

Revista de la Universidad del Zulia

Fundada en 1947
por el Dr. Jesús Enrique Lossada



Ciencias del
Agro
Ingeniería
y Tecnología

Año 10 N° 26

Enero - Abril 2019

Tercera Época

Maracaibo-Venezuela

REVISTA DE LA UNIVERSIDAD
DEL ZULIA
Tercera Época
Ciencias del Agro, Ingeniería y Tecnología

AÑO 10 N° 26 ENERO-ABRIL 2019

Fundada en 1947 por el Dr. Jesús Enrique Lossada
Adscrita a la Cátedra Libre Historia de la Universidad del Zulia



PUBLICACIÓN AUSPICIADA POR LA UNIVERSIDAD DEL ZULIA

Indizada, registrada y/o catalogada
electrónicamente en las siguientes bases de datos:

REVENCYT	WOS
LATINDEX	EZB- Elektronische Zeitschriftenbibliothek-
Actualidad Iberoamericana	Universität Regensburg
CLASE	Linkovaci Server SFX- Univerzita Karlova
PERIÓDICA	UBL -Universitas Bibliothek Leipzig
Emerging Sources Citation Index (ESCI).	ZDB- Zeitschriften Datenbank
BIBLAT-Bibliografía Latinoamericana	BSZ Bibliotheksservice Zentrum Baden-
FLACSO-Argentina	Wüuttemberg
	Issuu:
	http://Issuu.com/revistadelauniversidaddelzulia

REVISTA DE LA UNIVERSIDAD DEL ZULIA

©2019. Universidad del Zulia

DEPÓSITO LEGAL ppi 201502ZU4666

Esta publicación científica en formato digital es continuidad de la revista impresa

ISSN 0041-8811

DEPÓSITO LEGAL pp 76-654

Portada:

Concepto gráfico: Laura González

Diagramación final: Reyber Parra

REVISTA DE LA UNIVERSIDAD DEL ZULIA

Calle 67 (prolongación Cecilio Acosta) con Avenida 16 (Guajira)
Sede rectoral de la Universidad del Zulia. Edificio Fundadesarrollo
Maracaibo, estado Zulia, Venezuela.
Correo electrónico: revistadeluz@gmail.com

Revista de la Universidad del Zulia

Tercera Época

ISSN 0041-8811

El Dr. Jesús Enrique Lossada, luego de trabajar infatigablemente hasta lograr la reapertura de la Universidad del Zulia, el 01 de octubre de 1946, le aportó a esta institución su primera revista científica: la *Revista de la Universidad del Zulia*, fundada por este insigne zuliano, el 31 de mayo de 1947. En su Tercera Época la revista mantiene la orientación que le asignara su fundador: es un órgano científico de difusión de trabajos parciales o definitivos de investigadores y/o equipos de investigación nacionales y extranjeros. La revista posee un carácter multidisciplinario, por ello su temática se divide en tres grandes ejes: a. ciencias sociales y arte; b. ciencias del agro, ingeniería y tecnología; c. ciencias exactas, naturales y de la salud. Su publicación es cuatrimestral. Cada número, de los tres del año, se corresponde con uno de los tres ejes temáticos. La *Revista de la Universidad del Zulia*, por su naturaleza histórica y patrimonial, está adscrita a la Cátedra libre Historia de la Universidad del Zulia.

Directores y Responsables Eméritos

Jesús Enrique Lossada
José Ortín Rodríguez
José A. Borjas Sánchez
Felipe Hernández
Antonio Borjas Romero
César David Rincón
Sergio Antillano

Directora

Imelda Rincón Finol (LUZ)

Coordinador

Reyber Antonio Parra Contreras (LUZ)

Comité Editorial

Imelda Rincón (LUZ)
Reyber Parra (LUZ)
Teresita Álvarez (LUZ)
Jesús Medina (LUZ)
José Lárez (UNERMB)
Diego Felipe Arbeláez (Revista Amazonia
Investiga)

Comité Asesor

Nelson Márquez (LUZ)
Judith Aular (LUZ)
Rutilio Ortega (LUZ)
Tahís Ferrer (LUZ)
Alí López (ULA)
María Dolores Fuentes Bajo (Universidad
de Cádiz, España)
Néstor Queipo (LUZ)
Ana Irene Méndez (LUZ)
Modesto Graterol (LUZ)
Mario Ayala (UBA Argentina)
Tomás Fontaines (UTM Ecuador)
Enrique Pastor Seller (Universidad de
Murcia, España)
Lourdes Molero (LUZ)
Marielis Villalobos (LUZ)



Autoridades

Jorge Palencia
Rector

Judith Aular de Durán
Vice Rectora Académica

María Artigas
Vice Rectora Administrativa

Marlene Primera
Secretaria

Imelda Rincón Finol
Reyber Parra Contreras
Cátedra Libre
Historia de la Universidad del Zulia

Contenido

1 Reyber Parra Contreras

Presentación

3 Muhammad Asif Khan, Ramiz ur Rehman, Muhammad Akram Naseem y Majed Alharthi

Two sides of the coin (Agents or stewards) /// Dos caras de la moneda (Agentes o administradores)

37 Dídimo Mendoza, Fanny Rodríguez, Edison Cuenca, Rubén Rivera, Bernardo Navarrete y Ernesto Cañarte

Efecto de cuatro láminas de riego y *Meloidogyne* spp. sobre características agronómicas y de rendimiento de tomate de mesa *Solanum lycopersicum* L. /// Effect of four irrigation regimes and *Meloidogyne* spp. upon agronomic and yield features of table tomato *Solanum lycopersicum* L.

58 Yoleidy Escalona, María E. Sanabria, Dorian Rodríguez y Nelson Rincón

Prevalencia de patógenos bacterianos en cultivos hortícolas a cielo abierto del municipio Jiménez, Estado Lara y evaluación de control alternativo mediante uso de extracto etanólico de *Lippia origanoides* /// Bacterial pathogens in vegetable crops of the municipality Jiménez, Lara State and evaluating alternative control through implementation of ethanolic extracts of *Lippiaoriganoides*.

82 T. R. Ahmadov

Method of determining the location of the pinch point using seismic survey in some areas of the Absheron Peninsula /// Método para determinar la ubicación del punto pinch utilizando la encuesta sísmica en algunas áreas de la Península de Absheron

98 T. R. Ahmadov

Oil and gas perspectives of pliocene-miocene in South-East of Absheron Peninsula based on latest 3D data /// Perspectivas de petróleo y gas del plioceno-mioceno en el Sureste de la Península de Absheron según los últimos datos en 3D.

113 Julio César Marín, Karelis Fernández, Elisabeth Behling, Sedolfo

Carrasquero y Nancy Angulo

Características de la biopelícula de un reactor RBC en presencia y ausencia de metales pesados /// Biofilm characteristics of a RBC reactor in presence and absence of heavy metals

Presentación

La conflictividad política que Venezuela viene experimentando en los últimos años, no ha impedido que instituciones como la Universidad del Zulia se mantengan constantes en el cumplimiento de su misión. En efecto, a pesar de las limitaciones presupuestarias y la incomprensión gubernamental, la universidad continúa haciendo valiosos aportes en su tarea de crear y difundir el conocimiento.

La *Revista de la Universidad del Zulia* es uno de los instrumentos que esta institución posee para proyectar la labor investigativa de su personal docente, a la par de apoyar la difusión de los resultados de investigación de distinguidos investigadores, adscritos a importantes instituciones científicas de nuestro mundo globalizado.

En el presente Número 26, correspondiente al cuatrimestre Enero-Abril de 2019, se publican los siguientes artículos científicos:

Muhammad Asif Khan, Ramiz ur Rehman, Muhammad Akram Naseem y Majed Alharthi, analizan la dualidad de los CEO, como agentes y administradores en el contexto de Pakistán, siendo el ámbito administrativo el menos visible en comparación con la faceta corporativa.

Por su parte, Dídimo Mendoza, Fanny Rodríguez, Edison Cuenca, Rubén Rivera, Bernardo Navarrete y Ernesto Cañarte evaluaron cuatro láminas de riego (60, 80, 100 y 120 % de la evapotranspiración) y el nematodo *Meloidogyne* spp. (150 juveniles por 100g de suelo), sobre tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en invernadero. Concluyen que, las láminas en cuestión, no influyeron sobre las variables: altura de planta, días a la floración, volumen de raíces, densidad longitud de raíces, número de racimos florales y rendimiento en el cultivo de tomate.

Yoleidy Escalona, María E. Sanabria, Dorian Rodríguez y Nelson Rincón, identifican los patógenos que afectan los rubros agrícolas en Jiménez, estado Lara-Venezuela; a su vez, presentan como alternativa ecológica la aplicación del extracto etanólico de *Lippia origanoides* K., demostrándose su potencialidad como control alternativo de bacterias fitopatógenas.

T. R. Ahmadov logra determinar la posición exacta del punto de pellizco de sedimentos mediante sísmica 2D y 3D, en algunas áreas de la Península de Absheron (Azerbaiyán). Al respecto, se proponen tres alternativas para la fijación del punto: a) utilizando el análisis de atributos o las características dinámicas instantáneas del campo de onda; b) el método para determinar la calidad de la grabación de acuerdo con el Perfil Sísmico Vertical (VSP); c) con análisis espectral de registros sísmicos basados en la transformada de Fourier.

En un segundo artículo, T. R. Ahmadov estudia las perspectivas de hidrocarburos en el Plioceno y el Mioceno en el Sureste de la península de Absheron (Azerbaiyán), sobre la base de datos sísmicos en 3D.

Finalmente, Julio César Marín, Karelis Fernández, Elisabeth Behling, Sedolfo Carrasquero y Nancy Angulo compararon las características de la biopelícula de un reactor RBC de tres cámaras, en presencia y ausencia de metales pesados (Cd 5 mg/L y Cr 20 mg/L), bajo condiciones aeróbicas-mesofílicas y escala de laboratorio. Se demostró que la biopelícula presentó menor grosor y abundancia de heterótrofos en presencia de los metales, como consecuencia del efecto tóxico de los mismos. Las bacterias más abundantes durante el tratamiento del efluente pertenecieron a los géneros: *Paenibacillus*, *Bacillus* y *Lysinibacillus*.

Dr. Reyber Parra Contreras
Coordinador
Revista de la Universidad del Zulia

Two sides of the coin (Agents or stewards)

Muhammad Asif Khan*
Ramiz ur Rehman**
Muhammad Akram Naseem***
Majed Alharthi****

ABSTRACT

The purpose of this paper is to empirically explore that in practice CEOs are agents or stewards in context of Pakistan. To test the hypothesized model, board size, board independence, CEO duality and tenure, are taken as explanatory variables to study the stated hypothesis under agency and stewardship perspective. Fixed effect panel analysis is employed to test the stated hypothesis. The hypotheses related to board and CEO attributes are formed. Findings suggest that stewardship perspective is on weaker side as compared to agency perspective in Pakistan's corporate sector. Results of this study lack generalizability due to its unique setting and lower disclosure sources. This study contributes to the scarce literature available for developing countries as compared to the developed economies as data availability for the variables specifically CEO related characteristics is a major problem. In this context, this study data is the first to explore the insights under two competitive theories.

KEY WORDS: CEO, Firm Performance, Stewardship Theory, Developing Country

*Assistant Professor Marketing, College of Business-Rabigh, King Abdulaziz University, Saudi Arabia
mabkhan@kau.edu.sa; khanasif79@gmail.com

**Associate Professor, Lahore Business School The University of Lahore, Pakistan.

***Associate Professor, Lahore Business School The University of Lahore, Pakistan.

****Assistant Professor Finance, College of Business-Rabigh, King Abdulaziz University, Saudi Arabia,
P.O.BOX. 344, Zip Code 21911.

Recibido: 17/01/2019

Aceptado: 12/03/2019

Dos caras de la moneda (Agentes o administradores)

RESUMEN

El propósito de este documento es explorar empíricamente que, en la práctica, los CEO son agentes o administradores en el contexto de Pakistán. Para probar el modelo hipotético, el tamaño de la junta, la independencia de la junta, la dualidad y la permanencia del CEO, se toman como variables explicativas para estudiar la hipótesis establecida bajo la perspectiva de la agencia y la administración. El análisis de panel de efectos fijos se emplea para probar la hipótesis declarada. Se forman las hipótesis relacionadas con los atributos del consejo y del CEO. Los hallazgos sugieren que la perspectiva de la administración está en el lado más débil en comparación con la perspectiva de la agencia en el sector corporativo de Pakistán. Los resultados de este estudio carecen de generalización debido a su entorno único y menores fuentes de divulgación. Este estudio contribuye a la escasa bibliografía disponible para los países en desarrollo en comparación con las economías desarrolladas, ya que la disponibilidad de datos para las variables, específicamente las características relacionadas con el CEO, es un problema importante. En este contexto, los datos de este estudio son los primeros en explorar los conocimientos en dos teorías competitivas.

PALABRAS CLAVE: CEO, desempeño de la empresa, teoría de la administración, país en desarrollo

Introduction

Good corporate governance is an important ingredient for economic development of a country because it plays vital role in enhancing the financial performance of firms and increasing their access to outside resources. In the context of emerging markets, good corporate governance helps to achieve number of policy objectives such as minimizing the likelihood of financial crisis, strengthening property rights, minimizing operational and capital costs and leads to efficient market development. The boost in managerial and financial scams has forced investors to look for professional management in managing company's business. La Porta, Lopez-de-Silanes, Shleifer, and Vishny (2000) Defined

corporate governance as “a set of mechanisms through which outside investors protect themselves against expropriation by the insiders.” They define “insiders” as both managers and controlling shareholders. To avoid corporate crisis, many guidelines and codes of corporate governance framework are developed (e.g. OECD Code, The Sarbanes-Oxley (SOX) Act, UK Corporate Governance Code).

Directors of the board and executives are accountable for the performance of the organization. Though this ultimate goal is valid to all employees of the firm. According to, Serfling(2014) executives ultimately accountable for to achieve the ultimate goals of the firms to board of directors and Chairman of the firm. CEOs hold the vital obligation, they are usually given broad control within firms and accused with the prime policy, management style, behavior type, private network, and tactic of their firm. Furthermore, the executives are on average get very high compensation as compared to an average employees of the firm. As, one would accept that the selection of executives for firm is not less than any challenging task. From signaling perspective, investors have their fears on the appointment of executive officers .Considering the importance of chief executives, it is vital to discover which attributes of chief executives impact the firm to enrich the firm value. The existing literature on executive’s impact on firm’s financial performance has designated that they have the competency to enhance the firm performance. Various characteristics of CEO like gender, qualification and network affect the firm -performance (Bertrand & Schoar,2003).

Historically, focus of the researchers was to study the role of corporate governance and its impact on firm performance mainly for developed countries like Rajagopalan and Zhang (2008), Shleifer and Vishny (1997) . Hence, researchers have paid less attention to explore connection among various corporate governance practices and firm’s performance in case of emerging economies especially South Asian countries. Abundant literature existed on corporate governance and firm’s financial performance, however bulk of them are associated to developed countries (Akbar, Poletti-Hughes, El-Faitouri, & Shah, 2016; Bathula, 2008; Klein, 2002) comparatively less focus is paid to the impact of executives

attributes- firm performance link for developing countries under agency and stewardship viewpoint. So, considering the fact that emerging economies hold varied governance, institutional and political conditions, Pakistan is selected as representative of developing economies for current study to fill the gap related to the topic and to study the practical aspect of agency-stewardship theory in emerging country.

The purpose of current study laid on the prevailing literature of board and CEO attributes and firm's performance based on emerging countries. Though, the non-availability of any data stream in developing countries fences the research in corporate-finance. Therefore, it would be interesting to explore the link of CEO-attributes and firm performance whether this link results in the similar way as it works for emerging economies. In the perspective of Pakistan, no inclusive study is detected related to the impact of CEO attributes on firm performance.

Board characteristics are an important aspect of corporate governance and abundant literature is available on the link between board parameters and firm's financial performance. Afrifa and Tauringana (2015) Stated that board attributes and financial performance are significantly associated. According to Ebrahim, Battilana, and Mair (2014), impact of board size, board meetings and audit committee independence on market value measured by Tobinq is positive and significant. No optimum size of board is established for firms yet Nahar Abdullah (2004)reported negative association between board size and financial performance.

The aim of this study is to test the impact of board and CEO characteristics on firm performance in emerging market context to establish in Pakistan's corporate sector CEOs are working as agents or stewards? . There is plenty of literature available regarding the corporate governance practices and firm performance for developed markets. However, the evidences in this regard for developing and emerging markets especially in south Asian context are very limited. Emerging economy is a recent phenomenon that passes through a transition phase in terms of developing corporate governance codes and its practices. Further, corporate governance framework in these countries are mostly influenced by

Anglo American governance model. The regulatory authorities and institutions have issued a number of corporate governance guidelines to strengthen their monitoring and to protect shareholders rights. Therefore, it would be interesting to explore how corporate governance practices affect the performance of firms in emerging markets of south Asian region. Further, how emerging economies implement the code of good corporate governance and whether the same results are obtained as in the case of developed economies? Pakistan is a prominent and rapidly growing emerging economy of the south Asian region.

The code of corporate governance in Pakistan has been refining for the last 10 years with the consultation of practitioners and researchers. As it first established in March 2002 by Security and Exchange Commission of Pakistan (SECP) in order to strengthen regulatory framework and its enforcement is considered as a major step in the corporate governance in Pakistan. The issued codes were consistent with the practices of developed countries. Major emphasis was given to the reforms related to the board of directors in order to ensure accountability and transparency. Therefore, it is imperative to explore how the refinement in code of corporate governance improve the performance of corporate sector in Pakistan. There are limited studies available investigating the link between corporate governance practices and financial performance in Pakistan's perspective having their own unique limitations. Ahmed Sheikh and Wang (2013) conducted a study based on only Islamic commercial banks which is a very small part of banking sector of Pakistan. Akbar, Poletti-Hughes, El-Faitouri, and Shah (2016) studied only 12 firms of the Textile sector of Pakistan and Javed, Younas, and Imran (2014) restricted on only 58 listed firms of Pakistan Stock Exchange as a sample.

This study focuses to fill the gap in related literature in context of Pakistan by two ways; first, by taking recent data from 2009-2018 of the selected companies from six leading sectors of Pakistan's economy, second; it pays attention to cover much ignored aspect of stewardship in Pakistan specific studies. Panel Data analysis by fixed effect model is employed to explore the impact of board attributes on firm's financial

performance. The findings show that agency perspective is much stronger than stewardship.

The remaining of the paper is as follows. In section 2, theoretical background and hypothesis presented. Section 3 explains the sample and data along with measurement of variables, and section 4 presents method of analysis and results and finally section 5 presents Discussion, conclusion and limitations of this study.

1. Theoretical Perspective and Hypothesis Development

The two main concepts of corporate governance are addressed and explored in this paper, i.e. which are the agency and stewardship theory.

1.1. Agency Theory

This theory proposed by Berle (1932), Jensen and Meckling (1976) which in line with Smith (1937). As per agency theory, the management and ownership must be separate, the central idea of agency theory is that the managers are self-centered and pay less attention to the interests of shareholders. For example, the managers might be more intended towards lavish offices, luxurious cars along with other doles which incur the cost tolerated by the owners. The managers who hold supreme knowledge and capability about the firm are in a position to follow self-interests rather than shareholders (owners) interests (Fama, 1980; Fama & Jensen, 1983). The managers preference of self-interests over shareholders inflate the costs to the firm, and in result firm observe decline in profitability and competitiveness in the market. In case, managers optimize their self-interest at the cost of firm's profitability then the trust gap between managers and owners widen and therefore, there is severe necessity to strictly screen the management by the board to confirm the shareholders interest. According to Donaldson and Davis (1991) board of directors is considered as the core monitoring yard stick to safeguard shareholders interest. The main function of the board is to monitor and control the topmost management team and the Chief executive to avoid any wrongdoings (Peng, Zhang, & Li, 2007).

1.2. Stewardship Theory

This theory is based on opposite perception of agency theory, which assumes that principals and agents possess different interests and that agents are self-centered and take care of their self at the cost of shareholders. This notion proposes that managers will act as accountable stewards to control the firm's resources, in case principal left on their own. It proposes that the managers are dependable and worthy agents of the assets allotted to them, which marks monitoring surplus (Davis, Schoorman, & Donaldson, 1997; Donaldson & Davis, 1991). This theory suggested that impartiality should be given to managers and that freedom based on trust, which diminishes the agency cost.

1.3. Board Size and Firm Performance

According to Agency perspective, board of directors are responsible for the protection of shareholders wealth as well as liable for the growth of the organization. When the notion of corporate boards establishes, it can instinctively expect that a superior board is desirable. It permits the insertion of more diverse board members bringing diverse areas of skill; however, large board size roots numerous problems of management and communication, decline board usefulness in monitoring agents (Eisenberg, Sundgren, & Wells, 1998; Jensen, 1993; Lipton & Lorsch, 1992). Moreover, larger boards have been observed to characterize by less ability of directors to condemn top managers and to analyse and argue utterly firm performance (Lipton & Lorsch, 1992).

Considering the importance of board of directors, the debate related to board size is still alive in corporate world. According to Jensen (1993) that big boards are more expected to bear larger costs of monitoring the firms and they are little probable to perform active role where size of the board increased from seven to eight members. The agency theory advocates that as size of the board increases, the agency conflict connected to the director is free riding rises and —the boards become more figurative and little role of the management practice (Hermalin & Weisbach, 1988). Larger boards are more expected to be measured by the CEO instead of the board. It will provide the managers to

follow their self-interests rather than to align the shareholders and managers interests, which lead towards the rise of agency problems and thus worse firm performance (Hermalin & Weisbach, 1988). In large board size to reach an agreement is not an easy task due to a variety of suggestions (Kholeif, 2008). Thus, decision processes in larger boards are slower and less proficient. In sum, all of these may enhance the agency problem, as with least communications and management, this will lead to minimizing the board's member's capability to regulate and monitor management which may affects performance poorly.

Similarly, Ahmed, Hossain, and Adams (2006) discuss that formation and adoption of new ideas and acceptance of diverse suggestions are least probable to take position in larger boards, which will results in hurdle to improve the boards function to offer the manager with upright notions and assistances. Therefore, the problem in the board suggests that board's members are less expected to work for shareholders-interests, so agency problem arises. According to Cascio (2004), to-date debate still not over about the optimum size of the board. Precisely, there is no rule of thumb in the corporate world to decide the size of board necessary or sufficient for the firm: some studies in favour of small boards and some studies supported larger boards. Yermack (1996) reported the characteristics of large boards as less rational in decision making and worse communication which might decrease the board members capacity to monitor the management competently. This cause larger agency problems and costs lead towards worsening firm's performance.

Numerous studies reported positive characteristics of large board as, broader demographic diversity of board members, variety in communications, experience, abilities, and attachments outside the company, which leads to firm's superior performance (Arosa, Iturralde, & Maseda, 2010; Dalton, Daily, Ellstrand, & Johnson, 1998; Gales & Kesner, 1994; Haniffa & Hudaib, 2006; John & Senbet, 1998; Lehn, Patro, & Zhao, 2009; Yawson, 2006). The larger board also perform a vital role in improvement and enrich the results of the decisions due to diverse thoughts and aids, which helps to offer the management with

innovative thoughts and ideas which may results in a reduction in the agency cost and lead to superior performance (Lehn et al., 2009). Therefore considering the agency perspective and diverse literature ,we hypothesised as:

H1: Board size has positive impact on firm performance (Agency Perspective)

H1A: Board Size has negative impact on firm performance (Stewardship Perspective)

1.4. Board Independence and Firm Performance

Agency theory advocates the independence of the board in favor of shareholders. Boards are controlled by core managers, whose performance is supposed to be better if they take effective decisions and employ extreme control, however, in modest business environments, such main insiders have low possibility of survival because of the absence of segregation between control and management (Fama & Jensen.1983). It establishes a notion for the need of non-executive directors to confirm board independence from management by clearly separating the control and management functions. Also, internal managerial disparities might be mediated by non-executive directors, as well as refining relations between internal management and other stakeholders. Consequently, non-executive directors are in a superior position to practice the monitoring functions as compared to executive directors. Jensen (1993) describes that presence of independent directors helps in productive disparagement, as they will provide their opinions without adulation or compulsion. Furthermore, independence of directors will assist in controlling information asymmetry between executive directors and the shareholders. It will shrink the agency issues and hence maximize the shareholder's wealth. Pfeffer and Salancik (1978) State that non-executive directors bridge the gap of information and improve the networking with stakeholders and the society and regarding their experience and skills by providing the management assistances on strategic policies and investments decisions and hence protect the firm resources and minimize ambiguity. In contrast, B. Baysinger and Hoskisson (1990); Agrawal and Mandelker (1987) argued from stewardship theory

perspective that non-executive directors are usually part-time workers. Therefore, their capability to monitor and counsel the board weaken. Further, the absence of the information that they have, and the lack of concerning information on daily activities constraints non-executive directors capacity to apply their task to increase firm performance. Thus, the insider directors are superior to commence the monitoring purpose of assessing the top managers (B. Baysinger & Hoskisson, 1990).

Various studies (Arosa, Iturralde, & Maseda, 2013; Gordini, 2012; Khan & Awan, 2012; Kumar & Singh, 2012; Weir, Laing, & McKnight, 2002) investigate the impact of non-executive directors on firms financial performance. Prior research does not provide any obvious connection between board independence and firm performance. For instance, early work by Vance (1964) reported a positive connection between the proportion of independent directors and some performance measures. Similarly, B. D. Baysinger and Butler (1985), Hermalin and Weisbach (1991) and MacAvoy, Cantor, Dana, and Peck (1983) all reported no significant correlation between board independence and different measures of firm financial performance. Whereas, few studies suggest that the firms with a high proportion of independent directors might perform worse. Yermack (1996) reported a significant negative association between the percentage of independent directors and market measure performance but no significant connection for several other performance indicators like sales to assets ratio. Thus, from agency and stewardship perspective, we hypothesised as:

H2: Board Independence has positive impact on firm performance (Agency Perspective)

H2A: Board Independence has negative impact on firm performance (Stewardship Perspective)

1.5. CEO Duality and firm performance

CEOs possess a vital role in the growth of the firm (Raheja, 2005). CEO duality arises if the Chairman also works as Chief Executive Officer (CEO) of the firm. Generally CEO

retain the executive responsibilities to initiate the firm's business; whereas, the Chairman has the responsibilities to regulate the board's matters. In precise, duality proposes the clear direction of a unique leadership which might proposed a quick reaction to the externalities of the firm. Furthermore, duality enriches the discretionary clouts of CEO to observe and control the actions in the best interest of the firm (Boyd, 1995). The agency notion proposes that conflict between executives and shareholders can be minimized by classifying the decisions of management and decisions related to control the firm separately. Thus, the principal responsibility of CEO to pledge and device the tactical decisions while boards are accountable to validate and monitor the decisions taken by Chief executives. Though, the dual status of CEO might weaken the control of the board and negatively affect the firm's performance. In contrast, from resource dependence and stewardship perspective, CEO duality helps to take strategic decisions by the CEO and in result increase firm's financial performance. According to the study of Pfeffer & Salancik, (1978) duality enhances the power base for strategic decision making and active execution likely to vanish firm's indolence. While , Brickley, Coles, & Jarrell (1997) was inconclusive in this regard.

In corporate finance literature, limited research have emphasized the link between the CEO's duality and capital structure of the firm, though earlier studies reported mixed results. According to the findings of Fosberg(2004) based on the perspective of advanced countries , the CEO's duality is helps to increase the debt for the organization, whereas these findings are not statistically significant. Similarly, in another research, Kyereboah-coleman & Biekpe (2006) reported a negative and statistically significant association between CEO's duality and leverage, claimed that in case of CEO's duality, the agency cost rise and in reaction lenders averse to invest in such firms. Contrary, some observed positive association between leverage and CEO duality. Abor (2007) Observed positive and statistically significant relationship between CEO duality and leverage. While ,Bokpin and Arko (2009) stated positive but statistically insignificant association between leverage and CEO duality, argued that in case of CEO's duality firms desire to utilize debt over increasing equity.

The dual status of CEO might fade the overall management and effect the firm performance. From a theoretical viewpoint, agency problem can be weakened by the disjoint role of CEO and Chairman. As per an earlier study, Fama & Jensen (1983) , CEO duality offers broader power to govern and control the board functions along with managerial activities (Boyd, 1995). Consequently, generally, related to CEO's duality- firm performance link, various outlooks are observed in the literature. Through considering specific leadership characteristics , CEO duality can help to dazed the managerial problems and better able to device strategic decisions (Pfeffer & Salancik, 1978) . Considering the theoretical and empirical literature, we hypothesized as:

H3: CEO duality has negative impact on firm performance (Agency Perspective)

H3A: CEO duality has positive impact on firm performance (Stewardship Perspective)

1.6. CEO Tenure and firm performance

Tenure, Period of the agreement to serve the firm is another very significant factor among various characteristics to inspect the impact of CEO on firm's performance. Considering the element, that personality of CEO's and style of leadership's vary among CEO's, therefore, to effectively manage the firm, CEO required longer period of time (Grimm & Smith, 1991), which suggests that strategies will be more steady and primes towards effective decision making, efficient governance and eventually improved performance (Hambrick & Fukutomi, 1991). So as to attain the firms goals, CEO's claim large tenure , which help them to device their own pattern of governing the firm. As per , Hambrick and Fukutomi (1991) larger tenure of CEO's have their own virtues as motivation towards firm and grid within the capital market are linked with large tenure.

In contrast, Miller (1991) have varied view point that CEO's motivation declined as the tenure increase as well as attraction within the firm which leads to apathy among different sectors of the firms. As per, Adams, Almeida, and Ferreira (2005) suggested that the impact of CEO's power on stock returns by utilizing the proxy of power and reported an

insignificant relationship between CEO's tenure and stock returns. Likewise, Barker III and Mueller (2002) reported a negative association between CEO's tenure and innovation, Research and development expense as proxy of innovation investment, however the association was insignificant.

The CEO's tenure might affect the decision making and effect shareholders' wealth. For example, when CEO's approaches to their retirement then their performance might be judged on the basis of current measure of performance as these gauges are historical selections for the investors, while CEOs in the starting of their career of their contract might be best examined on the basis of market-based performance indicators which based on the future perspective of the firm and their effect on shareholders wealth. CEO's tenure is likely to have a positive impact on the capital structure. Removal from job is vital concern of CEO's. It's not only leads to the loss of a current job but also, lessen future career options (Brickley, Linck, & Coles, 1999). According to, Iossa and Rey (2014) argument that CEO's having more career concerns might overinvest in vague projects, moreover observed that longer the CEO's tenure, the large the firm's investment. Therefore, CEO's tenure have an impact on financing and investment decisions which ultimately affect firm's financial performance. CEO's tenure is likely to have a positive impact on firm's financial performance. In the today's corporate world, retaining of CEO for a longer period is a matter of concern for the firms, because frequent turnovers of CEO's influence governance and performance adversely (Morck, Shleifer, & Vishny, 1988). Stewardship theory advocate in favor of larger tenure to get the advantage of the true capabilities of the CEO, whereas agency theory is contrary that large tenure make CEO's less challenging and prefer own interests. So, considering the arguments and empirical literature, for this study, we hypothesis as:

H4: CEO tenure has a negative impact on firm performance (Agency Perspective)

H4A: CEO tenure has positive impact on firm performance (Stewardship Perspective)

2. Data and Methodology

2.1. Sample and Data

Non-probability sampling is employed to select the listed firms for this study. Firstly six leading sectors of the economy are selected on the basis of their contribution towards GDP and their market capitalization, then at second stage the firms are selected from those sectors on the basis of their availability of balance sheets / annual reports for the selected time period 2009-2018. Total 179 firms are selected which become 32% of the total listed firm in Pakistan Stock Exchange. The number and percentage of selected firms from various sectors is presented in table-1

Table 1 Sample Distribution

Sector	No. of Companies (Sectoral percentage)
Banking	25 (61.92%)
Insurance	6 (17.89%)
Cement	20 (82.67%)
Fuel & Energy	20 (64.85%)
Sugar	23 (65.69%)
Textile	85 (53.74%)
Total	179 (31.82%)

2.2. Measurement of variables

Most widely used indicators of accounting and market measures of financial performance are employed in this study, proposed by (Arouri, Hossain, & Badrul Muttakin, 2014, Kallamu & Saat, 2015). Board and CEO's characteristics are employed as explanatory variables for this study and firm specific characteristics are employed as control variables for this study (Boschen & Smith, 1995; Frank & Goyal, 2007; Sapienza,

Zingales, & Maestripietri, 2009; Zwiebel, 1996). The operationalization of the dependent, explanatory and control variables are explained in table 2.

Table 2 Variables Identification / Description

No.	Variables Related to...	Variable Name	Abbreviation	Type	Description
1	Board Characteristics	Board Size	BS	Scale	Total number of directors on the board
2		Board Independence	BI	Scale	The ratio of independent directors to total directors
3	CEO Characteristics	CEO Duality	CEOD	Binary	CEO Duality: "1" in case CEO is also Chairman ,Otherwise "0"
4		CEO Tenure	CEOT	Scale	Duration of contract to serve the firm
5	CEO related Control Variables	CEO Age	CEOA	Scale	CEO Age in years
6		CEO gender	CEOG	Binary	"1" IF CEO of the firm is male otherwise "0"
7		CEO Education	CEOEDU	Binary	"1" IF CEO have financial education , otherwise "0"
8	Firm Specific Control Variables	Total Shares	TS	Scale	Total number of shares
9		Total Assets	TA	Scale	Total Assets
10	Performance	Return on Assets	ROA	Scale	Ratio of total profit(loss) to total assets
11		Return on Equity	ROE	Scale	Ratio of total profit (loss) to total equity
12		Tobinq	Tobinq	Scale	Ratio of market value to total assets

2.3. Model

In this section, we present the theoretical and econometric model. To examine the effect of board –CEO’s attributes on firm’s financial performance according to proposed theoretical model (Figure 1), Panel data regression analysis is performed to test the following econometric models:

$$\text{Firm Performance}_{ij} = \alpha + \beta_1 \text{BS}_{ij} + \beta_2 \text{BI}_{ij} + \sum \beta_c \text{ Firm specific control} + \sum_j^m \beta_j \text{ year dummies}_j + \varepsilon_{ij} \text{ ---- (1)}$$

$$\text{Firm Performance}_{ij} = \alpha + \beta_1 \text{CEOD}_{ij} + \beta_2 \text{CEOT}_{ij} + \sum \beta_{\text{CEO related Control}} + \sum \beta \text{ Firm Specific control} + \sum_j^m \beta_j \text{ year dummies}_j + \varepsilon_{ij} \text{ ---- (2)}$$

Model 1 and 2 are the econometric models in which market and accounting measures are employed as outcome variable and CEO attributes are taken as explanatory variables along with firm's specific characteristics as controls variables and β 's represent the coefficient of explanatory variables.

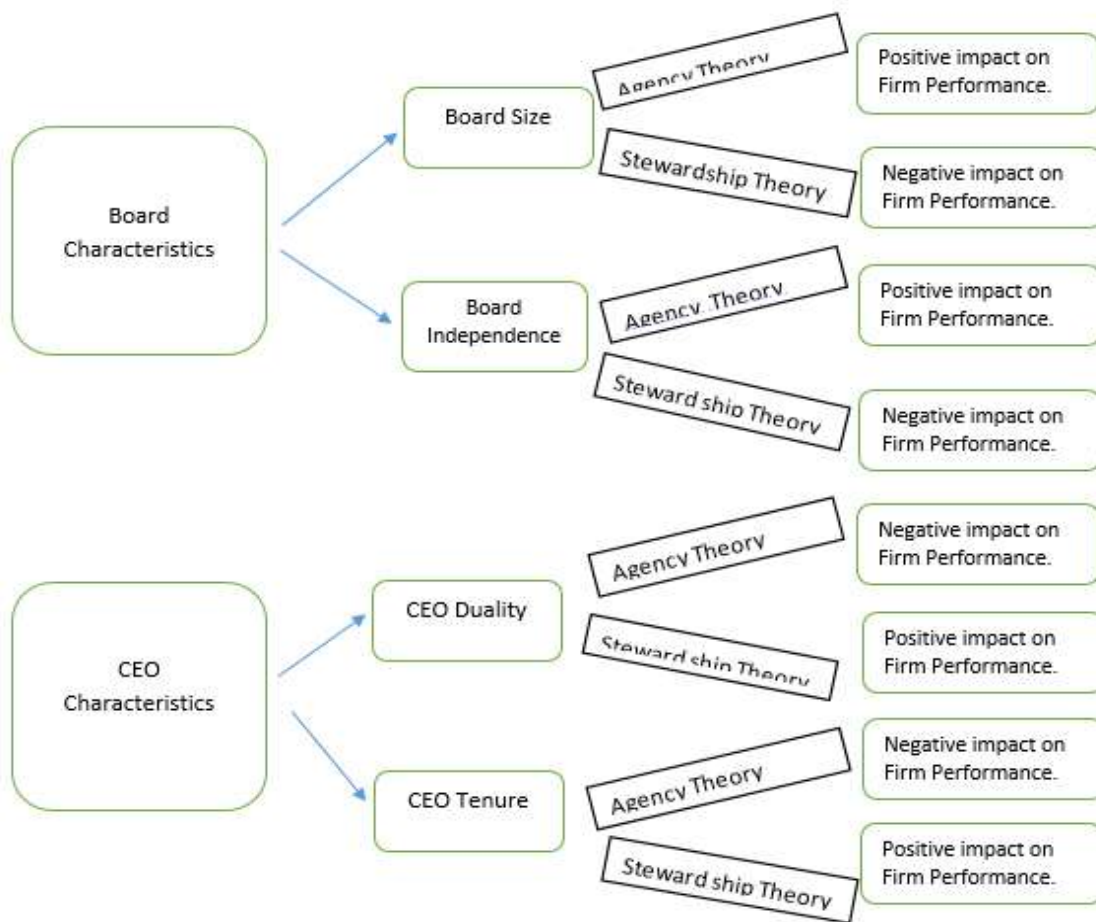


Figure-1: Purposed Theoretical Model

3. Empirical results and Discussion

3.1.Descriptive Statistics

Table-3 present the descriptive statistics of categorical variables. The sample contains 17% of the firms where CEO's are also Chairman of the firms, while in 83% of the firms, duality does not exist. In comparison to other countries, in Hong Kong 41% of the firms CEO duality exists (Yan Lam & Kam Lee, 2008) and in comparison to U.S.A, CEO's duality in Pakistan is observed to be on lower side, though the trend of CEO's duality in U.S.A is on downward, in last two decades its declined from more than 75% in 1990s to just 50% in 2016 because of the increasing consciousness of the separation of Chairman and (Duru, Iyengar, & Zampelli, 2016).In selected firms, 16 % CEO's have specific management educational degree, like Master of Business Administration (M.B.A) / Master of Public Administration (M.P.A). In sample , 23% of the CEO's are female ,which is very low as likely in male-dominated corporate sector where chances for women's are very low due to the traditional prospect of Pakistan, this percentage seems to be very low in comparison to advanced countries,e.g in U.K where 41% of the firm's CEO's are women (Pasaribu, 2017).

