

# Resultados preliminares del efecto del riego deficitario durante el periodo de crecimiento rápido del fruto de pera (var. Triunfo de Viena) en la producción y calidad del fruto

Preliminary results of the effect of deficit irrigation during the rapid growth of the pear fruit on production and quality of Triunfo de Viena variety

MARÍA JAQUELINE MOLINA-OCHOA<sup>1</sup>  
JAVIER ENRIQUE VÉLEZ-SÁNCHEZ<sup>1, 3</sup>  
ALEJANDRO GALINDO-EGEA<sup>2</sup>

Fruto de pera 'Triunfo de Viena' en Sesquilé (Cundinamarca, Colombia).

Foto: M.J. Molina-Ochoa



## RESUMEN

El objetivo de este trabajo se centró en estudiar la respuesta del peral (var. Triunfo de Viena) al riego deficitario durante la fase de crecimiento rápido del fruto. Para ello, durante la campaña 2011-2012, en una plantación de árboles adultos se aplicaron tres tratamientos de riego localizado. El tratamiento control (T0) se regó al 100% de la ETc durante toda la temporada, el T1 se regó como el control, excepto durante el periodo de crecimiento rápido del fruto, en el que se regó al 67% de la ETc, y el T2 que se regó al 100% de la ETc durante toda la temporada, excepto durante el mismo periodo que el T1 en el que se regó al 55% de la ETc. Los resultados preliminares obtenidos mostraron cómo, a pesar de la necesidad de su confirmación en ensayos posteriores, las condiciones ecuatoriales colombianas pueden permitir ahorros de agua de hasta un 30% durante la fase de rápido crecimiento del fruto, coincidente con el periodo de máxima demanda evaporativa, sin afectar la producción ni las características físicas ni químicas de los frutos.

**Palabras clave adicionales:** *Pyrus communis*, evapotranspiración potencial, ahorro de agua.

<sup>1</sup> Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Civil e Ingeniería Agrícola, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá (Colombia).

<sup>2</sup> Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS-CSIC), Murcia (España).

<sup>3</sup> Autor para correspondencia. [jevelezs@unal.edu.co](mailto:jevelezs@unal.edu.co)

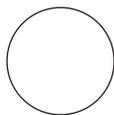
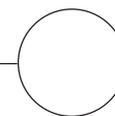
## ABSTRACT

The objective of this research focused on studying the response of the pear (var. Triunfo de Viena) to deficit irrigation during the rapid growth phase of the fruits. Accordingly, for 2011-2012, three irrigation treatments were applied to plantation-grown trees. The control treatment (T0) was irrigated at 100% ETc throughout the season, T1 was irrigated like the control except during the period of rapid fruit growth when 67% ETc was used, and T2 was irrigated at 100% ETc throughout the season except during the rapid growth period when the trees were irrigated at 55% ETc. Preliminary results showed how, despite the need for confirmation in subsequent trials, Colombian equatorial conditions may allow water savings of up to 30% during the rapid fruit growth phase, coinciding with the period of maximum evaporative demand, without affecting production or the physical or chemical characteristics of the fruits.

**Additional key words:** *Pyrus communis*, potential evapotranspiration, water savings.

Fecha de recepción: 18-12-2014

Aprobado para publicación: 28-05-2015



## INTRODUCCIÓN

El riego en frutales es esencial para complementar los aportes de la lluvia y cubrir los requerimientos hídricos del cultivo. Debido a las ventajas que presenta el consumo de frutas frescas y específicamente del pera, por sus propiedades medicinales (Tanrıöven y Ekşi, 2005; Li *et al.*, 2014), la producción a nivel mundial se han incrementado de 2008 a 2013 de 19 a 22 millones de toneladas anuales (USDA, 2011).

