa, en la que la comunidad asume un rol protagónico en la construcción colectiva de memoria y significado; así, se promueve una educación inclusiva que reconoce y valora la diversidad de edades, géneros, contextos socioculturales y condiciones físicas, integrando a todos los actores en experiencias de aprendizaje significativas y contextualizadas.

De este modo, la identidad local se comprende como el resultado de procesos formativos que articulan territorio, memoria y reconocimiento del otro en la construcción de comunidad; desde esta perspectiva, se integran los aportes de agentes territoriales del ámbito educativo, artístico, deportivo y científico, favoreciendo una construcción colectiva del conocimiento y la valoración del patrimonio cultural vivo de Valparaíso como recurso pedagógico inclusivo.

Resultados y Discusión

La presente reflexión se sustenta en una experiencia territorial desarrollada en Valparaíso, cuya base metodológica se inscribió en un enfoque cualitativo de carácter participativo, inspirado en el modelo de Investigación-Acción Participativa (Balcázar, 2003). Desde esta perspectiva, la comunidad no fue

concebida como objeto de estudio, sino como sujeto activo en la construcción de conocimiento, favoreciendo procesos dialógicos y colaborativos coherentes con los principios de la educación inclusiva, particularmente en lo referido a la participación plena, el reconocimiento de la diversidad y la democratización de la producción de saberes.

El levantamiento de información se realizó mediante entrevistas semiestructuradas a personas reconocidas por su aporte significativo al entorno comunitario. Estos relatos permitieron reconstruir trayectorias de vida que fueron sistematizadas en biografías contextualizadas. Estas figuras representan formas de heroísmo cotidiano (Campbell, 2008), entendido no como hazaña extraordinaria, sino como servicio comprometido con la comunidad. Más que un ejercicio descriptivo, el proceso se constituyó en una práctica de reconocimiento social que visibiliza la pluralidad de edades y contextos presentes en el territorio. Frente a referentes homogéneos, esta estrategia diversifica modelos formativos y fortalece reconocimiento, equidad simbólica y pertenencia.

Asimismo, se desarrollaron instancias de encuentro y diálogo en espacios educativos y comunitarios del sector de Playa Ancha, articulando el trabajo con establecimientos escolares y actores territoriales. Estas instancias pueden

comprenderse como espacios formativos intergeneracionales que tensionan modelos tradicionales de transmisión unidireccional del conocimiento, favoreciendo la construcción colectiva de memoria y la resignificación del patrimonio desde una perspectiva inclusiva. En este sentido, la experiencia permitió evidenciar que la inclusión no se limita a la integración de sujetos diversos, sino que implica transformar las dinámicas de participación y validación social.

Los relatos fueron registrados, transcritos y examinados desde una perspectiva educativa y patrimonial, incorporando criterios de análisis vinculados a la participación, diversidad, reconocimiento y sentido de pertenencia. Este proceso permite interpretar la experiencia no solo como rescate de memoria, sino como práctica pedagógica situada que contribuye a la construcción de identidad local en clave inclusiva, al legitimar voces que habitualmente permanecen fuera de los relatos oficiales.

Producto final del proyecto y su rol inclusivo en la educación

Como parte de la experiencia, se elaboró un libro que reúne las biografías y relatos sistematizados de las figuras reconocidas por la comunidad, incorporando además actividades pedagógicas orientadas al reconocimiento de los valores presentes en sus trayectorias. Este material no se limita a la difusión patrimonial, sino que