Table 3 :-Descriptive Statistics for Dichotomous Variables

Categorical Variables	Unit	Yes	No
CEO-Duality	%	17	83
CEO-Financial Education	%	16	84
CEO Gender(Male-1,Female-0)	%	77	23

Table- 4 present the descriptive profile of continuous variables of this study, Descriptive statistics are presented in form of minimum, maximum, average and variation. Average board size is observed to be 8 with range of 4 to 15 members which is comparable with a study based on Singapore and Malaysian firms reported by Bradbury, Mak, and Tan

(2006). It is found that 0.2% of the sample having board size 4 and only 0.1% of the boards have 15 members in the board. Board independence described by the proportion of independent directors in board is 28% in average with variation 18%, 10.4% of the sample firms having no board independence while 79% of the firms having 33% board independence as per codes of SECP.

Table 4:-Descriptive Statistics of Quantitative Variables

CEO-Characteristics	Unit	Min	Max	Mean	S.D
Board Size	Num	4.00	15.00	7.87	1.40
Board Independence	%	0.00	0.33	0.28	0.18
CEOTenure(Years)	No.	1	5	1.39	0.73
CEO Age(Years)	No.	32	69	46.2	6.99
Total Shares	bil No.	0.5	27.62	0.49	2.2
Total Assets	bil Rs.	0.01	496.2	18.1	42.7
ROA	Ratio	-4.11	5.57	0.02	0.32
ROE	Ratio	-319.4	93.61	-0.12	9.94
Tobinq	Ratio	0	525.6	5	32.3

The CEOs job tenure is found to be 1 to 5 years with an average of 1.4 years which showed that firms are hesitant to appoint CEO for longer period of time, while in comparison, Vintila & Gherghina (2012) for firms of U.S.A average tenure is 10 years. The range of age of CEO's in the sample is observed to be 32-69 years with average age is found to be 46 years and most of the CEO's belong to age of 40+ years, in contrast to developing country (U.S.A) the age bracket of CEOs is 34 to 75 years with an average age 55 years (Vintila & Gherghina, 2012).Averages return on assets is 0.02 with standard deviation of 0.32. Tobinq which is considered as the indicator of market performance is 5 in average with s.d 32.25. The average total assets across the selected time period and sectors is 18.07 bil rupees and the average number of shares is 0.52 bil.

Table-5 represent the findings of the tests of the assumptions of sampling, randomness and normality of the scaled variables of board-CEO and firm's performance indicators, Z-stat, and their p-values endorse that size of the board, independence of the board, CEO's tenure, CEO's age, accounting indicators ROA, ROE, and market measure Tobinq does not fulfil the assumptions of randomness and normal distribution. So, in comparison the board and CEO's scaled characteristics and firm's performance indicators with respect to binary variables of CEOs, e.g. CEO's duality, gender and financial educational background, Mann-Whitney U test is performed to explore is the difference between two groups is statistically significant or not.

Table 5 Test of Randomness and Normality

Variables	Runs Test		Kolmogrov-Smirnovtest	
	Z-Stat	Sig.	Z-Stat	Sig.
Board Size	-13.63	0.00	23.07	0.00
Board Independence	-23.79	0.00	13.38	0.00
CEO Tenure	-11.21	0.00	15.34	0.00
CEO Age	-18.42	0.00	7.56	0.00
ROA	-17.43	0.00	11.12	0.00
ROE	-11.33	0.00	13.55	0.00
Tobinq	-23.98	0.00	16.24	0.00

Table-6 presents the Mann-Whitney U test .Board size varies with respect to CEO duality and educational background, while board independence varies with respect to CEO gender and educational background. CEO tenure and age are significantly different between the firm where CEOs duality exist and duality not exist, performance indicators also varies with respect to CEO demographic variables.

Table 6 Mann-Whitney U test

	Duality	Gender	Financial Education
Variables	Z-Stat (Sig.)	Z-Stat (Sig.)	Z-Stat (Sig.)
Board Size	-3.12(0.00)	-1.57(0.14)	-3.94(0.00)
Board Independence	-1.91(0.10)	-2.94(0.01)	-3.98(0.00)
CEO Tenure	-2.14(0.00)	-0.38(0.77)	-1.05(0.04)
CEO Age	-3.80(0.00)	-2.37(0.03)	-5.80(0.00)
ROA	-2.58(0.01)	-1.37(0.36)	-0.42(0.60)
ROE	-1.86(0.05)	-0.81(0.04)	2.66(0.01)
Tobinq	-4.14(0.00)	-2.15(0.12)	0.01(0.99)

3.2. Panel Data Regression Analysis

As our data is related to 2009-2018 of 179 firms belonging to six different sectors which constitute panel data. Panel data pool the time-series and sectional and time series observations. Gujarati (2014), states the merit of panel data, that provide “more information, more variability, less collinearity among variables, more degrees of freedom and more efficiency”. Panel Data regression analysis have three different models namely, pooled regression model, fixed effect model or Least square dummy variable (LSDV) model and Random effect model based on the type of sampling employed, type of data and restrictions imposed on the model. Dougherty (2007) Suggested that, fixed effect model is suitable if non-probability sampling scheme is employed. Hence, under fixed effect model, we assume that in both of above stated models, explanatory variables and residuals are correlated and intercept varies among sectors.

To examine the impact of board attributes on financial performance and to estimate the econometric model 1 and to test the hypothesis from H1, H1A, H2 and H2A, panel data regression analysis under fixed effect assumptions are estimated. Board size, and board

independence are taken as explanatory variables, total assets and number of shares are employed as control variables. Three different performance indicators are taken as dependent variables, among them, ROA and ROE are considered as accounting measures, and Tobinq is taken as an indicator of market performance.

Table-7 presents findings of fixed effect regression analysis. ROA, ROE and Tobinq are taken as dependent variables in 1-1, 1-2 and 1-3 respectively to regress with board characteristics along with control variables under fixed effects assumptions. Dependent variables are winsorized at the 1st and 99th percentile to avoid the problem of outliers. Zero is allotted to all missing values of the employed (Fee, Hadlock, & Pierce, 2008; Hale & Santos, 2009). Size of assets and total number of shares of are employed as proxies of size and treated as control variables. To deal with the concern of heteroskedasticity, clustered standard errors are used (White, 1980). Model specification is established by F-stat and p-values as well as REMESE test, all models are observed to be statistically significant.

Table 7- Regression Analysis-Board Characteristics VS Financial Performance

Model	1-1	1-2	1-3
	ROA	ROE	Tobinq
Variables	b(Sig.)	b(Sig.)	b(Sig.)
C	1.34(0.00)	0.18(0.00)	0.79(0.07)
Board Size(BS)	0.15(0.09)*	0.01(0.03)**	0.06(0.09)*
Board Independence	-2.71(0.00)***	-0.15(0.00)***	-3.45(0.02)**
ln TS	0.05(0.09)*	0.04(0.00)***	0.07(0.58)
LnTA	0.29(0.02)**	0.42(0.09)*	0.22(0.04)**
Lag of dependent	0.29(0.02)	0.28(0.00)	0.36(0.00)
BS-Square	-0.03(0.00)***	-0.03(0.03)**	-0.08(0.00)***
BI-Square	36.17(0.00)***	27.33(0.00)***	19.13(0.00)***

Year Dummies	YES	YES	YES
Explanatory Power(Adjusted-R-Square)	0.39	0.36	0.41
Model Significance F-Stat (Sig.)	206.69(0.00)	25.44(0.00)	8.79(0.00)
Wald test: Chi-square(Sig.)	1.31 (0.34)	1.75(0.10)	1.53(0.09)
D.W test	1.89	1.69	1.49
REMESE: t-Stat	85.41(0.00)	45.92(0.00)	1.81(0.23)
REMESE: F-Stat	781.71(0.00)	959.55(0.00)	1.45(0.23)
REMESE: Likelihood Ratio	230.33(0.00)	147.29(0.00)	1.43(0.23)

Table -7 presents the results of Panel Data regression analysis, regression coefficient along with their p-values are presented in parenthesis against each board attribute-test of each model of 1-1 to 1-3 suggest that all models are significant at p-values for each of them is less than any standard level of significance. The explanatory power of the models from 1-1 to 1-3 is observed to be in range 36% to 41% which is considered to be a good explanatory power. Among different board characteristics, the regression coefficient of board size is positive, and their p-values suggest their significance. Whereas the coefficient of board independence is negative and statistically significant.

Table 8 Regression Analysis: CEO Characteristics vs. Firm Performance

Model	2-1	2-2	2-3
Dependent Variable	ROA	ROE	Tobinq
Variables	b(Sig.)	b(Sig.)	b(Sig.)
C	-0.99(0.00)	-0.53(0.61)	-2.19(0.00)
Duality	-0.91(0.00)***	-0.96(0.01)**	-0.99(0.00)***
Tenure	-0.01(0.02)**	-0.04(0.06)*	-0.72(0.03)**
Education	0.03(0.00)***	0.04(0.09)*	0.73(0.00)***

Age	0.92(0.00)***	0.10(0.00)***	0.40(0.03)**
Gender	0.26(0.08)*	0.35(0.06)*	0.29(0.01)**
LnTS	1.39(0.00)***	0.01(0.00)***	0.01(0.55)
LnTA	0.88(0.02)**	0.98(0.41)	0.06(0.00)***
Tenure-Square	-0.07(0.00)	-0.03(0.00)	-0.09(0.09)*
Lag of dependent	-0.75(0.01)***	-0.92(0.00)***	0.03(0.00)***
Year Dummies	YES	YES	YES
Adjusted R-Square	0.45	0.53	0.31
Model-Significance	77.34(0.00)	183.67(0.00)	199.31(0.00)
Wald test	111.62(0.00)	85.75(0.00)	19.53(0.00)
Autocorrelation	2.14	1.27	1.86
REMESE			
t-statistic	25.52(0.00)	1.49(0.11)	39.20(0.00)
F-statistic	641.00(0.00)	1.61(0.10)	921.19(0.00)
Likelihood-Ratio	555.83(0.00)	2.44(0.19)	624.52(0.00)

***, **, * Significant at 1%, 5% and 10% level of significance

The lag of dependent variable in each model employed to overcome the problem of serial correlation, and in the result, the D.W statistic is observed to be within range 1.5 to 2.5 which is an acceptable range in favor of no autocorrelation as suggested by Gujarati (2014). The REMSE test is applied to establish the linearity of the models. It is observed that the quadratic effect of board size and board independence, are statistically significant. Figure 3-2 and 3-3 confirm the non-linear trend of board size and board independence with ROA and ROE. Optimal board size is observed to be 12 and then decline the performance measures as board size increase from 12 which reflect the inefficiencies of large board size. Board independence has negative impact on performance but performance turnaround as

board independence increase from 15%, low independence might be neutralize the power of independent directors.

Table 8 presents the precise results of the estimated equations of model 2, CEO attributes such as Duality, Tenure are employed as explanatory variables and demographic attributes such as CEO's age, gender and education are taken as control variables to know the influence on ROA, ROE, and Tobinq. To minimize the variations, logarithmic transformation is used for quantitative variables of the study. Models 2-1 to 2-3 are found to be empirically significant by F-stat and their corresponding p-values. The regression coefficients and their corresponding p-values in the parenthesis suggest that among different CEO's attributes, CEO gender, Duality, Annual compensation, and education have a positive significant effect on accounting, and market measures. Gender of CEO's is taken as a binary variable, and the positive coefficient in all models divulges that the firms where CEO's are male perform much better than those having female CEO's. In this perspective, CEO's duality, is found to have negative and significant effect on performance indicators. The explanatory power of the model where market measure (Tobinq) is taken as outcome variable is 45% and for accounting measures (ROA) is 53% and 31% for ROE respectively. Chi-square statistic and Wald test endorse the selection of fixed effect model. The REMESE test is employed applied to check the assumption of linearity and non-linear terms are added in the models where linearity assumption not fulfil. It is observed that CEO tenure is non-linearly related to market and accounting measures.

Discussion, Conclusion & Suggestions

The hypothesis related to board size is in support of agency perspective .Board size, heavily dependent on resources, the average board size in south Asian firms is comparable with the board size of Singapore and Malaysian firms reported by Bradbury et al. (2006) and can be considered as small in comparison of American, British, Canadian, Spanish, French and Belgian firms with average board size of 12 or 13 directors(De Andres, Azofra,

& Lopez, 2005) and Japanese firms with average of 28 directors (Bonn, Yoshikawa, & Phan, 2004). The regression analysis support the hypothesis that in south Asian firm's board size and financial performance are positively associated which in line with various findings reported in literature as Adams et al. (2005) observed a positive impact of board size and financial performance based on U.S firms. Apart from the demerits of large boards in the form of less meaningful discussion, time consuming, and lack of cohesiveness, larger boards possess some positive attributes too. Larger boards are expected to be associated with an increase in board diversity in terms of gender, skills, nationality that positively affect financial performance. A meta-analysis consisting of 131 studies by Dalton et al. (1998) reported that larger boards are positively correlated with financial performance which, is in contrary to the findings of an earlier meta-analysis by Daily, Certo, and Dalton (1999).

Regression analysis explored that board Independence has negative impact on firm performance, which is against the agency perspective. One independent director is mandatory but 33% of the total number of board of directors is preferable by the codes of SECP. As per descriptive statistics, the average of proportion of independent directors is 28% which is lower than preferable bench mark of SECP as well as lesser than Malaysian listed companies reported by Hooy and Tee (2009) 39.5%. The proportion of independent directors vary significantly among sectors and time period of studied data. Correlation between board independence and firm performance is negative and statistically significant and as well as impact of board independence on financial performance is negative and statistically significant. Our findings are consistent with Nahar Abdullah (2004) but contrary with Bhatt and Bhattacharya (2015) that evidenced no relationship between independent directors and financial performance. The negative impact of independent directors and low proportion might be due to the tactics adopted by management in hiring of someone having no relevant experience, irrelevant background and submissive personality which defuse the powers of such directors. Wallison (2006) argued that the role of independent directors is to safeguard the rights of shareholders as well as of stakeholders and to avoid any likelihood of wrongdoing of executives in their self-interest.

The assumption based on CEO's duality- firm performance get empirical support that in Pakistan's corporate sector, CEO's duality does not perform better than those where duality exists, which mention the importance of the segregation of ownership and management as per agency perspective, which is advocated by Fama & Jensen(1983).

The hypothesis related to CEO's tenure- firm's performance is also empirically supported, that CEO's tenure and firm performance are negatively linked which support the agency notion, which indicate that the function of CEO in strategic decision making is very low and CEO's are just figureheads and Chairman's are more powerful than CEOs. The negative influence of CEOs tenure might be due to lack of, low compensation package, motivation, lack of managerial abilities which leads to firm's financial performance negatively, the results related to tenure is contrary to Alutto and Hrebiniak (1975) which reported positive impact of CEOs tenure- firm performance.

Board size is one of the important factors of corporate governance and board of directors is important for protecting the interests of shareholders and stakeholders. This study supports the hypothesis that board size and firm performance are positively associated, which is consistent with the findings of Belkhir (2009) though empirical results on board size and firm performance are inconclusive. Ujunwa (2012), reported negative relation between board size and financial performance. Large board size has its own merits but heavily dependent on the resources of the firm. Firm size and age are the determinants of board size(Coles, Daniel, & Naveen, 2008). This study finds negative relation between board independence and financial performance that raises questions on the role of independent directors in the board. The existence of independent directors on the board may lead to poor firm financial performance. The negative relation between board independence and financial performance might be due to the neutralization of the powers of independent directors by appointing such independent directors having irrelevant background or without awareness to exercise executive powers. With reference to the diverse literature of the relationship between board independence and a firm's performance, Wallison (2006) concludes that role of independent directors is not

associated with financial performance of the firm but is associated with better governance. They play the monitoring role to protect the shareholder's rights and to minimize the chances of executive director's wrongdoings in their own interest.

Specific to Pakistan's corporate sector, in practice, stewardship perspective is very weak. CEO's duality fades their performance which indicate their inadequacy to effective control on management. The link of CEO's tenure and firm performance are negatively linked which suggest that larger tenure make CEO easy going and their preferences shift from organization to personal interest. In conclusion precisely, current study explores that in general CEOs are not as powerful in Pakistan as in developed countries, which also suggest that Chairman and board are not in favor of stewardship outlook and averse to give strategic powers to CEO, which increase the agency cost and decay the firm performance. From agency theory outlook, the codes of governance in various countries do not differ to great extent but the successful employment creates the difference among the countries. Owners of the firms in developing countries are considered as power seekers, which is not a common phenomenon in developed countries, like USA and UK. The limited utilization of stewardship perspective increases the conflict of interest between CEOs and shareholders, which leads to the removal of personal benefits at the cost of minority shareholders.

This study has few limitations, which restrict their generalizability. Firstly, this study based on a single developing country where financial disclosures are likely to be on lower. Secondly, listed firms are selected by non-probability sampling, which restricts the generalization. Third, this study based on only CEOs characteristics available in balance sheets or annual reports of their firms, which minimize the selection of characteristics for the research. More insights for future studies can be explored on the topic in hand by overcoming the limitations of this study.

Acknowledgement

This project was supported by the Deanship of Scientific Research (DSR) at King Abdulaziz University (KAU), Jeddah, under grant number G: 332-849-1440. The authors, therefore, gratefully acknowledge DSR for technical and financial support.

Conflict of Interest

The corresponding author, on the behalf of all authors, declares that there is no conflict of interest.

References

- Abor, J. (2007). Corporate governance and financing decisions of Ghanaian listed firms. *Corporate Governance: The international journal of business in society*, 7(1), 83-92.
- Adams, R. B., Almeida, H., & Ferreira, D. (2005). Powerful CEOs and their impact on corporate performance. *The Review of Financial Studies*, 18(4), 1403-1432.
- Afrifa, G. A., & Tauringana, V. (2015). Corporate governance and performance of UK listed small and medium enterprises. *Corporate Governance*, 15(5), 719-733.
- Agrawal, A., & Mandelker, G. N. (1987). Managerial incentives and corporate investment and financing decisions. *The journal of finance*, 42(4), 823-837.
- Ahmed, K., Hossain, M., & Adams, M. B. (2006). The effects of board composition and board size on the informativeness of annual accounting earnings. *Corporate Governance: An International Review*, 14(5), 418-431.
- Ahmed Sheikh, N., & Wang, Z. (2013). The impact of capital structure on performance: An empirical study of non-financial listed firms in Pakistan. *International Journal of Commerce and Management*, 23(4), 354-368.
- Akbar, S., Poletti-Hughes, J., El-Faitouri, R., & Shah, S. Z. A. (2016). More on the relationship between corporate governance and firm performance in the UK: Evidence from the application of generalized method of moments estimation. *Research in International Business and Finance*, 38, 417-429.
- Alutto, J. A., & Hrebiniak, L. G. (1975). *Research on commitment to employing organizations: Preliminary findings on a study of managers graduating from engineering and MBA programs*. Paper presented at the Academy of Management meetings, New Orleans.

- Arosa, B., Iturralde, T., & Maseda, A. (2010). Ownership structure and firm performance in non-listed firms: Evidence from Spain. *Journal of Family Business Strategy*, 1(2), 88-96.
- Arosa, B., Iturralde, T., & Maseda, A. (2013). The board structure and firm performance in SMEs: Evidence from Spain. *Investigaciones Europeas de Dirección y Economía de la Empresa*, 19(3), 127-135.
- Arouri, H., Hossain, M., & Badrul Muttakin, M. (2014). Effects of board and ownership structure on corporate performance: Evidence from GCC countries. *Journal of Accounting in Emerging Economies*, 4(1), 117-130.
- Barker III, V. L., & Mueller, G. C. (2002). CEO characteristics and firm R&D spending. *Management science*, 48(6), 782-801.
- Baysinger, B., & Hoskisson, R. E. (1990). The composition of boards of directors and strategic control: Effects on corporate strategy. *Academy of management review*, 15(1), 72-87.
- Baysinger, B. D., & Butler, H. N. (1985). Corporate governance and the board of directors: Performance effects of changes in board composition. *Journal of Law, Economics, & Organization*, 1(1), 101-124.
- Belkhir, M. (2009). Board of directors' size and performance in the banking industry. *International Journal of Managerial Finance*, 5(2), 201-221.
- Berle, A. (1932). JR and GC Means, The Morden Corporate and Private Property. In: New York: MacMillan.
- Bertrand, M., & Schoar, A. (2003). Managing with style: The effect of managers on firm policies. *The Quarterly Journal of Economics*, 118(4), 1169-1208.
- Bhatt, R. R., & Bhattacharya, S. (2015). Board structure and firm performance in Indian IT firms. *Journal of Advances in Management Research*, 12(3), 232-248.
- Bokpin, G. A., & Arko, A. C. (2009). Ownership structure, corporate governance and capital structure decisions of firms: Empirical evidence from Ghana. *Studies in Economics and Finance*, 26(4), 246-256.
- Bonn, I., Yoshikawa, T., & Phan, P. H. (2004). Effects of board structure on firm performance: A comparison between Japan and Australia. *Asian Business & Management*, 3(1), 105-125.
- Boschen, J. F., & Smith, K. J. (1995). You can pay me now and you can pay me later: The dynamic response of executive compensation to firm performance. *Journal of Business*, 577-608.
- Boyd, B. K. (1995). CEO duality and firm performance: A contingency model. *Strategic management journal*, 16(4), 301-312.

- Bradbury, M., Mak, Y. T., & Tan, S. (2006). Board characteristics, audit committee characteristics and abnormal accruals. *Pacific Accounting Review*, 18(2), 47-68.
- Brickley, J. A., Coles, J. L., & Jarrell, G. (1997). Leadership structure: Separating the CEO and chairman of the board. *Journal of corporate Finance*, 3(3), 189-220.
- Brickley, J. A., Linck, J. S., & Coles, J. L. (1999). What happens to CEOs after they retire? New evidence on career concerns, horizon problems, and CEO incentives. *Journal of financial Economics*, 52(3), 341-377.
- Cascio, W. F. (2004). Board governance: A social systems perspective. *The academy of management executive*, 18(1), 97-100.
- Coles, J. L., Daniel, N. D., & Naveen, L. (2008). Boards: Does one size fit all? *Journal of financial economics*, 87(2), 329-356.
- Daily, C. M., Certo, S. T., & Dalton, D. R. (1999). A decade of corporate women: Some progress in the boardroom, none in the executive suite. *Strategic management journal*, 93-99.
- Dalton, D. R., Daily, C. M., Ellstrand, A. E., & Johnson, J. L. (1998). Meta-analytic reviews of board composition, leadership structure, and financial performance. *Strategic Management Journal*, 19(3), 269-290.
- Davis, J. H., Schoorman, F. D., & Donaldson, L. (1997). Toward a stewardship theory of management. *Academy of management review*, 22(1), 20-47.
- De Andres, P., Azofra, V., & Lopez, F. (2005). Corporate boards in OECD countries: Size, composition, functioning and effectiveness. *Corporate Governance: An International Review*, 13(2), 197-210.
- Donaldson, L., & Davis, J. H. (1991). Stewardship theory or agency theory: CEO governance and shareholder returns. *Australian Journal of management*, 16(1), 49-64.
- Dougherty, C. (2007). *Introduction to econometrics*: oxford university press, usa.
- Duru, A., Iyengar, R. J., & Zampelli, E. M. (2016). The dynamic relationship between CEO duality and firm performance: The moderating role of board independence. *Journal of Business Research*, 69(10), 4269-4277.
- Ebrahim, A., Battilana, J., & Mair, J. (2014). The governance of social enterprises: Mission drift and accountability challenges in hybrid organizations. *Research in Organizational Behavior*, 34, 81-100.
- Eisenberg, T., Sundgren, S., & Wells, M. T. (1998). Larger board size and decreasing firm value in small firms. *Journal of financial economics*, 48(1), 35-54.
- Fama, E. F. (1980). Agency Problems and the Theory of the Firm. *Journal of political economy*, 88(2), 288-307.

- Fama, E. F., & Jensen, M. C. (1983). Separation of ownership and control. *The journal of law and Economics*, 26(2), 301-325.
- Fee, C. E., Hadlock, C. J., & Pierce, J. R. (2008). Investment, financing constraints, and internal capital markets: Evidence from the advertising expenditures of multinational firms. *The Review of Financial Studies*, 22(6), 2361-2392.
- Fosberg, R. H. (2004). Agency problems and debt financing: leadership structure effects. *Corporate Governance: The international journal of business in society*, 4(1), 31-38.
- Frank, M. Z., & Goyal, V. K. (2007). Corporate leverage: How much do managers really matter?
- Gales, L. M., & Kesner, I. F. (1994). An analysis of board of director size and composition in bankrupt organizations. *Journal of Business Research*, 30(3), 271-282.
- Gordini, N. (2012). The impact of outsiders on small family firm performance: Evidence from Italy.
- Grimm, C. M., & Smith, K. G. (1991). Research notes and communications management and organizational change: A note on the railroad industry. *Strategic management journal*, 12(7), 557-562.
- Gujarati, D. (2014). *Econometrics by example*: Palgrave Macmillan.
- Hale, G., & Santos, J. A. (2009). Do banks price their informational monopoly? *Journal of financial economics*, 93(2), 185-206.
- Hambrick, D. C., & Fukutomi, G. D. (1991). The seasons of a CEO's tenure. *Academy of management review*, 16(4), 719-742.
- Haniffa, R., & Hudaib, M. (2006). Corporate governance structure and performance of Malaysian listed companies. *Journal of Business Finance & Accounting*, 33(7-8), 1034-1062.
- Hermalin, B. E., & Weisbach, M. S. (1988). The determinants of board composition. *The RAND Journal of Economics*, 589-606.
- Hermalin, B. E., & Weisbach, M. S. (1991). The effects of board composition and direct incentives on firm performance. *Financial management*, 101-112.
- Hooy, C. W., & Tee, C. M. (2009). *Directors' Pay Performance: A Study on Malaysian Government Linked Companies*: Centre for Policy Research and International Studies, USM.
- Iossa, E., & Rey, P. (2014). Building reputation for contract renewal: implications for performance dynamics and contract duration. *Journal of the European Economic Association*, 12(3), 549-574.
- Javed, T., Younas, W., & Imran, M. (2014). Impact of Capital Structure on Firm Performance: Evidence from Pakistani Firms. *International Journal of Academic Research in Economics and Management Sciences*, 3(5), 28.

- Jensen, M. C. (1993). The modern industrial revolution, exit, and the failure of internal control systems. *The journal of finance*, 48(3), 831-880.
- Jensen, M. C., & Meckling, W. H. (1976). Theory of the firm: Managerial behavior, agency costs and ownership structure. *Journal of financial Economics*, 3(4), 305-360.
- John, K., & Senbet, L. W. (1998). Corporate governance and board effectiveness. *Journal of Banking & Finance*, 22(4), 371-403.
- Kallamu, B. S., & Saat, N. A. M. (2015). Audit committee attributes and firm performance: evidence from Malaysian finance companies. *Asian Review of Accounting*, 23(3), 206-231.
- Khan, A., & Awan, S. (2012). Effect of board composition on firm's performance: A case of Pakistani listed companies. *Interdisciplinary Journal of Contemporary Research in Business*, 3(10), 853-863.
- Kholeif, A. (2008). CEO duality and accounting-based performance in Egyptian listed companies: A re-examination of agency theory predictions. In *Corporate governance in less developed and emerging economies* (pp. 65-96): Emerald Group Publishing Limited.
- Kumar, N., & Singh, J. (2012). Outside directors, corporate governance and firm performance: Empirical evidence from India. *Asian Journal of Finance & Accounting*, 4(2), 39.
- Kyereboah-coleman, A., & Biekpe, N. (2006). Corporate governance and financing choices of firms: A panel data analysis. *South African Journal of Economics*, 74(4), 670-681.
- La Porta, R., Lopez-de-Silanes, F., Shleifer, A., & Vishny, R. (2000). Investor protection and corporate governance. *Journal of financial economics*, 58(1), 3-27.
- Lehn, K. M., Patro, S., & Zhao, M. (2009). Determinants of the size and composition of US corporate boards: 1935-2000. *Financial management*, 38(4), 747-780.
- Lipton, M., & Lorsch, J. W. (1992). A modest proposal for improved corporate governance. *The Business Lawyer*, 59-77.
- MacAvoy, P. W., Cantor, S., Dana, J., & Peck, S. (1983). ALI proposals for increased control of the corporation by the board of directors: An economic analysis. *Statement of the Business Roundtable on the American Law Institute's Proposed "Principles of Corporate Governance and Structure: Restatement and Recommendation."* New York: Business Roundtable.
- Miller, D. (1991). Stale in the saddle: CEO tenure and the match between organization and environment. *Management science*, 37(1), 34-52.
- Morck, R., Shleifer, A., & Vishny, R. W. (1988). Management ownership and market valuation: An empirical analysis. *Journal of financial economics*, 20, 293-315.

- Nahar Abdullah, S. (2004). Board composition, CEO duality and performance among Malaysian listed companies. *Corporate Governance: The international journal of business in society*, 4(4), 47-61.
- Pasaribu, P. (2017). Female directors and firm performance: Evidence from UK listed firms. *Gadjah Mada International Journal of Business*, 19(2), 145.
- Peng, M. W., Zhang, S., & Li, X. (2007). CEO duality and firm performance during China's institutional transitions. *Management and Organization Review*, 3(2), 205-225.
- Pfeffer, J., & Salancik, G. R. (1978). *The external control of organizations: A resource dependence approach*. NY: Harper and Row Publishers.
- Raheja, C. G. (2005). Determinants of board size and composition: A theory of corporate boards. *Journal of financial and quantitative analysis*, 40(2), 283-306.
- Rajagopalan, N., & Zhang, Y. (2008). Corporate governance reforms in China and India: Challenges and opportunities. *Business Horizons*, 51(1), 55-64.
- Sapienza, P., Zingales, L., & Maestripietri, D. (2009). Gender differences in financial risk aversion and career choices are affected by testosterone. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(36), 15268-15273.
- Serfling, M. A. (2014). CEO age and the riskiness of corporate policies. *Journal of Corporate Finance*, 25, 251-273.
- Shleifer, A., & Vishny, R. W. (1997). A survey of corporate governance. *The journal of finance*, 52(2), 737-783.
- Smith, A. (1937). *An Inquiry into the Nature and Causes of the Wealth of Nations*. The Modern Library, New York, New York, 15.
- Ujunwa, A. (2012). Board characteristics and the financial performance of Nigerian quoted firms. *Corporate Governance: The international journal of business in society*, 12(5), 656-674.
- Vance, S. C. (1964). *Boards of directors: Structure and performance*. School of Business Administration, University of Oregon.
- Vintila, G., & Gherghina, S. C. (2012). An empirical investigation of the relationship between corporate governance mechanisms, CEO characteristics and listed companies' performance. *International Business Research*, 5(10), 175.
- Wallison, P. J. (2006). All the Rage: Will Independent Directors Produce Good Corporate Governance?
- Weir, C., Laing, D., & McKnight, P. J. (2002). Internal and external governance mechanisms: their impact on the performance of large UK public companies. *Journal of Business Finance & Accounting*, 29(5-6), 579-611.

- White, H. (1980). A heteroskedasticity-consistent covariance matrix estimator and a direct test for heteroskedasticity. *Econometrica: Journal of the Econometric Society*, 817-838.
- Yan Lam, T., & Kam Lee, S. (2008). CEO duality and firm performance: evidence from Hong Kong. *Corporate Governance: The international journal of business in society*, 8(3), 299-316.
- Yawson, A. (2006). Evaluating the characteristics of corporate boards associated with layoff decisions. *Corporate Governance: An International Review*, 14(2), 75-84.
- Yermack, D. (1996). Higher market valuation of companies with a small board of directors. *Journal of financial economics*, 40(2), 185-211.
- Zwiebel, J. (1996). Dynamic capital structure under managerial entrenchment. *The American economic review*, 1197-1215.

Efecto de cuatro láminas de riego y *Meloidogyne* spp. sobre características agronómicas y de rendimiento de tomate de mesa *Solanum lycopersicum* L.

Dídimo Alexander Mendoza Intriago*

Fanny Rodríguez Jarama**

Edisson Cuenca Cuenca***

Rubén Rivera Fernández****

Bernardo Navarrete Cedeño*****

Ernesto Cañarte Bermúdez*****

RESUMEN

Este estudio consistió en evaluar cuatro láminas de riego (60, 80, 100 y 120 % de la evapotranspiración) y el nematodo *Meloidogyne* spp. (150 juveniles por 100g de suelo), sobre tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en invernadero. El experimento se montó en un Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial, compuesto de 8 tratamientos y 6 repeticiones. Se evaluaron variables agronómicas y de población de nematodos. Los resultados muestran que las láminas de riego no tuvieron influencia sobre las variables agronómicas. Sin embargo, la presencia de poblaciones conocidas del nematodo *Meloidogyne* spp., si tuvieron un efecto sobre el cultivo, reduciendo significativamente, la altura de las plantas inoculadas, además de provocar un retraso significativo de la floración y disminuir significativamente el número de racimos florales así como el rendimiento en tomate de mesa. El aumento de la población de nematodos en raíces estuvo influenciada por el incremento de láminas de agua en el suelo.

PALABRAS CLAVE: Evapotranspiración, Solanaceae, humedad, nematodos, rendimiento.

*Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Facultad de Ciencias Agropecuarias, ciudadela universitaria - vía San Mateo, Manta-Manabí-Ecuador. Correo electrónico: lexmendozai@hotmail.com

Universidad Agraria del Ecuador. Avenida 25 de Julio, Guayaquil-Guayas-Ecuador. *Universidad Técnica de Manabí, Facultad de Ingeniería Agronómica. Departamento de Ciencias Agronómicas, Km 13 1/2 vía Portoviejo-Santa Ana, Santa Ana-Manabí-Ecuador. ****Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí Extensión Chone, Avenida Eloy Alfaro y Malecón, Chone-Manabí-Ecuador.

*****Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias Estación Experimental Portoviejo, Km 12 1/2 vía Portoviejo-Santa Ana, Portoviejo-Manabí-Ecuador.

Recibido: 02/07/2018

Aceptado: 10/10/2018

Effect of four irrigation regimes and *Meloidogyne* spp. upon agronomic and yield features of table tomato *Solanum lycopersicum* L.

ABSTRACT

This study consisted of evaluating four irrigation regimes (60, 80, 100 and 120 % of the Evapotranspiration) and *Meloidogyne* spp.(150 juveniles per 100f of soil) upon tomato (*Solanum lycopersicum* L) in greenhouse. A completely randomized factorial design was applied, consisting of 8 treatments and 6 repetitions. Agronomic and nematode population variables were evaluated. The results show that the irrigation sheets had no influence on the agronomic variables evaluated. However, the presence of known populations of the nematode *Meloidogyne* spp. did have an effect on the crop, significantly reducing the height of the inoculated plants, causing a significant delay in flowering and significantly reducing the number of flower clusters as well as the yield. The increase in the population of the root nematode population was influenced by the increase of water in the soil.

PALABRAS CLAVE: Evapotranspiration, Solanacea, humidity, nematodes, yield.

Introducción

La producción de tomate riñón *Solanum lycopersicum* L. en el Ecuador se realiza en varias provincias. En el año 2011 la región costa tuvo una producción de aproximadamente 21.500 TM, que representó el 56% de la producción nacional, la región interandina obtuvo 16.300 TM con el 43% y el oriente obtuvo 550 TM que representa el 1%. La producción del tomate riñón en la región costa está básicamente centrada en tres provincias: Guayas, Manabí y El Oro; en la sierra se produce principalmente en las provincias de Imbabura, Loja, Azuay, Carchi, Cañar, Chimborazo y Pichincha (Chaca y Suárez, 2014).

La producción de tomate se ve afectada por varios factores entre ellos problemas fitosanitarios, siendo el nematodo fitoparásito *Meloidogyne* sp. uno de los

patógenos más nocivos a nivel mundial, debido a que afecta severamente las raíces de este cultivo (Sikora y Fernández, 2005; Bhattarai et al., 2008). Se caracteriza por tener un hábito alimenticio polífago con un amplio rango de hospederos especialmente en países tropicales y subtropicales (Sikora y Fernández, 2005; Moens et al., 2009). Esto ha hecho que sea considerado el nematodo fitoparásito de mayor importancia económica en la agricultura.

El síntoma característico de este nematodo es la formación de agallas o nódulos en la raíces provocados por la hipertrofia e hiperplasia que ocurre en las células cuando el nematodo inyecta las enzimas, esto provoca en la planta diferentes grados de achaparramiento, falta de vigor, deficiencias nutricionales, marchitamiento (Shurtleff y Averre III, 2000; Zaqui et al., 2001). Estas afectaciones generan pérdidas a nivel mundial que se estima superan los \$US 100 billones (Bird y Kaloshian, 2003), siendo más de la mitad de estas pérdidas atribuidas a *Meloidogyne* sp. (Bent et al., 2008).

En el cultivo del tomate, *Meloidogyne* spp. es muy importante por su rápida expansión, alta frecuencia de infestación y capacidad para reducir el rendimiento hasta en un 68% (Esparrago y Navas, 1995; Chindo y Khan, 1988; Adesiyani et al., 1990). Los daños causados no solo reducen el número de frutos del cultivo, sino que también afecta la calidad de los mismos impactando de esta forma en sus precios (Sasser y Carter, 1982; Moens et al., 2009).

Según (Triviño, 2007), en Ecuador el género *Meloidogyne* está representado por cinco especies. Las hortalizas se encuentran entre los cultivos más afectados por nematodos. En el cultivo de tomate se reportan especies como *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. hapla* y *M. arenaria*. Este género está ampliamente distribuido en las cuatro

regiones del país, siendo *M. incognita* raza 1, identificado como el de mayor distribución. Por otro lado, la ocurrencia simultánea de cultivos hortícolas mostrando o sin mostrar agallas puede ser un indicativo de la presencia de razas fisiológicas de *M. incognita* o de otras especies del mismo género (Velásquez, 2001).

Los nematodos son activos en suelos con niveles de humedad del 40-60% de la capacidad de campo. En suelos secos ocurre una drástica reducción del número de huevos y juveniles y en condiciones de excesiva humedad se reduce la eclosión de los huevos, así como el metabolismo, movimiento e infestividad de los juveniles, crecimiento y reproducción de las hembras (Van Gundy, 1985).

Existe una correlación positiva entre las poblaciones de nematodos y la humedad del suelo; sin embargo, esto no siempre ha sido corroborado. Estos parásitos causan trastornos fisiológicos en las plantas, como disminución de la conductancia estomática y otros parámetros asociados con la relación agua-planta, lo que posteriormente conlleva a pérdidas en la producción (Julca et al., 2001).

La dinámica poblacional de estos microorganismos depende del agua del suelo (Freckman et al., 1987, Citado por Julca et al., 2001) y la fluctuación de la humedad del suelo, debido a la lluvia o al agua de riego; es uno de los principales factores que influyen en el aumento de las poblaciones de nematodos. Por el contrario, cuando el suelo está seco, puede disminuir el número de nematodos, entre ellos (*Criconemoides xenoplax*), el nematodo daga (*Xiphinema americanum*), de los nematodos formadores de quistes y de los que provocan nódulos radiculares (National Academy of Sciences, 1986. Citado por Julca et al., 2001).