El cambio climático, su variabilidad y el consumo creciente de agua han obligado a los científicos y productores a establecer mejoras en programas y métodos de aplicación del agua con el propósito de optimizar su utilización y conseguir ahorros considerables. La disminución de la aplicación de agua en un determinado estado de la planta y una buena gestión de los sistemas de riego ha permitido aumentar la eficiencia de utilización.

El consumo de agua en la agricultura representa cerca del 87% del total mundial y su demanda va en aumento (FAO, 2011). El agotamiento de los recursos hídricos, las sequías, los altos costos del agua y la energía, y la globalización de los merca-

dos, exigen mejoras en el aprovechamiento y utilización de los equipos de riego (Vélez-Sánchez *et al.*, 2013).

El concepto de riego deficitario controlado (RDC) parte de la idea de reducir los aportes de agua en aquellas fases fenológicas en las que el cultivo es menos sensible al estrés hídrico, y regar adecuadamente en los periodos críticos (Sánchez-Blanco y Torrecillas, 1995). Algunos investigadores han estudiado esta estrategia de riego deficitario en pera en condiciones no tropicales, reduciendo los aportes de agua tanto durante la primera etapa de desarrollo del fruto (Chalmers *et al.*, 1986; Marsal *et al.*, 2002; Wu *et al.*, 2013) como después de la cosecha (Naor, 2006; Marsal *et al.*, 2002, 2012), con lo que se obtienen considerables ahorros de agua sin afectar la producción ni la calidad de la fruta.

En las condiciones del trópico colombiano, la pluviometría es relativamente alta durante la mayoría del ciclo de cultivo del pera, excepto en los meses de enero y febrero de acuerdo con el comportamiento bimodal de la zona, en los que

acontece la fase de rápido crecimiento del fruto. Por tanto, puede resultar muy interesante estudiar si se pueden reducir los aportes hídricos al cultivo en ese periodo en el que la demanda de agua es máxima.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó desde octubre de 2011 hasta abril de 2012, en la hacienda “San Benito”, vereda Boitivá, municipio de Sesquilé, departamento de Cundinamarca, Colombia, a 60 km de Bogotá (5°2' N, 73°48' W), a 2.595 msnm. La parcela experimental tiene una superficie aproximada de 0,32 ha y en 1998 se realizó una plantación de peral (*Pyrus communis*) var. Triunfo de Viena, un fruto de piel café claro con fondo amarillo (Campos, 2013), plantados al marco de 4 × 4 m. Al inicio del ensayo los árboles presentaron una superficie sombreada medida del 43%.

El suelo típico de la zona, es de textura franco arcillosa. La humedad volumétrica de capacidad de campo y el punto de marchitez permanente son del 26,9 y 15,3%, respectivamente. Los niveles de materia orgánica, potasio y fósforo son del 5,06%, 78,2 mg kg<sup>-1</sup> y 23,9 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente, y el pH fue de 4,6. El agua de riego utilizada presentó un pH de 5,9 y una conductividad eléctrica de 2 dS m<sup>-1</sup> (20°C).

Los datos climáticos se obtuvieron de una estación meteorológica portátil WS-GP1 (marca AT delta-T Devices, Cambridge, UK) instalada en las cercanías de la parcela. La determinación de la lámina de riego para el tratamiento control (ETc), se hizo a partir de la evapotranspiración del cultivo de referencia (ETo), calculada mediante la ecuación de Penman-Monteith, y el correspondiente coeficiente de cultivo (Kc) (Allen *et al.*, 1998).

En la temporada 2011-2012 se aplicaron tres tratamientos de riego con las siguientes características:

- T0: tratamiento control regado durante todo el año al 100% de la ETc.
- T1: tratamiento regado con una lámina fija correspondiente al 67% del control, durante el periodo del 28 de diciembre al 29 de febrero, coincidiendo con la fase de crecimiento rápido del fruto.
- T2: tratamiento regado con una lámina fija correspondiente al 55% del control, durante el mismo periodo del T2.