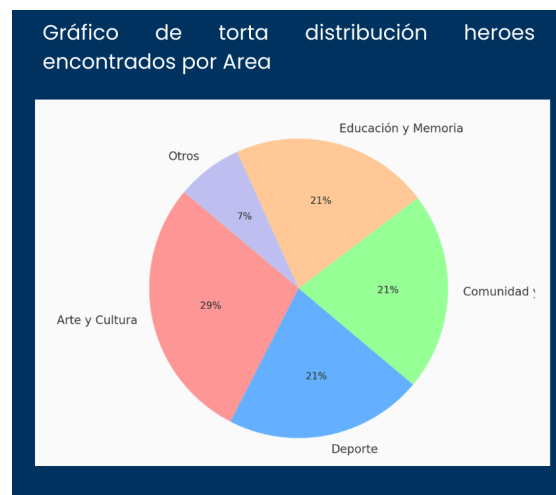
ofrece orientaciones didácticas que pueden favorecer prácticas educativas más participativas y contextualizadas. Al visibilizar experiencias diversas y promover la reflexión valórica, el libro amplía los referentes formativos disponibles en el aula, fortaleciendo el reconocimiento de la diversidad, el sentido de pertenencia y la formación ciudadana en distintos contextos educativos.



La imagen da cuenta del material didáctico y registro de figuras comunitarias reconocidas en la experiencia territorial desarrollada en Valparaíso. La diversidad de edades, oficios y contextos representados ilustra el patrimonio humano como expresión de memoria viva y fundamento para prácticas pedagógicas orientadas a la educación inclusiva y la construcción de identidad local.

Distribución de ámbitos de reconocimiento y profundización

cualitativa de significados



El Gráfico de distribución porcentual de figuras reconocidas por área de acción comunitaria nos entrega un visión de los resultados, los cuales muestran una presencia significativa en arte y cultura (29%) y una distribución equilibrada en deporte, comunidad y educación (21% cada una), lo que permite interpretar el heroísmo local como fenómeno multidimensional.

La diversidad de áreas representadas evidencia que el heroísmo cotidiano no se concentra en un único ámbito de acción, sino que se manifiesta en múltiples dimensiones de la vida social. Esta pluralidad no sólo se refiere a distintos campos como el arte, deporte, educación o acción comunitaria, sino también a la diversidad de sujetos, trayectorias y saberes que configuran el territorio. Desde la inclusión educativa, esto amplía los referentes pedagógicos disponibles y reconoce distintas formas de participación y contribución al bien común. La inclusión, en este sentido, se expresa en la

validación de múltiples modos de aprender, aportar y construir comunidad.

Complementando la caracterización de las áreas de reconocimiento, se consideró pertinente profundizar en el contenido de dos preguntas abordadas en las entrevistas que no fueron desarrolladas como eje central en el análisis inicial, pero que resultan especialmente significativas para la presente reflexión. Estas preguntas, vinculadas a la percepción de los medios de comunicación y a la necesidad de referentes locales, permiten comprender cómo la comunidad interpreta la visibilización y el reconocimiento social del heroísmo. Las categorías emergentes derivadas de este examen aportan elementos para una lectura educativa situada, evidenciando tensiones y posibilidades que inciden en la construcción de referentes más diversos y en la ampliación de prácticas formativas coherentes con la educación inclusiva.

Cuadro analítico preguntas 9 y 10 de entrevistas realizadas en la comunidad	
PREGUNTA 9: Papel de los medios de comunicación	PREGUNTA 10: Necesidad de héroes y heroínas locales
1. Falta de ética y enfoque negativo: los medios priorizan el sensacionalismo y las noticias violentas.	1. Valoración unánime: los héroes locales son percibidos como modelos de inspiración y cambio social.
2. Invisibilización del aporte comunitario: se omite la difusión de historias positivas o de servicio.	2. Ejemplo transformador: sus acciones fortalecen el sentido de comunidad y empatía.
3. Necesidad de comunicación educativa: se demanda un enfoque más formativo e inclusivo en los medios.	3. Educación en valores: la sociedad necesita referentes que integren solidaridad, cultura e inclusión desde la vida cotidiana

La **pregunta 9** permite visualizar que la

crítica a los medios revela una tensión entre la narrativa dominante centrada en el conflicto y la necesidad de relatos que visibilicen aportes comunitarios. Esta invisibilización no solo constituye un problema comunicacional, sino también una forma de exclusión simbólica que limita los referentes disponibles para la formación social. Desde la educación inclusiva, esta demanda se vincula con el derecho a una representación diversa y equitativa, donde las trayectorias locales sean reconocidas como fuentes legítimas de aprendizaje y construcción ciudadana, ampliando los marcos de identificación y pertenencia. Esta reflexión dialoga con los Objetivos de Aprendizaje Transversales de la Educación Básica chilena, que promueven el respeto por la diversidad, la formación ciudadana y la valoración del entorno local como espacios de aprendizaje significativo.