(Marouelli et al., 1991) evaluaron el efecto de seis láminas de riego sobre la reproducción de *M. incognita* y el rendimiento de ocho cultivares de guisantes,

determinando, que el uso racional del volumen de agua, contribuyó en la disminución de las poblaciones del nematodo agallador, sin pérdida significativa en el rendimiento. (Ribeiro et al., 2009), determinó que en banano, el número de juveniles del segundo estadio de *M. javanica* se incrementó con el aumento de la irrigación. Sin embargo, no afectó el número de días a la floración y a la cosecha. Varios estudios demuestran que los niveles de riego, utilizando diferentes láminas de agua, afectan la tasa de reproducción de *Meloidogyne* spp. en el cultivo de tomate, así como la reacción de la resistencia de la planta a los nematodos (Charchar et al., 2005).

En el Litoral ecuatoriano, se ha determinado la presencia y ataque de estos nematodos en diferentes áreas agrícolas, mostrando gran dinamismo, al presentar altas poblaciones en suelo y raíces, causando pérdidas de importancia económica, en cultivos hortícolas con condiciones propicias de humedad. La importancia de este estudio, se basa en establecer la relación entre las poblaciones de nematodos con la humedad del suelo y su efecto en el desarrollo del cultivo de tomate. Con estos antecedentes, se planteó la presente investigación que tuvo como objetivo: Evaluar el efecto de cuatro láminas de riego (60%, 80%, 100% y 120% de la ETc) y el nematodo *Meloidogyne* spp. sobre el desarrollo y productividad de tomate bajo condiciones de invernadero.

1. Materiales y métodos

1.1. Ubicación

El estudio se realizó en el año 2015 y fue ejecutado en invernadero, exponiendo el cultivo a condiciones controladas de riego. Se ubicó en la Hacienda “La Teodomira” de la Universidad Técnica de Manabí, Santa Ana-Manabí-Ecuador, con una Latitud Geográfica de 01°09'51” S, Longitud Geográfica de 80°23'24” W y altitud de 60 msnm, temperatura anual de 25,90 °C, humedad relativa anual de 80%, precipitación anual

de 678,40 mm, heliofania anual de 1.604,0 horas y evaporación anual de 1.874,50 mm (INAMHI, 2014).

1.2. Cría y captura de nematodos

Tres meses antes de iniciar el experimento en invernadero, se colectó suelo de un campo altamente infestado con *Meloidogyne* spp, en el sitio Corre Agua-cantón Portoviejo-provincia Manabí, ubicado en las coordenadas geográficas S 00°50'42.5" y W 80°30'05.1" a una altitud de 10 msnm, este suelo se utilizó para la siembra de pimiento, cultivo altamente susceptible al ataque de *Meloidogyne* y posterior captura de sus masas de huevo, que se utilizaron en el estudio. Cinco días previos al establecimiento del experimento, se extrajeron las plantas de pimiento del suelo infestado y se las llevó hasta el laboratorio, donde se lavaron con agua corriente, teniendo la precaución de no perder masas de huevos. Una vez limpiadas las raíces, se procedió a capturar las masas de huevos de *Meloidogyne* spp, utilizando una pinza punta fina. Se depositaron en cajas de Petri conteniendo un pedazo de papel facial y una lámina de agua, se las dejó reposar por 48 horas hasta la eclosión de los huevos. Posteriormente, se recogió la solución agua-nematodos, para finalmente ser identificados y cuantificados a través de un microscopio.

1.3. Establecimiento del experimento

Primeramente, se realizó un análisis completo del suelo utilizado en el experimento para determinar su fertilidad, pH y conductividad eléctrica. Además de un análisis químico del agua de riego, con la finalidad de conocer el contenido de sodio y salinidad. Posteriormente, el suelo fue esterilizado en estufa a 180 °C por cuatro horas. Las plantas se obtuvieron de bandejas germinadoras a base de sustrato turba negra para germinación, sembrando semilla del híbrido de tomate de mesa Pietro. Para el estudio se utilizaron bolsas plásticas perforadas de 14,56 por 9,44 pulgadas y

en ellas se colocó 3,5 kg de suelo esterilizado. Las bolsas fueron colocadas a una distancia de 0,5 m x 2,0 m, dándoles un riego de pre siembra, hasta el punto de capacidad de campo. El trasplante, se realizó a los 20 días posteriores a la siembra, con plantas de cuatro hojas funcionales y una altura promedio de 15 cm.

Se estudiaron como factor A, cuatro láminas de riego (60, 80, 100 y 120% de la ETC) y factor B, poblaciones del segundo estadio (J2) de *Meloidogyne* spp. (150 J2 /100 g de suelo y cero nematodos), dando como resultado ocho tratamientos. Se utilizó el Diseño completamente al Azar en arreglo factorial AxB, con seis repeticiones. La unidad experimental estuvo conformada por una planta. Inmediatamente al trasplante, se inoculó 150 J2 por cada 100 g suelo en las plantas seleccionadas aleatoriamente con este tratamiento.

El tomate fue tutorado a los 30 días después del trasplante (ddt). Dadas las condiciones de ambiente semi-controlado, la incidencia de insectos-plaga fue reducida, reportándose tan sólo la presencia de la “negrita” del tomate *Prodidiplosis longifila* Gagné, para lo cual se realizaron controles semanales. Para el control de enfermedades fungosas, favorecidas por la alta frecuencia de riego, se realizaron aplicaciones quincenales con varias sustancias en rotación.

1.4. Levantamiento de información

Láminas de riego.- Para evaluar las láminas de riego se empleó la ecuación 1, citada por (Aljaro, 1993):

$$NRD = EB * Kp * Kc * PS * AU \text{ (Ecuación 1)}$$

Donde:

NRD = Necesidades netas de riego diario (litro/planta/día)

EB = Evaporación de la bandeja

K_p = Coeficiente de la bandeja de evaporación

K_c = Coeficiente del cultivo

PS = Porcentaje de cobertura o sombreado (%)

AU = Área asignada al cultivo o a la planta (m^2)

Para medir la evaporación diaria, dentro del invernadero, se instaló una bandeja de evaporación tipo A, las lecturas se hicieron por la mañana (7:00 am). Para saber la cantidad de agua evaporada, se restó la lectura del día con la registrada el día anterior. El Coeficiente de la bandeja de evaporación (K_p), se determinó con base al valor promedio mensual de la velocidad del viento y humedad relativa de los últimos cinco años (INAMHI, 2014). El Coeficiente del cultivo (K_c), representa la cantidad de agua que las plantas extraen del suelo, el cual varía según las fases de cultivo (Campillo et al., 2009). El Porcentaje de cobertura o sombreado (PS), es el valor de área foliar de la planta, valor que se corrigió por medio de la tabla de corrección de cobertura (K_r) para obtener un valor confiable (Keller y Karmeli, 1975). El área asignada al cultivo o a la planta en m^2 (AU), se obtuvo de la multiplicación de la distancia entre planta por la distancia entre hilera.

No se aplicó lámina de agua adicional para el lavado de sales, ya que de acuerdo a los resultados del análisis de agua, este se encuentra en clasificación C1 = agua de salinidad baja y S1 = agua de contenido bajo de sodio (Olías et al., 2005).

Los riegos se proporcionaron diariamente por la mañana y tarde, utilizando el sistema de riego por goteo, para lo cual se empleó una bomba de agua eléctrica de 0,5 HP, medidor de Venturi de ½", tubería de polietileno de 16 mm, válvulas de 16 mm y goteros Netafim™ con caudal de 2 litros/hora.

El tiempo de riego se calculó con la ecuación 2 (Aljaro, 1993):

$$TR = NRD / (ne * qe) \text{ (Ecuación 2)}$$

Donde:

TR = Tiempo de riego en horas

NRD = Necesidades netas de riego diarias (litro/planta/día)

ne = Número de emisores por planta

qe = Caudal de emisor en litros/hora

El total de agua por tratamiento fue el siguiente: Lámina del 60 % de la ETc = 128.26 L/planta, Lámina del 80 % de la ETc = 170.59 L/pl, Lámina del 100 % de la ETc = 212.98 L/pl y Lámina del 120 % de la ETc = 255.67 L/pl. Se ubicó un emisor por planta con un caudal de 2 litros/hora.

Datos agronómicos y de rendimiento.- A los 30 días después del trasplante, se registró la altura de planta en cm, desde la base del tallo hasta la inserción de la última hoja. Para los días a la floración, se consideró cuando la planta útil de cada unidad experimental, emitió su primera flor. Diez días después de la floración se contabilizó el número de racimos florales/planta. Finalmente, se evaluó el peso del fruto en estado de madurez fisiológica para cada unidad experimental y se lo expresó en kg/ha.

Índice de agallamiento de *Meloidogyne* spp. en raíces.- Al final del ensayo se evaluó el índice de agallamiento por cada tratamiento. Se utilizó la escala de Bridge y Page calificada del 0 al 10 (Bridge y Page, 1980).

Volumen de raíces.- Para esto se colocó 500 cm³ de agua en un vaso de precipitación de 1000 cm³. Posteriormente, se sumergieron en el vaso, las raíces lavadas de tomate de cada unidad experimental. La diferencia del nivel de agua fue considerada como volumen de las raíces.

Densidad longitud de la raíz.- Se aplicó el Método Pared del Perfil, para lo cual se utilizó una grilla de medición, que consiste en una cuadrícula de 90 cm de ancho por 100 cm de longitud, constituida por cuadrados de 5 cm de lado. Se determinó la densidad longitud de raíz (DLR) expresada en cm de raíz/cm³de suelo, utilizando la ecuación 3. (Wilson y Valenzuela, 1998):

$$DLR [cm / cm^3] = (P \times N) / (A \times p) \text{ (Ecuación 3)}$$

Donde:

DLR = *Densidad de longitud de raíz*

P = *Longitud de raíz. Para cada valor N corresponde 1 cm*

N = *Nº de raíces observadas en cada cuadro*

A = *Área observada en la grilla. Superficie del cuadrado = 25 cm²*

p = *Profundidad de penetración dentro de la pared de perfil = 1 cm*

Densidad poblacional de *Meloidogyne* spp. en raíces.- Para el procesamiento de las muestras, se aplicó la metodología de (Hopper et al., 2005) modificada por (Pino, 2010). Las raíces de cada planta útil se lavaron y cortaron en secciones de un centímetro, luego se mezclaron y pesaron 10 gramos de cada muestra. Estas se licuaron a velocidad baja durante 20 segundos en dos secciones, posteriormente se vaciaron sobre tres tamices números 60, 100 y 500 (250, 150 y 25 µm, respectivamente), colocados de arriba hacia abajo. El primero y segundo tamiz se lavó con una ducha de mano tipo teléfono por un minuto cada uno. El sedimento con los nematodos contenido en el tamiz # 500, se recogió en un vaso de precipitación y se aforó en 100 mL, para luego homogenizar la muestra con una bomba de aire. Se extrajeron alícuotas de 4 mL y se colocaron en cámaras contadoras, para finalmente cuantificar bajo un microscopio el número de *Meloidogyne* spp.

Densidad poblacional de *Meloidogyne* spp. en suelo.- Para la extracción de los nematodos del suelo se siguió la metodología de (Hopper et al., 2005) modificada por (Pino, 2010). Se tomó una muestra de 500 gramos por cada unidad experimental, se homogenizó y tomó 100 gramos de suelo, que se colocaron en dos platos de aluminio superpuesto. Sobre el plato con base, se ubicó otro plato calado y sobre este una malla y un papel facial; se adicionó agua común en el plato base y se dejó la muestra en incubación por 72 horas. Transcurrido este tiempo se eliminó el suelo y se colectó en un vaso de precipitación el contenido agua-nematodos, eliminando el agua excedente a 100 mL. Se homogenizó la muestra con una bomba de aire y se extrajeron alícuotas de 4 mL, que se colocaron en cámaras contadoras, donde se cuantificó el número de *Meloidogyne* spp. bajo un microscopio.

Análisis estadístico.- Los datos de cada variable, se sometieron a la prueba de Shapiro-Wilks para conocer si provenían de una distribución normal. Los datos fueron transformados, ninguna de las variables tuvo una distribución normal. Por tal motivo, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal y Wallis con k muestras (Steel y Torrie, 1988) al 5%. Para los análisis se empleó el Software estadístico InfoStat versión 1.0 (InfoStat, 2001).

2. Resultados y discusión

En el Cuadro 1, se observa que las láminas de riego no tuvieron influencia sobre las variables agronómicas evaluadas, esto indica que el menor volumen de agua aplicado (60% ETc), fue suficiente para satisfacer las necesidades hídricas del cultivo de tomate bajo las condiciones de invernadero en las que se condujo este experimento, presentándose una evapotranspiración eficiente, sin ninguna restricción de agua en el suelo, lo cual se conoce como evapotranspiración del cultivo (ETc), que corresponde a la cantidad de agua que debe ser aportada al suelo, estacionalmente mediante lluvia o riego (Calvache, 2013). En este contexto, el sistema de riego por

goteo, permite un adecuado control de las condiciones de humedad del suelo y las necesidades hídricas de los cultivos (Cadena, 2012).

Por otro lado, como se ve en el Cuadro 1, la presencia de poblaciones conocidas del nematodo *Meloidogyne* spp., si tuvo un efecto sobre el cultivo, reduciendo significativamente, la altura de las plantas inoculadas ($p < 0,0001$), además de provocar un retraso significativo de la floración ($p < 0,0001$). Esta afectación coincide con resultados obtenidos por (Shurtleff y Averre III, 2000), quienes manifiestan que entre los síntomas del daño de *Meloidogyne* spp, están diferentes grados de enanismo y reducción del vigor, siendo mencionado este organismo como uno de los patógenos más nocivo del tomate a nivel mundial, debido al daño que ocasiona al sistema radicular de las plantas (Sikora y Fernández, 2005), presentando altos índices de agallamiento y presencia de nematodos a nivel de raíces y suelo. Esto se debe, muy posiblemente a que este nematodo presenta una rápida expansión y alta frecuencia de infestación (Esparrago y Navas, 1995; Chindo y Khan, 1988; Adesiyan et al., 1990), pudiéndose encontrar más de 1000 huevos en una masa (Mugnier, 1998). La inoculación de *Meloidogyne*, no influyó en el volumen y longitud de raíces ($p = 0,338$ y $p = 0,6232$).

El índice de agallamiento y población de nematodos en raíces y suelos, no fueron significativamente influenciadas por las distintas láminas de riego evaluadas. El tratamiento con más humedad (120% Etc) obtuvo los valores más altos en las tres variables. La inoculación de nematodos incrementó significativamente ($< 0,001$) el índice de agallamiento y las poblaciones de *Meloidogyne* spp. en raíces y suelo (Cuadro 2).

Cuadro 1. Influencia de láminas de riego en suelo infestado con *Meloidogyne* spp. sobre variables agronómicas en tomate de mesa. Santa Ana, Manabí. 2015.

Tratamientos	Altura de planta (cm)	Días a la Floración	Volumen de raíces	Densidad longitudinal de raíces
Láminas de riego % ETC				
60	30,08	20,00	25,00	6,39
80	32,92	22,08	27,50	4,92
100	28,54	22,58	22,50	5,04
120	30,25	21,00	27,08	4,14
H	0,36	0,62	1,55	1,76
P	0,95	0,88	0,66	0,62
Inoculación				
Con				
Nematodos	20,31 b	24,42 b	21,46	4,28
Sin Nematodos	40,58 a	18,42 a	29,58	5,97
H	20,23	19,72	7,79	11,53
P	<0,0001	<0,0001	0,3338	0,6232

Cuadro 2. Influencia de láminas de riego en suelo infestado con *Meloidogyne* spp. sobre el índice de agallamiento y poblaciones de nematodos en tomate de mesa. Santa Ana, Manabí. 2015.

Tratamientos	Índice de agallamiento	Densidad poblacional de <i>Meloidogyne</i> spp.	
		en 10 g raíces	en 100 g suelo
Láminas de riego %			
ETc			
60	0,50	29,17	1039,58
80	0,58	39,58	1548,83
100	0,67	62,50	1420,83
120	0,83	75,00	1804,17
H	0,54	0,96	0,55
P	0,89	0,78	0,89
Inoculación			
Con Nematodos	1,29 a	103,13 a	2906,71 a
Sin Nematodos	0,00 b	0,00 b	0,00 b
H	36,34	40,52	228,71
P	<0,0001	<0,0001	<0,0001

El Cuadro 3, muestra que las láminas de riego usadas en este estudio, no influyeron sobre el número de racimos florales y el rendimiento de tomate, pero si lo hizo la población (inoculación) del nematodo *Meloidogyne* spp. ($p=0,0001$), estos resultados concuerdan con los reportados por (Bent et al., 2008). Además (Esparrago y Navas, 1995; Chindo y Khan, 1988; Adesiyani et al., 1990), quienes mencionan que en este cultivo, *Meloidogyne* spp. reduce los rendimientos hasta en un 68%. Los daños causados no solo disminuyen el número de frutos del cultivo, sino que también afecta

la calidad de los mismos impactando de esta forma en sus precios (Sasser y Carter, 1982; Moens et al., 2009).

Cuadro 3. Influencia de láminas de riego en suelo infestado con *Meloidogyne* spp. sobre el número de racimos florales y rendimiento (kg/ha) en tomate de mesa. Santa Ana, Manabí. 2015.

Tratamientos	Nº. de racimos	
	florales	Rendimiento (kg/ha)
Láminas de riego, % ETc		
60	2,42	10201
80	2,25	11083
100	2,17	15921
120	1,83	19717
H	1,66	0,07
P	0,61	1,00,
Inoculación		
Con Nematodos	1,29 a	4140 a
Sin Nematodos	3,04 b	24321 b
H	27,49	44,83
P	0,0001	<0,0001

Los análisis de correlación y regresión entre la densidad poblacional de nematodos (variable independiente) y las láminas de agua (variable dependiente), demuestran la influencia significativa y positiva de las láminas de agua sobre las poblaciones de *Meloidogyne* en raíces ($y = 0,8021x - 20,625$ $R^2 = 0,9792^*$), más no en suelo ($y = 10,829x + 478,77$ $R^2 = 0,7703ns$) (Figuras 1 y 2). Es posible que esta respuesta positiva de las poblaciones de nematodos en raíces al incremento del contenido de agua en el suelo, esté asociado al hecho que esta variable es determinante en la tasa de

reproducción de *Meloidogyne* spp. en el cultivo de tomate, así como la reacción de la resistencia de la planta a los nematodos, tal como lo sostiene (Charchar et al., 2005).

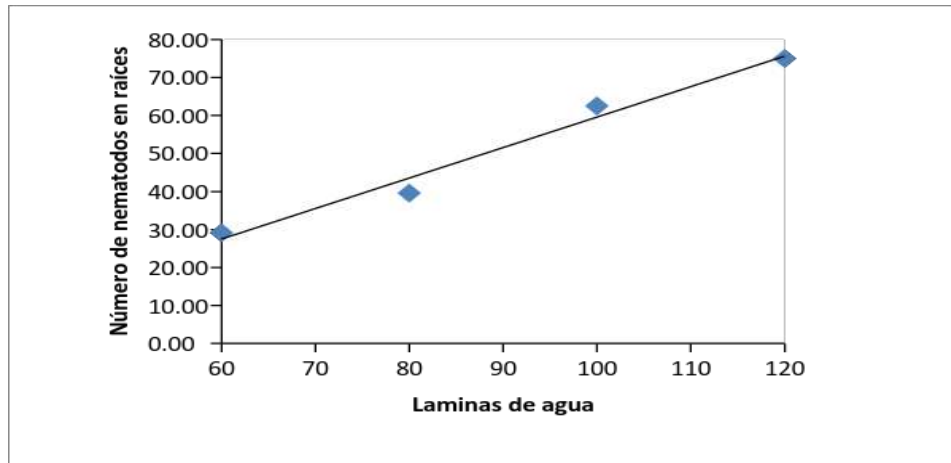


Figura 1. Relación entre láminas de riego y poblaciones de *Meloidogyne* spp. en raíces de tomate de mesa.

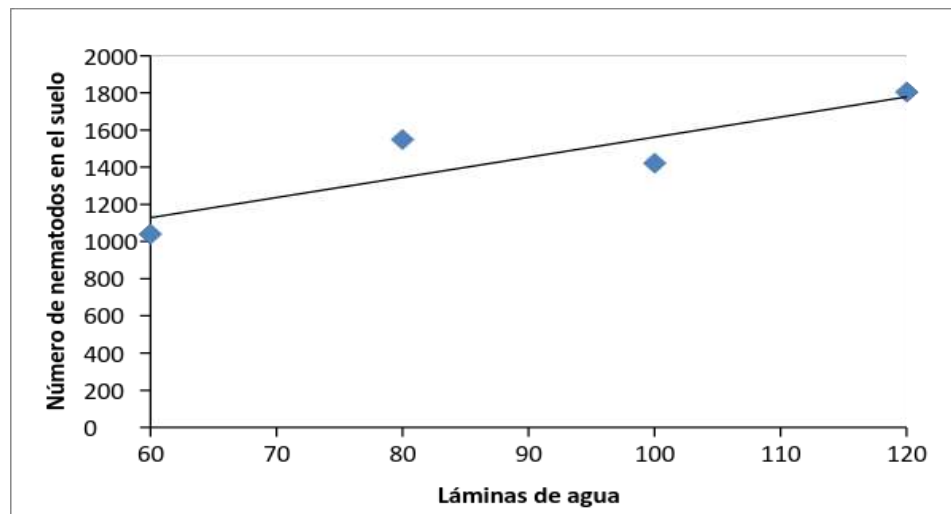


Figura 2. Relación entre láminas de riego y poblaciones de *Meloidogyne* pp. en suelo cultivado con tomate de mesa.

Conclusiones

Las láminas de riego del 60, 80, 100 y 120 % de la ETc, no influyeron sobre las variables; altura de planta, días a la floración, volumen de raíces, densidad longitud de raíces, número de racimos florales y rendimiento en el cultivo de tomate.

La presencia del nematodo agallador de las raíces *Meloidogyne* spp. afectó el crecimiento del tomate, por lo que disminuyó significativamente la altura de la planta, el número de racimos florales y el rendimiento del cultivo.

Las cuatro láminas de agua investigadas, no influyeron en el índice de agallamiento y en la población de *Meloidogyne* spp. en raíces y suelos.

Agradecimiento

Los autores dejamos constancia de nuestro agradecimiento a la Dra. Carmen Triviño Gilces por la confirmación del género en estudio *Meloidogyne* spp. y su colaboración en las observaciones realizadas al escrito.

Referencias

Aljaro, A. (1993). «Producción de hortalizas protegidas bajo plástico.» Santiago de Chile, 1993.

Adesiyan SO, Caveness FE, Adeniji MO, Fawole B (1990). Nematode Pests of tropical crops. Heinemann Educational Books (Nigeria) Ltd., p. 114.

Bhattarai, KK, y otros (2008). «Tomato susceptibility to root-knot nematodes requires an intact jasmonic acid signaling pathway. Mol. Plant-Microbe Interact.» 2008.

Bent, E, A Loffredo, MV McKenry, JO Becker, y J. Borneman (2008). «Detection and investigation of soil biological activity against *Meloidogyne incognita*.» J. Nematol. 40, 2008.

Bridge, J. and Page, S.L.J. (1980). Estimation of root-knot Nematode infestation levels on roots using a rating chart. Tropical Pest Management 26: 296-298.

Bird DM, Kaloshian I. (2003). Are roots special? Nematodes have their say. Physiological and Molecular Plant Pathology. 2003;62:115-123.

Cadena, V.H. (2012). «Hablemos de riego.» Ibarra, Ecuador.: Creadores gráficos., Enero. de 2012.

Calvache, M. (2013). «Riego andino tecnificado.» Quito, EC.: Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas., 2013.

Campillo, C., M. Moñino, J. Pérez, y J. Picón (2009). «Necesidades hídricas y estrategias de riego en los principales cultivos de regadío. » 2009.

Chaca, T., Suarez, D. (2014). Estudio de factibilidad para la creación de una microempresa de producción y comercialización de tomate riñón a través de la utilización de abono orgánico, ubicado en la comunidad de el Guadual parroquia la carolina cantón Ibarra, provincia de Imbabura. Universidad Técnica del Norte, Imbabura, Ecuador. Recuperado el 7 de septiembre del 2016 de:<http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/3009/1/02%20ICO%20378%20TESIS.pdf>.

Charchar, J. M., W., Marouelli, L.B. Giordano, y FAS. Aragon (2005). «Reproducción de *Meloidogyne incognita* raza 1 y la productividad de los cultivares de arveja en diferentes profundidades del agua.» Brasilia: Brasileña de Investigación Agropecuaria, 2005.

Chindo, PS; Khan, FA. (1988). Relationship between initial population densities of *Meloidogyne incognita* race 1 and growth and yield of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Pak J. Nematol. 6(2):93-100.

Esparrago, RMG, y A. Navas (1995). «Nematofauna fitoparásita asociada a cultivos hortícolas y tabaco en regadíos de Extremadura.» Bol. San. Veg. Plagas 21, 1995.

Freckman, D. W., W. G. Whitford, and Y. Steinberger (1987). Effect of irrigation on nematode population dynamics and activity in desert soils. Bio. Fert. Soil, 33-10.

Hopper, DJ; Hallmann, J; Subbotin, SA. (2005). Methods for extraction, processing and detection of plant and soil nematodes. In Luc, M; Sikora, RA; Bridge, J. eds. Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. 2 ed. CABI, UK. p. 53-86.

INAMHI (2014). Instituto Nacional Meteorológico e Hidrológico. La teodomira, Manabí, Ecuador.

InfoStat (2001). Software Estadístico, versión 1.0. Manual del usuario. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba. 241p. infostat@agro.uncor.edu.

Julca, A., E. Gallegos, J. Sánchez, y P. Cordovilla (2001). «Agua y nemátodos parásitos de las plantas.» *Riego y fertirrigación*. Almería: Revista Horticultura, Julio de 2001.

Keller, J y Karmeli, D. (1975). Trickle irrigation design. Rain Bird Sprinkler Manufacturing Corporation. California. 133 p. Recuperado el 13 de Febrero del 2017: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/encuen/wilson.pdf>.

Marouelli, W. A., L.B. Giordano, C. A. S. Oliveira, y O.A. Carrijo (1991). «Desarrollo, producción y calidad de guisante bajo diferentes tensiones de agua del suelo.» Revista Brasileña de Investigación Agropecuaria., 1991.

Moens, M, RN Perry, y JL. Starr (2009). «Meloïdogyne species – a diverse group of novel and important plant parasites.» Wallingford, UK.: CAB International, 2009.

Mugnier, J. (1998). «Transport of the Nematicide Oxamyl in Roots Transformed With *Agrobacterium rhizogenes*.» *Journal of Nematology*. 1998.

Oliás, M., Cerón, J., Fernández, I. (2005). Sobre la utilización de la clasificación de las aguas de riego del U.S. Laboratory Salinity (USLS). *Geogaceta*. 11-113.

Pino, V.E. (2010). Efecto de extractos vegetales en la reducción poblacional de *Meloidogyne* sp. Ingeniera Agropecuaria. Tesis Ing. Agropecuaria, Fac. de Ciencias Agrop., Universidad Técnica de Babahoyo, Ecuador.

Ribeiro, Regina Cassia Ferreira, Costa, Cristiane Correa, Xavier, Adelica Aparecida, y otros (2009). «Efecto de diferentes niveles de riego en la población de *Meloidogyne javanica* y productividad del banano.» *Geraiis 1 Minas del Norte*, 2009.

Sasser, JN; Carter, CC. (1982). Overview of the international *Meloidogyne* project rational, goals, implementation and progress to date. Proceeding of Conference on Root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. (Region III). Brasillia, Brazil. p. 3-13.

Sciences, National Academy of. (1986). «Regulating pesticides in foods: The Delaney paradox.» Washington: National Academy press, 1986.

Sikora, RA, y E. Fernández (2005). «Nematode parasites of vegetables. In Luc, M; Sikora, RA; Bridge, J. eds. *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*.» Wallingford, UK: CABI Publishing.

Steel, R and Torrie J. (1988). *Bioestadística: Principios y Procedimientos*. Segunda Edición. México 622p.

Shurtleff, MC, y CW. Averre III (2000). «Diagnosing plant diseases caused by nematodes.» Paul, Minnesota, USA.: The American Phytophathological Society., 2000.

Triviño, C. (2007). «Los Nemátodos del Arroz y su Control.» *Boletín Divulgativo* N° 241. Quito.

Van Gundy, S. D. (1985). "Ecology of *Meloidogyne* spp.-Emphasis on enviromental factors affecting survival and pathogenicity". En: *An Advanced Treatise on*

Meloidogyne, Volume 1: Biology and Control (Sasser, J. N. y Carter, C. C. Eds). North Carolina State University Press, Raleigh, NC. Chapter: 15: 178-182, 1985.

Velásquez Valle, R. (2001). «Nematodos agalladores afectando hortalizas y otros cultivos en el norte centro de México.» *Revista Mexicana de Fitopatología*, vol. 19, núm. 1, enero-junio, 2001, pp. 107- 109 2001. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61219117>.

Wilson, M., Valenzuela, O. (1998). Evaluación del sistema radical del cultivo de trigo mediante dos métodos de medición. *Rev. Científica Agropecuaria* 2: 29-35.

Zaki, A, ZA Siddiqui, A Iqbal, y I. Mahmood (2001). «Effects of *Pseudomonas fluorescens* and fertilizers on the reproduction of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. » *Applied Soil Ecology* 16, 2001.

Prevalencia de patógenos bacterianos en cultivos hortícolas a cielo abierto del municipio Jiménez, Estado Lara y evaluación de control alternativo mediante uso de extracto etanólico de *Lippia origanoides*.

Yoleidy Escalona*
María E. Sanabria
Dorian Rodríguez
Nelson Rincón

RESUMEN

Los rubros agrícolas de importancia en Jiménez-Estado Lara, son: cebolla, pimentón, tomate y papa, estos son afectados por enfermedades bacterianas controladas mayormente con aplicación indiscriminada de productos químicos. En el presente estudio, se determinó la identidad de los patógenos y se evaluó como alternativa ecológica la aplicación del extracto etanólico de *Lippia origanoides* K. El aislamiento bacteriano fue obtenido de muestras colectados en diferentes localidades, y las cepas fueron identificadas mediante técnicas convencionales. Los resultados indicaron que en las tres zonas evaluadas predominaron el tomate, pimentón y papa y las cepas que prevalecieron fueron *Pseudomona* sp., *Pectobacterium* sp., y *Xanthomonas* sp. La capacidad inhibitoria del Extracto al 4, 6 y 8% fue probada sobre el crecimiento de estas bacterias, determinándose que la concentración con mayor capacidad inhibitoria para todas fue de 6%. Estos resultados revelan el potencial del uso del EE como alternativa para el control de bacterias.

PALABRAS CLAVE: Etiología, *Xanthomonas*, bacteriosis.

*Posgrado de Fitopatología. Decanato de Agronomía. Universidad Centrocidental “Lisandro Alvarado”, Venezuela. E-mail: yoleidyescalona@ucla.edu.ve

Recibido: 20/11/2017

Aceptado: 03/03/2018

Bacterial pathogens in vegetable crops of the municipality Jiménez, Lara State and evaluating alternative control through implementation of ethanolic extracts of *Lippiaoriganoides*

ABSTRACT

The most important agricultural products in the municipality Jimenez are onions, pepper, tomatoes, and potatoes; these are affected by various bacterial diseases, for their control there is an indiscriminate use of chemical pesticides. In the present study, the identity of the pathogens was determined and ecological alternative using ethanolic extracts of *Lippia origanoides* K was evaluated. The bacterial isolate was obtained from different localities of the municipality, strains were identified by conventional techniques. Prevalence by area was tomatoes, pepper and potato and predominance of *Pseudomonas* sp., *Pectobacterium* sp *Xanthomonas* sp. The inhibitory capacity of EE at 4, 6 and 8% concentration was tested on the growth of these bacteria. The concentration with the highest inhibitory effect was 6% of EE. These results reveal the potential use of EE as an alternative for the control of bacteria.

KEY WORDS: Etiology, *Xanthomonas*, bacteriosis.

Introducción

El municipio Jiménez del estado Lara, Venezuela, se destaca en la producción de rubros hortícolas, debido a sus características climáticas, edáficas, de relieve y a una fuerte vocación agrícola de sus habitantes. La depresión de Quibor, enmarcada en este mismo municipio fue declarada en 1982, como una zona de aprovechamiento agrícola en el país, consolidándose como tal (Pierre y Betancourt, 2007), donde las principales especies cultivadas en esta entidad son: cebolla, pimentón, tomate y papa, con un aporte significativo a la producción nacional de estos rubros (MAT, 2008). Su manejo productivo es intensivo, caracterizado por una excesiva mecanización de los suelos, riego y fertilización (Martínez y Alfonzo, 2003), esta situación, favorece la aparición de problemas fitosanitarios en los cultivos locales lo cual presenta implicaciones negativas que

el productor debe afrontar ya que los cultivos son afectados por plagas y enfermedades, entre éstas, las de origen bacteriano, tales como las manchas foliares, marchitez y pudriciones, presentan altos índices de severidad, por lo que generan grandes pérdidas económicas al agricultor, aunado a esto, se conlleva el uso indiscriminado de agroquímicos, lo cual genera graves problemas de salud en la comunidad y desequilibrios ecológicos, situación evidentemente insostenible en el tiempo (Pierre y Betancourt, 2007).

Según Stefanova *et al.* (2005) el manejo de las enfermedades bacterianas se ha hecho mundialmente difícil, debido a la resistencia a los fungicidas cúpricos y los antibióticos, los cuales durante muchos años, han sido empleados en la agricultura con ese fin, lo que ha motivado la búsqueda de alternativas biológicas, entre ellas los extractos vegetales (EV), acuosos (EA) o etanólicos (EE), los cuales han resultado promisorios por su destacado efecto bactericida (Molina, 2001; Pérez *et al.*, 2011).

Oliveira *et al.* (2007) afirmaron que el orégano silvestre (*Lippiaoriganoides* K.), a través de su metabolismo secundario sintetiza principalmente compuestos del grupo de los monoterpenos, como el carvacrol y el timol, efectivos por su actividad antimicrobiana, por cuanto promueven el aumento de la permeabilidad de la membrana citoplásmica y son capaces de desintegrar la exterior de las bacterias Gram-negativas, causando la liberación de lipopolisacáridos.

En este sentido, cabe mencionar que los rubros cultivados en esta zona, se han visto fuertemente afectados por enfermedades bacterianas, sin embargo no se dispone de documentación precisa acerca de los agentes causales ni de la prevalencia de los mismos, además es conocido que el uso indiscriminado de plaguicidas en el municipio Jiménez ha causado numerosos problemas ecológicos y de salud en sus habitantes. Por tal motivo, el objetivo de ésta investigación consistió en determinar la prevalencia de enfermedades bacteriana en cultivo a

cielo abierto del municipio Jiménez y evaluar el extracto etanólico foliar de *Lippia origanoides*, como alternativa para el control de patógenos bacterianos en los principales cultivos

1. Materiales y métodos

1.1. Determinación de la prevalencia de enfermedades bacterianas en cultivos hortícolas en el municipio Jiménez, en el estado Lara.

Para la evaluación de la prevalencia se procedió a cuantificar el número total de Unidades de Producción (UP) cultivadas a cielo abierto, las cuales fueron muestreadas en las diferentes localidades o sectores, de las Parroquia Diego de Lozada, Tintorero, Cabo José Dorante, Paraíso de San José y San Miguel, en el municipio Jiménez, durante el período octubre 2012- marzo 2013; el muestreo fue dirigido, cuantificándose el número total de plantas muestreado por cultivo, y el porcentaje que presentaban sintomatología bacteriana, tales como: marchitez, manchas foliares y pudriciones blandas, propias de bacteriosis (Agrios, 2005). De esta forma se calculó el número de individuos que, en relación con la población total, padecen una enfermedad determinada en un momento específico (Moreno *et al.*, 2000).

1.2. Aislamiento del patógeno, pruebas presuntivas y obtención de cultivo puro

Se colectaron muestras de hojas, tallos y frutos sintomáticos en tomate, pimentón, papa y cebolla, en las diferentes localidades bajo estudio, las mismas fueron llevadas al Laboratorio de Bacteriología del Posgrado de Agronomía, de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA), para el diagnóstico e identificación de las diferentes bacteriosis.

Para el aislamiento bacteriano, las muestras fueron desinfectadas con NaOCl(2%), lavadas tres veces con agua destilada estéril (ADE), maceradas y

mediante el método de dilución en serie, se obtuvieron alícuotas que fueron transferidas a cajas Petri con medio agar nutritivo (AN). Una vez ocurrida la formación de las colonias, se replicó, realizándose las pruebas presuntivas de KOH (3%), para determinar si eran Gram (-) ó Gram (+) (Suslowet *al.*,1982) y la tinción con rojo congo, para observar bajo el microscopio óptico (1000X), la forma de la célula bacteriana, seleccionándose las cepas presuntamente fitopatógenas.

Posteriormente, se realizaron diluciones en serie, para obtener a las 24 y 48 horas las colonias puras y proceder a someterlas a las siguientes pruebas para la identificación de las mismas, simultáneamente a conservar una muestra de la cepa en glicerol (20%), (French y Hebert, 1980).

1.3. Pruebas de patogenicidad

La preparación de los inóculos fue realizada a partir de cepas bacterianas puras desarrolladas en AN de 24-48 horas de crecimiento. Para ello se prepararon suspensiones con ADE con una concentración de 10^8 UFC/ ml, correspondiente al tubo N° 4, según la escala de McFarland (Barret, 1975). Para la inoculación, se utilizaron plantas de tomate, pimentón y cebolla provenientes de semillas y frutos sanos, sembradas en envases plásticos de 1 Kg, de capacidad, conteniendo una mezcla de sustrato preparado con tierra negra y cáscara de arroz (2:1), esterilizado con vapor.

Se inocularon plantas de 20 días de edad con las cepas bacterianas aisladas, mediante los métodos correspondientes, tales como: aspersion a las hojas con heridas y sin heridas e inoculación directa en el tallo, mediante colocación de algodón previamente impregnado con la suspensión bacteriana, sobre herida realizada en la base del tallo. Se inocularon tres plantas por cepa, el testigo consistió en 2 plantas tratadas de la misma manera para cada método, pero con agua destilada estéril (ADE); las plantas se mantuvieron en cámara húmeda en pre-inoculación por 48 horas y posterior a la inoculación por 72 horas, en

umbráculo a 27°C y 68% de HR, en promedio; se asperjaron con agua 2 veces al día y se realizaron observaciones diarias. Al observarse los síntomas, se realizaron los re-aislamientos, pruebas fisiológicas y bioquímicas, para corroborar que se trataba de las mismas bacterias inoculadas. Adicionalmente, en el caso del pimentón, debido a observación en el campo de síntomas de manchas bacterianas a nivel del pedúnculo del fruto, de manera simultánea se realizó un ensayo en el que se inoculó la cepa bacteriana directamente sobre esta estructura, corroborando las pruebas de patogenicidad.

1.4. Identificación y caracterización de las cepas bacterianas aisladas

Se realizó luego de 24 horas de crecimiento, a partir de colonias bacterianas puras en los medios de cultivo AN y YDC, observándose características de borde, brillo, elevación, consistencia y color de las cepas individuales. En colonias de 24 a 48 horas, procediéndose a la observación bajo el microscopio óptico (1000x) la forma de la célula bacteriana, previa tinción con rojo congo (Schaad *et al.*, 2001).