Los árboles se regaron con un sistema de riego localizado, con dos tuberías por hilera de árboles y seis goteros de 8 L h<sup>-1</sup> por planta. El agua aplicada se midió mediante contadores volumétricos (calibre 13 mm). La frecuencia de riego fue de 2-3 veces por semana. Otras prácticas culturales fueron las habituales para el cultivo en la zona.

### Medida del estado hídrico del suelo y de la planta

El potencial matricial de agua en el suelo  $\Psi_{\text{suelo}}$  fue determinado con medidor Watermark (Riverside, CA) con 10, 13 y 13 sensores de matriz granular (Watermark modelo 200SS-5) en los tratamientos T0, T1 y T2, respectivamente, instalados a 30 cm de profundidad y separados 25 cm perpendicularmente de la línea de goteo.

El estado hídrico de la planta se evaluó mediante medidas del potencial del tallo ( $\Psi_{\text{tallo}}$ ). Este se midió al mediodía solar en hojas cubiertas dos horas antes con bolsas de plástico de cierre hermético recubiertas de papel de aluminio con una cámara de presión de Scholander mod. 600 (Soil Moisture Equipment Corp., Goleta, CA) de acuerdo con el procedimiento descrito por Scholander *et al.* (1965) y siguiendo las precauciones descritas por Turner (1981). Se utilizaron tres hojas por árbol, de dos árboles por tratamiento, situadas en el tercio inferior del lado norte. Las determinaciones se realizaron desde el inicio del riego deficitario y con una periodicidad de 15 días.

## Producción y características de los frutos

La fruta se recolectó en cada uno de los árboles de las parcelas utilizadas en el ensayo cuando la mayoría de los frutos habían alcanzado un tamaño comercial, y se procedió a determinar la distribución por calibres. En muestras de 20 frutos por repetición se determinaron las características químicas y físicas de los mismos.

La evaluación del color se realizó con un equipo Chromameter CR400 Konica Minolta (Tokyo), expresando los resultados en el sistema  $CIE L^*, a^*, b^*$ . El índice de color (IC) se calculó de acuerdo con Vignoni *et al.* (2006) como  $IC = 1000 \times a^*/L^* \times b^*$ .

El volumen de los frutos se estimó por inmersión en agua, midiendo el volumen desplazado, y la esfericidad se calculó como el cociente entre el diámetro de una esfera de igual volumen al del fruto y el diámetro del fruto (Mohsenin, 1986).

La resistencia a la penetración se midió en dos lugares opuestos de la zona ecuatorial del fruto, con un medidor de textura de Brookfield Engineering Labs. (Middleboro, MA) con el *software* Texture-Pro CT V1.2 Build 9, a una velocidad de prueba de  $1,5 \text{ mm s}^{-1}$  y una punta de 2 mm.

Los sólidos solubles totales (SST, °Brix) se midieron con un refractómetro digital portátil, modelo DR201-95 (A. Krüss Optronic, Hamburgo, Germany), con un rango de medida de 0 – 95% y una precisión de  $\pm 0,2\%$ . La acidez valorable (AV) se midió mediante valoración ácido-base, expresando los resultados como gramos de ácido málico por litro de zumo. El índice de madurez (IM) se estimó como  $IM = 10 \times SST/AV$ .