En cuanto a la **pregunta 10**, la valoración unánime de héroes y heroínas locales evidencia la necesidad de referentes situados, culturalmente significativos y próximos a la experiencia cotidiana. Desde la educación inclusiva, esto amplía el repertorio simbólico disponible para niñas, niños y jóvenes, favoreciendo procesos de identificación diversos y contextualizados. Asimismo, democratiza la noción de heroísmo al desplazar modelos hegemónicos y reconocer trayectorias próximas como fuentes legítimas de inspiración, fortaleciendo el

sentido de pertenencia y la construcción de aspiraciones posibles en el entorno educativo.

En conjunto, tanto la distribución de áreas como las categorías emergentes del análisis cualitativo evidencian que el reconocimiento comunitario del heroísmo no responde a una lógica homogénea, sino a una trama plural de ámbitos, experiencias y significados. Esta diversidad amplía los referentes sociales disponibles y aporta elementos para pensar prácticas educativas más situadas en la realidad territorial y abiertas a la diversidad de trayectorias.

Conclusiones

La experiencia analizada permite comprender la educación inclusiva no solo como un principio normativo, sino como una práctica territorial concreta que se configura en la interacción entre comunidad, memoria e identidad. Al situar el patrimonio humano en el centro de la reflexión pedagógica, se amplía su alcance más allá de la atención a la diversidad en el aula, reconociéndola como un proceso que legitima voces, trayectorias y saberes históricamente invisibilizados en los relatos oficiales. Desde esta perspectiva, el heroísmo cotidiano se consolida como una herramienta de reconocimiento social que desplaza modelos centrados en la excepcionalidad individual y valora el

compromiso comunitario, la solidaridad y la participación como dimensiones formativas

Las prácticas de reconocimiento local evidencian que la inclusión puede materializarse mediante la promoción explícita de valores y la ampliación de referentes próximos, culturalmente significativos y accesibles para niñas, niños y jóvenes. Este enfoque fortalece la identidad local y el sentido de pertenencia en distintos contextos educativos, favoreciendo procesos de identificación diversos y horizontes de aspiración posibles. Asimismo, pone de relieve que la inclusión no se limita a integrar sujetos diversos, sino que implica transformar las formas en que se produce, valida y transmite el conocimiento en la escuela.

El vínculo entre patrimonio humano e inclusión constituye un ámbito todavía poco explorado en la educación formal, pese a su potencial para enriquecer la formación ciudadana y democratizar la representación simbólica. En consecuencia, más que un recurso circunscrito a un territorio específico, esta experiencia abre una línea de trabajo pedagógico replicable y adaptable a distintas realidades culturales, contribuyendo al desarrollo de prácticas educativas que reconocen la diversidad como fundamento y no como excepción.

Referencia bibliográficas

Campbell, J. (2008). *El héroe de las mil caras*. New World Library.

Cayul, I; Gomez, M; Olivares, J. (2024). *De Marvel a Blackdiamond: Diacronía del superhéroe y heroína de la memoria en Valparaíso desde una perspectiva de género* [Proyecto de investigación]. Universidad de Playa Ancha.

Freire, P. (1997). *Pedagogía de la autonomía: Saberes necesarios para la práctica educativa*. Siglo XXI Editores.

Ministerio de Educación de Chile. (2015). *Bases curriculares de la educación parvularia*. Mineduc.

Ministerio de Educación de Chile. (2012). *Bases curriculares educación básica*.

UNESCO. (2003). *Convención para la salvaguardia del patrimonio cultural inmaterial*. UNESCO.

UNESCO. (2017). *A guide for ensuring inclusion and equity in education*. UNESCO.



Asociación de Universidades
GRUPO MONTEVIDEO



UNIVERSIDAD
NACIONAL ✦
DE TUCUMÁN