Para la determinación de las características fisiológicas y bioquímicas, se utilizaron las pruebas de KOH (3%); requerimiento de oxígeno (Prueba de Hugh y Leifson); bactofoenol rojo dextrosa agar, oxidasa, catalasa, hidrólisis de almidón, producción de H₂S, crecimiento a 35 y 40°C, producción de ureasa, digestión de las proteínas, licuefacción de la gelatina, hidrólisis de esculina, reducción de nitratos, utilización de carbohidratos y producción de ácidos a partir de los mismos (Klement *et al.*, 1990; Holt *et al.*, 1994; Schaad *et al.*, 2001).

1.5. Obtención de los extractos etanólicos foliares de *L. origanoides*

El extracto etanólico de orégano se obtuvo a partir de hojas plenamente desarrolladas y aparentemente sanas, secadas a la sombra, pulverizadas en una licuadora convencional Oster^{MR}. El polvo se colocó en un envase de vidrio, recubierto por un plástico negro, y se le agregó etanol (96%) hasta cubrirlo completamente. Se dejó macerar por 12 h, se filtró y con la ayuda de un rotavapor

Brinkmann^{MR}, se obtuvo el crudo, el cual se guardó bajo refrigeración (8°C) en frascos color ámbar, hasta el momento de realizar las pruebas de actividad biológica (Marcano y Hasegawa, 2002).

1.6. Evaluación *in vitro* del extracto etanólico de *L. origanoides* sobre el crecimiento de las bacterias diagnosticadas.

Las cepas bacterianas para este ensayo fueron seleccionadas bajo el criterio de ser representativas y con excelente crecimiento en agar nutritivo. Las bacterias en suspensión (100 µl ajustado a 10⁸ cel/ml) se sembraron en cápsulas Petri con AN, posteriormente, se impregnaron discos de papel de filtro estériles de 5 mm de diámetro, con 10 µl del EE al 4, 6 y 8%; como testigo negativo, se utilizó ADE. Los discos se ubicaron en forma equidistante a razón de 4/placa, lo cual constituyó una variante a la metodología original (Hernández y Trujillo, 2009). Se utilizó un diseño completamente al azar, con 5 repeticiones/tratamiento. Las evaluaciones se realizaron después de las 48 horas, midiéndose el tamaño del halo de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano y posteriormente los datos fueron sometidos al análisis de varianza, utilizando el programa Statistix 8.0.

2. Resultados y discusión

2.1. Prevalencia de enfermedades bacterianas en cultivos hortícolas del municipio Jiménez

Se abordaron veintiséis unidades de producción (UP) en el municipio Jiménez, cuya área agrícola se zonificó, correspondiendo la zona 1 a la parroquia Diego de Lozada (Piedra de Ojo, Si puedo, El Zancudo), siendo el cultivo más representativo el de tomate (52,94%), además de encontrarse pimentón (23,53%) y papa (23,53%); la zona 2, a las parroquias Cabo José Dorante (El Hato) y Tintorero (Rincón de Guardia, Colinas de Campo Alegre, Campo Lindo y Negrete Sur), donde el cultivo imperante fue el pimentón (90%), también se muestreo tomate en un 10%; y la zona 3, a las parroquias Paraíso de San José (Agua Negra, Sabanita y Palenque Arriba) y San Miguel (El Volcancito), en la cual sobresalió el

cultivo de papa, con un 76,92% seguido de cebolla y tomate, con 15,38% y 7,69% respectivamente. (Cuadro 1).

De las 26 UP muestreadas, 14 presentaron plantas con síntomas de bacteriosis, representando un total de 53,85%. Al respecto, las muestreadas por cultivo fueron: en cebolla 2, en pimentón 11, en tomate 5 y en papa 8, con prevalencias de 100; 36; 40 y 62,5%, respectivamente (Cuadro 2). En general, los síntomas predominantes fueron manchas, marchitez y pudriciones, con un 73,08; 42,30 y 26,92 %, respectivamente.

Cuadro 1. Cultivos encontrados en tres zonas del municipio Jiménez del estado Lara en el período de octubre 2012- marzo 2013

Zona	Cultivo	% Prevalencia
Zona 1. Parroquia Diego de Lozada	Tomate	52,94%
	Pimentón	23,53%
	Papa	23,53%
Zona 2. Parroquias Cabo J. Dorante y Tintorero	Pimentón	90%
	Tomate	10%
Zona 3. Parroquias San José y San Miguel	Papa	76,92%
	Cebolla	15,38%
	Tomate	7,69%

Cuadro 2. Fincas afectadas por enfermedades bacterianas en las localidades Piedra de Ojo, Si puedo, El Zancudo, El Hato, Rincón de Guardia, Colinas de Campo Alegre, Campo Lindo, Negrete Sur, Agua Negra, Sabanita, Palenque Arriba y San Miguel

Cultivo	Nº Fincas evaluadas	Nº Fincas afectadas	% de Prevalencia
Cebolla	2	2	100%
Pimentón	11	4	36%

Tomate	5	2	40%
Papa	8	5	62.5

Estos resultados podrían compararse con los obtenidos por Jiménez *et al.* (2013 a), quienes estudiaron la prevalencia de enfermedades bacterianas en plántulas de pimentón en casas de cultivo del municipio Jiménez, y reportaron que de un total de 19 estructuras evaluadas, 14 mostraron síntomas bacterianos, representando el 73,68%, valor éste un tanto superior al obtenido a nivel de campo en esta investigación, lo que posiblemente sea causado por el menor porcentaje de humedad, en comparación a las condiciones dentro de las estructuras protegidas, ya que un ambiente cálido, húmedo y sin corrientes de aire dentro de la estructura protegida favorece la aparición de enfermedades bacterianas (Baker y Linderman, 1979). Sin embargo el uso de estructuras protegidas llevando a cabo la implementación de unas series de medidas de prevención de plagas y enfermedades es la mejor opción para los productores en la actualidad, ya que tal como lo señala (Urrestarazu *et al.*, 2006).

2.2. Aislamiento de los patógenos bacterianos y pruebas de patogenicidad

Se obtuvieron 35 aislamientos bacterianos puros a partir de las muestras colectadas, los resultados del análisis de las pruebas presuntivas, permitieron identificar a nivel de género. En tomate, se aislaron 13 cepas (37,15%), en pimentón 12 (34,29%), en papa 8 (22,85%) y en cebolla 2 (5,71%); no obstante, se seleccionaron 12 cepas representativas, bajo los criterios de importancia patogénica en tales cultivos y mayor frecuencia de aparición, los mismos fueron inoculados, para comprobar los postulados de Koch.

Los 12, aislamientos seleccionados se codificaron de acuerdo a su procedencia, los de pimentón: P-0, P-1, P-2, P-3, P-4, P-5; de tomate: T-1, T-2, T-3; de cebolla: C-1, C-2 y de papa: Pa-1. Las bacterias inoculadas por cultivo produjeron

los síntomas observados en las muestras de las cuales fueron aisladas, con lo cual se comprobó los postulados de Koch, dándose dos excepciones en las codificadas como P-1 y T-2, las cuales no generaron síntomas en plantas y/o en fruto (caso P-1), luego de la inoculación.

2.3. Identificación y caracterización de la bacteria

La caracterización cultural, bioquímica y morfológica de los aislamientos (cuadros 3 y 4), permitió identificarlos en base a la coincidencia con las características descritas para diversas especies bacterianas reportadas (Schaad *et al.*, 2001), resultados estos que en gran parte están en concordancia con lo reportado en el caso del pimentón por O'Garro (1998); Mitrevet *al.* (2000); Fiori y Schiaffino (2004); Martinet *al.* (2004); Lewiet *al.* (2007); Herman *et al.* (2008); Honget *al.* (2012). En el caso del aislamiento "P-2" identificado como *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, no se le encontró un reporte análogo, sugiriéndose la realización de más estudios al respecto.

La presencia de *Ralstonia solanacearum* y *P. carotovorum* (antes *Erwinia caratovora*) fueron señaladas por Escalona *et al.* (2006) en pimentón, en la zona baja del municipio Jiménez. De igual modo, Jiménez *et al.* (2013a), en casas de cultivo del mismo municipio determinaron la presencia de *Xanthomonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Erwinia* spp., *Burkholderia* spp., *Pantoea* spp. y *Agrobacterium* spp., en plántulas.

Cuadro 3. Características culturales y morfológicas de los aislamientos bacterianos seleccionados por cultivo de muestras obtenidas del municipio Jiménez del estado Lara. Período:

AISLAMIENTO BACTERIANO												
	P-0	P-1	P-2	P-3	P-4	P-5	T-1	T-2	T-3	C-1	C-2	Pa-1
Características culturales												
Color	Amarilla	Cremosa	Cremosa	Cremosa	Blanca	Amarilla	Amarilla	Cremosa	Cremosa	Cremosa	Cremosa	Blanca
Forma	Circular	Irregular	Circular	Circular	Circular	Circular	Circular	Irregular	Circular	Circular	Circular	Circular
Borde	Liso	Ondulado	Ondulado	Liso	Ondulado	Liso	Liso	Ondulado	Liso	Ondulado	Ondulado	Ondulado
Superficie	Convexa	Aplanada	Aplanada	Convexa	Aplanada	Convexa	Convexa	Aplanada	Convexa	Aplanada	Aplanada	Aplanada
Consistencia	Mucosa	Mucosa	Mucosa	Mucosa	Mucosa	Mucosa	Mucosa	Mucosa	Mucosa	Mucosa	Mucosa	Mucosa
KOH al 3%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Forma	Bacilo	Bacilo	Bacilo	Bacilo	Bacilo	Bacilo	Bacilo	Bacilo	Bacilo	Bacilo	Bacilo	Bacilo

Procedencia de los aislamientos: P-0, P-1, P-2, P-3, P-4, P-5: pimentón; T-1, T-2, T-3: tomate; C-1, C-2: cebolla; Pa-1: papa.

Según Tudor-Nelson et al. (2003) se ha observado la afectación del cultivo de pimentón por la mancha bacteriana causada por *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* y los esfuerzos para aumentar la producción en los mismos han sido limitados, principalmente por las dificultades encontradas en el control de la enfermedad (O'Garro, 1998 y Martin et al., 2004), por cuanto es favorecida por el clima cálido y húmedo, reduciendo considerablemente el rendimiento, la calidad del fruto y puede destruirlo por completo (Martin, et al., 2004). En este mismo sentido, *Ralstonia solanacearum* causante de la marchitez bacteriana, es mencionada por Hong et al. (2012) como una de las enfermedades más destructiva en las regiones tropicales, subtropicales y templadas del mundo, infectando a más de 200

especies de plantas diferentes y es de difícil erradicación, una vez que la bacteria se introduce en cualquiera de estos sistemas de producción.

Cuadro 4. Características fisiológicas y bioquímicas de los aislamientos bacterianos seleccionados por cultivo de muestras obtenidas del municipio Jiménez del estado Lara.

Medio de cultivo	AISLAMIENTO BACTERIANO												
	P-0	P-1	P-2	P-3	P-4	P-5	T-1	T-2	T-3	C-1	C-2	Pa-1	
Pruebas bioquímicas y fisiológicas													
Medio Hugh y Leifson	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+
Medio YDC	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Fluorescencia en Medio KB	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Medio D1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Medio D3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+
Medio Arginina dehidrolasa	N/D	-	-	-	N/D	N/D	N/D	-	-	N/D	N/D	N/D	N/D
Crecimiento a 40°C	N/D	-	+	N/D	N/D	N/D	N/D	-	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
Hidrólisis de Esculina	+	N/D	N/D	N/D	N/D	+	+	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
Litmus Milk	+	N/D	N/D	N/D	N/D	+	+	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
Levan	N/D	N/D	N/D	+	N/D	N/D	N/D	N/D	+	N/D	N/D	N/D	N/D
Hidrólisis de Almidón	+	N/D	-	N/D	N/D	+	+	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
Reducción de Nitratos	N/D	N/D	-	-	N/D	N/D	N/D	N/D	-	N/D	N/D	N/D	N/D
Oxidasa	N/D	N/D	N/D	-	N/D	N/D	N/D	N/D	-	N/D	N/D	N/D	N/D
Crecimiento a 37°C	N/D	N/D	N/D	-	+	N/D	N/D	N/D	-	+	+	+	+

Producción de Indol	N/D	N/D	N/D	N/D	-	N/D	N/D	N/D	N/D	-	-	-
Reducción de azúcares a partir de Sacarosa	N/D	N/D	N/D	N/D	-	N/D	N/D	N/D	N/D	-	-	-
Arabinosa	+	N/D	N/D	N/D	N/D	+	+	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
Mannosa	-	N/D	N/D	N/D	N/D	-	-	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
Melibiosa	N/D	N/D	N/D	N/D	+	N/D	N/D	N/D	N/D	+	+	+
Sacarosa	N/D	N/D	-	+	N/D	N/D	N/D	N/D	+	N/D	N/D	N/D
Bacteria Identificada	<i>Xc</i>	<i>Rs</i>	<i>Aac</i>	<i>Ps</i>	<i>Pc</i>	<i>Xc</i>	<i>Xc</i>	<i>Rs</i>	<i>Ps</i>	<i>Pc</i>	<i>Pc</i>	<i>Pc</i>

N/D: Prueba no determinante para identificar al aislamiento bacteriano a nivel de especie, una vez establecido su género

Especies bacterianas identificadas: *Xc*: *Xanthomonas campestris*; *Rs*: *Ralstonia solanacearum*; *Aac*: *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*; *Ps*: *Pseudomonas syringae*; *Pc*: *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*;

Pectobacterium carotovorum subsp. *carotovorum* (*Erwinia carotovora* ssp. *carotovora*), ocasionante de la pudrición y posterior muerte de plántulas, afectándolo hasta en la etapa de post-cosecha (Hadas et al., 2001; El-Hendawy et al., 2002; Fiori y Schiaffino, 2004). También encontramos a *Acidovorax avenae* y *A. citrulli* (antes *A. avenae* subsp. *citrulli*), patógeno de cucurbitacea, tal como la patilla. En pimentón no está reportada como patógeno, sin embargo se ha encontrado asociada al mismo, debido a que este puede ser transmitido por semilla a través de colonización epífita, lo que trae consigo que patógenos bacterianos transmitidos en las plántulas no hospedantes como epífitas, cuando se plantan en la proximidad de plántulas susceptibles del huésped, pueden dispersar potencialmente el patógeno dando lugar a epidemias inesperadas (Dutta et al., 2014).

En el caso del tomate, se coincidió con Hanson *et al.* (1998); Wilson *et al.* (2002); Cuppels *et al.* (2006); Herman *et al.* (2008); Hong *et al.* (2012) en cuanto a las especies reportadas en este estudio; asimismo en el cultivo de cebolla. El tomate es principalmente afectado por la mancha bacteriana, cuyo agente etiológico es *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria* (Rázuri *et al.*, 2005 y Pierre y Betancourt, 2007). Chaudhry y Rashid (2011) y Huang *et al.* (2012) consideraron esta bacteria entre los patógenos más importantes, señalando además que puede ser causada por al menos cuatro representantes de *Xanthomona*, taxonómicamente distintas. O'Garro (1998); Wilson *et al.* (2002) y Herman *et al.* (2008) señalaron que el aumento de la producción en los cultivos enfermos se dificulta, por el deficitario control, la reducción de la capacidad fotosintética del follaje infectado y adicionalmente, las lesiones en los frutos, que disminuyen el valor comercial del producto. Cuppels *et al.* (2006) la consideraron como una enfermedad muy persistente, económicamente importante y hacen referencia a que aunque no suele matar a las plantas, los síntomas en las bayas pueden disminuir su comerciabilidad.

En cebolla, la pudrición central de la cebolla ocasionada por *Pantoea ananatis*, puede ser transmitida por la semilla (Janse, 2012), la pudrición bacteriana del bulbo de la cebolla causada por *Burkholderia cepacia* (Sotokawa y Takikawa (2004), pero además encontramos la pudrición blanda cuyo agente causal es *Pectobacterium caratovorum* (= *Erwinia caratovora*), tal como lo menciona Abdalla *et al.*, 2013 esta última diagnosticada en este trabajo, la cual es una patología importante para el cultivo, ya que aunque la podredumbre blanda bacteriana ocurre en muchos tipos de cultivos, en cebolla puede reducir considerablemente el rendimiento de cosechas de tanto en el campo como en el almacén, ya que la encontramos también como patógeno poscosecha.

Para el caso de papa, el patógeno bacteriano diagnosticado fue *Pectobacterium carotovorum*, patógeno de importancia agrícola causante de la pudrición de la papa Rezaei y Taghavi (2010) y Salmaan *et al.* (2010); El cual también ha sido reportado por Trujillo *et al.* (2001) quienes comprobaron la presencia de este patógeno en semillas de este mismo cultivo colectadas en Quíbor y que además coincide con Hernández y Trujillo (2004), Tavasoliet *al.* (2011), Abdul *et al.* (2012) y Anajjar *et al.* (2014), al reportar la misma especie bacteriana afectando al cultivo de la papa. Al respecto, Tavasoli *et al.*, (2011) y Hernández y Trujillo (2004) señalaron como agente causal de la pudrición de la papa a *Pectobacterium carotovorum* subsp *carotovorum* y a *Dickeya chrysanthemi.*, las cuales además de la papa tienen una amplia gama de hospedantes, principalmente en las regiones tropicales y subtropicales, mientras que *P. atrosepticum* se limita casi exclusivamente a la papa en las regiones templadas. Anajja *et al.* (2014) plantearon que a menudo *Pectobacterium carotovorum* persiste como una infección latente en tubérculos, pudiendo afectar hasta en post-cosecha, disminuyendo el rendimiento y aumentando el costo de producción; además de que causan sintomatologías diferentes dentro de un huésped. En este particular, en condiciones húmedas, puede provocar maceración de tejidos parenquimáticos del tallo subterráneo generando el síntoma del “pie negro”; En contraste, en condiciones secas se puede dar origen a marchitez, clorosis y desecación de la planta afectada.

Para el lapso de tiempo en el que se realizó este estudio, en la zona 1 que incluyó a las localidades Cubiro, El Zancudo y sus alrededores, el cultivo más representativo fue el de tomate, con predominio de *Pseudomonas* sp., En la 2, correspondiente a las localidades aledañas a Quíbor, tales como Rincón de Guardia y Negrete, el imperante fue el pimentón y los principales géneros bacterianos fueron *Pectobacterium* sp. y *Xanthomonas* sp. en igual proporción; en la 3, que incluyó Agua Negra, Palenque y sus alrededores, sobresalió el cultivo de papa y el principal género bacteriano fitopatógeno reportado fue *Pectobacterium* sp.

Cabe señalar que una vez realizado la identificación de las especies bacterianas por cultivo, se nota la presencia de bacterias que afectan más de un cultivo, allí tenemos el caso de bacterias que entre su rango de hospederos incluye varias especies de las solanáceas, la cual fueron en su mayoría las especies de cultivo muestreadas, entre las que podemos mencionar *X. campestris*, *R. solanacearum* y *Pseudomonas syringae* encontradas en pimentón y tomate. Además encontramos *P. caratovorum*, en todos los cultivos estudiados, ya que este patógeno tiene amplio rango de hospedero y se conoce como causante de pudrición blanda.

2.4. Evaluación *in vitro* del extracto etanólico foliar de *L. origanoides* sobre el crecimiento de las bacterias diagnosticadas

Todas las concentraciones del EE de orégano silvestre produjeron halos de inhibición sobre las bacterias probadas (CUADRO 5); el análisis de varianza reveló diferencias significativas ($P < 0,01$) entre los tratamientos y el testigo; evidenciándose además la susceptibilidad variable a los tratamientos, de acuerdo a la especie.

En 5 aislamientos (62.5%), el mayor efecto fue el que se presentó con el EE al 6%, mostrando mayor porcentaje de inhibición en el crecimiento de las cepas evaluadas, no obstante, estadísticamente hubo poca diferencia entre las medias de los tratamientos, por lo cual se recomiendan estudios con mayores concentraciones del extracto, para detectar diferencias, esto sin obviar que cada cepa bacteriana tiene sus características, lo cual hace particularmente complejo alcanzar un tratamiento estándar aplicable a un gran número de especies.

Cuadro 5. Halo de inhibición del crecimiento bacteriano ocasionado por el extracto etanólico foliar de *L. origanoides*.

Concentración del Extracto Etanólico (%)

Bacteria	4		6		8		Significancia	CV
	Inhibición							
	cm	%	cm	%	cm	%		
P-0 <i>Xanthomonas</i> <i>scampestris</i>	0.8790 a	21	0.9380 a	29	0.9333 a	28	< 0,01**	4.09
P-1 <i>Ralstonia</i> <i>solanacearum</i>	1.0953a	25	0.9842 ab	12	0.9882 ab	12	0.0034**	6.31
P-2 <i>Acidovorax</i> <i>avenae</i>	1,0355a	13	1,0435a	14	0,9792 ab	6	0.0079**	4.62
P-5 <i>Xanthomonas</i> <i>campestris</i>	0.9957 a	20	0.9313a b	12	0.9167a b	10	0.0060**	5.58
T-3 <i>Pseudomonas</i> <i>syringae</i>	1,0228 a	17	1,0435a	19	1,0048 a	15	0.0034**	5.43
Pa-1 <i>Pectobacterium</i> <i>caratovororum</i>	1,0562a	19	1,0817a	22	1,0770a	21	0.0005**	5.14
C-1 <i>Pectobacterium</i> <i>caratovororum</i>	0.9177a	42	0.9872 a	53	0.8565 ab	24	0.0028**	11.89
C-2 <i>Pectobacterium</i> <i>caratovororum</i>	0.8962 ab	17	0.9550 a	25	0.9450 a	24	0.0066**	7.64

*Datos calculados con respecto al testigo (0% de Extracto Etanólico).
 Letras iguales indican sin diferencias significativas (P<0,01). Comparación de medias por pruebas de Tukey(¿?)

Se debe considerar además que la variabilidad a nivel de aislamientos puede ser grande, ya que las cepas P-0 y P-5 son provenientes del cultivo de pimentón e identificadas como *Xanthomonas campestris*, no obstante, su desempeño frente a los tratamientos fue distinto, lo que posiblemente se debió, a la diferente capacidad de crecimiento en el medio, lo cual a su vez es determinado por características intrínsecas particulares, que también podría estar relacionado a la zona de origen de dichas cepas, ya que la cepa P-0 es proveniente de la localidad Piedra de Ojo ubicada a 1503msnm en contraste con la P-5 proveniente de Colinas de Campo alegre a 684msnm. Además, cabe resaltar la susceptibilidad mayor de algunas especies, tal como es el caso de *Pectobacterium carotovorum* (C1) que con 6% de EE se redujo el halo en más de 50%, lo cual también puede deberse a condiciones genéticas de las cepas. Estos resultados coincidieron, parcialmente, con los obtenidos por Jiménez, et al. (2013, b) quienes determinaron la capacidad inhibitoria del EE foliar del orégano al 4, 6 y 10% y como control positivo al producto Kasumin, sobre el crecimiento de bacterias fitopatógenas de los géneros *Xanthomonas* spp., *Pseudomonas* spp. y *Erwinia* spp., provenientes del cultivo de pimentón y según estos mismos autores, la concentración de mayor capacidad inhibitoria del producto, para todas las bacterias fue al 6%, superando inclusive al tratamiento donde se aplicó el químico, el cual es uno de los más utilizados en la agricultura, para el control de enfermedades bacterianas.

Más recientemente, Pinto *et al.* (2013) estudiaron la actividad antimicrobial de diferentes especies de *Lippia* spp., incluyendo *L. origanoides*, encontraron que con una concentración de extracto metanólico de 1 mg/disco, se observaron halos de inhibición de 7 +/- 0,5 mm contra *Staphylococcus aureus* y los diámetros fueron variables en otras especies patógenas bajo estudio, no obstante, reportaron resistencia por parte de *Pseudomonas aeruginosa* y tal cual como en esta investigación, el uso de extractos de esta planta, podría ser una alternativa prometedora en el tratamiento de infecciones bacterianas. Del mismo modo, se corroboran los resultados de Oliveira *et al.* (2007), quienes realizaron un ensayo

con aceites esenciales (AE) de orégano, en el que utilizaron alícuotas de 10 µL de aceite diluido 1:1 con Tween 80 (0,5% en agua), reportando halos de inhibición de hasta 25 mm contra *S.aureus*, deduciéndose el mejor desempeño de éstos, en comparación con los EE, sin embargo, debe estudiarse la factibilidad económica y ecológica de extracción y uso en condiciones de campo.

Conclusiones

Estos resultados demostraron la potencialidad de *L. organoides* como control alternativo de bacterias fitopatógenas y las diferencias en respuesta inhibitoria del extracto que puede existir entre cepas bacterianas

Referencias

- Abdalla, M.; Hamza, S.; Fayzalla, S. and Seeda, E. (2013). Post harvest control of bacterial soft rot pathogens of onion bulb in storage. . Plant Prot. and Path., Vol. 4 (11): 945 – 957.
- Abdul R., A. Abu Bakker, M. Aslam, M. Mateen, A. Farooq, M. Ashraf, M. Ahmad, F. Latif, M. y M. Ahmad (2012). Incidence of potato blackleg caused by *Pectobacterium atrosepticum* in district Chiniot and its management through bio-products. *African Journal of Agricultural Research* 7(45): 6035-6048.
- Anajjar B., S. Azelmat, M. Terta and M. Ennaji (2014). Evaluation of Phytopathogenic Effect of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* isolated from Symptomless Potato Tuber and Soil. *British Journal of applied science & Technology* 4(1): 67-78.
- Baker, F. y Linderman, R. (1979). Unique features of the pathology of ornamental plants. *Annu. Rev. Phytopathol* 17:253-277.
- Barret T. (1975). Preparation of Bacterial Vaccine. In: Proceeding of the first workshop of phytobacteriology. R.N. Goodman (ed.). Columbia. University of Missouri. pp. 1-6.
- Chaudhry Z. and A. Rashid. (2011). Isolation and characterization of *Ralstoniasolanacearum* from infected tomato plants of soanskesar valley of Punjab. *Pakistan Journal Botanica*. 43(6): 2979-2985.

Cuppels D., F. Louws and T. Ainsworth (2006). Development and evaluation of PCR-based diagnostic assays for the bacterial speck and bacterial spot pathogens of tomato. *Plant Dis.* 90:451-458.

Dutta B., R. Gitaitis, S. Smith, S. and D. Langston (2014). Interactions of Seedborne Bacterial Pathogens with Host and Non-Host Plants in Relation to Seed Infestation and Seedling Transmission. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0099215>

El-Hendawy H., E. Osman, and H. Ramadan (2002). Pectic enzymes produced *in vitro* and *in vivo* by *Erwinia* spp. isolated from carrot and pepper in Egypt. *J. Phytopathology* 150:431-438.

Escalona Y. y R. Pire (2008). Crecimiento y extracción de N-P-K por plantas de pimentón (*Capsicum annuum* L.) abonadas con estiércol de pollo en Quíbor, estado Lara. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 25: 243-260.

Escalona Y., D. Rodríguez, N. Contreras y N. Jiménez (2006). Patógenos del suelo en el cultivo de pimentón en la zona baja del municipio Jiménez, estado Lara, Venezuela. *Bioagro* 18(1): 3-13.

Fiori M., and A. Schiaffino (2004). Bacterial stem rot in greenhouse pepper (*Capsicum annuum* L.) in Sardinia (Italy): Occurrence of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. *J. Phytopathology* 152, 28-33

French E. y T. Hebert (1980). *Métodos de Investigación Fitopatológica*. Editorial IICA. San José, Costa Rica. 289p.

Hadas R., G. Kritzman, and S. Manuli (2001). Detection, quantification and characterization of *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* contaminating pepper seeds. *Plant Pathology* 50: 117-123.

Hanson P., O. Licardo, O., Hanudin, J. and J. Chen (1998). Diallel analysis of bacterial wilt resistance in tomato derived from different sources. *Plant Dis.* 82:74-78.

Herman M., J. Davidson and C. Smart (2008). Induction of plant defense gene expression by plant activators and *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in greenhouse-grown tomatoes. *Phytopathology* 98:1226-1232.

Hernández, Y. y G. Trujillo (2004). Relaciones serológicas entre aislamientos bacterianos de los géneros *Erwinia*, *Pectobacterium* y *Pantoea*. *Interciencia* 29(8): 447-454.

Hernández Y. y G. Trujillo (2009). Extractos etanólicos de *Gliricidia sepium*, una alternativa de control de bacterias fitopatógenas en plantas ornamentales. *Fitopatología Venezolana*. 22 (2): 40

Holt J., N. Krieg., P. Sereath., J. Staley y S. Williams (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. William & Wilkins. Baltimore. 1093p.

Hong J., D. Norman, D. Reed, M. Momol and J. Jones (2012). Diversity among *Ralstoniasolanacearum* strains isolated from the southeastern United States. *Phytopathology* 102:924-936.

Huang C., G. Vallad, S. Zhang , A. Wen , B. Balogh, J. Figueiredo, F. Behlau, J. Jones, M. Momol and S. Olson (2012). Effect of application frequency and reduced rates of acibenzolar-S-methyl on the field efficacy of induced resistance against bacterial spot on tomato. *Plant Dis*. 96:221-227.

Janse J. (2012). Bacterial diseases that may or do emerge, with (possible) economic damage for Europe and the Mediterranean basin: notes on epidemiology, risks, prevention and management on first occurrence. *Journal of Plant Pathology* 94, (Suplemento 4). 5- 29.

Jiménez Y., Y. Escalona, J. Montilla y M.E. Sanabria (2013a.). Prevalencia de enfermedades bacterianas en plántulas de pimentón (*Capsicum annuum* L.) en casas de cultivo del municipio Jiménez-estado Lara, Venezuela. XXIII Congreso Venezolano de Fitopatología. Caracas-Venezuela. Disponible en: <https://sites.google.com/site/ideafitopatologia2013/congreso/resumenes-socializados/caracterizacion-de-bacterias>.

Jiménez Y., Y. Escalona, M. E. Sanabria y J. Montilla, J. (2013b.). Control *in vitro* de bacterias asociadas al cultivo de pimentón con extracto etanólico de *Lippia origanoides* K. XXIII Congreso Venezolano de Fitopatología. Caracas-Venezuela. Disponible en: <https://sites.google.com/site/ideafitopatologia2013/congreso/resumenes-socializados/control-de-fitopatogenos-con-metabolitos>

Klement Z., K. Rudolph y D. Sands (1990). *Methods in Phyto bacteriology*. Akademiai Kiado, Budapest. 568p.

Lewis M., B. McSpadden, N. Opina and S. Miller (2007). Diversity of *Ralstoniasolanacearum* Infecting Eggplant in the Philippines. *Phytopathology* 97:1467-1475.

Marcano D. y M. Hasegawa (2002). Fitoquímica orgánica. Universidad Central de Venezuela (UCV). 588 p

Martin H., V. Hamilton and R. Kopittke (2004). Copper tolerance in Australian populations of *Xanthomonas campestris* sp. *vesicatoria* contributes to poor field control of bacterial spot of pepper. *Plant. Dis.* 88: 921-924.

Martínez, M. y P. Alfonzo (2003). Especies de malezas más importantes en siembras hortícolas del valle de Quibor, estado Lara, Venezuela. *Bioagro* 15(2): 91-96.

Ministerio del Poder Popular para La Agricultura y Tierras (2008). VII Censo Agrícola. Disponible en: <http://censo.mat.gob.ve/>.

Mitrev S., L. Gardan and R. Samsó (2000). Characterization of bacterial strains of *Pseudomonas syringae* sp. *syringae* isolated from pepper leaf spot in Macedonia. *J. Plant. Pathology* 82 (3) 227-231.

Molina N. (2001). Uso de extractos botánicos en control de plagas y enfermedades. *Manejo Integrado de Plagas* No. 59: 76-77.

Moreno A., S. López y A. Corcho (2000). Principales medidas en epidemiología. *Salud Pública de México*. vol 42. nro 4:337-348

O'Garro L. (1998). Bacterial spot of tomato and pepper on four east caribbean islands: Races, their abundance, distribution, aggressiveness, and prospects for control. *Plant Dis.* 82: 864-870.

Oliveira D., G. Leitao, H. Bizzo, D. Lopes, D. Alviano y S. Leitao (2007). Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia origanoides* H.B.K. *Food Chemistry* 101:236-240

Pérez A., J. Rojas, J. Rodríguez, A. Doncel, I. Arrieta, J. Arrieta, J. Martínez, J. Míeles, A. Rodríguez y L. Chamorro (2011). Evaluación de métodos para medir la actividad inhibitoria de extractos vegetales nativos del departamento de Sucre sobre bacterias y levadura patógenas. *Rev. Colombiana Cienc. Anim.* 3(1): 90-101.

Pérez de Camacaro M., D. Rodríguez, M. Ojeda y M. Gallardo (2005). Caracterización física y química de ocho materiales de papa (*Solanum tuberosum* L.) cultivados en la localidad de Chirgua, Carabobo, Venezuela. *Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort.* 48:60-64.

Pierre F. y P. Betancourt (2007). Residuos de plaguicidas organoclorados y organofosforados en el cultivo de cebolla en la depresión de Quibor, Venezuela. *Bioagro* 19(2): 69-78.

Pinto C., V. Días, F. Pinto, R. Pinto, A. Trovatti, A. Ribeiro, C. Gadea, S. Dos Santos, T., and A. Lucchese (2013). Antimicrobial Activity of *Lippia* Species from the Brazilian Semiarid Region Traditionally Used as Antiseptic and Anti-Infective Agents. *Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Article ID 614501, 5 p.

Porras E. y M. Gallardo (2011). Caracterización agronómica de materiales genéticos de papa en la localidad lomas de Cubiro, estado Lara, Venezuela. *Agronomía Trop.* 61(2): 105-111

Pradhanang P., M. Momol, S. Olson and J. Jones (2003). Effects of plant essential oils on *Ralstoniasolanacearum* population density and bacterial wilt incidence in tomato. *PlantDis.* 87:423-427

Rázuri L., E. Romero, A. Galindo, J. Hernández, J. Rosales y J. Linares (2005). Efecto de la densidad de siembra sobre el rendimiento de la cebolla, variedad americana, con riego por goteo, en el valle de Quíbor. *Agriculturaandina.* 10: 9-22.

Rezaei R. and M. Taghavi (2010). Phenotypic and genotypic characteristics of Iranian soft rot bacterial isolates from different hosts. *Phytopathol.Mediterr.* 49: 194-204.

Salmaan, I. Hammed, A. and Alyaa, M. (2010). Purification and characterization of extra cellular Pectin lyase from *Erwiniacarotovora* isolate from spoilt potatoes. *Diyala Journal for Pure Sciences* 6(2): 383-397

Schaad N. W., J.B. Jones y W. Chun (2001). Laboratory Guide for identification of Plant Pathogenic Bacteria. APS Press. Minnessota. 373p.

Sotokawa N. and Y Takikawa (2004). Occurrence of bacterial rot of onion bulbs caused by *Burkholderiacepacia* in Japan. *J Gen PlantPathol* 70:348-352

Stefanova M., S. Rizo y M. Coronado (2005). Efecto *in vitro* de extractos de plantas sobre especies bacterianas del género *Xanthomonas*. *Fitosanidad.* 9 (3) 49-51.

Suslow T., M. Schroth y M. Isaka (1982). Application of rapid method for gram differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. *Phytopathology* 72: 917-918.

Tavasoli E., A. Marefatand, N. Hassanzadeh (2011). Identity and genetic diversity of *Pectobacterium* spp., causal agents of potato soft rot in Zanjan, Iran. *African Journal of Plant Science.* 5(6), pp. 329-336.

Trujillo G., Y. Hernández, R. Figueroa, A. Trujillo y L. Subero (2001). Situación sanitaria de la semilla de cebolla utilizada en el valle de Quíbor, estado Lara, con

relación a bacterias fitopatógenas. XVII Congreso Venezolano de Fitopatología. Maracay-Venezuela. Resúmenes p. 49.

Tudor-Nelson S., G. Minsavage, R. Stally J. Jones (2003). Bacteriocin-like substances from tomato race 3 strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Phytopathology* 93:1415-1421.

Urrestarazu, M. Salas, M.C. Mazuela, P.C. Morales, E. (2006). Bioseguridad a través del agua de riego en la horticultura protegida. *Vida Rural*, 239: 56-58

Wilson M., H. Campbell, P. Ji, J. Jones y D. Cuppels (2002). Biological control of bacterial speck of tomato under field conditions at several locations in North America. *Phytopathology* 92:1284-1292.

Agradecimientos

Al CDCHT – UCLA por el financiamiento del proyecto 026-AG-2012

Method of determining the location of the pinch point using seismic survey
in some areas of the Absheron Peninsula

T. R. Ahmadov

ABSTRACT

The article is devoted to determining the exact position of the point of pinching sediments by 2D and 3D seismic. It is noted that industrial oil and gas production has a nearly two-century history and the main developed fields are concentrated in anticlinal traps that have already exhausted their resources. At present, there is an intensive search for non-anticline hydrocarbon traps both in the Absheron Peninsula and beyond; most traps are associated with wedging out sediment complexes. It is emphasized that the study of seismic pinch-out zones in Azerbaijan does not meet difficulties, and the situation of studying determining the position of the pinch point is different. Three methods for determining and clarifying the position of the pinch point are proposed: a - using attribute analysis or instantaneous dynamic characteristics of the wave field; b - the method of determining the quality of the recording according to the Vertical Seismic Profiling (VSP); c - with spectral analysis of seismic records based on Fourier transform. All three methods were tested on different seismic and geological conditions, gave good results, and showed high geological efficiency.

Key words: 2D and 3D seismic, anticlinal and non-anticlinal traps, hydrocarbons, Vertical Seismic Profiling (VSP); quality factor, spectral analysis, pinch point.

*Azerbaijan State University of Oil and Industry (16/21 Azadlig Avenue, Baku, Azerbaijan). akhmedov.tofik@bk.ru ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0634-5600>

Recibido: 04/02/2019

Aceptado: 20/04/2019

Методика определения положения точки выклинивания сейсморазведкой на некоторых площадях Апшеронского полуострова

АННОТАЦИЯ

Статья посвящена определению точного положения точки выклинивания отложений сейсморазведкой 2D и 3D. Отмечается, что промышленная добыча нефти и газа имеет почти двухвековую историю и основные разработанные и разрабатываемые месторождения сконцентрированы в антиклинальных ловушках, которые уже исчерпывают свои ресурсы. В настоящее время идет интенсивный поиск не антиклинальных ловушек углеводородов как в Апшеронском полуострове, так и за его пределами, среди которых большинство составляют ловушки, связанные с выклиниванием комплексов отложений. Подчеркивается, что изучение зон выклинивания сейсморазведкой в Азербайджане не встречает трудностей, а что касается определения положения точки выклинивания, то здесь дело стоит иначе. Предлагается три способа определения и уточнения положения точки выклинивания: а - с применением атрибутного анализа или мгновенных динамических характеристик волнового поля; б - методикой определения добротности записи по данным Вертикального Сейсмического Профилирования (ВСП); в - со спектральным анализом сейсмических записей на основе Фурье преобразования. Все три способа опробованы на разных сейсмогеологических условиях и дали хорошие результаты и показали высокую геологическую эффективность.