## Diseño experimental y análisis estadístico

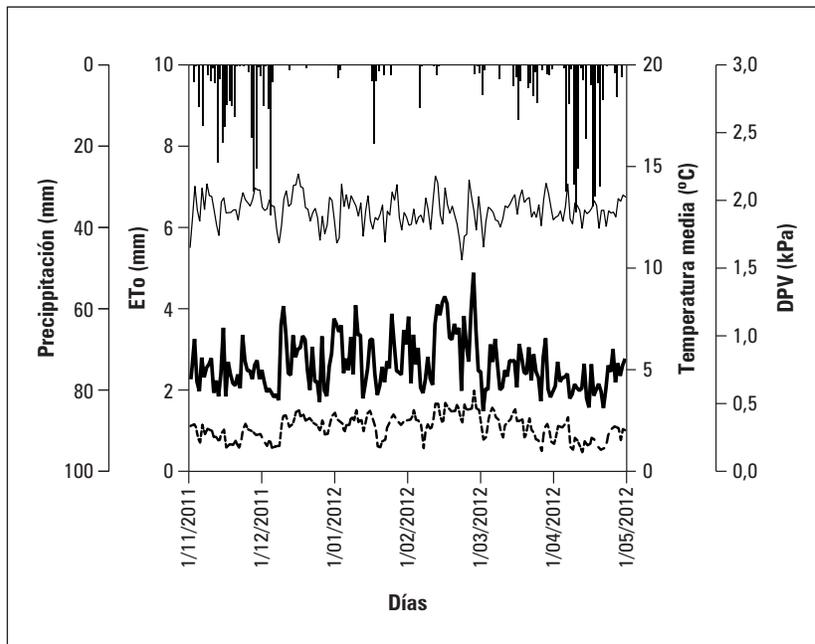
El diseño experimental utilizado fue de bloques completos al azar, con cuatro repeticiones por tratamiento. La parcela elemental estuvo formada por 22 filas de seis a nueve árboles cada una.

El análisis de los datos obtenidos se realizó mediante el programa IBM SPSS statistics 20 (IBM Corporation, 2011), con análisis de varianza (Anova) y pruebas de comparación de medias de Duncan, con un nivel de significancia del 5%.

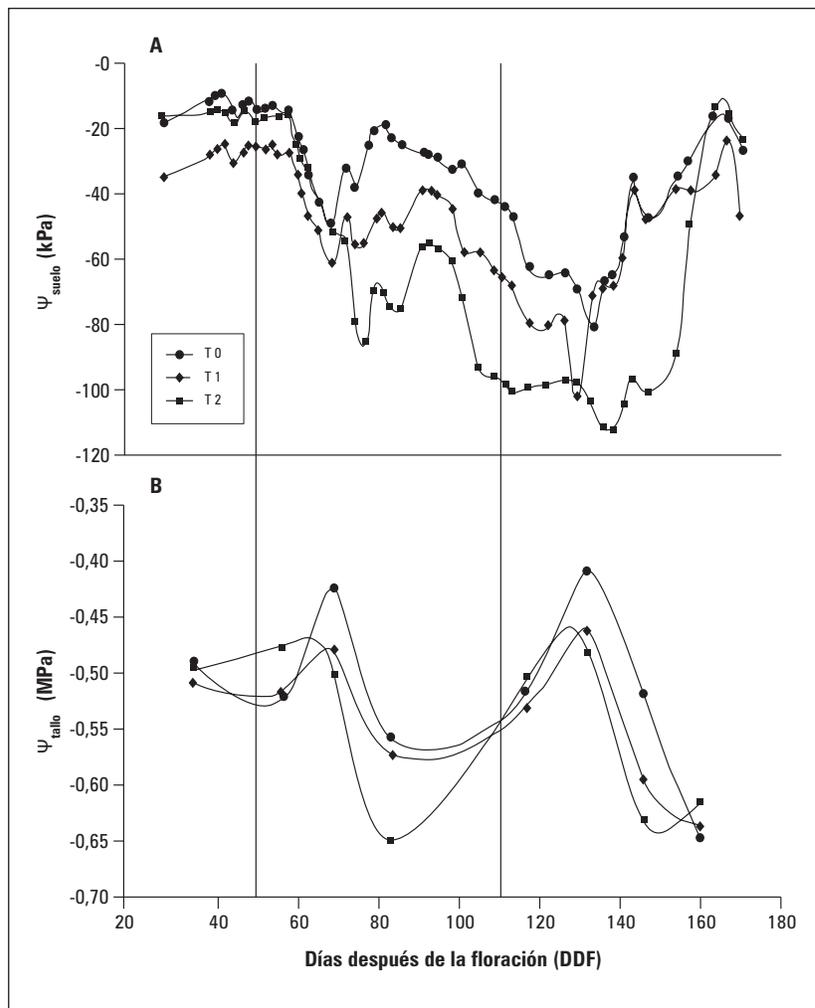
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el periodo de restricción del riego la precipitación total fue de 53,8 mm, la ETo 2,84  $\text{mm dia}^{-1}$  en enero y 3,17  $\text{mm dia}^{-1}$  en febrero y el agua aplicada mediante el riego de 42,9; 28,8 y 23,6 mm, para los tratamientos T0, T1 y T2, respectivamente, coincidiendo con la mayor temperatura del periodo 14,5°C y menor DPV 0,125 kPa (figura 1). Las reducciones de riego representaron un ahorro de agua en el periodo de restricción de un 33 y 45% para los tratamientos T2 y T3, respectivamente.