Ключевые слова: сейсморазведка 2D и 3D, антиклинальные и не антиклинальные ловушки, углеводороды, Вертикальное Сейсмическое Профилирование (ВСП); добротность, спектральный анализ, точка выклинивания.

Método para determinar la ubicación del punto pinch utilizando la encuesta sísmica en algunas áreas de la Península de Absheron

RESUMEN

El artículo está dedicado a determinar la posición exacta del punto de pellizco de sedimentos mediante sísmica 2D y 3D. Se observa que la producción industrial de petróleo y gas tiene una historia de casi dos siglos y que los principales campos desarrollados se concentran en trampas anticlinales que ya han agotado sus recursos. En la actualidad, hay una búsqueda intensiva de trampas de hidrocarburos no anticlinales tanto en la Península de Absheron como fuera de ella; la mayoría de las trampas están asociadas con la eliminación de complejos de sedimentos. Se enfatiza que el estudio de las zonas de pellizco sísmico en Azerbaiyán no encuentra dificultades, y la situación de estudiar la determinación de la posición del punto de pellizco es diferente. Se proponen tres métodos para determinar y aclarar la posición del punto de pellizco: a - utilizando el análisis de atributos o las características dinámicas instantáneas del campo de onda; b - el método para determinar la calidad de la grabación de acuerdo con el Perfil Sísmico Vertical (VSP); c - con análisis espectral de registros sísmicos basados en la transformada de Fourier. Los tres métodos se probaron en diferentes condiciones sísmicas y geológicas, dieron buenos resultados y mostraron una alta eficiencia geológica.

PALABRAS CLAVE: sísmicas 2D y 3D, trampas anticlinales y no anticlinales, hidrocarburos, perfiles sísmicos verticales (VSP), Factor de calidad, análisis espectral, pinch point.

Introduction

The Absheron peninsula of Azerbaijan is one of the main oil and gas regions. The history of the industrial production of hydrocarbons in the peninsula goes back about two centuries; the first well was drilled using a percussion method to a depth of 21 m under the direction of V.N. Semenova in 1846 near Baku, in the village of Bibi Eybat (now it is almost the city of Baku). The main objects of exploitation in the Absheron Peninsula and the Azerbaijan sector of the Caspian Sea are still separate formations of the productive stratum

(PT), which for a long time belonged to the Middle Pliocene, but according to the latest research, it is confined to the Lower Pliocene (Mamedov, 2018; Abdullaev et al, 2012). All deposits, which are still in operation at Absheron, are anticline. The resources of anticlinal traps are drying up both around the world and in Azerbaijan, including on the Absheron peninsula, therefore the center of gravity of the search and exploration of hydrocarbon deposits (HC) is shifting towards non-structural traps.

1. Purposes and goals

The main purpose of these studies is to show the geological effectiveness of seismic prospecting when searching for and prospecting non-structural pinch-type traps, since one of the most common types of non-structural traps in Azerbaijan are pinch-out zones of individual sediment complexes. Analyzing the results of interpretation of seismic data in Azerbaijan, it can be stated that seismic CDM does not encounter insurmountable obstacles in identifying and tracking pinch zones at different stratigraphic levels. Refining the position of the pinch point remains the only problem, which, as is well known, is of great practical importance in determining the location of the deep drilling well.

2. Research methods

We used several approaches to clarify the position of the pinch point: 1 - the use of attribute analysis, i.e. instantaneous dynamic characteristics of the wave field; 2 - taking into account the effect of inelastic absorption according to VSP; 3 - spectral analysis using Fourier transform.

Zones of pinch-out sediments are found in many oil and gas regions of Azerbaijan, but we have examined them in some areas of the Absheron Peninsula. For example, on alleged non-anticlinal traps of sediments of the Lower Pliocene and Miocene of the Lokbatan-Putu-Kushkan area of the south-west of this peninsula. The following seismic profile (Fig. 1) revealed several

pinch zones, the shallowest of them being attributed to the seismic horizon SH-IV, timed to the underlying PT sediments, which is adjacent to the horizon SH-V, belonging to the tops of the diatom. At depths of approximately 2,800–3,800 m, several pinching zones are distinguished in the underlying diatom sediments. A more detailed and detailed study of the internal structure of these pinch zones may be the subject of further research. It is assumed that these pinned sediments belong to Oligocene sediments (Bochkarev, 2002; Markov, 1973).

A careful analysis of the wave pattern of the dynamic deep seismic section, extending in the north-south direction, reveals that the seismic horizons that lie below the SH-V horizon belonging to the tops of the diatom are outlined at depths of 1500-2000 m. The total thickness of the pinned-out sediments in the syncline part of the section is 800–900 m, while the deep interval is approximately 2500–3000 m. The reservoir properties and lithofations of the Lower Pliocene and Miocene deposits of the Western Absheron were studied on the basis of seismic survey data and well logs (Aliyev, 2011).

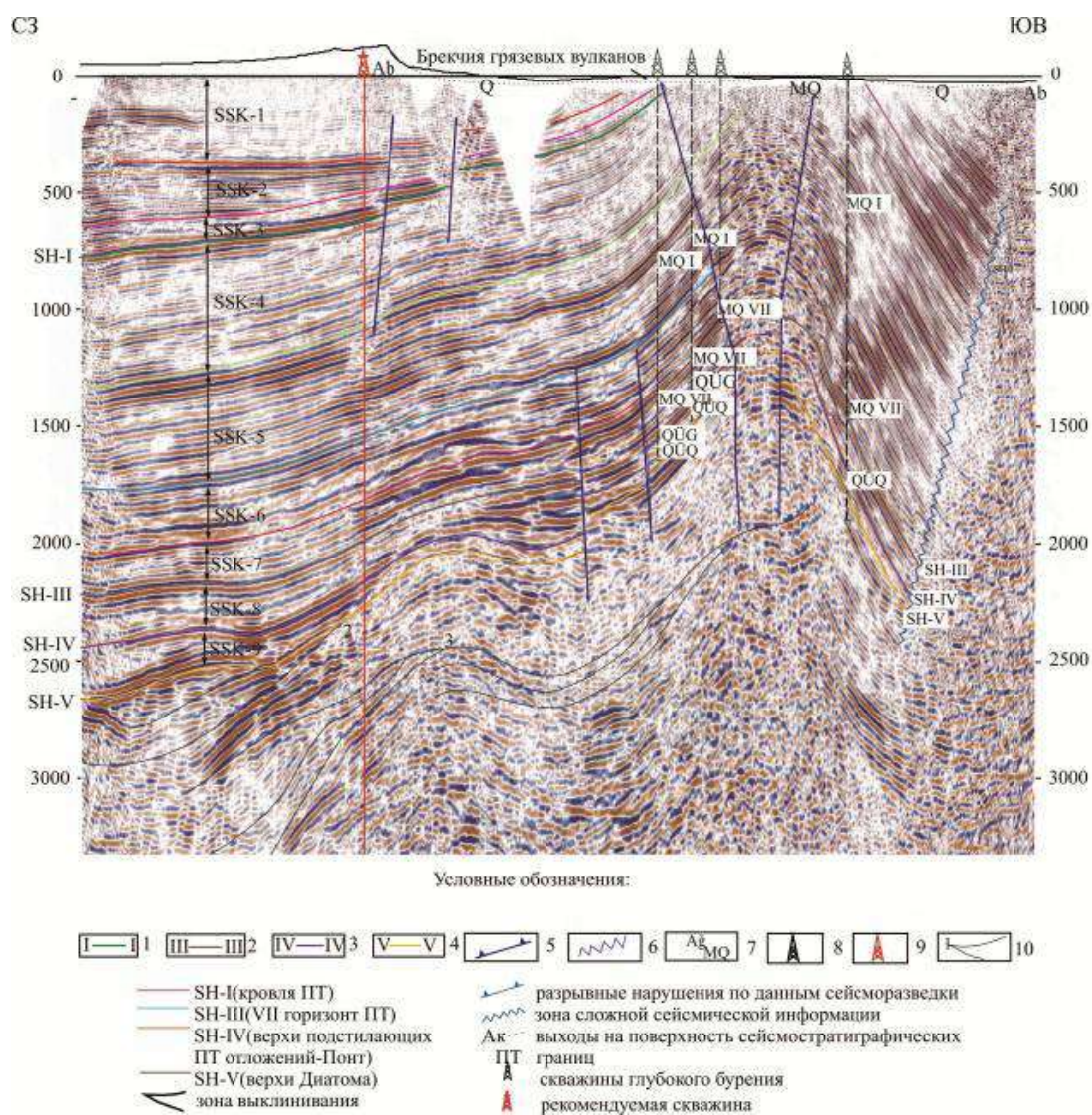


Fig.1. Zones of wedging on the section of South-Western Absheron

Attempts to study the same properties with instantaneous dynamic characteristics (MDC) led to interesting results: sections of instantaneous amplitudes turned out to be quite informative, and it was found that nonstructural oil and gas traps can exist in the pinch points of the Lower Pliocene and Miocene deposits. For example, a section of instantaneous amplitudes along profile No. 090103 shows that the amplitudes of seismic waves are not distinguished by high values at time intervals of 0.0–1.2 sec, covering the deposits of the Quaternary (anthropogenic) and the upper parts of the PT, while the waves reflected from the underlying sediments and recorded at times

1.2 - 2.2 seconds are characterized by relatively high intensity (Fig. 2). The highest amplitudes are observed in the pinch zones (Levyant, 2006). Most of the high values of the instantaneous amplitudes observed on the section are connected on the one hand by the interference of "adjoining", and on the other hand by the change in the layering and lithological variability of the rocks in the adjacent strata. Such variability is observed throughout the section. Reflected waves related to seismic horizons, traced inside the pinching deposits, in the pinching direction, are first characterized by a weak instantaneous amplitude, and their amplitudes increase near the pinch point. This can also be considered as an indirect sign of the existence of sandy deposits here.

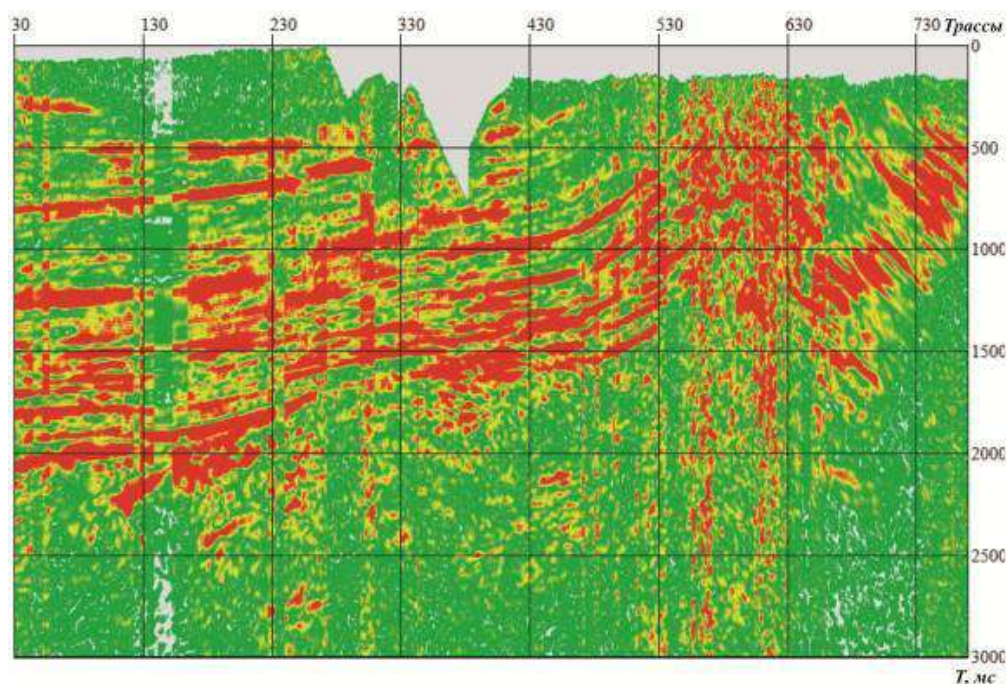


Fig.2. The cut of the instantaneous amplitudes

In the section of the instantaneous phases, the wedged out seismic horizons are well traced, and the pinch point is clearly distinguished (Fig. 3). In the section of instantaneous frequencies (Fig. 4), it is clearly seen that with an increase in the time of registration of reflected waves, the values of instantaneous frequencies decrease, and the correlation of horizons improves.

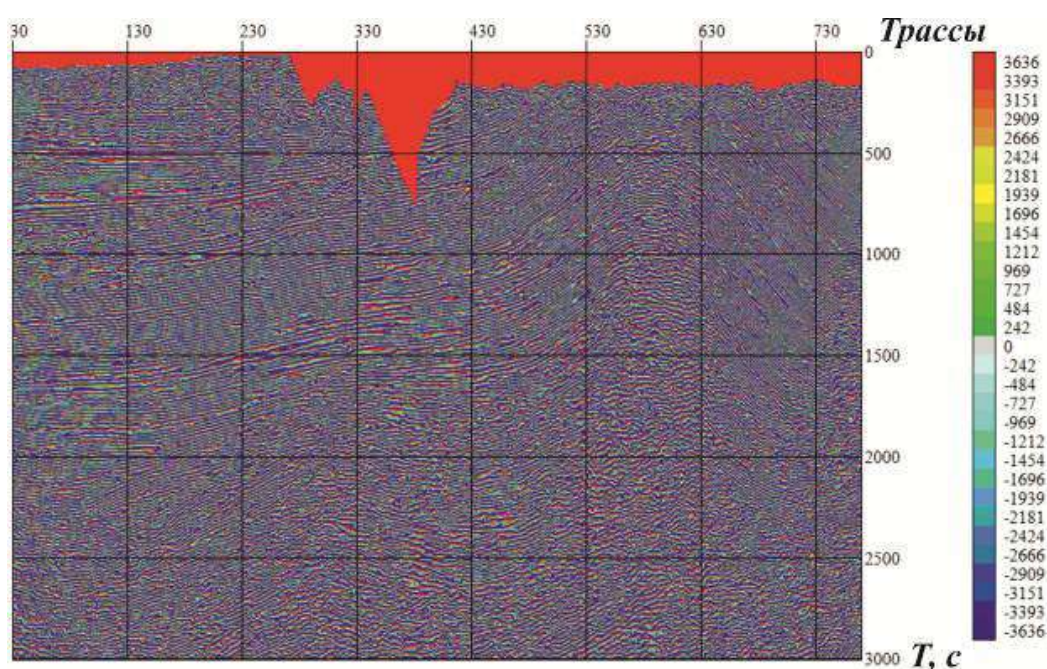


Fig.3. The cut of the instantaneous phases

Due to the change in layering in the direction of the pinch point in the direction of the rise or uprising of the pinch deposits, a strong change in the frequency composition of the oscillations is observed. Such a change in frequencies can be caused by both the stratification of the section and the oil and gas content of the sediments: it is impossible to perform an unambiguous interpretation of the data.

Accounting for inelastic absorption allows to increase the resolution of seismic, which was carried out according to the vertical seismic profiling (VSP). It was decided to determine the parameter of inelastic absorption of the medium, also known as Q of Q . The main value of this parameter is that Q -filtering can be performed in order to restore the frequency components absorbed by the geological medium and to increase the resolution of the data on the ground and borehole seismic. In the best way, the quality factor is determined from the data of the vertical VSP profile, and then used in the processing of ground seismic surveys.

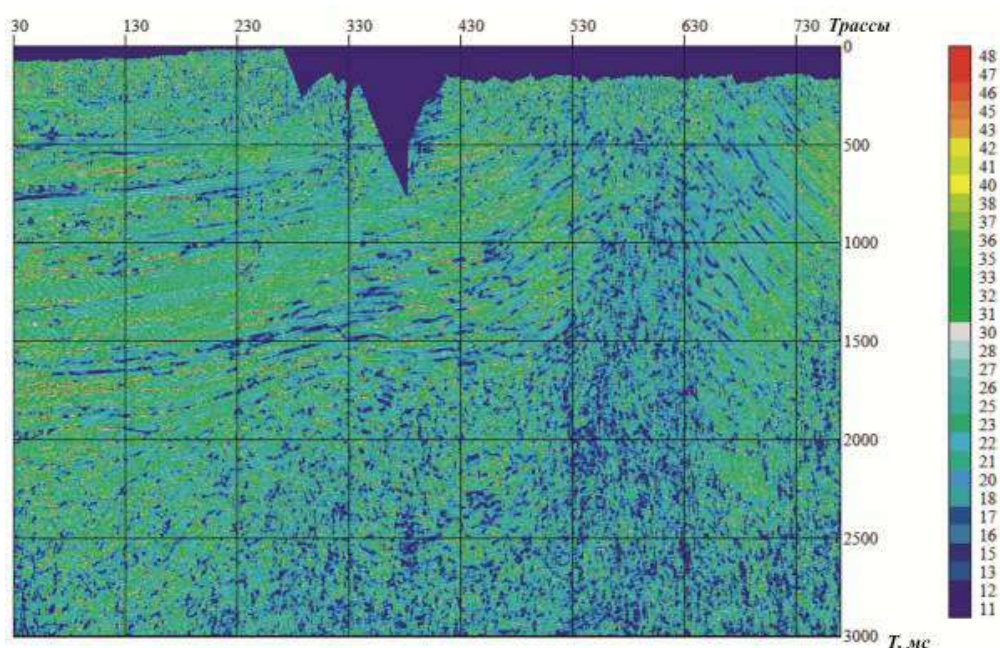


Fig.4. The cut of the instantaneous frequencies

On the area of the southeast of Absheron, Hovsany-Zykh, the method of determining the quality of recording using Vertical Seismic Profiling (VSP) data was applied (Akhmedov et al, 2012). The basis for determining the quality factor is the analysis of the measured amplitudes of the incident longitudinal wave at different levels. It should be noted that the ratio of recorded amplitudes is a complex function of the mass conditions (Shilov and Jafarov, 2011). Therefore, the numerical value of the determined quality factor Q is rather a mathematical parameter than a physical one, which could be measured in “laboratory conditions”. That is why the values of the quality factor Q , determined for the same horizons within the same field, may differ significantly (Buryakovsky, 1991). However, their value lies in the fact that the use of calculated mathematical parameters to compensate for inelastic absorption gives correct and adequate results in terms of increasing the resolution of seismic sections. To balance the amplitude-frequency spectrum, as well as to take into account the absorption of the medium, the total cube was performed using the inverse Q -

filtering or deabsorption procedure (Fig. 5). The average effective Q value of $Q = 145$ was used to reconstruct the attenuated frequency components in the time sections of 3D seismic surveys. The Q-filter results show a significant improvement in the resolution of seismic sections, which clearly demonstrates the effective possibilities of using some VSP parameters in the processing of ground-based seismic surveys. Also, it should be noted that the application of good quality can be carried out at different stages, which is often determined experimentally. Here it is shown that by improving the resolution of the deep dynamic section, it was possible to clarify the position of the pinch point (Fig. 5, b).

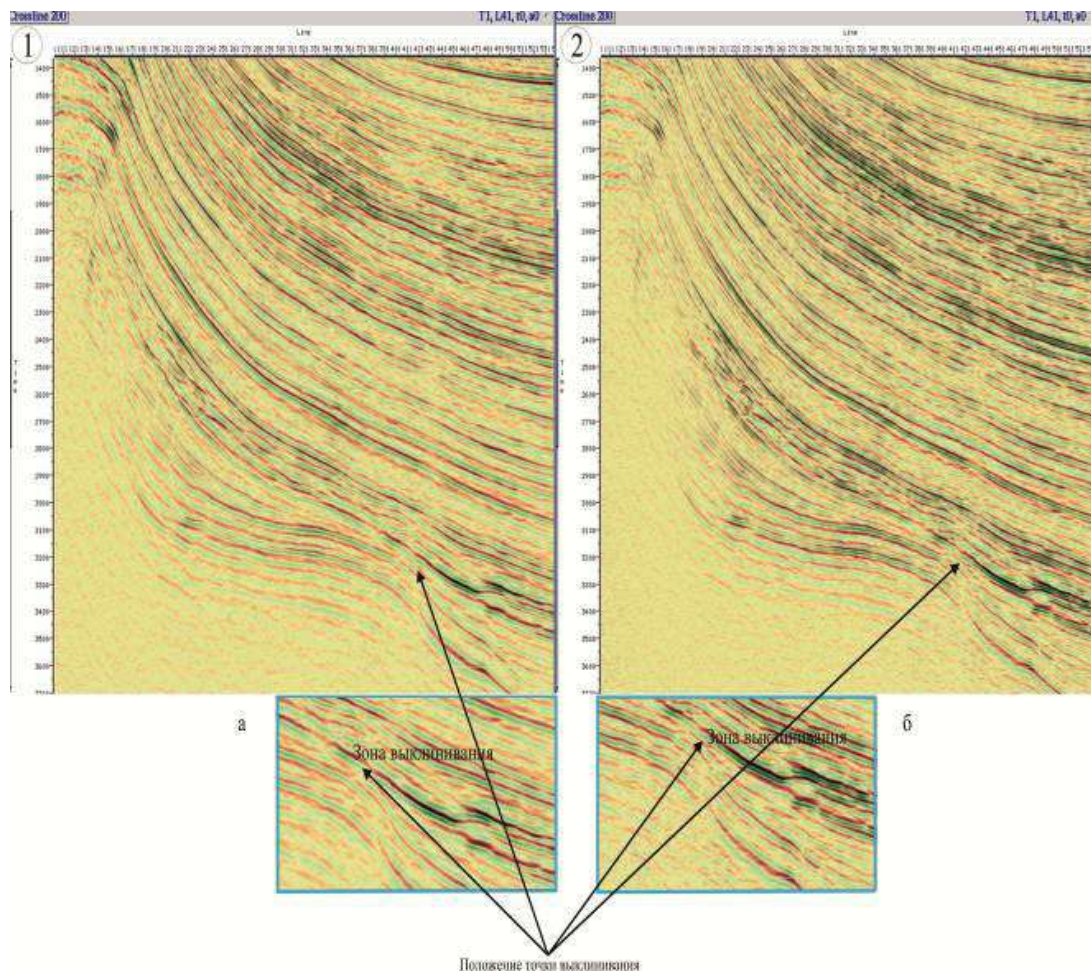


Fig.5. Comparison of the result of the procedure of reverse Q-filtering on the total crossline section 200: a) before; b) after

We used another way to clarify the position of the pinch point. The spectral analysis of seismic records based on the Fourier transform, which gave good results, was tested. It is known that when the seismic horizons approach each other in the direction of the pinch point, an “abutting” interference zone is formed, one of the horizons falls out of the cut after this zone, and the nature of the layering changes naturally and, therefore, the frequency composition of the seismic vibrations around the pinch zone (4). Obviously, using the direct Fourier transform, calculating the amplitude and phase spectra of each trace before and after the pinch point, including the path at this point, the disappearance point of one of the paths can be determined, which will give us the location of the pinch point. We were not able to conduct such an analysis, therefore we made an analysis of groups of neighboring tracks, i.e. within processing windows. Thus, three sites and four processing windows of the same length were chosen for studies on time or dynamic depth sections (Fig. 6). Spectral analysis was performed on a section obtained after the final amount (final stack), therefore, due to the application of the necessary procedures (frequency filtering, summation, etc.) that change the frequency composition of oscillations, the frequency of oscillations covers a certain band. Despite this, the amplitude spectra (or power spectra) of each of the processing windows have their own distinctive features (Bochkarev, 2002).

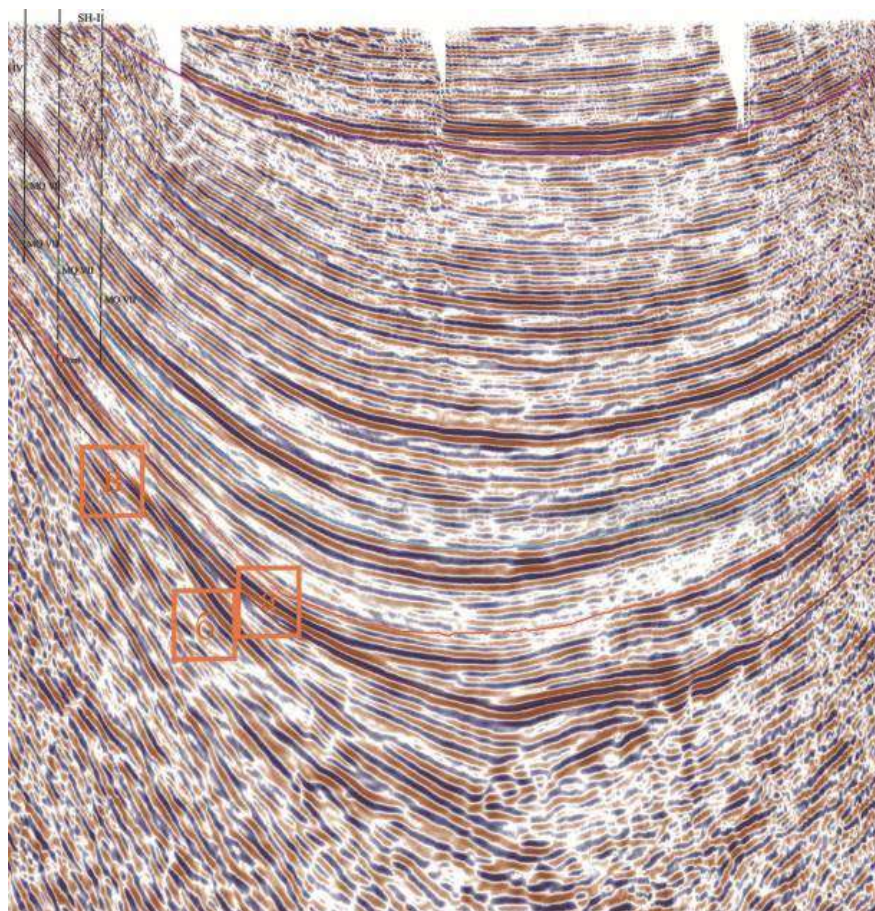


Fig.6. Fragment of time section (positions of processing windows in which the spectral analysis is carried out)

To the zone of pinching out, a single peak at a frequency of 25 Hz characterizes the amplitude spectra (Fig. 7) of both seismic horizons. The slopes of the spectra characterizing the low-frequency components are very steep, whereas the slopes in the direction of the high-frequency components are sloping and more jagged and the upper seismic horizon is rich in high-frequency components (Fig. 7a).

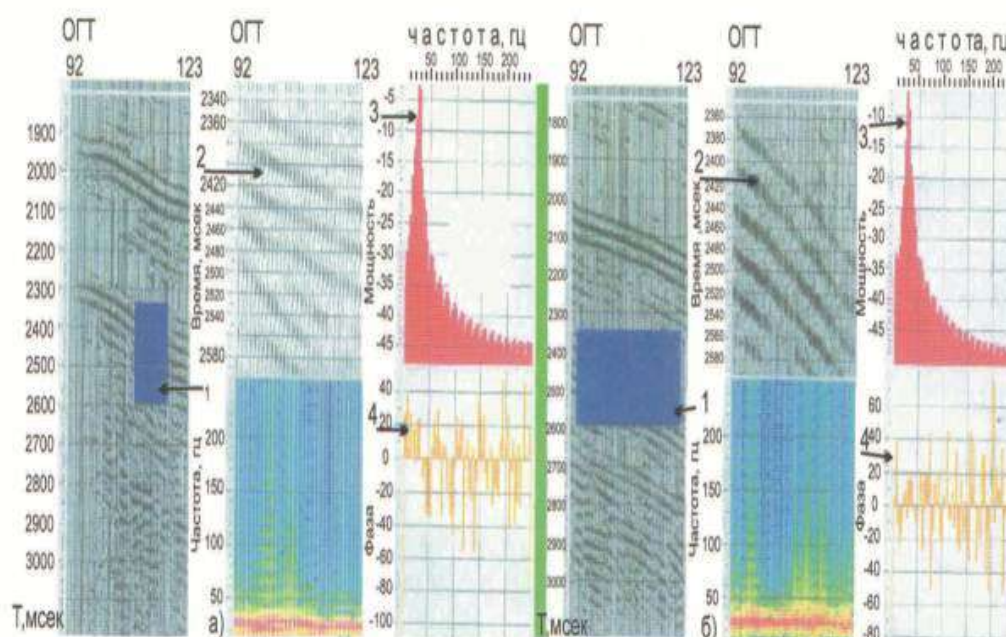


Fig.7. Spectral analysis to the wedging zone: a-upper seismic horizon; b-lower horizon; 1 - position of the processing window; 2-wave pattern in the processing window (on a larger scale); 3-amplitude spectrum; 4-phase spectrum

Directly above the pinch point, spectral analysis was not carried out, since it is obvious that due to the change in layering, the oscillatory process here is complex: the amplitude spectrum of this part of the section would have noticeable differences from the previous ones (these differences can be assessed visually).

The results of the spectral analysis after the transition of the pinch point are discussed further (Fig. 8).

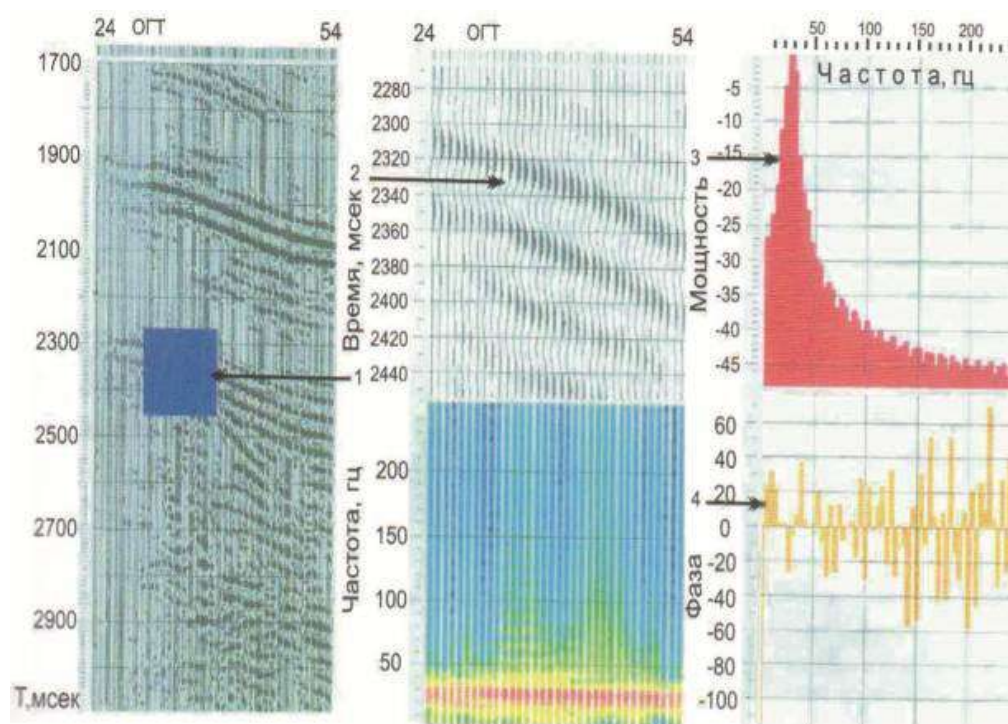


Fig.8. Spectral analysis (after the wedging zone along the upper seismic horizon): symbols – see Fig.7

Comparison of the amplitude spectrum of this segment of the time section with the amplitude spectrum of the first window (Fig. 7a) shows their similarity, with the exception of some insignificant differences, which are most likely caused by the influence of the variability of the character of the thinly layered section. This means that the lower seismic horizon has disappeared from the section.

All this shows that with the help of spectral analysis it is possible to clarify the position of the point of pinching out of sediments. Naturally, more accurate results would have been obtained if spectral analysis would be carried out for the needs of the day. For a more unambiguous and confident interpretation, in addition to the spectral analysis, it is necessary to calculate the mutual correlation functions of the segments of the paths within the same processing windows.

3. Research results

The deposits of the Pliocene and Miocene of the western part of the Absheron Peninsula are mainly sandy-clay and clay-sandy rocks. This is commonly observed especially in pinch zones. It can be concluded that non-anticlinal traps of oil and gas can form in the zones of pinching out of the Lower Pliocene and Miocene deposits.

On the Absheron Peninsula, especially in its western part, the reservoirs of the Middle and Upper Miocene have a limited areal distribution and here fluid accumulations can be associated with non-anticlinal traps. These accumulations or deposits are related by lithological factors; clay strata are formed in areas that are rich in sandy-aleritic materials and non-anticlinal traps are located near the water parts of the structures, on the wings of the anticlines and synclines separating them.

Thus, in conclusion, it can be said that 4 pinch zones were identified and traced on the northeastern wings and pericline structures in the considered anticlinal zones of Western Absheron.

Conclusions

The results obtained allow us to conclude that the applied all three methods of determining the position of the pinch point are highly efficient and can be used in solving such problems in appropriate seismic and geological conditions.

Funding

The study was carried out with the financial support of the Foundation for the Development of Science under the President of the Republic of Azerbaijan – Grant №EIF-KETL-2-2015-1(25)-56/33/2.

References

Abdullayev, N. R., Riley, G. W., Bowman, A. P. (2012). *Regional controls on sandstone reservoirs: the Pliocene of the South Caspian basin*. In: O. W. Baganz, Y. Bartov, K. M. Bohacs, D. Nummedal (eds.). *Lacustrine sandstone reservoirs and hydrocarbon systems*. Tulsa; American Association of Petroleum Geologists Memoir.

Akhmedov, T. R., Akhundlu, A. A., Giyasov, N. Sh. (2012). On some results of surface and borehole seismic surveys at the Hovsaninskoye field. *Karotazhnik. Scientific Technical Bulletin* 6(216).

Aliyev, E. G., Aliyev, C. C., Huseynov, D. A, Babaev, Sh. A., Mamedov, R. M. (2011). *Sedimentary conditions for sediments of the lower section of the productive unit and their natural radioactivity*. Baku.

Bochkarev, V. A. (2002). *Estimation of the initial geological and recoverable oil reserves in the Zikh and Hovsany fields. Determination of residual oil reserves*. LLC "LUKOIL-VolgaNIPImorneft". Volgograd.

Buryakovsky, L. A. (1991). *Petrophysics of oil and gas reservoirs of the productive stratum of Azerbaijan*. Baku.

Levyant, V. B. Ampilov, Yu. P. (2006). *Methodological recommendations on the use of seismic data (2D, 3D) for the calculation of oil and gas reserves*. Moscow, Nedra.

Mamedov, P. Z. (2018). *Productive stratum of Azerbaijan*. Moscow, Nedra.

Markov, N. I. (1973). *Paleogeographical foundations of oil and gas searches*. Moscow, Mir.

Shilov, G. Ya., Jafarov, I. S. (2011). *Genetic models of sedimentary and volcanogenic rocks and the technology of their facies interpretation based on geological and geophysical data*. Moscow, Nedra.

Oil and gas perspectives of pliocene-miocene in South-East of Absheron Peninsula based on latest 3D data

T.R. Ahmadov*

ABSTRACT

The paper is devoted to hydrocarbon perspectives in Pliocene and Miocene in south-east of Absheron peninsula based on 3D seismic data. Paper starts with brief description of history of commercial hydrocarbon production across the peninsula, the oldest oil-gas region of the world. It is noted that major production targets here are within Productive Series (PS) of Lower Pliocene. Oil and gas perspectives of this part of Absheron peninsula is related to PS and underlying deposits, studied in general by seismic survey. Kala suite of PS includes all major hydrocarbon horizons exploited currently. The general scheme of Kala suite layers is given in the paper. According to cyclo-stratigraphic model of Kala layers designed by data from several wells a large number of unconformity surfaces have been outlined evidencing unstable paleogeography and paleomorphology of sedimentation. Due to the absence of Paleogene-Miocene deposits available for studies in recovered part of section, we have used similar fields and regional paleogeographic maps for this region. Data analysis made it possible to derive that most favorable conditions for hydrocarbon accumulations in Paleogene-Miocene reservoirs is on Absheron peninsula. In Miocene the unrecovered oil resources is attributed majorly to reservoirs of Diatom suite and Chokrak horizon. The expected deposit types are lithological-stratigraphic and tectonically sealed. It must be noted that one of major tectonic factors of realization of oil and gas resources and hydrocarbon migration is presence of faults sufficiently outlined by 3D seismic data. The paper also considers major risks of exploration for traps in Paleogene-Neogene.

KEY WORDS: Pliocene-Miocene, Kala suite, seismic survey, vertical seismic profiling, time section, anomaly of "bright spot" type.

* Azerbaijan State University for Oil and Industry, Heyran.Muradova@socar.az

Perspectivas de petróleo y gas del plioceno-mioceno en el Sureste de la Península de Absheron según los últimos datos en 3D

RESUMEN

Este artículo estudia las perspectivas de hidrocarburos en el Plioceno y el Mioceno en el sureste de la península de Absheron, sobre la base de datos sísmicos en 3D. El documento comienza con una breve descripción de la historia de la producción comercial de hidrocarburos en la península, la región de petróleo y gas más antigua del mundo. Se observa que los principales objetivos de producción aquí se encuentran dentro de la Serie Productiva (PS) de Plioceno Inferior. Las perspectivas de petróleo y gas de esta parte de la península de Absheron están relacionadas con el PS y los depósitos subyacentes, estudiados en general por medio de un estudio sísmico. El paquete de Kala de PS incluye todos los principales horizontes de hidrocarburos explotados actualmente. El esquema general de las capas de la suite Kala se presentan en este trabajo. De acuerdo con el modelo ciclo-estratigráfico de las capas de Kala diseñadas por datos de varios pozos, se ha delineado un gran número de superficies de disconformidad que evidencian una paleogeografía inestable y una paleoortología de la sedimentación. Debido a la ausencia de depósitos del Paleógeno-Mioceno disponibles para los estudios en parte recuperada de la sección, hemos utilizado campos similares y mapas paleogeográficos regionales para esta región. El análisis de los datos permitió deducir que las condiciones más favorables para las acumulaciones de hidrocarburos en los reservorios del Paleógeno-Mioceno se encuentran en la península de Absheron. En el Mioceno, los recursos petrolíferos no recuperados se atribuyen principalmente a los reservorios de la suite Diatom y el horizonte Chokrak. Los tipos de depósitos esperados son litológico-estratigráficos y sellados tectónicamente. Cabe señalar que uno de los principales factores tectónicos de la realización de los recursos de petróleo y gas y la migración de hidrocarburos es la presencia de fallas suficientemente delineadas por datos sísmicos 3D. El documento también considera los principales riesgos de exploración de trampas en Paleogene-Neogene.

PALABRAS CLAVE: Plioceno-Mioceno, suite Kala, levantamiento sísmico, perfil sísmico vertical, sección de tiempo, anomalía del tipo de "punto brillante".

Introduction

Absheron peninsula is one of the major oil-gas bearing regions of Azerbaijan. History of commercial hydrocarbon production here is approximately two centuries taking into account the first well spud here down to 21 m depth by percussion drilling method. The well was drilled under the supervision of V.N.Semenov in 1846 in Bibi-Eybat village nearby to Baku (currently the area is considered as the outskirts of Baku). Until now the major production targets in Absheron peninsula and Azerbaijan section of Caspian sea include

suites of Productive Series (PS) attributed to the Lower Pliocene [Mamedov, (2018)]. For the last years the geoscientists attempt to study underlying Miocene deposits with expected presence of hydrocarbon accumulations.

In the south-eastern plain part of Absheron peninsula the Zyrya, Karachukhur-Zykh, Hovsan oil and gas fields are located (Fig.1). Production from Karachukhur field started since 20-ies of the last century while production from the other areas started since the end of 40-ies, that is after the end of World War II [Aliyeva, Aliyev, Huseynov, Babayev & Mamedov. (2008)].

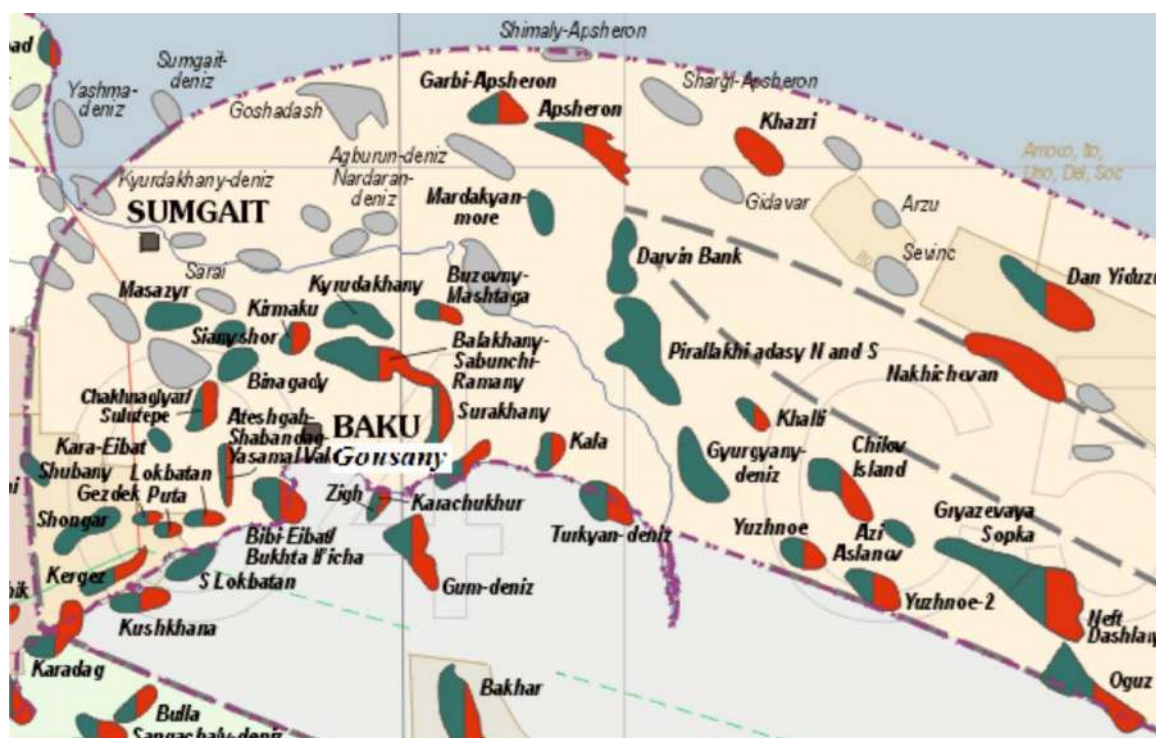


Fig.1. Perspective oil-gas fields of Absheron peninsula and adjacent areas

The output from wells in all fields were high, as for example, the output from wells in Zyrya field constituted 300 000 – 600 000 m³ per day and 50-130 t of condensate per day (from all targets of Kymakyalty and Kala suite (KaC)). The highest oil accumulations in Karachukhur-Zykh field are attributed to Kirmakyalty, Kirmaky (KC) and Kala suite (KaC), which refer to Pliocene deposits. According to latest geological and geophysical data the Hovsan field is attributed to the far east flank subsidence of Karachukhur-Zykh fold, where Kala suite is pinching out in upward direction, overlaying eroded surface of Pontian with

sharp angular unconformity [Bochkarev, et al. (2002)]. In this area in section of Kala suite four production targets with total thickness of 250-350 m are identified. The most productive parts of these targets are the lower parts with relatively high thickness while pinching out top parts are less producing. The major producing targets in Hovsan field are attributed to Kala suite with outlined four horizons: KaC₁, KaC₂, KaC₃ and KaC₄.

1. Problem Statement

The major production targets are within Productive Series (PS) of the Lower Pliocene as all indicated suites are the suites of PS. Oil and gas presence perspectives in this area of Absheron peninsula are related to PS and underlying deposits, which are majorly studied by seismic survey. Until now some problems of hydrocarbon accumulations presence in Lower Pliocene and underlying them Pontian and Miocene deposits were not studied sufficiently.

2. Research Questions

The south-eastern part of Absheron peninsula was repeatedly studied by downhole seismic survey (seismic logging and VSP -Vertical Seismic Profiling) and 2D and 3D seismic survey. We aimed to perform the critical analysis of all acquired data on the basis of new approach to geological problems to be solved.

3. Purpose of the Study

The major purpose of this study is to identify perspectives of lower horizons of PS, as well as underlying Pontian and Miocene deposits based on seismic data available for this field and neighboring fields, which are currently under production.

4. Research Methods

Kala suite, which includes major oil and gas horizons under production currently is sufficiently studied by drilling. The general sketch of Kala suite layers with upper part studied sufficiently by drilling and perspective lower part is given below. It can be clearly seen from the figure that according to well logging data the lithological-stratigraphic border dividing into two portions is outlined (Fig.2). The lower part is most probably represented by sandstones deposited in the transgressive phase of evolution in this area of Absheron peninsula, while the upper part is characterized by complete and incomplete regressive cycles. Wavy line in the figure shows the border of stratigraphic unconformity, which could be synchronously tied to variation border of thermal and pressure system [Buryakovskiy, (1991)]. This is indicated by low values of resistivity, “clay line” on SP curve. It should be noted that under conditions of overpressure the values of resistivity, SP, AL and NGL are most frequently tend to the lower values.

Detailed cyclo-stratigraphic model of Kala suite designed according to data acquired from several wells shows the large number of unconformity surfaces of various scale. This proves the inconsistency of paleogeography and paleogeomorphology of this area of sedimentation.

Taking into account the absence of Paleogene-Miocene deposits in recovered part of section we study similar fields and regional paleogeographic maps for this region. In this paper we study Muradkhanly field, where oil accumulations have been discovered in deposits of Upper and Middle Eocene (Fig.3) and Jafarly field in the Middle Eocene [Shilov, Jafarov, (2011)]. Reservoirs are made of rocks of weathering layer and terrigenous rocks deposited near the migration source. It can be seen from paleogeographic map that terrigenous-carbonate rocks are accumulated in Eocene-Later Cretaceous period [Khalifazade, Talybly, Mursalov, (2006)].

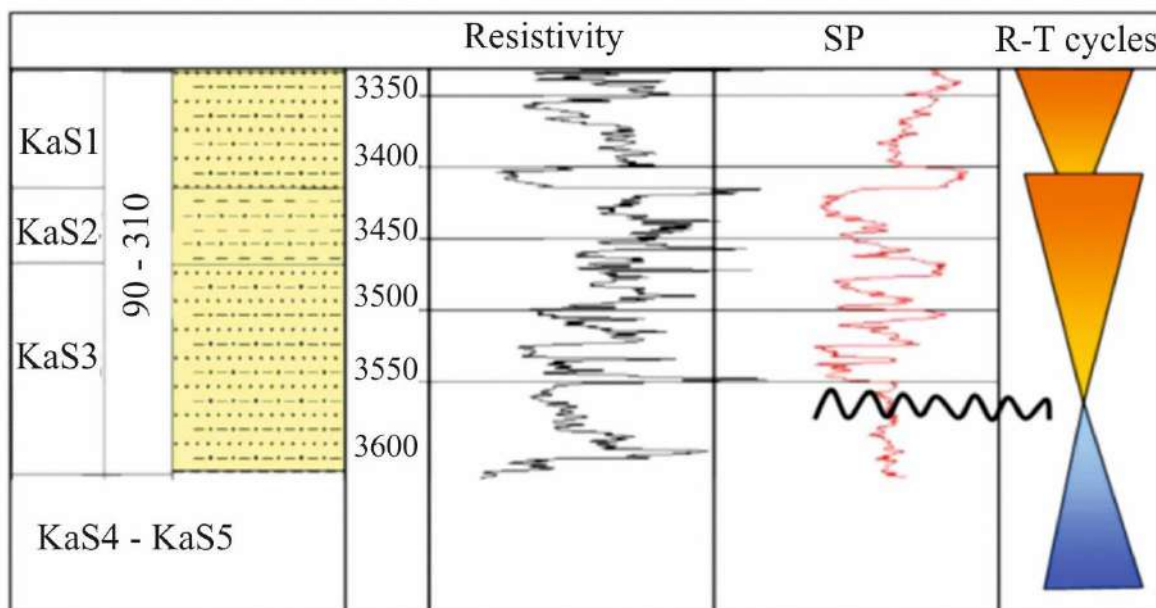


Fig.2 General scheme of Kala suite structure

SOUTH MURADKANLY – JAFARLY BLOCK
 Map of drilling down to Middle Eocene
 (the structure is outlined on top of marl layers of Middle Eocene)
 Scale 1:25000

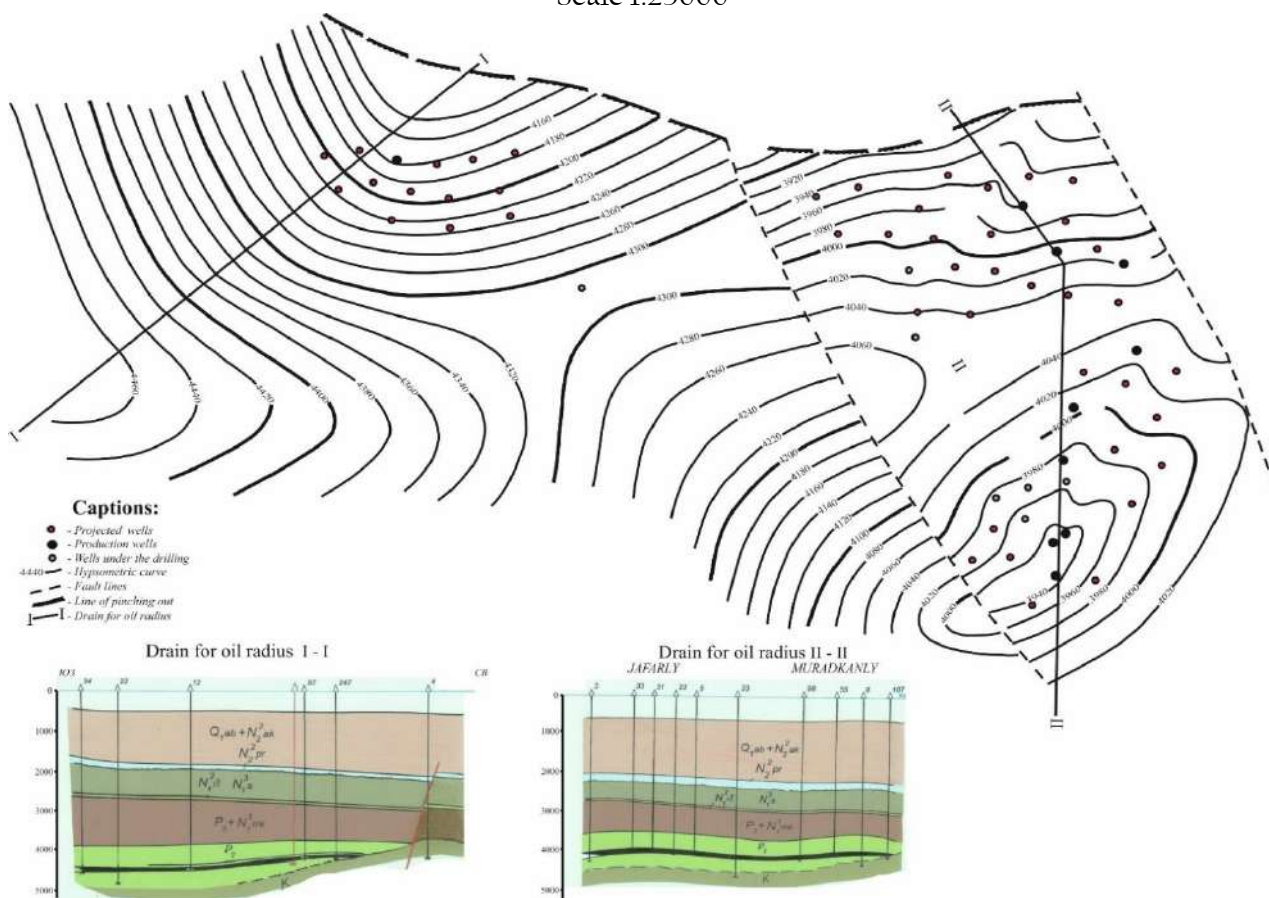


Fig.3 Structure map and geologic section of Muradkhanly field.

It is considered that most favorable conditions for hydrocarbon accumulations in Paleogene-Miocene reservoirs are identified in Absheron oil-gas region [Abdullayev, Riley, Bowman, (2012)]. Undiscovered oil resources in Miocene across the territory of peninsula are majorly attributed to reservoirs of Diatom suite and Chokrak horizon. Expected deposit types: lithologic-stratigraphic and tectonically sealed [Marroquin, Brault, Hart (2009)].

Based on available seismic survey data and interpretation results we suppose that hydrocarbon traps ranges are quite wide for the lower part of sedimentary section (Paleogene-Miocene): stratigraphic, tectonic, lithological, combined. Performed seismic survey, i.e. multi-attribute analysis of impulse wave pattern identified unconformable burial of Paleogene-Miocene and Productive Series (PS), which is most probably triggered generation of lithological - stratigraphic traps Neff, Runnestrand, Butler, (2001)].

In 2010 Vertical Seismic Profiling (VSP) has been applied in one of the wells of Hovsan field. VSP data processing and interpretation displayed abnormally low values of seismic wave velocities at 3900-4250 m depth interval (Fig.4), characteristic for shallow depths. According to some researchers this evidences the presence of overpressure zone. This notion has been further proved by drilling recovering Miocene deposits at these depths [Ahmadov, Akhundlu, Giyasov, (2012), Ahmadov, T., Akhundlu, A., Giyasov, N. (2012)].

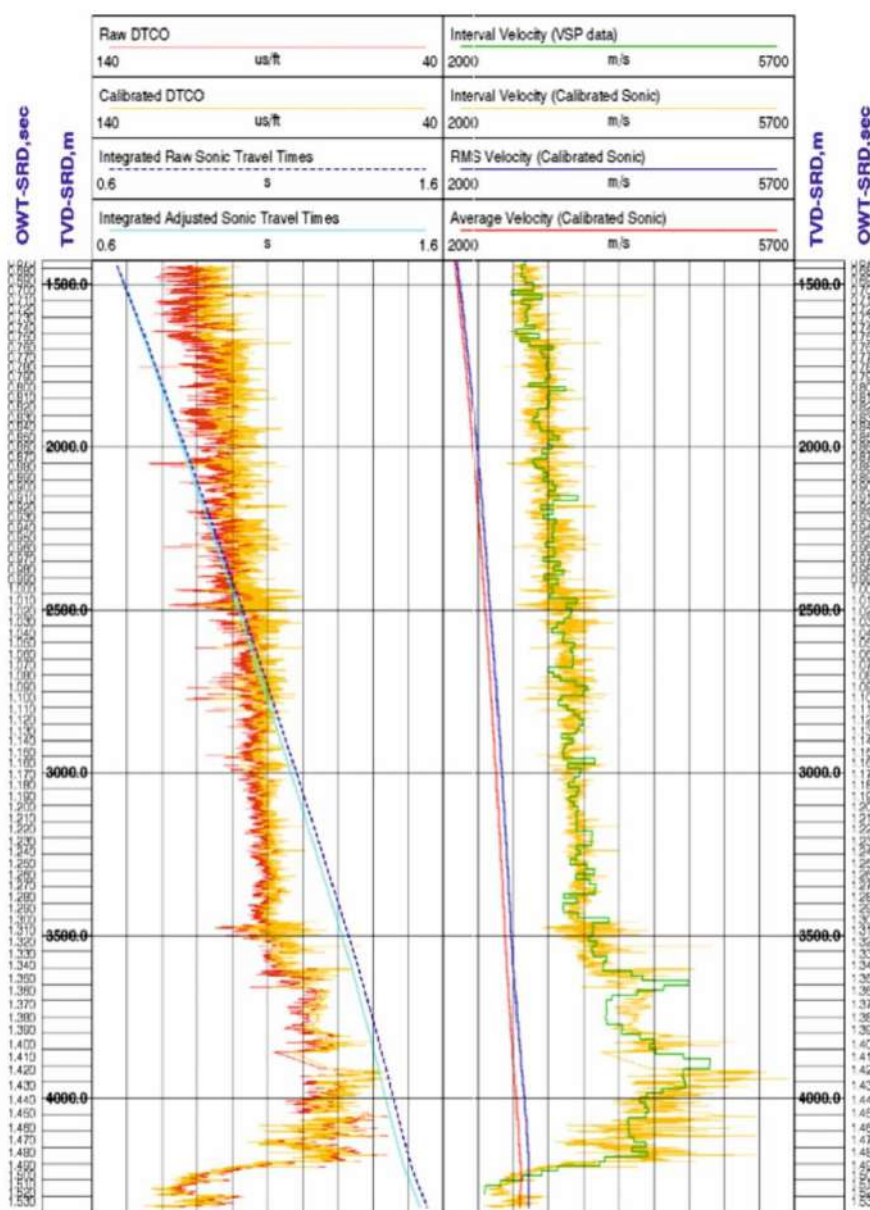


Fig.4. Abnormally low values of seismic waves evidencing overpressure zone presence

5. Findings

It has been indicated earlier that the major perspectives of areas under the study are related to Kala suite where several production targets are identified. Analysis of geological evolution, paleostructural objects displayed that folded belts attributed to the fields under the study are characterized by different ages of burial and variation of evolution intensity during various phases of geologic age. Study of genesis and paleogeography of sedimentation basin identified that Productive Series (PS) in Absheron peninsula was developing in coastal

area of marine basin and made of Absheron type of sediments with quartz as a major rock type. This rock type is featured by relatively good roundness of grains composing sandy rocks and prevailing of sandy fraction over aleurolite and clay [Khalifa-zade, Talybly, Mursalov, (2006)]. According to Ch.M.Khalifazade and et.al the sedimentation occurred under conditions of shelf divided by uplift zones and emerging over the sea level in some cases. In Kala and Kirmakyalty basins the ancient islands were developed during Pre-Pontian and Pontian and some of them were existing until Upper-Kirmaky period. Sedimentation was due to supporting provinces with high concentration of quartz [Levyant, Ampilov, et al. (2006)]. It must be noted that the basin is developed as a result of tectonic process and inflow of large rivers controlled by climate processes and paleorelief. All these factors significantly influenced the flow rate and quantity of water in paleorivers. At the same time, mountain areas surrounding the basin from the west underwent uplifting and were the suppliers of enormous amount of fragmentary materials to sedimentation zones (Fig.5) [Markovskiy, (1973)].



Fig. 5. Schematic map of South-Caspian basin and adjacent areas in Lower Pliocene (Kroonenberg et al., 2005)

It should be noted that analysis of lithology and facies of Pliocene display presence of different facies with both deltaic and coastal marine origin. Rhythmicity of deposits across the study area was related to alteration of depositional conditions. Based on paleostructural design and available data it can be supposed that Kala suite was developing generally under marine conditions due to drifting out of a large amount of depositional material by deltaic water flows and distribution of its major mass within the limits of paleostructure, located in the central part of study area (Δt maps). Analysis of time thicknesses made it possible to suppose that during developing of Kala suite the large river delta existed in the study area. Obviously, development of a number of deltaic channels and distributaries were related to gentle slopes and small depths of coastal part of basin where the delta evolution occurred. Analysis of time thicknesses maps between seismic horizons attributed to KaS-2 and SH-IV, which in a conditional time scale represents a surface paleorelief by start time of Kala suite evolution allowed to outline areas most favorable for sand accumulation (Fig.6). High values on time thickness map correspond to subsided areas of paleorelief. Thus, traps were developing on the south-east and western slopes of paleostructure, where oil accumulations of Hovsan field were discovered. Along the eastern slope of high-amplitude structure located in the western part of study area the lens consisting mainly of sand was developing making the base for Zykh oil field.

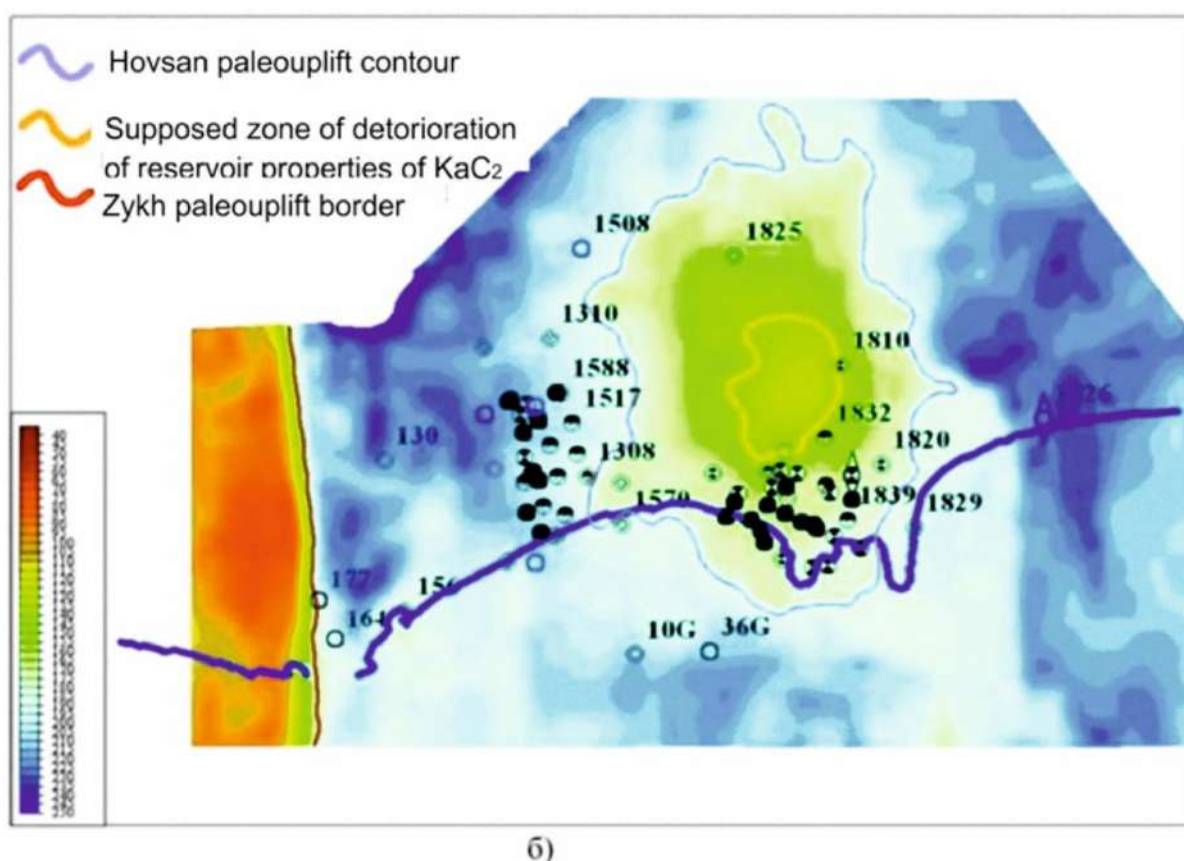
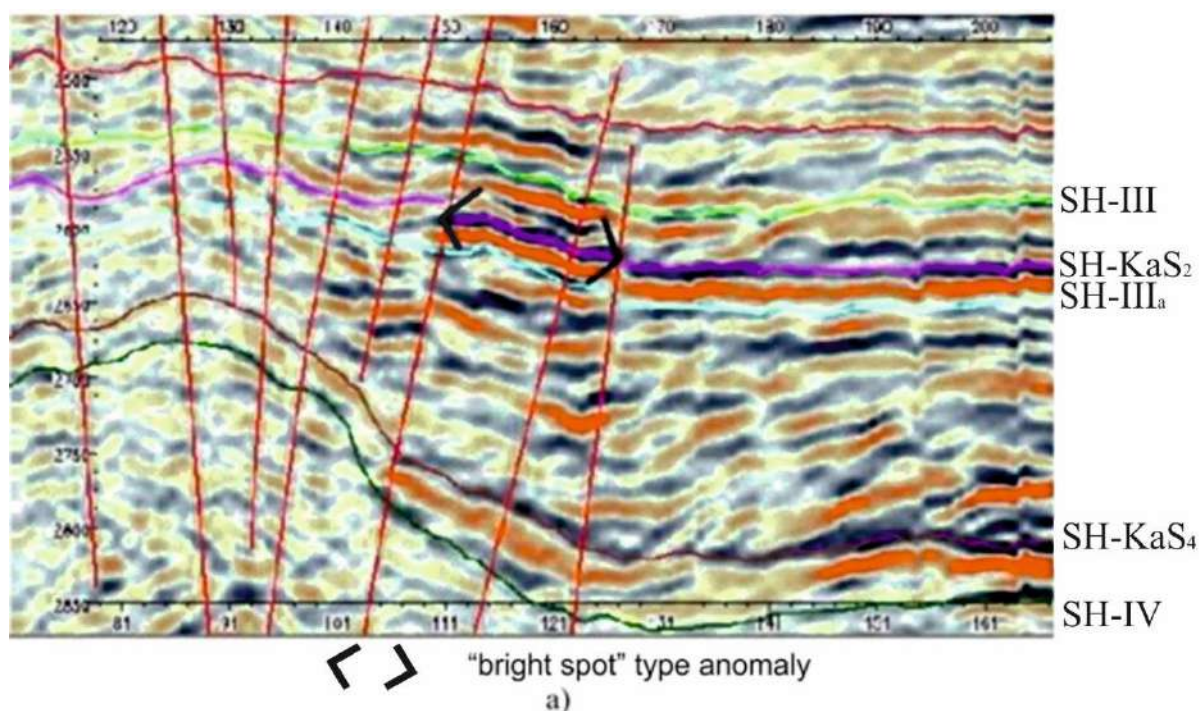


Fig.6. Time section fragment (a) and map of time thicknesses between seismic horizons attributed to KaC₂ and CF-IV deposits at the top of Pontian (b)

In total within ZykH-Hovsan area 321 wells were drilled with 105 wells of these (comprehensive set of data are available) recovering Kala suite. Structural mapping on the basis of seismic survey data supported by seismo-geological, seismo-stratigraphic, paleomorphological and facies analysis has been applied as a major technique while study of Kala suite.

Figure 7 shows major faults outlined in the study area by previous researches [Levyant, Ampilov, et al. (2006)]. Our view on tectonic model of East Hovsan field is as the following. This conclusion has been derived on the basis of acquired data [Sheriff, Geldart, (1987)]. Along the ancient deposits on the paleouplift axis we can clearly observe feathering faults crossing sedimentary deposits up to Kala suite layers inclusively. It must be noted that presence of faults is one of the major tectonic features for realization of oil and gas potential and hydrocarbon migration. In this case, East Hovsan is not the exclusion and from this point of view the more reliable tectonic model must be designed. In this case, faults are not only the formation fluid discharge zone, but also hydrocarbon migration path along the lower deep buried horizons of Miocene deposits (Fig.6a). Our studies by use of kinematic and dynamic features of fault tracing on seismic records, as well as modelling [Lobusev, Lobusev, Nazarova (2008)] allowed us to observe quite a different image (Fig.8) of disjunctive dislocation development, where the major zone of tectonic fault is outlined.

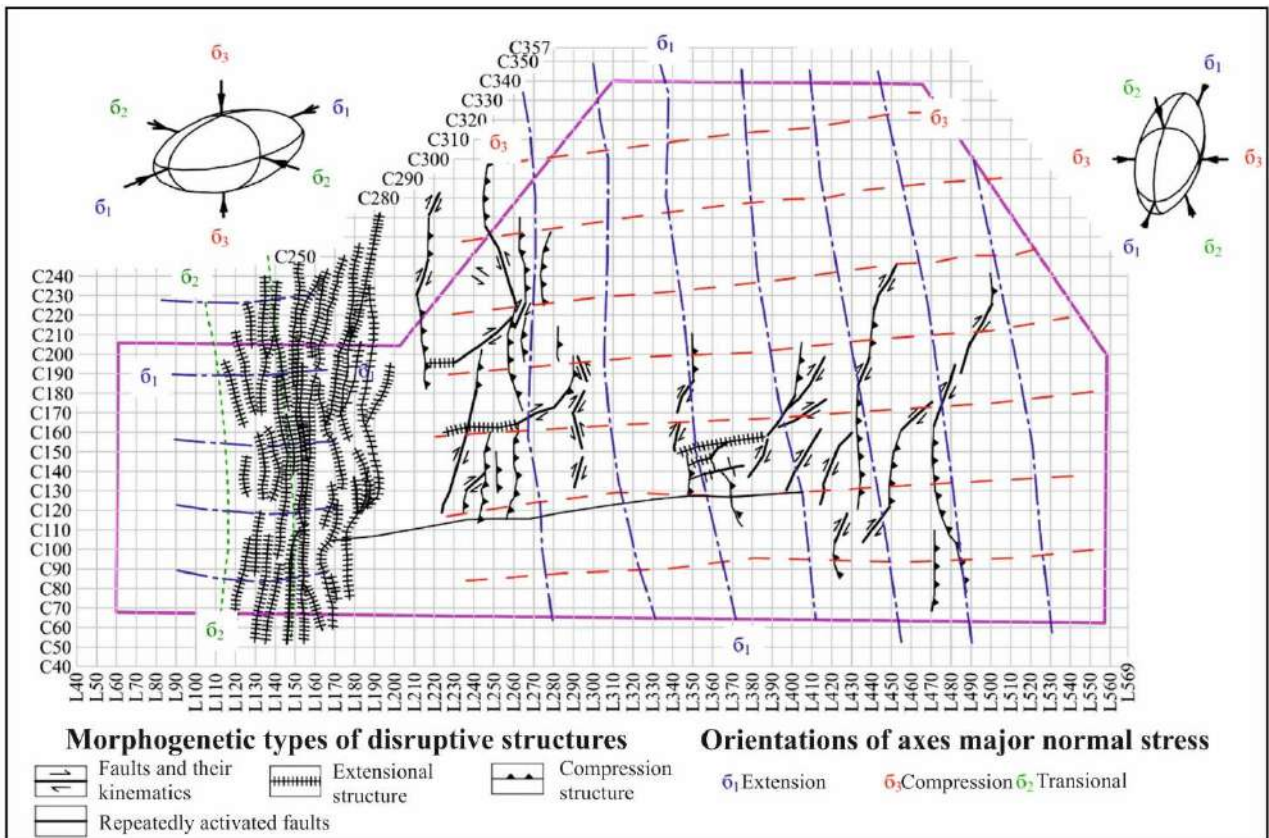


Fig.7. Structural display of tectonic stress field

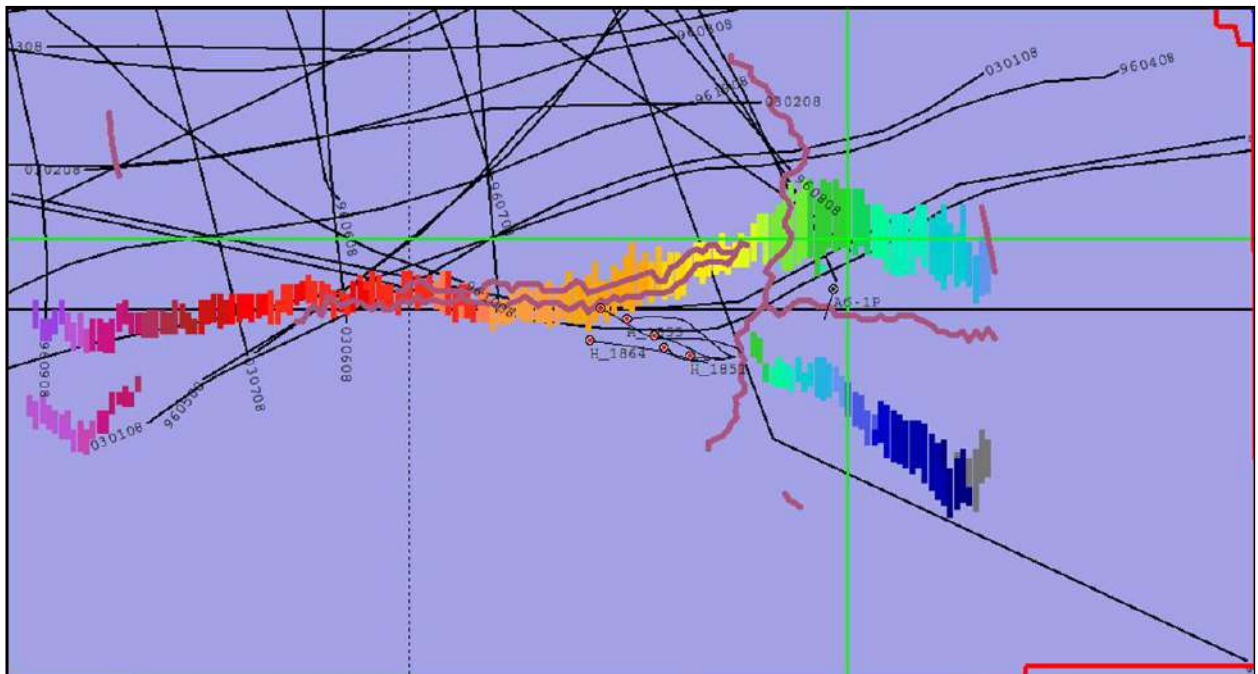


Fig.8. Outlined major zone of fault.

Conclusion

Regional studies identified that this area was under favorable paleogeographical conditions and stratigraphically complete (or quite complete) sections were accumulating here.

Oil system has large perspectives due to huge amount of oil-source rocks from Miocene and Eocene (Koun suite). Perspective reservoirs presence is expected in deposits of Maikop and Chokrak. Except for terrigenous reservoirs in Diatom suite, in section of Meotis and Sarmatian (Upper Miocene) fractured dolomites and limestones are expected to be perspective hydrocarbon targets.

Major risks in exploration for traps below Kala suite consists in presence of reservoirs as well as complicated geological setting (ultra depths, high pressure and temperatures). Thus, in our point of view hydrocarbon perspectives within the limits of the south-east of Absheron peninsula is related to exploration of hydrocarbon traps in section of Paleogene-Neogene related to terrigenous-carbonate reservoirs in Eocene, sandy-aleurite deposits in Maikop and Chokrak, terrigenous reservoirs in Diatom overlaid by thick impermeable clay layer. This creates conditions favorable for hydrocarbon accumulations providing the proximity of oil-gas source rocks.

References

- Abdullayev, N., Riley, G., Bowman, A. (2012). *Regional controls on lacustrine sandstone reservoirs: the Pliocene of the South Caspian basin*. In: O. W. Baganz, Y. Bartov, K. M. Bohacs, D. Nummedal (eds.). *Lacustrine sandstone reservoirs and hydrocarbon systems*. American Association of Petroleum Geologists Memoir 95. USA.
- Aliyeva, E., Aliyev, Ch., Huseynov, D., Babayev, Sh., Mamedov, R. (2008). *Sedimentation environment of deposits of lower portion of Productive Series and their natural radioactivity*. Stratigraphy and sedimentology of oil-gas basins. № 1. Azerbaijan.

- Ahmadov, T., Akhundlu, A., Giyasov, N. (2012). *Some results of surface and well seismic survey applied to Hovsan field*. "Karotajnik". Issue 6 (216). Russia.
- Ahmadov, T., Akhundlu, A., Giyasov, N. (2012). *Complex interpretation of land & borehole seismics (VSP) data in the Hovsan area*. Proceedings of International conference "Integrated Approach for Unlocking Hydrocarbon Resources". Azerbaijan.
- Bochkarev, V., et al. (2002). *Evaluation of initial geological and recoverable oil reserves from Zyxh and Hovsan field. Evaluation of residual oil reserves*. (p.153). "LUKOIL- VolgaNIPImorneft", Russia.
- Buryakovskiy, L. (1991). *Petrophysics of oil and gas reservoirs of Productive Series of Azerbaijan*. "Elm". Azerbaijan.
- Levyant, V., Ampilov, Y. et al. (2006). *Methodical recommendations for use of seismic survey data (2D, 3D) for evaluation of oil and gas reserves*. "Nedra". Russia.
- Lobusev, A., Lobusev M., Nazarova L. (2008). *Modeling the exploration and development of a virtual oil and gas field*. (125 p.). "Nedra". Russia.
- Mamedov, P. (2018). *Productive Series of Azerbaijan*. 2 Vol. "Nedra", Russia.
- Markovskiy, N. (1973). *Paleogeographical bases for oil and gas exploration*. "Mir". Russia.
- Marroquin I., Brault J., Hart B. (2009). *A visual data-mining methodology for seismic-facies analysis: Part I. Testing and comparison with other unsupervised clustering methods*. Geophysics, Vol. 74, No. 1.(pp. 1-11).
- Neff, D., Runnestrand, S., Butler, E. (2001). *Multi-attribute seismic waveform classification*. Phillips Petroleum Company. USA Patent 6223126. USA.
- Khalifa-zade, Ch., Talybly, A., Mursalov, V. (2006). *Structural-formation characteristics of the Early Pliocene rift-graben basin of South-Caspian trough*. Azerbaijan State Oil Academy.
- Sheriff, R., Geldart, L. (1987). *Seismic survey. Processing and interpretation of data*. "Mir". Russia.
- Shilov, G., Jafarov, I. (2011). *Genetic models of sedimentary and volcanogenic rocks and technology of facies interpretation based on geological-geophysical data*. "Nedra". Russia.

Características de la biopelícula de un reactor RBC en presencia y ausencia de metales pesados

Julio César Marín L.*
Karelis Fernández*
Elisabeth Behling*
Sedolfo Carrasquero*
Nancy Angulo**

RESUMEN

Los efluentes industriales que contienen metales pesados causan efectos tóxicos sobre los ecosistemas naturales receptores, así como problemas de eficiencia en las plantas de tratamiento biológico. En el presente trabajo se compararon las características de la biopelícula de un reactor RBC de tres cámaras, en presencia y ausencia de metales pesados (Cd 5 mg/L y Cr 20 mg/L), bajo condiciones aeróbicas-mesofílicas y escala de laboratorio. La biopelícula se formó a partir de un lodo aerobio obtenido de una planta de tratamiento de aguas residuales de la localidad. El reactor se alimentó con un efluente industrial sintético a flujo continuo, con una carga orgánica de 5,8l gDQO/d.m². En el efluente final de cada cámara se monitorearon los parámetros fisicoquímicos: pH, alcalinidad total, oxígeno disuelto, potencial redox, demanda química de oxígeno (DQO), sólidos suspendidos totales, sólidos suspendidos volátiles, concentración de Cd y Cr. La evolución de la biopelícula fue registrada fotográficamente y también se determinaron: grosor, índice de biomasa, conteo de heterótrofos y caracterización de los principales grupos bacterianos. El contenido de materia orgánica (DQO) en el efluente tratado fue significativamente menor (18,0 %) en ausencia de metales, mientras que las remociones de Cd y Cr se ubicaron en 96,7±0,2 y 57,2±1,3 %, respectivamente. Las concentraciones finales de Cr no cumplieron con el límite de descarga establecido en la normativa nacional (2,0 mg/L). La biopelícula presentó menor grosor y abundancia de heterótrofos en presencia de los metales, como consecuencia del efecto tóxico de los mismos. Las bacterias más abundantes durante el tratamiento del efluente pertenecieron a los géneros: *Paenibacillus*, *Bacillus* y *Lysinibacillus*.