Tanto al inicio como al final del ensayo, los valores de  $\Psi_{\text{suelo}}$  no presentaron diferencias importantes entre los tres tratamientos, pero desde mediados del periodo de reducción del riego hasta unos 30 d después, los valores de  $\Psi_{\text{suelo}}$  en el T0 fueron los más altos y en el T2 los más bajos, mientras que los valores de  $\Psi_{\text{suelo}}$  en el T1 fueron intermedios (figura 2A). En este sentido, cabe pensar que el *stock* de agua en el suelo procedente de la precipitación efectiva de noviembre y diciembre correspondiente a 203,6 mm, impidió la existencia de diferencias entre tratamientos hasta mediados del periodo de reducción del riego (figura 2A). Sin embargo, resulta difícil explicar por qué tras la reanudación del riego al 100% de la ETc en los tratamientos T1 y T2 la recuperación de los valores de  $\Psi_{\text{suelo}}$  fue muy lenta, mientras que el estado hídrico del cultivo ( $\Psi_{\text{tallo}}$ ) se recuperó de forma muy rápida (figura 2B). Este hecho demuestra que la evolución de los valores de  $\Psi_{\text{suelo}}$  mostró un comportamiento no muy acorde con los aportes de agua de riego. En este sentido, Arenas-Bautista *et al.* (2012) en el mismo suelo encontraron una clara relación entre el riego y los niveles de  $\Psi_{\text{suelo}}$ , mientras que



**Figura 1.** Evapotranspiración potencial del cultivo (ETc, línea gruesa continua), temperatura media del aire ( $T_m$ , línea delgada continua), déficit de presión de vapor medio diario ( $DPV_m$ ) (línea punteada) y precipitación diaria (barras verticales) durante el periodo experimental.



**Figura 2.** Evolución del potencial hídrico del suelo ( $\Psi_{\text{suelo}}$ , A) y del tallo ( $\Psi_{\text{tallo}}$ , B) en los tratamientos T0 (círculos rellenos; control, 100% de ETc), T1 (rombos; lámina de agua fija, 67% del control) y T2 (cuadrados; lámina de agua fija, 55% del control). Los valores corresponden a las medias de dos y tres hojas por árbol en ocho árboles por tratamiento.

Vélez *et al.* (2011) en un suelo de textura franco-arcillo-arenosa no encontraron esta relación.

Por otra parte, cabe destacar que los valores de  $\Psi_{\text{tallo}}$  fueron muy altos en los tres tratamientos de riego durante toda la temporada, como lo prueba el hecho de que los niveles mínimos de  $\Psi_{\text{tallo}}$  observados en el tratamiento T2, fuesen del orden de -0,65 MPa a los 33 d de riego deficitario, por lo que no cabe pensar en ninguna situación de déficit hídrico en los tratamientos T1 y T2 (figura 2B). Además, los valores de  $\Psi_{\text{tallo}}$  se situaron dentro del rango (-0,5 a -1,5 MPa) indicado por De Swaef *et al.* (2009) para la mayoría de los frutales, y muy superior a los encontrados por Marsal *et al.* (2012) (-1,2 MPa, en peral 'Confidencia') y Naor (2006) (-2,2 MPa, en peral 'Spadona') para afectar la producción de este frutal.