PALABRAS CLAVE: bacterias heterótrofas, crecimiento adherido, efluente industrial, tratamiento biológico, toxicidad.

*Departamento de Ingeniería Sanitaria y Ambiental (DISA), Escuela de Ingeniería Civil, Facultad de Ingeniería, Universidad del Zulia, Apartado postal 562, Maracaibo 4001-A, Estado Zulia, Venezuela. *E-mail: jmarin@fing.luz.edu.ve

**Centro de Investigación del Agua (CIA), Facultad de Ingeniería, Universidad del Zulia, Apartado postal 562, Maracaibo 4001-A, Estado Zulia, Venezuela.

Recibido: 13/12/18

Aceptado: 20/01/2019

Biofilm characteristics of a RBC reactor in presence and absence of heavy metals

ABSTRACT

The industrial effluents containing heavy metals cause toxic effects on the natural ecosystems, as well as efficiency problems in biological treatment plants. In the present work, the biofilm characteristics of a three stage RBC reactor in presence and absence of heavy metals (Cd 5 mg/L and Cr 20 mg/L) were compared, under aerobic-mesophilic conditions and laboratory scale. The biofilm was formed from an aerobic sludge obtained of a local wastewater treatment plant. The reactor was fed at continuous flow with synthetic industrial effluent containing an organic load of 5.81 gCOD/d.m². In the final effluent of each stage the physicochemical parameters were monitored: pH, total alkalinity, dissolved oxygen, redox potential, chemical oxygen demand (COD), total suspended solids, suspended volatile solids, Cd and Cr concentration. The evolution of the biofilm was recorded photographically, also determining: thickness, biomass index, heterotrophic count and characterization of the main bacterial groups. The content of organic matter (COD) in the treated effluent was significantly lower (18.0 %) in the absence of metals, while the removals of Cd and Cr were 96.7±0.2 and 57.2±1.3 %, respectively. The final concentrations of Cr did not meet the discharge limit established in the national regulations (2.0 mg/L). The biofilm had a lower thickness and abundance of heterotrophs in the presence of metals, as a consequence of their toxic effect. The most abundant bacteria during the treatment of the effluent belonged to the genera: *Paenibacillus*, *Bacillus* and *Lysinibacillus*.

KEYWORDS: adhering growth, biological treatment, heterotrophic bacteria, industrial effluent, toxicity.

Introducción

En la cuenca del Lago de Maracaibo se pueden encontrar asentadas distintas industrias dedicadas a la transformación o uso de metales pesados como parte de su proceso de manufactura, desde las relacionadas con la empresa petroquímica hasta las destinadas al tratamiento y curtido de pieles animales (tenerías) (Esclapés y Galindo, 2000;

Rodríguez, 2000; Marín-Leal et al., 2017). En detalle, se pueden hallar industrias de: producción de plaguicidas y otras sustancias químicas, producción y transporte de crudo, procesamiento de gas natural, extracción de carbón en minas a cielo abierto, entre otras; siendo fuentes importantes de residuos de metales pesados, particularmente de cadmio (Cd) y cromo (Cr) (ICLAM, 1988; Ávila et al., 2010; Ávila et al., 2014; Castro y Marín, 2018).

Los metales pesados son una fuente común de contaminación que incide directa e indirectamente sobre el bienestar del ser humano, afectando el funcionamiento de los ecosistemas, dado que no pueden ser degradados; ni química, ni biológicamente; y por lo general, tienden a bioacumularse y biomagnificarse, provocando efectos tóxicos de muy diverso carácter, que generan alteraciones desfavorables sobre los organismos vivos (Baral et al., 2006; Bjerregaard et al., 2015). Es por ello que, dicha situación amerita de gran preocupación al limitar el uso de las fuentes de aguas naturales, por el riesgo que representan para la salud pública, dado su efecto sobre los componentes de las redes tróficas (Páez-Osuna y Frías-Espericueta, 2001; Salazar-Lugo, 2009).

El Cr y Cd figuran entre los metales de mayor importancia toxicológica y ecotoxicológica en ambientes acuáticos, pues, para la mayoría de los organismos la exposición por encima de una concentración umbral puede ser extremadamente tóxica. Los iones de estos elementos suelen penetrar en la célula a través de los mismos sistemas de transporte que utilizan cationes fisiológicamente importantes como calcio, magnesio, cobre y zinc, generando alteraciones en los procesos enzimáticos de los organismos (Cañizares, 2000; Argota et al., 2012; Bjerregaard et al., 2015).

Una alternativa para el tratamiento de estas aguas residuales industriales cargadas de metales pesados, está constituida por los reactores biológicos rotativos de contacto, RBC según sus siglas en inglés, los cuales fungen como sistemas de tratamiento biológicos secundarios, que se han utilizado ampliamente en las últimas décadas para el tratamiento de diversos tipos de efluentes, ya que ofrecen multiplicidad de ventajas sobre otros sistemas

de tratamiento, destacándose su capacidad para mantenerse estable ante cambios bruscos de las condiciones operacionales, así como por su tolerancia a sustancias tóxicas en el afluente y su eficiencia en la remoción de materia orgánica, generando efluentes de buena calidad, con bajos costos de operación y mantenimiento (Najafpour et al., 2005; Tawfik et al., 2006; Cortez et al., 2008).

Una de las principales fortalezas de los reactores RBC la constituyen la amplia diversidad microbiana resistente y/o tolerantes a metales que puede estar presente en el sistema, tanto suspendida en el efluente, como creciendo adherida a los discos en forma de biopelícula. Esta resistencia o tolerancia experimentada por microorganismos resulta de la acción de diferentes mecanismos, como son: bioabsorción, bioacumulación, biomineralización, biotransformación y quimiosorción, mediados por las células vivas o muertas (Vullo, 2003; Naik y Dubey, 2013; Beyer et al., 2014; Limcharoensuk et al., 2015). No obstante, diferentes condiciones del efluente en tratamiento pueden afectar a biopelícula y por ende, al desempeño y eficiencia del sistema de tratamiento en general (Teitzel y Parsek, 2003; Cortez et al., 2008; Taseli et al., 2008).

Considerando los problemas de contaminación relacionados con la descarga de efluentes contaminados con metales pesados, la importancia de la microbiota relacionada con los mecanismos de depuración de aguas residuales y al auge que tienen los reactores RBC como alternativa menos costosa en comparación a las técnicas convencionales para la eliminación/recuperación de metales pesados; el objetivo del presente estudio consistió en comparar las características de la biopelícula de un reactor RBC de tres cámaras, en presencia y ausencia de metales pesados (Cd y Cr).

1. Metodología

1.1. Sistema experimental

Se utilizó un reactor RBC construido en acrílico transparente, subdividido en tres compartimientos denominados cámaras, las cuales estaban separadas por una lámina del

mismo material con tres aberturas de 2 cm de diámetro cada una, para permitir la circulación del efluente en tratamiento (Figura 1). El caudal fue suministrado mediante una bomba peristáltica, conectada en la entrada de la cámara 1 (C1). En la salida de la cámara 3 (C3) también se conectó una bomba peristáltica, con el fin de retirar el efluente tratado. Los discos giraron con la ayuda de un eje tipo tornillo sin fin, de aproximadamente 90 cm de largo, conectado a un motor de rotación acoplado a un controlador de velocidades. Las especificaciones del reactor utilizado se presentan en la Tabla 1.

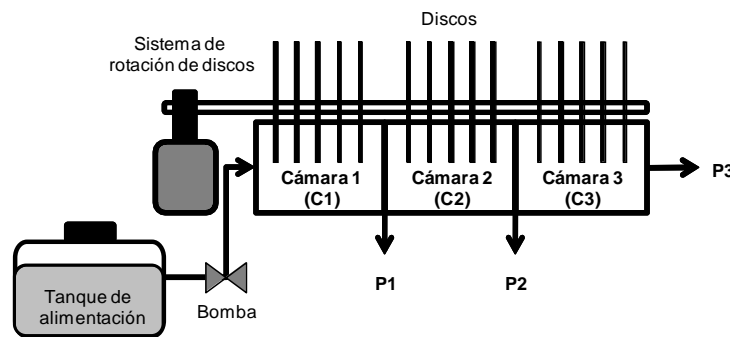


FIGURA 1. Esquema del reactor RBC de tres cámaras. P1, P2 y P3: puntos de muestreo de efluente tratado; C1, C2 y C3: efluentes de las cámaras 1, 2 y 3, respectivamente.

TABLA 1. Dimensiones y características del reactor RBC de tres cámaras empleado en esta investigación.

Característica	Valor
Diámetro del disco (cm)	18
Diámetro del tanque (cm)	23
Área total de contacto (m ²)	1,836
Porcentaje de sumergencia de discos (%)	40
Número de cámaras	3
Número de discos por cámara	12
Espaciamiento entre discos (cm)	1
Diámetro del eje (pulg)	3/8"
Longitud total del reactor (cm)	60
Volumen útil del reactor (L)	8
Velocidad de giro del disco (rpm)	10
Tiempo de retención hidráulico (h)	18

1.2. Efluente industrial sintético

Para esta investigación se preparó inicialmente un efluente sintético con glucosa como única fuente de carbono, proporcionando una demanda química de oxígeno (DQO) teórica de 1.000 mg/L, y los nutrientes necesarios para el crecimiento microbiano en una proporción de C:N~5, cuyas características se resumen en la Tabla 2.

TABLA 2. Composición del efluente industrial sintético usado en el presente trabajo, modificado de Chacín (1993).

Ítem	Compuesto	Efluente sin metales (g/L)	Efluente con metales (g/L)*
1	Glucosa	0,9375	0,9375
2	MgCl ₂ .6H ₂ O	0,0850	0,0850
3	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,0040	0,0040
4	NiSO ₄ .6H ₂ O	0,5000	0,5000
5	CoO	0,0500	0,0500
6	FeCl ₂ .6H ₂ O	0,0006	0,0006
7	H ₃ BO ₃	0,1000	0,1000
8	NH ₄ Cl	0,1910	0,1910
9	CaCl ₂ .2H ₂ O	0,0540	0,0540
10	MnCl ₂ .4H ₂ O	0,5000	0,5000
11	KH ₂ PO ₄	0,0219	0,0219
12	K ₂ HPO ₄	0,0369	0,0369
13	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,5000	0,5000
14	Na ₂ CO ₃	0,6390	0,6390
15	(NH ₄) ₂ .SO ₄	0,1300	0,1300
16	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,0050	0,0050
17	CdCl ₂ .H ₂ O	-	8,1500
18	K ₂ Cr ₂ O ₇	-	56,540

* Cd 5 mg/L y Cr 20 mg/L.

Dicho efluente fue posteriormente contaminado con 5 mg/L de Cd y 20 mg/L de Cr, para observar su efecto sobre las características de la biopelícula del reactor RBC. La proporción de estos metales se estableció considerando la composición de efluentes industriales relacionados a procesos de curtido de pieles, pigmentos textiles, aleaciones, catalizadores, agentes anticorrosivos, baterías, recubrimientos metálicos,

electro galvanizados, aguas de producción de petróleo, entre otras (Katz y Salem, 1994), así como los límites permisibles de descarga a cuerpos de agua naturales de la normativa venezolana vigente (0,2 mg/L para Cd y 2,0 mg/L para Cr) (Decreto 883, 1995). En ocasiones se hizo necesario adicionar bicarbonato de sodio (1 g/L) a este fluente, con el fin de conferirle al sistema la capacidad para neutralizar la producción de ácidos.

1.3. Formación de la biopelícula

Para la formación de la biopelícula sobre los discos del reactor, se agregó a cada cámara 1 L de lodo aeróbico proveniente de una planta de tratamiento de aguas residuales de una industria de la localidad, y se agregó agua residual sintética sin metales hasta completar 3 L en cada una de las cámaras. Durante esta etapa el reactor se operó a flujo discontinuo, con un tiempo de retención de 24 h, durante 18 d. En este lapso se tomaron fotografías para monitorear la formación de la biopelícula, y se midió el pH diariamente para verificar que el sistema permaneciera dentro del rango óptimo para el crecimiento microbiano (6,5-8,5) (Atlas y Bartha, 2002). Una vez formada una capa de biopelícula de buen espesor sobre los discos, se procedió a retirar el lodo biológico y se cambió la condición a flujo continuo (7,3 mL/min), suministrando progresivamente agua residual sintética sin metales.

1.4. Condiciones de experimentación

Etapa I, ausencia de metales: el reactor se operó en ausencia de metales pesados durante un período de 30 d (Tabla 2), a flujo continuo con un caudal de 7,3 mL/min y un tiempo de retención hidráulico (TRH) de 18 h, suministrando una carga orgánica de 5,81 gDQO/d.m².

Etapa II, presencia de metales: seguidamente, el reactor operó bajo las mismas condiciones de la etapa I, pero alimentando con el efluente industrial sintético conteniendo los metales pesados (Tabla 2). Esta etapa se extendió durante 25 d.

1.5. Recolección de muestras

1.5.1. Efluente tratado

Considerando el TRH establecido, se recolectaban muestras de 300 mL del efluente a la salida de cada una de las cámaras del reactor (Figura 1), a través de los puertos de muestreo P1, P2 y P3. Adicionalmente, se captaba el mismo volumen de efluente sintético fresco para las condiciones iniciales, obteniéndose un total de tres muestras del tratamiento y una de la entrada por día. En estas muestras se analizaron los siguientes parámetros: pH, alcalinidad total, oxígeno disuelto, potencial redox, DQO, sólidos suspendidos totales (SST), sólidos suspendidos volátiles (SSV) y metales (Cd y Cr), según los métodos estandarizados (APHA et al., 2005).

1.5.2. Biopelícula

Para el estudio de las características de la biopelícula, se efectuó un registro fotográfico y del color diariamente, con mediciones adicionales del grosor de la misma en cada etapa de tratamiento, utilizando un vernier. Además, se tomaron muestras de los discos, con la ayuda de un sacabocado de diámetro conocido (raspado de la superficie), a la entrada (primer disco) y salida (último disco) de cada cámara, para determinar el índice de biomasa (IDB), a partir de la razón de sólidos volátiles (SV) entre sólidos totales (ST) (APHA et al., 2005).

Con las muestras del raspado superficial, también se realizó el conteo de heterótrofos (agar conteo de Hi-Media *Laboratories*), expresando los valores en unidades formadoras de colonias por gramo de biopelícula seca (UFC/g peso seco), así como el aislamiento y caracterización de algunas especies bacterianas presentes, usando una batería de pruebas macromorfológicas, tintoriales, microscópicas y bioquímicas (Holt et al., 1994; Murray et al., 1999; Reynolds, 2002; MacFaddin, 2004), con la ayuda del programa ABIS *on line* (ABIS, 2018). El contenido de humedad de la biopelícula se estimó gravimétricamente, mediante secado a 60°C en una estufa.

1.6. Análisis estadísticos de datos

Se efectuaron cálculos de media aritmética y desviación estándar con los datos de parámetros fisicoquímicos y biológicos. También se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías, para determinar diferencias significativas entre los parámetros

fisicoquímicos y características de la biopelícula, con respecto a las condiciones experimentales establecidas (etapas) y a las cámaras del reactor (C1, C2 y C3).

2. Resultados y discusión

2.1. Características fisicoquímicas del efluente tratado

Todos los parámetros monitoreados en el efluente tratado presentaron diferencias significativas ($p < 0,01$) con respecto a las etapas experimentales, mostrando el efecto de la presencia de los metales pesados sobre el desempeño del reactor. Considerando la variable cámara, solo el potencial redox, DQO y contenido de metales, no presentaron diferencias significativas ($p > 0,05$), mientras que para la interacción etapa*cámara, todos los parámetros mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$), a excepción del Cr.

En la Tabla 3 se presentan los valores medios y las desviaciones estándares para los parámetros fisicoquímicos medidos durante las dos etapas de tratamiento, tanto en la entrada como a la salida de cada cámara del reactor RBC. En general, los niveles finales de pH (6,83 a 7,97), alcalinidad total (90,02 a 198,57 mgCaCO₃/L), oxígeno disuelto (2,02 a 7,65 mg/L) y potencial redox (-100,20 a -63,41 mV), se mantuvieron dentro de los rangos esperados para este tipo de tratamiento biológico aeróbico, garantizando la supervivencia de una comunidad de microorganismos capaz de degradar la materia orgánica presente (Nowak, 2000; Atlas y Bartha, 2002; Tawfik et al., 2006).

En la etapa II, el contenido de SST (100,0±20,0 mg/L) en el efluente tratado (cámara 3) no logró cumplir con el límite de descarga a cuerpos de aguas naturales, establecido en la legislación venezolana (80 mg/L; Decreto 883, 1995), posiblemente debido al efecto de la presencia de metales pesados, cuya toxicidad puede afectar las características biológicas y de adherencia de la biopelícula (Costley y Wallis, 2001; Taseli et al., 2008; Panigatti et al., 2012; Islam et al., 2017). Este hecho quedó reflejado por el aumento de la concentración de SSV en esta etapa II (Tabla 3).

TABLA 3. Valores medios y desviaciones estándares de los parámetros fisicoquímicos medidos durante el tratamiento del efluente sintético en el reactor RBC en ausencia y presencia de metales pesados.

Parámetro	Etapa I. Reactor RBC sin metales*				Límite de descarga** *
	Entrada	Cámara 1	Cámara 2	Cámara 3	
pH	7,48±0,34	7,14±0,31	7,66±0,21	7,79±0,18	6-9
AT (mgCaCO ₃ /L)	194,53±37,59	171,57±27,00	132,60±27,09	126,36±36,34	-
OD (mg/L)	5,03±1,73	3,93±1,91	6,26±1,23	6,84±0,81	-
PR (mV)	-88,21±10,93	-77,02±13,61	-90,45±7,68	94,95±5,25	-
SST (mg/L)	520,0±225,4	149,1±108,6	56,4±17,5	61,8±14,0	80
SSV (mg/L)	429,1±215,9	141,8±115,1	49,1±18,7	56,4±21,6	-
DQO (mg/L)	1.088,5±92,57	117,97±73,75	128,00±96,01	100,49±41,41	350
Cd (mg/L)	-	-	-	-	0,2
Cr (mg/L)	-	-	-	-	2,0
Parámetro	Etapa II. Reactor RBC con metales**				Límite de descarga** *
	Afluente	Cámara 1	Cámara 2	Cámara 3	
Ph	7,42±0,17	7,33±0,12	7,34±0,14	7,40±0,14	6-9
AT (mgCaCO ₃ /L)	215,99±40,36	160,51±21,16	158,96±22,12	157,80±22,76	-
OD (mg/L)	7,02±0,38	5,72±0,52	5,97±0,50	6,41±0,48	-
PR (mV)	-93,92±13,22	-91,02±4,50	-91,33±4,32	-93,83±3,76	-
SST (mg/L)	473,3±189,0	120,0±20,0	80,0±52,9	100,0±20,0	80
SSV (mg/L)	260,0±140,0	53,3±11,6	33,3±23,1	46,7±11,6	-
DQO (mg/L)	1.041,94±29,10	265,44±47,94	242,88±61,55	284,02±39,01	350
Cd (mg/L)	4,58±0,33	0,09±0,08	0,06±0,05	0,15±0,04	0,2
Cr (mg/L)	18,05±0,81	7,45±2,41	8,11±2,95	7,72±2,92	2,0

AT: alcalinidad total, OD: oxígeno disuelto, PR: potencial redox, SST: sólidos suspendidos totales, SSV: sólidos suspendidos volátiles, DQO: demanda química de oxígeno, -: no presenta, *n=30, **n=25, ***Decreto 883 (1995).

Las concentraciones finales de materia orgánica en ambas etapas experimentales (Tabla 3), medida como DQO ($100,49 \pm 41,41$ mg/L para la etapa I y $284,02 \pm 39,02$ mg/L para la etapa II), cumplieron con los valores máximos permisibles de la normativa nacional vigente para el vertido a cuerpos de aguas naturales (350 mg/L; Decreto 883, 1995), al igual que las concentraciones de Cd en la etapa II: $0,15 \pm 0,04$ mg/L (límite: 0,2 mg/L; Decreto 883, 1995). Sin embargo, los niveles finales de Cr de la etapa II no se ajustaron a las exigencias de esta norma, requiriéndose de un tratamiento adicional para su adecuación. Los mecanismos implicados en las transformaciones y desintoxicación de metales en microorganismos, dependen de la especie y de las propiedades fisicoquímicas del entorno celular. Estos involucran procesos de captación de metales (pasivos por bioabsorción y activos por bioacumulación intracelular), mantenimiento de la homeostasis y desintoxicación activa, metabolismo litotrófico que emplea iones metálicos como fuente de electrones, movilización activa o pasiva de metales a partir de minerales o formación de biominerales por precipitación inorgánica u orgánica de especies metálicas insolubles (Kotrba et al., 2011).

La eficiencia media de remoción de materia orgánica (DQO) en el reactor fue de $90,7 \pm 3,8$ % para la etapa I y de $72,7 \pm 4,3$ % para la etapa II, mostrando diferencias significativas entre ambas ($p < 0,01$), como respuesta a la presencia de metales; lo que representa un 18,0 % de pérdida de eficiencia del proceso de oxidación. Al respecto, Taseli et al. (2008) encontraron que concentraciones de Cr (VI) superiores a 20 mg/L afectan la oxidación de materia orgánica en reactores RBC, destacando que 5 mgCr(VI)/L fue el contenido óptimo en términos de remoción de materia orgánica (DQO), turbidez y sólidos suspendidos. En cuanto al Cd, Santos et al. (2005) detectaron una marcada disminución en la eficiencia de un reactor biológico secuencial cuando la concentración de Cd aumentó por encima de 14 mg/L, en cuyo caso la eliminación de materia orgánica (DQO) disminuyó de 98 a 41 %, mientras que la eliminación de amoníaco se redujo de 98 a 32 % y el índice biótico de lodo bajó a 0 en concentraciones de Cd superiores a 10 mg/L.

Las remociones medias de metales observadas durante el tratamiento del efluente industrial sintético fueron de $96,7 \pm 0,2$ y $57,2 \pm 1,3$ % para Cd y Cr, respectivamente (etapa II). En contraste, Costley y Wallis (2001), estudiando la habilidad del biofilm de un reactor RBC de tres etapas para depurar aguas residuales contaminadas con Cd, Cu y Zn, lograron remover un 33 % del contenido de Cd, señalando que la presencia de los metales inhibió el desarrollo microbiano, lo cual resultó en una baja tasa de eliminación de materia orgánica (DQO); mientras que Jacob et al. (2018), indican remociones de Cr (III) de hasta 94 % en agua sintéticas, usando estructuras cristalinas producidas por bacterias (magnetosomas) recubiertos con carbonato de calcio. La remoción biológica simultánea de metales pesados resulta un proceso complejo, ya que amerita de la participación de un conjunto de procesos fisiológicos que coadyuvan a la eliminación de dichos elementos del efluente en tratamiento, de acuerdo con lo planteado por Kotrba et al. (2011).

2.2. Características de la biopelícula

2.2.1. Registro fotográfico

Durante la etapa de formación de la biopelícula inicialmente ocurrió la adherencia y crecimiento de colonias microbianas en puntos aislados de la superficie de los discos del reactor (Figura 2A), con apariencia gelatinosa, principalmente en el área intermedia, la cual permanecía húmeda por estar mayor tiempo sumergida en el efluente en tratamiento, extendiéndose hacia los extremos hasta cubrir toda la superficie, dándole una apariencia afelpada (Figura 2B). Cortez et al. (2008), señaló que esta apariencia observada en las etapas iniciales de formación de la mayoría de las biopelículas en reactores RBC, es debida a la presencia de bacterias filamentosas del género *Beggiatoa*.

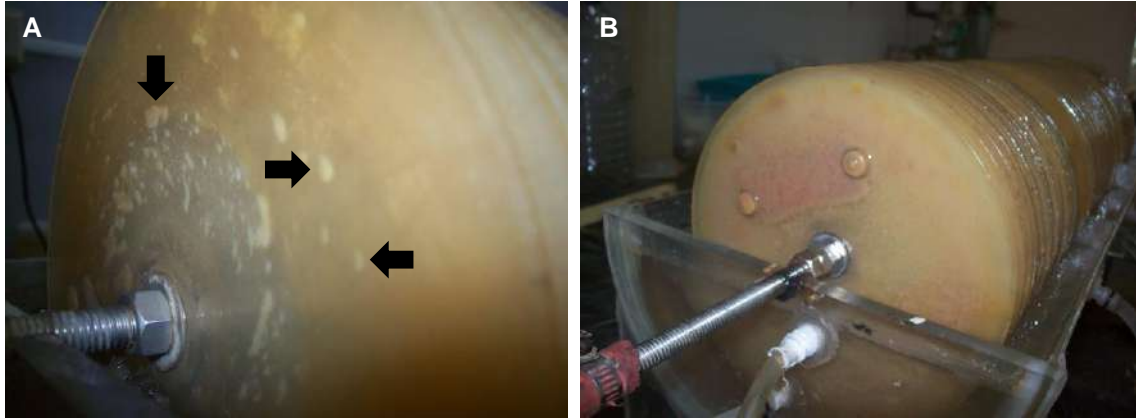


FIGURA 2. Formación de la biopelícula en el reactor RBC de tres cámaras. A) Etapas iniciales de la biopelícula (flechas negras), B) Biopelícula madura.

Posteriormente, la biopelícula fue aumentando su espesor siendo de mayor dimensión en la cámara 1 y disminuyendo gradualmente hasta la cámara 3 (Figura 3). Este comportamiento es debido a la entrada del efluente fresco (afluente) en la cámara 1, el cual proporciona una mayor cantidad de elementos nutritivos a los microorganismos, magnificando su crecimiento y adherencia a la superficie, en concordancia con lo descrito por varios autores (Martín-Cereceda et al., 2001; Welter et al., 2004; Pérez, 2010); quienes afirman que por lo general el espesor de la biopelícula varía dependiendo de la carga y no es uniforme en toda la superficie del disco. El tiempo de formación de la biopelícula fue de 20 d, resultando similar al reportado por Okabe et al. (1996) para un reactor RBC inoculado con cultivos procedentes de un tanque de sedimentación primaria.

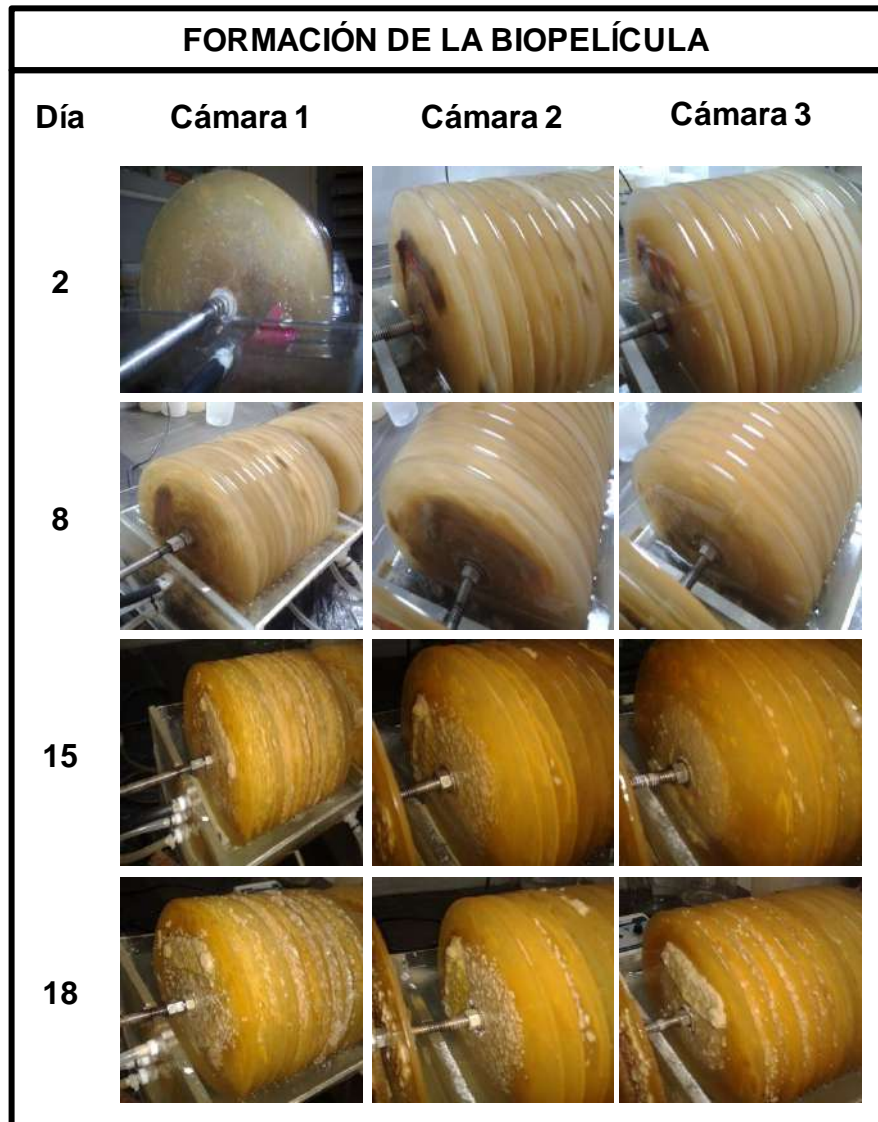


FIGURA 3. Evolución de la formación de la biopelícula en el reactor RBC de tres cámaras.

Durante la etapa I (Figura 4), la biopelícula fue aumentando su grosor (día 7), exhibiendo una apariencia heterogénea tanto en color, como grosor y textura, formando en ocasiones puentes entre los discos. Eventualmente se presentó desprendimiento en secciones de la biopelícula (día 20), probablemente debido a la dificultad en la transferencia de sustrato hacia las capas más internas, como lo señalaron Lobo et al. (2013)

en su trabajo acerca del desarrollo de biopelículas en el tratamiento de aguas residuales de una industria láctea.

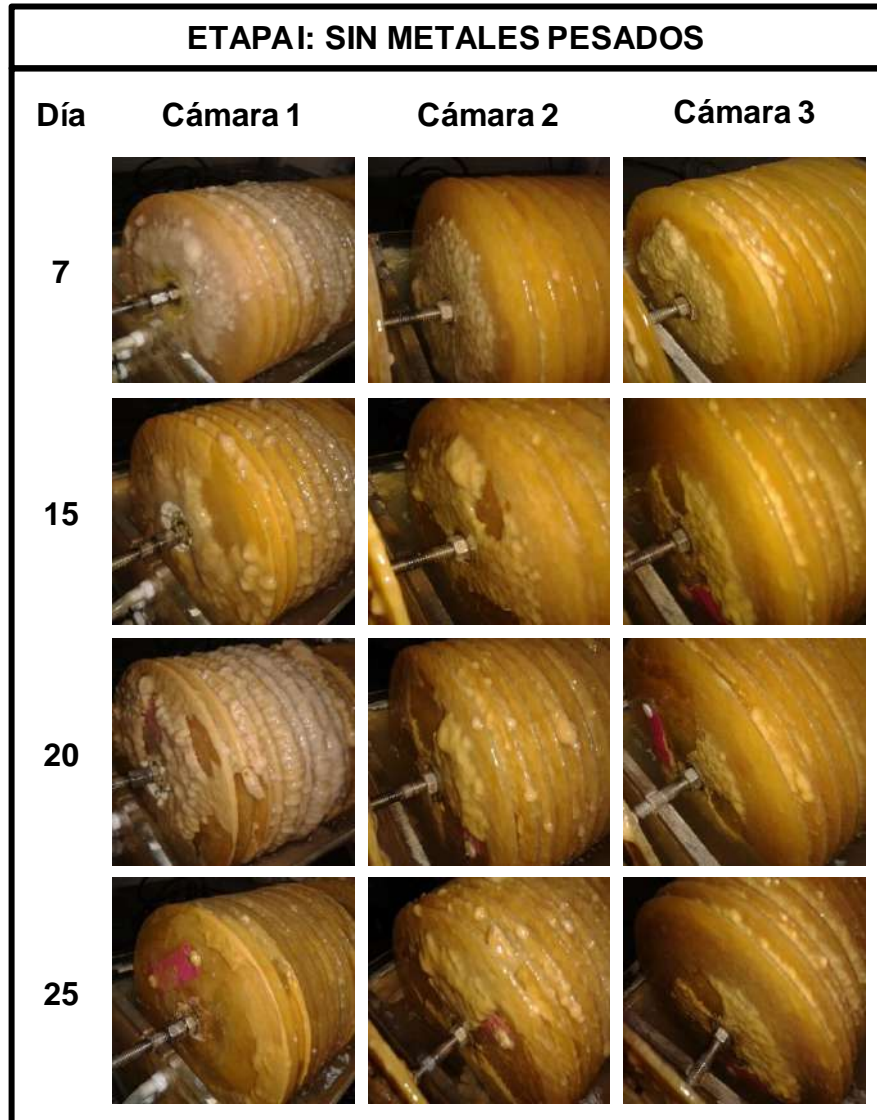


FIGURA 4. Evolución de la biopelícula en el reactor RBC de tres cámaras.
Etapa I: ausencia de metales pesados.

Durante la etapa II (Figura 5), se observó la disminución progresiva del grosor de la biopelícula, presentándose áreas de desprendimiento de la misma en los días iniciales de la exposición a los metales (día 10), debido probablemente a su efecto tóxico sobre la integridad de la misma. No obstante, también se pudo observar crecimiento de nueva

biopelícula en las áreas afectadas (día 19), lo que destaca el potencial de los microorganismos presentes para adaptarse a los contaminantes añadidos. Dicho fenómeno fue mencionado por Costley y Wallis (2001) al constatar que la biopelícula seguía creciendo a pesar de ser sometida a la influencia de Cd, Cu y Zn, durante la remoción de metales pesados en agua residual sintética, utilizando un reactor biológico rotativo de contacto.

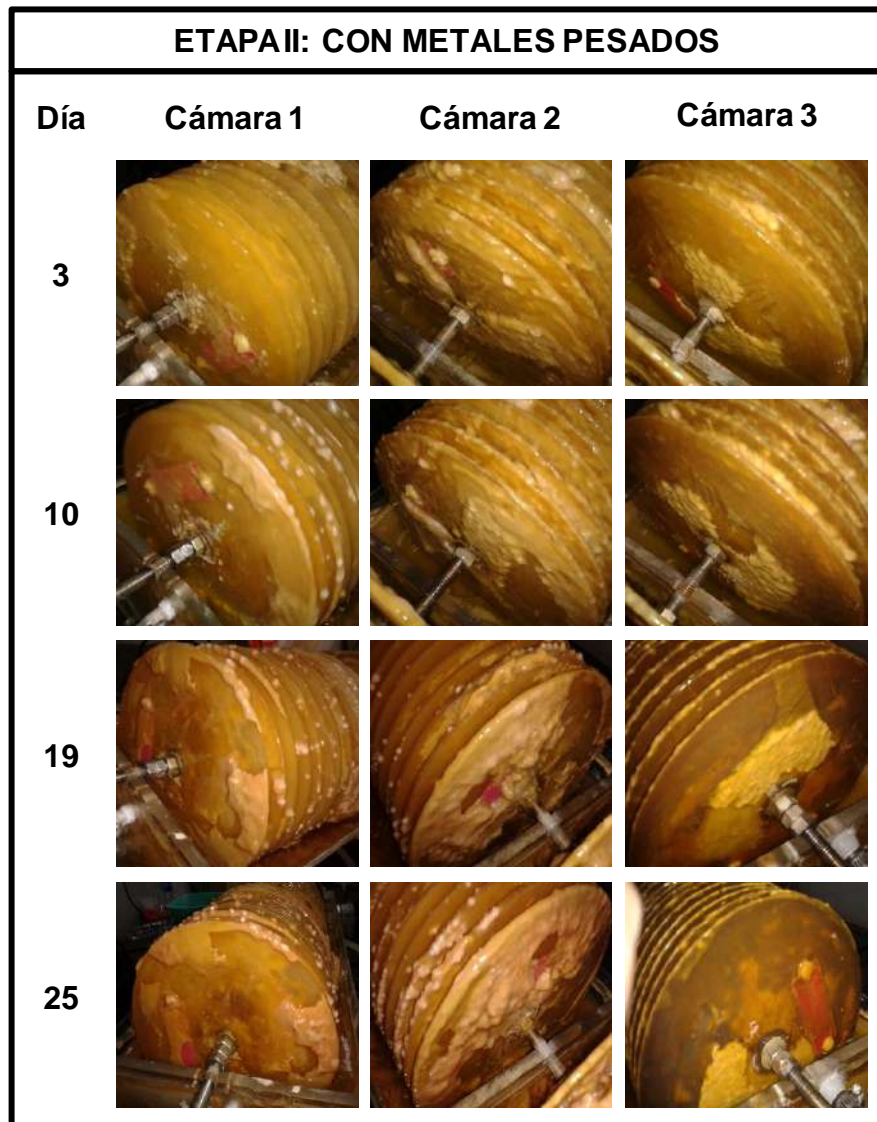


FIGURA 5. Evolución de la biopelícula en el reactor RBC de tres cámaras.
Etapa II: presencia de metales pesados.

2.2.2. Color

Durante la etapa I del tratamiento, de manera general la biopelícula presentó una coloración marrón-dorada (Figura 4), presentándose áreas localizadas de color blanco y rosa, siendo más abundantes en la cámara 1 (mayor crecimiento microbiano). En la etapa II (Figura 5), el color marrón fue tornándose cada vez más oscuro, en concordancia con lo reportado por Welter et al. (2004); en las primeras etapas por lo general se presenta una biopelícula de color gris o gris amarronado, lo cual es indicativo de una biomasa removedora de materia orgánica carbonosa, mientras que en las etapas posteriores, la misma presenta coloración amarronada o rojiza-amarronada, propia de microorganismos nitrificantes. Sin embargo, el color de la biopelícula varía dependiendo de la naturaleza del afluente en cuestión (Welter et al. 2004).

2.2.3. Grosor

En la Figura 6 se presenta el grosor de la biopelícula para las dos etapas experimentales, en cada una de las cámaras del reactor (C1 hasta C3), con valores desde 3,0 (C3, entrada y salida) hasta 6,1 mm (C2 entrada) para la etapa I y desde 0,4 (C3 entrada) hasta 1,8 mm (C1 y C2 salida) para la etapa II, los cuales fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$). En ausencia de metales (etapa I), el grosor se mantuvo bastante estable en las cámaras, con muy ligeras variaciones temporales entre la entrada (primer disco) y la salida (último disco), como muestra de la estabilidad del sistema. El crecimiento abundante de la biopelícula en ocasiones originó la formación de puentes entre los diferentes discos, particularmente en la cámara 1, lo cual ha sido reportado como respuesta a la abundancia de sustrato (Martín-Cereceda et al., 2001; Welter et al., 2004; Pérez 2010).

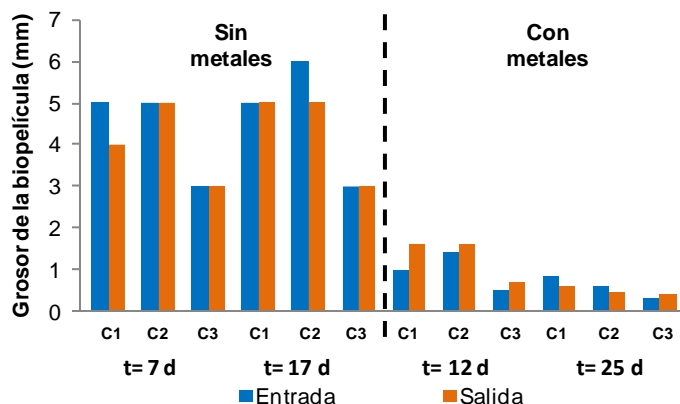


FIGURA 6. Grosor de la biopelícula del reactor RBC de tres cámaras, en presencia y ausencia de metales pesados. C1-C3: cámaras del reactor, t: tiempo de muestreo, entrada: primer disco, salida: último disco.

Una vez que se inició la alimentación con el efluente contaminado con metales (etapa II), el grosor de la biopelícula disminuyó progresivamente, para llegar a los valores mínimos en el día 25 de experimentación (cámara 3). Se observaron grandes resquebrajamiento y desprendimientos de biomasa a lo largo del desarrollo de esta etapa, por efecto del contenido de Cd y Cr (Costley y Wallis, 2001; Taseli et al., 2008), lo cual incidió sobre las concentraciones de SST y SSV en el efluente tratado (Tabla 3), como ya fue mencionado.

2.2.4. Sólidos totales, sólidos volátiles, índice de biomasa y contenido de humedad

Los contenidos de sólidos en la biopelícula fueron ligeramente variables en cada etapa de tratamiento, así como de una cámara respecto a otra (Figura 7), sin exhibir diferencias significativas ($p > 0,05$). En la etapa I fue notorio el aumento de los ST desde C1 hasta C3 en ambos muestreos, con concentraciones medias de $27,05 \pm 2,85 \text{ mg/cm}^2$ a los 7 d de ensayo y de $18,13 \pm 1,32 \text{ mg/cm}^2$ a los 17 d. En la etapa II, los ST también se incrementaron entre las cámaras, con tenores medios de $22,55 \pm 1,08 \text{ mg/cm}^2$ a los 12 d y de $35,12 \pm 2,31 \text{ mg/cm}^2$ a los 25 d de tratamiento. El comportamiento de los SV fue similar al de los ST en ausencia de metales, con valores medios de $15,01 \pm 2,34 \text{ mg/cm}^2$ para el día 7 y de $11,64 \pm 0,93 \text{ mg/cm}^2$ para el día 17, mientras que en presencia de metales, se observó una disminución

progresiva de las concentraciones de SV entre las cámaras (excepto C3), con medias de $14,45 \pm 1,44 \text{ mg/cm}^2$ en el día 12 y de $13,66 \pm 5,42 \text{ mg/cm}^2$ en el día 25.

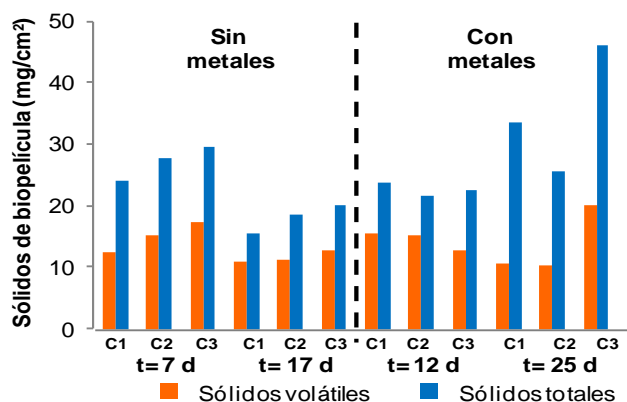


FIGURA 7. Sólidos en la biopelícula del reactor RBC de tres cámaras, en presencia y ausencia de metales pesados. C1-C3: cámaras del reactor, t: tiempo de muestreo.

Al respecto del contenido de sólidos en la biopelícula, Tyagi et al. (1993) durante el tratamiento de efluentes petroleros, también observaron un incremento de ST en las cámaras finales del reactor RBC, señalando que dicho comportamiento se debe a la intensidad del proceso de degradación de materia orgánica en la primera cámara, lo cual tiene como consecuencia la disminución del impacto de sus altas concentraciones (DQO) y de la de nutrientes, sobre la generación de biomasa (SSV), principalmente de microorganismos heterótrofos, en las cámaras subsiguientes. Adicionalmente, la acumulación de material suspendido y de metales en la biopelícula, posiblemente contribuyó al aumento en la concentración de ST, mediado por procesos fisiológicos o no, los cuales son factibles tanto con biomasa viva o muerta, así como con productos derivados del metabolismo, tal es el caso de la matriz polimérica extracelular (exopolisacárido, EPS), donde se encuentran embebidos los microorganismos de la biopelícula (Curt-Flemming y Wingender, 2003; Welter et al., 2004).

En la Figura 8 se incluyen los resultados de IDB obtenidos durante el tratamiento del efluente sintético, bajo las dos condiciones experimentales establecidas. En ausencia de

metales los valores estuvieron entre 0,53 (C1) y 0,70 (C1), mientras que en presencia de Cd y Cr el rango fue de 0,32 (C1) a 0,71 (C2). En general, este índice exhibió una tendencia a incrementarse en la etapa I y a decrecer en la etapa II, sin diferencias significativas ($p > 0,05$). Según Tyagi et al. (1993) el IDB representa la cantidad de biomasa activa presente en los discos, estableciendo que valores altos son indicativos de la presencia de un tipo común de bacterias oxidantes de materia orgánica carbonosa, cuyas variaciones son debidas a la presencia de bacterias nitrificantes y otros tipos de microorganismos asociados a la biopelícula. Los valores constantes de IDB podrían deberse a un tipo común de bacterias en todas las cámaras del reactor. Así, el descenso en el IDB registrado al final de la etapa II de ensayo, pudo deberse al efecto tóxico ejercido por los metales sobre los microorganismos presentes, cuyos valores hacen referencia a una biomasa activa pero afectada.

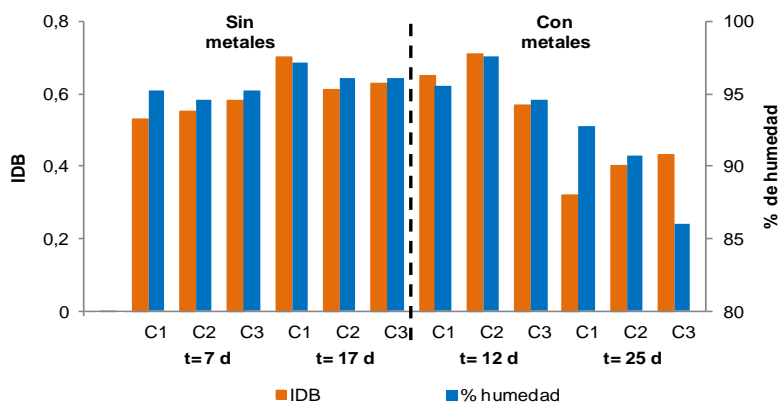


FIGURA 8. Índice de biomasa (IDB) y contenido de humedad en la biopelícula durante el tratamiento de un efluente sintético en un reactor RBC en presencia y ausencia de metales pesados.

El contenido de humedad de la biopelícula mostró alta presencia de agua, con valores entre 86,06 y 97,62 % (Figura 8), sin diferencias significativas entre las etapas ($p > 0,05$). Según Curt-Flemming y Wingender (2003), los EPS son un prerrequisito para la formación de una biopelícula, y son los responsables de la acumulación de agua en la misma, logrando que con 1 a 2 % de la materia orgánica presente se acumule hasta 99 % de humedad. Dicho planteamiento respalda los datos obtenidos, ya que la humedad fue alta aun en presencia de metales (etapa II), lo cual podría ser indicativo, en conjunto con el IDB,

de biomasa biológicamente activa, a pesar de la acción tóxica ejercida por los contaminantes.

2.2.5. Abundancia y diversidad de heterótrofos

La abundancia de microorganismos heterótrofos en la biopelícula del reactor RBC de tres cámaras fue alta, con densidades de $6,71 \times 10^9$ a $2,32 \times 10^{10}$ UFC/g peso seco en la etapa I y de $4,71 \times 10^8$ a $3,01 \times 10^9$ UFC/g peso seco en la etapa II, representando diferencias significativas ($p < 0,05$). Fue característica una mayor abundancia en ausencia de metales pesados que en presencia de los mismos, tanto a la entrada de las cámaras como a la salida (Figura 9). Sin embargo, la cantidad de heterótrofos presentes en la etapa II fueron suficientemente eficientes como para remover un cierto porcentaje de la materia orgánica (DQO) presente, al igual que los elementos Cd y Cr (Tabla 3), según lo comentado con anterioridad. La mayor abundancia observada en los días 7 y 12, para las etapas I y II respectivamente, pudiendo estar relacionada con la madurez y estabilidad del cultivo adherido (biopelícula), mientras que la menor densidad en C3 fue resultante del bajo influjo de materia orgánica y nutrientes, en comparación con C1.

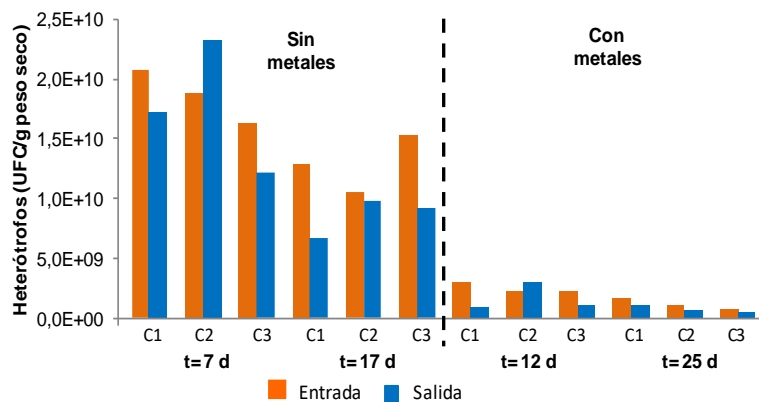


FIGURA 9. Conteo de heterótrofos en la biopelícula del reactor RBC de tres cámaras, en presencia y ausencia de metales pesados. C1-C3: cámaras del reactor, t: tiempo de muestreo, entrada: primer disco, salida: último disco.

Durante el proceso de aislamiento e identificación de las cepas bacterianas de la biopelícula, fueron descartadas las colonias cuyo crecimiento exhibía características macromorfológicas similares, obteniéndose finalmente siete cepas bacterianas distintivas para ambas etapas de tratamiento, notándose predominios de colonias redondas, de color blanco, opacas y planas, así como una diversidad en la forma de los bordes de la colonia (agar conteo).

En la Tabla 4 se detallan las características tintoriales y micromorfológicas de las cepas bacterianas aisladas, así como la especie en cuestión y probabilidad de dicha identificación, según el programa ABIS *on line*. Todas las cepas resultaron ser Gram negativas y con forma de cocobacilos, de las cuales tres exhibieron crecimiento a manera de cadenas cortas. En diversos trabajos realizados en zonas impactadas por hidrocarburos, se han reportado resultados similares, tal es el caso de León et al. (2009), quienes aislaron una amplia gama de bacterias que presentaron gran diversidad en forma, color, borde, tamaño, textura y elevación, a partir de desechos petrolizados, resultando en su totalidad del tipo Gram negativas. Por su parte, Ramírez et al. (2016) lograron aislar cinco cepas bacterianas de un manglar impactado por hidrocarburos, cuya morfología celular correspondió a formas bacilares y cocobacilares, mientras que las colonias presentaron formas redondas, concéntricas e irregulares, con pigmentación blanca y fluorescente.

TABLA 4. Especies bacterianas identificadas durante el tratamiento del efluente sintético en el reactor RBC de tres cámaras, en presencia y ausencia de metales pesados.

Cepa	Tinción	Forma	Especie	*Probabilidad (%)
B1	Gram -	Cocobacilo	<i>Paenibacillus apiarius</i>	84
B2	Gram -	Cocobacilo	<i>Paenibacillus elgii/Bacillus funiculus</i>	75
B3	Gram-	Cocobacilo	<i>Paenibacillus nematophilus</i>	79
B4	Gram -	Cocobacilo-cadena	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	89
B5	Gram -	Cocobacilo-cadena	<i>Bacillus farraganis/B. fordii/B. fortis/Paenibacillus borealis</i>	89
B6	Gram -	Cocobacilo	<i>Lysinibacillus massiliensis</i>	88

B7	Gram -	Cocobacilo- cadena	<i>B. funiculus/Bacillus oleronius</i>	83
----	--------	-----------------------	--	----

*Programa ABIS *on line*.

Con base en estas características macromorfológica, tintoriales y microscópicas de las cepas aisladas, así como del perfil bioquímico exhibido, las mismas fueron identificadas como pertenecientes al orden Bacillales y a los géneros: *Paenibacillus*, *Bacillus* y *Lysinibacillus*. Para la cepa B1 el programa asignó la especie *Paenibacillus apiarius* con un 84 % de probabilidad, seguida por *Lysinibacillus fusiformis* (79 %) y *Paenibacillus wynnii* (79 %). La B2 fue identificada *a priori* como *Paenibacillus lautus* con una probabilidad de 79 %, sin embargo esta especie fue descartada por ser Gran positiva, siendo entonces nombrada como *Paenibacillus elgii* (75 %) o *Bacillus funiculus* (75 %). La B3 se identificó como *Paenibacillus nematophilus* con 79 % de probabilidad, seguido de *Paenibacillus alvei* (71 %). La B4 fue nombrada *Lysinibacillus fusiformis* con 89 % de probabilidad, seguido de *Paenibacillus borealis* (89 %). La B5 fue identificada como *Bacillus farraganis/B. fordii/B. fortis* o *Paenibacillus borealis*, todas con un 89 % de probabilidad. La B6, por su parte, obtuvo 88 % de probabilidad para la especie *Lysinibacillus massilensis*. Finalmente, la B7 se trató de la especie *Bacillus funiculus* o *B. oleronius*, ambas con 83 % de probabilidad.

La identificación taxonómica de las cepas aisladas en ambas condiciones experimentales es congruente con lo reportado por diversos autores, lo cual aportan información tanto de las capacidades metabólicas como de la ecología de los microorganismos que cohabitan en la biopelícula de reactor RBC. Tal es el caso de Gallegos-Monterrosa et al. (2017), quienes identificaron mediante técnicas moleculares, cepas de *L. fusiformis* a partir de muestras de suelos, indicando además la ocurrencia de esta especie asociada a biopelículas en las micorrizas de algunas plantas, formando consorcio con *Bacillus subtilis*, mediante la segregación de ciertas sustancias extracelulares por parte de *L. fusiformis*, que inducen la asociación de *B. subtilis* a la biopelícula.

Srinath et al. (2002) aislaron cepas bacterianas bioacumuladoras de Cr en un efluente de tenería, las cuales fueron identificadas como: *Bacillus circulans*, *Bacillus coagulans* y *Bacillus megaherium*, mientras que Guerrero et al. (2017), demostraron la capacidad de la bacteria *Paenibacillus* sp. para la remoción de Cr, utilizando como sustrato agua residual municipal, obteniendo un 79,27 % de eficiencia. Así mismo, Azzam y Tawfik (2015) señalaron el potencial biorremediador de los biofloculantes producidos por especies de *Bacillus* en aguas residuales de una industria textil, reportando 74,5 % de remoción del contenido inicial de Cd ($321 \pm 6 \mu\text{g/L}$), por parte de la cepa *Bacillus* sp.

Conclusiones

La presencia de Cd y Cr repercutió sobre el desempeño del reactor RBC de tres cámaras, durante el tratamiento del efluente industrial sintético. Los parámetros pH, alcalinidad total, oxígeno disuelto, potencial redox, SST, así como el contenido de materia orgánica (DQO), Cd y Cr del efluente final, exhibieron diferencias significativas ($p < 0,01$), con respecto a las condiciones experimentales evaluadas (presencia y ausencia de Cr y Cd). Se observó un 18,0 % de pérdida en la eficiencia del proceso de oxidación de materia orgánica.

Los parámetros fisicoquímicos monitoreados cumplieron con los límites permisibles para la descarga a cuerpos de agua naturales, establecidos en la legislación venezolana, a excepción del contenido de Cr; por lo que se requiere de un postratamiento para su adecuación a las exigencias de la normativa ambiental.

De las características evaluadas en la biopelícula del reactor, el grosor y la abundancia de heterótrofos mostraron una menor proporción bajo la presencia de los metales, como consecuencia de su efecto sobre la actividad microbiana. Las bacterias más abundantes durante el tratamiento del efluente pertenecieron a los géneros: *Paenibacillus*, *Bacillus* y *Lysinibacillus*.

Referencias

- ABIS. (2018). Advanced bacterial identification. Ver. 12.8. Regnum Prokaryotae. Fecha de consulta: 10-04-2018. Disponible en: <https://abis-online.es.aptoide.com>
- APHA, AWWA, WCF. (2005). *Standard methods for examination of water and wastewater*. 21 ed. American Public Health Association. Washington D. C., USA. 1054 p.
- Argota, G., González, Y., Argota, H., Fimia, R., Iannacone, J. (2012). Desarrollo y bioacumulación de metales pesados en *Gambusia punctata* (Poeciliidae) ante los efectos de la contaminación acuática. *Revista Electrónica de Veterinaria*. 13(5): 1-12.
- Atlas, R., Bartha, R. (2002). *Ecología microbiana y microbiología ambiental*. 4 ed. Pearson Educación S. A. Madrid. 677 p.
- Ávila, H., Gutiérrez, E., Ledo, H., Araujo, M., Sánquiz, M. (2010). Heavy metals distribution in superficial sediments of Maracaibo Lake (Venezuela). *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería de LUZ*. 33(2): 122-129.
- Ávila, H., Quintero, E., Angulo, N., Cárdenas, C., Araujo, M., Morales, N., Prieto, M. (2014). Determinación de metales pesados en sedimentos superficiales costeros del sistema Lago de Maracaibo, Venezuela. *Multiciencias*. 14(1): 16-21.
- Azzam, A. M., Tawfik, A. (2015). Removal of heavy metals using bacterial bio-flocculants of *Bacillus* sp. and *Pseudomonas* sp. *Journal of Environmental Engineering and Landscape Management*. 23(4): 288-294.
- Baral, A., Engelken, R., Stephens, W., Farris, J., Hannigan, R. (2006). Evaluation of aquatic toxicities of chromium and chromium containing effluents in reference to chromium electroplating. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 50: 496-502.
- Beyer, J., Petersen, K., Song, Y., Ruus, A., Grung, M., Bakke, T., Tollefsen, K. E. (2014). Environmental risk assessment of combined effects in aquatic ecotoxicology: a discussion paper. *Marine Environmental Research*. 96: 81-91.
- Bjerregaard, P., Andersen, C. B., Andersen, O. (2015). Ecotoxicology of metals: sources, transport, and effects on the ecosystem. Chapter 21. En: *Handbook on the toxicology of metals*. G., Nordberg, B., Fowler, M., Nordberg (Eds.). 4 ed. Academic Press. p.p. 425-459.

- Cañizares, R. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 42: 131-143.
- Castro, F., Marín, J. C. (2018). Comparación de la ecotoxicidad por metales pesados sobre bacterias heterótrofas de dos sitios contrastados del Lago de Maracaibo (Venezuela). *Revista Facultad de Ciencias Básicas*. 14(1): 1-10.
- Chacín, E. (1993). Treatment characteristics of two phase anaerobic system using an UASB reactor. Tesis de doctorado. University of Birmingham. Birmingham, England. 180 p.
- Cortez, S., Texeira, P., Oliveira, R., Mota, M. (2008). Rotating biological contactors: a review on main factors affecting performance. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 7: 155-172.
- Costley, S., Wallis, F. (2001). Bioremediation of heavy metals in a synthetic wastewater using a rotating biological contactor. *Water Research*. 35(15): 3715-3723.
- Curt-Flemming, H., Wingender, J. (2003). The crucial role of extracellular polymeric substances in biofilms. En: S., Wuertz, P., Bishop, P., Wilderer (Eds.): *Biofilms in wastewater treatment: an interdisciplinary approach*. IWA Publishing. Londres. 401 p.
- Decreto 883. (1995). Normas para la clasificación y el control de la calidad de los cuerpos de aguas y vertidos de efluentes líquidos. Gaceta oficial de la República de Venezuela No. 5021, extraordinaria. Caracas, Venezuela.
- Esclapés, M., Galindo, I. (2000). Calidad de las aguas del Lago de Maracaibo. En: G., Rodríguez (Ed.): *El sistema de Maracaibo*. Capítulo 9. 2 ed. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). Caracas, Venezuela. p.p. 125-146.
- Gallegos-Monterrosa, R., Kankel, S., Gotze, S., Barnett, R., Stallforth, P., Kovacs, A. (2017). *Lysinibacillus fusiformis* M5 induces increased complexity in *Bacillus subtilis* 168 colony biofilms via hypoxanthine. *Journal of Bacteriology*. 199(22): 204-217.
- Guerrero, D., Pinta, J., Fernández, P., Ibarguen, E., Hudalgo, S., Burbano, E. (2017). Eficiencia en la reducción de cromo por una bacteria silvestre en un tratamiento tipo Bach utilizando como sustrato agua residual del municipio de Pasto, Colombia. *Revista Universidad y Salud*. 19(1): 102-115.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T., Williams, S. T. (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9 ed. M. D., Williams, C., Wilkins. Baltimore, USA. 606 p.

- ICLAM (1988). Determinación de la concentración de hidrocarburos y metales pesados en agua, sedimento y biota del Lago de Maracaibo. Informe Técnico. Instituto para el Control y la Conservación del Lago de Maracaibo. 47 p.
- Islam, S., Ahmed, K., Raknuzzaman, M., Al-Mamun, H., Kundu, G. (2017). Heavy metals in the industrial sludge and their ecological risk: A case study for a developing country. *Journal of Geochemical Exploration*. 172: 41-49.
- Jacob, J. J., Varalakshmi, R., Gargi, S., Jayasri, M. A., Suthindhiran, K. (2018). Removal of Cr (III) and Ni (II) from tannery effluent using calcium carbonate coated bacterial magnetosomes. *NPJ Clean Water*. 1: 1-10.
- Katz, S., Salem, H. (1994). *The biological and environmental chemistry of chromium*. 1 ed. Wiley-VCH. New York, USA. 214 p.
- Kotrba, P., Mackova, M., Fišer, J. y Macek, T. (2011). Biosorption and metal removal through living cells. En: P. Kotrba, M. Mackova, J. Fišer y T. Macek (Eds.): *Microbial biosorption of metals*. Springer Science + Business Media B. V. Dordrecht. p.p. 197-233.
- León, Y., De Sisto, A., Inojosa, Y., Malaver, N., Naranjo, L. (2009) Identificación de biocatalizadores potenciales para la remediación de desechos petrolizados de la faja petrolífera del Orinoco. *Revista de Estudios Transdisciplinarios*. 1(2): 11-24.
- Limcharoensuk, T., Sooksawat, N., Sumarnrote, A., Awutpet, T., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P. (2015). Bioaccumulation and biosorption of Cd²⁺ and Zn²⁺ by bacteria isolated from a zinc mine in Thailand. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 122: 322-330.
- Lobo, C., Arturi, T., Bertola, N., Contreras, E. (2013). Evaluación del desarrollo de biopelícula para el tratamiento de agua residual de industria láctea. AAIQ Asociación Argentina de Ingenieros Químicos-CPSQ. 1-11.
- MacFaddin, J. 2004. *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. 3 ed. Editorial Panamericana, Madrid, España. 850 p.
- Marín-Leal, J. C., Carrasquero-Ferrer, S. J., Pire-Sierra, M. C., Behling de Calmón, E. H. (2017). Dynamic of priority pollutants and wastewater adequacy in the Lake Maracaibo basin (Venezuela). Chapter 29. En: C. V. M. Araújo, Cândida Shinn (Eds.): *Ecotoxicology in Latin America*. Nova Science Publishers, Inc. USA. pp. 457-479.
- Martín-Cereceda, M., Álvarez, A., Serrano, S., Guinea, A. (2001). Confocal and light microscope examination of protozoa and other microorganisms in the biofilms from

a rotating biological contactor wastewater treatment plant. *Acta Protozoologica*. 40: 263-272.

Murray, P., Baron, E., Pfaller, M., Tenover, F. Yolken, R. (1999). *Manual of clinical microbiology*. 6 ed. ASM Press, Washington D. C., USA. 1773 p.

Naik, M. M., Dubey, S. K. (2013). Lead resistant bacteria: lead resistance mechanisms, their applications in lead bioremediation and biomonitoring. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 98: 1-7.

Najafpour, G., Yieng, H., Younesi, H., Zinatizadeh A. (2005). Effect of organic loading on performance of rotating biological contactors using palm oil mill effluents. *Process Biochemistry*. 40(8): 2879-2884.

Nowak, O. (2000). Upgrading of wastewater treatment plants equipped with rotating biological contactors to nitrification and P removal. *Water Science and Technology*. 41: 145-153.

Okabe, S., Hiratia, K., Ozawa, Y., Watanabe, Y. (1996). Spatial microbial distributions of nitrifiers and heterotrophs in mixed-population biofilms. *Biotechnology and Bioengineering*. 50(1): 24-35.

Páez-Osuna, F., Frías-Espericueta, M. (2001). Bioacumulación, distribución y efectos de los metales pesados en los peneidos. En: F., Páez (Ed.): *Camaronicultura y medio ambiente*. Universidad de Texas. Austin, USA. p.p. 244-270.

Panigatti, M., Griffa, C., Boglione, R., Gentinetta, F., Cassina, D. (2012). Uso de *Escherichia coli* para biorremediación de efluentes contaminados por cromo (VI). *Av. Cien. Ing.* 3(2): 11-24.

Pérez, J. (2010). Aplicación y evaluación de un reactor de contactores biológicos rotativos (RBC o biodiscos) a escala laboratorio como tratamiento de los lixiviados generados en el relleno sanitario de la pradera. Tesis de Maestría. Universidad de Medellín. Colombia. 185 p.

Ramírez, B., Hidalgo, A., Ordinola, A., Vieyra, E., Palacios, P., Ordinola, J. (2016). Eficiencia de cepas bacterianas aisladas del manglar para biorremediar suelos contaminados con petróleo. *Revista Química Viva*. 15(1): 20-30.

Reynolds, J. (2002). *Laboratory procedures manual*. Richland College. Dallas, USA. 87 p.

- Rodríguez, G. (2000). *El sistema de Maracaibo, biología y ambiente*. 2 ed. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). Caracas. 241 p.
- Salazar-Lugo, R. (2009). Estado de conocimiento de las concentraciones de cadmio, mercurio y plomo en organismos acuáticos de Venezuela. *Revista Electrónica de Veterinaria*. 10(11). Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111109/110909.pdf>
- Santos, A., Alonso, E., Riesco, P. (2005). Influence of cadmium on the performance of an activated SBR sludge treatment. *Environmental Technology*. 26(2): 127-134.
- Srinath, T., Verma, T., Ramteke, P., Garg, S. (2002). Chromium (VI) biosorption and bioaccumulation by chromate resistant bacteria. *Chemosphere*. 48: 427-435.
- Taseli, B., Gökçay, C., Gürol, A. (2008). Influence of nickel (II) and chromium (VI) on the laboratory scale rotating biological contactor. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 35: 1033-1039.
- Tawfik, A., Temmink, H., Zeeman, G., Klapwijk, B. (2006). Sewage treatment in a rotating biological contactor (RBC) system. *Water, Air, and Soil Pollution*. 175: 275-289.
- Teitzel, G., Parsek, M. (2003). Heavy metal resistance of biofilm and planktonic *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(4): 2313-2320.
- Tyagi, R., Tran, F., Chowdhury, A. (1993). Biodegradation of petroleum refinery wastewater in a modified rotating biological contactor with polyurethane foam attached to the disks. *Water Research*. 27(1): 91-99.
- Vullo, D. (2003). Microorganismos y metales pesados: una interacción en beneficio del medio ambiente. *Revista Química Viva*. 2(3): 93-104.
- Welter, A., Romero, J., Grumelli, Y., Sánchez, J., Ascar, G. (2004). La biopelícula en los procesos RBC. AIDIS. Fecha de consulta: 10-04-2018. Disponible en: <http://www.bvsaidis/argentina14/welter.pdf>.

Normas para la presentación de trabajos

1. Principios de la Revista

La REVISTA DE LA UNIVERSIDAD DEL ZULIA es un órgano científico de difusión de trabajos parciales o definitivos de investigadores y/o equipos de investigación nacionales y extranjeros. Su naturaleza es multidisciplinaria e interdisciplinaria, por ello su temática se divide en tres grandes ejes: a. *ciencias sociales y arte*; b. *ciencias del agro, ingeniería y tecnología*; c. *ciencias exactas, naturales y de la salud*. Su publicación es cuatrimestral. Cada número, de los tres del año, se corresponde con uno de los tres ejes temáticos. La *Revista de la Universidad del Zulia*, por su carácter histórico y patrimonial, está adscrita a la CÁTEDRA LIBRE HISTORIA DE LA UNIVERSIDAD DEL ZULIA.

2. Métodos de Envío y de Evaluación de los Trabajos

Los autores interesados en publicar su trabajo en la *Revista de la Universidad del Zulia* deberán remitir tres copias del mismo sin identificación en sobre cerrado a la siguiente dirección: Avenida Guajira, Fundadesarrollo, planta baja de la Sede Rectoral de La Universidad del Zulia. Este sobre debe estar acompañado de otro, el cual contendrá el original del trabajo con la identificación del autor o autores, indicando: nombre, apellido, institución que representa (universidad, instituto, centro de investigación, fundación), correo electrónico. Así mismo en este sobre se presentará una comunicación escrita firmada por todos los autores y dirigida al Director de la Revista. En esta comunicación se manifestará el interés de los autores de proponer su trabajo para la publicación en la *Revista de la Universidad del Zulia*, previa evaluación del Comité de Arbitraje. Se agregará también a este sobre una síntesis curricular de cada autor con una extensión no mayor de diez (10) líneas. Los artículos pueden agregarse a la plataforma OJS de la revista. También se podrá presentar el trabajo dirigiéndolo al siguiente correo electrónico: revistadeluz@gmail.com. El currículo de los autores se enviará en archivo adjunto, distinto al que contendrá el trabajo. Los artículos propuestos para esta revista deben ser inéditos y no deben haber sido propuestos simultáneamente a otras publicaciones. Todos los trabajos serán evaluados por parte de un Comité de Árbitros-Especialistas de reconocido prestigio, seleccionado por el Comité Editorial de la Revista. La evaluación de los Árbitros se realizará mediante el procedimiento conocido como par de ciegos: los árbitros y los autores no conocerán sus identidades respectivas. Los criterios de Evaluación son los siguientes: a. Criterios formales o de presentación: 1) originalidad, pertinencia y adecuada extensión del título; 2) claridad y coherencia del discurso; 3) adecuada elaboración del resumen; 4) organización interna del texto; 5) todos los demás criterios establecidos en la presente normativa. b. Criterios de contenido: 1) dominio de conocimiento evidenciado; 2) rigurosidad científica; 3) fundamentación teórica y metodológica; 4) actualidad y relevancia de las fuentes consultadas; 5) aportes al conocimiento

existente. Al recibirse la respuesta del Comité de Árbitros designado se informará a los autores por correo electrónico la decisión correspondiente; en caso de ser aceptado el trabajo deberá remitirse por correo electrónico la versión digital del mismo.

3. Presentación de los trabajos

Los trabajos deben presentar un resumen de 150 palabras como máximo y hasta cinco palabras claves; tanto el resumen como las palabras claves estarán en español e inglés. Igualmente el título y el subtítulo del trabajo serán presentados también en español e inglés. La extensión máxima del trabajo será de veinte (20) páginas, y diez (10) como extensión mínima (salvo excepciones plenamente justificadas). Todos los trabajos serán presentados en hoja tipo carta, impresos por una sola cara, con numeración continua y con márgenes de tres (3) centímetros a cada lado. El texto se presentará a espacio y medio, en fuente Times New Roman, tamaño 12.

4. Cuerpo del artículo

Se dividirá en Introducción, Desarrollo y Conclusiones (o Consideraciones Finales, según sea el caso). La introducción incluirá el propósito u objetivo general perseguido. El Desarrollo se organizará en secciones y subsecciones debidamente identificadas con subtítulos numerados completamente en arábigos de acuerdo al sistema decimal, respondiendo a una sucesión continua y utilizando un punto para separar los niveles de división. La Introducción y Conclusión están exceptuadas de esta numeración. Las fechas y horas se expresarán numéricamente. En caso de existir ilustraciones (gráficos, mapas, fotos) debe hacerse referencia a los mismos en el texto. Estas ilustraciones serán contadas dentro de la extensión máxima del artículo. Las notas explicativas o aclaratorias deben reducirse al mínimo necesario y colocarse al pie de páginas debidamente señalizadas. Los materiales complementarios se recogerán en anexos, los cuales se identificarán con una letra y un título y se colocarán después de la bibliografía. Los anexos serán contados también dentro de la extensión máxima del artículo.

5. Citado

El citado se realizará en el texto utilizando la modalidad autor -fecha, establecido en el *Reglamento para la presentación de trabajos en la Universidad del Zulia*, indicando, en caso de ser cita textual, apellido(s) del autor, seguido de coma, año de publicación de la obra, seguido de dos puntos y el (los) número(s) de la(s) página(s), por ejemplo: de acuerdo a Rincón (1998: 45) o (Rincón, 1998: 45); si no es cita textual sino una paráfrasis no se indicará el número de página, ejemplo: de acuerdo a Rincón (1998) o (Rincón, 1998). Si hay varias obras del mismo autor publicadas en el mismo año, se ordenarán literalmente en orden alfabético; por ejemplo, (Rincón, 2008a: 12), (Rincón, 2008b: 24). Si son dos autores, se colocarán solamente el primer apellido de cada uno, por ejemplo: Según Morales y Fleires (2008: 90) o (Morales y Fleires, 2008: 90), siguiendo el mismo criterio explicado anteriormente para las citas textuales y las paráfrasis. En caso de ser tres autores o más se colocará el apellido del autor principal

seguido de “et al”, ejemplo: (Rincón *et al.*, 2008: 45). Deben evitarse, en lo posible, citas de trabajos no publicados o en imprenta, también referencias a comunicaciones y documentos privados de difusión limitada, a no ser que sea estrictamente necesario. En caso de fuentes documentales, electrónicas u otras que por su naturaleza resulten inviables o complejas para la adopción del citado autor-fecha, sugerido en estas normas, puede recurrirse u optarse por el citado al pie de página.

6. Referencias bibliográficas

Las referencias (bibliográficas, hemerográficas, orales y/o documentales) se presentarán al final del texto, según lo establecido en el *Reglamento para la presentación de trabajos en la Universidad del Zulia*. El orden de las referencias es alfabético por apellido. Las diferentes obras de un mismo autor se organizarán cronológicamente, en orden ascendente, y si son dos obras o más de un mismo autor y año, se mantendrá el estricto orden alfabético por título.

Fecha de evaluación _____

Instrumento de Evaluación del Árbitro

I.- Criterios formales o de presentación

CRITERIOS DE EVALUACIÓN	EXCELENTE	MUY BUENO	BUENO	REGULAR	DEFICIENTE OBSERVACIONES
Originalidad, pertinencia y adecuada					
Extensión del título					
Claridad y coherencia del discurso					
Adecuada elaboración del resumen					
Contiene abstract y palabras claves					
Objetivo, metodología y resultados.					
Organización interna del texto					

II. - Criterios de contenido

CRITERIOS DE EVALUACIÓN	EXCELENTE	MUY BUENO	BUENO	REGULAR	DEFICIENTE OBSERVACIONES
Dominio de conocimiento evidenciado					
Rigurosidad científica					
Fundamentación teórica y metodológica					
Actualidad y relevancia de las fuentes consultadas					
Aportes al conocimiento existente					

III. - Sugerencia de publicación

De acuerdo a la información obtenida usted recomendaría (favor marcar con una X):

Publicar sin modificaciones: _____ Publicar con ligeras modificaciones _____
Publicar con modificaciones sustanciales _____ No publicar _____

Fundamentación de la decisión:



REVISTA DE LA UNIVERSIDAD DEL ZULIA
FUNDADA EN 1947

PATRIMONIO DE LA
UNIVERSIDAD DEL ZULIA
FUNDADA EN 1891
MARACAIBO-VENEZUELA

Contenido

- 1 Reyber Parra Contreras
Presentación
- 3 Muhammad Asif Khan, Ramiz ur Rehman, Muhammad Akram Naseem y Majed Alharthi
Two sides of the coin (Agents or stewards) /// Dos caras de la moneda (Agentes o administradores)
- 37 Dídimo Mendoza, Fanny Rodríguez, Edisson Cuenca, Rubén Rivera, , Bernardo Navarrete y Ernesto Cañarte
Efecto de cuatro láminas de riego y *Meloidogyne* spp. sobre características agronómicas y de rendimiento de tomate de mesa *Solanum lycopersicum* L. /// Effect of four irrigation regimes and *Meloidogyne* spp. upon agronomic and yield features of table tomato *Solanum lycopersicum* L.
- 58 Yoleidy Escalona, María E. Sanabria, Dorian Rodríguez y Nelson Rincón
Prevalencia de patógenos bacterianos en cultivos hortícolas a cielo abierto del municipio Jiménez, Estado Lara y evaluación de control alternativo mediante uso de extracto etanólico de *Lippia organoides* /// Bacterial pathogens in vegetable crops of the municipality Jiménez, Lara State and evaluating alternative control through implementation of ethanolic extracts of *Lippia organoides*.
- 82 T. R. Ahmadov
Method of determining the location of the pinch point using seismic survey in some areas of the Absheron Peninsula /// Método para determinar la ubicación del punto pinch utilizando la encuesta sísmica en algunas áreas de la Península de Absheron.
- 98 T. R. Ahmadov
Oil and gas perspectives of pliocene-miocene in South-East of Absheron Peninsula based on latest 3D data /// Perspectivas de petróleo y gas del plioceno-mioceno en el Sureste de la Península de Absheron según los últimos datos en 3D.
- 113 Julio César Marín, Karelis Fernández, Elisabeth Behling, Sedolfo Carrasquero y Nancy Angulo
Características de la biopelícula de un reactor RBC en presencia y ausencia de metales pesados /// Biofilm characteristics of a RBC reactor in presence and absence of heavy metals.