En relación a la producción obtenida en los perales de los tres tratamientos de riego, cabe destacar que fue extremadamente baja a pesar de las excelentes condiciones culturales de la parcela experimental, aunque el 75% de los frutos alcanzó un tamaño comercial (categorías II y III) (tabla 1). La baja producción es claramente atribuible a la importante alternancia productiva de la variedad objeto de estudio en esas condiciones edafoclimáticas ya que en otras ocasiones

se han alcanzado producciones mucho más altas (Arenas-Bautista *et al.*, 2012). El hecho de que los frutos no hayan alcanzado el tamaño usual en esta variedad de Colombia (Parra *et al.*, 2006) se debió esencialmente a una estrategia comercial, ya que tan pronto se alcanza un tamaño comercializable se tiende a vender por la competencia con los perales de otras zonas del país. Por otra parte, cabe resaltar que los frutos presentaron un color amarillo verdoso atractivo, una forma más esférica que en otras variedades de peral y una firmeza algo elevada (Parra *et al.*, 2006; Arenas-Bautista *et al.*, 2102). Tal y como era de esperarse, la falta de diferencias en el estado hídrico de las plantas indujo, también, frutos con idénticas características químicas y físicas (IC, volumen, densidad, esfericidad, firmeza, °Brix, acidez) definidas por unos niveles de SST algo bajos, pero un índice de madurez adecuado (tabla 2) (Parra *et al.*, 2006; Mpelasoka *et al.*, 2001).

## CONCLUSIONES

A la vista del conjunto de los resultados, y a pesar de la necesidad de su confirmación en ensayos posteriores durante varios años, cabe pensar que las condiciones tropicales colombianas pueden permitir reducir el riego durante la fase de

**Tabla 1. Parámetros de producción en los tratamientos T0, T1 y T2 (T0 = control, 100% de ETc), T1 = lámina de agua fija, 67% del control) y T2 = lámina de agua fija, 55% del control).**

Parámetro	Tratamientos		
	T0	T1	T2
Producción (kg/árbol)	4,6 a	4,4 a	4,6 a
Peso medio del fruto (g)	147 a	142 a	141 a
% Producción de frutos de categoría I (< 61 mm)	25 a	22 a	24 a
% Producción de frutos de categoría II (61-68 mm)	56 a	61 a	52 a
% Producción de frutos de categoría III (> 68 mm)	19 a	17 a	24 a

Promedios con letras distintas, dentro de una misma fila, indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ( $P \leq 0,05$ ).

**Tabla 2. Efecto de los tratamientos de riego T0 (control, 100% de ETc), T1 (lámina de agua fija, 67% del control) y T2 (lámina de agua fija, 55% del control) sobre la luminosidad (CIE  $L^*$ ), rojo/verdoso (CIE  $a^*$ ), azul/amarillento (CIE  $b^*$ ), índice de color (IC), volumen, densidad, esfericidad, firmeza del endocarpio y mesocarpio, sólidos solubles totales (SST), acidez valorable (AV) e índice de madurez (SST/AV).**

Parámetro	Tratamientos		
	T0	T1	T2
$L^*$	54,1 a	53,7 a	53,5 a
$a^*$	0,16 a	-0,67 a	-0,78 a
$b^*$	33,4 a	33,7 a	33,9 a
IC	0,25 a	-0,32 a	-0,41 a
Volumen (cm <sup>3</sup> )	180 a	169 a	176 a
Densidad (g cm <sup>-3</sup> )	1,02 a	1,01 a	1,03 a
Esfericidad	0,95 a	0,97 a	0,97 a
Firmeza endocarpio (N)	13,9 a	13,5 a	13,6 a
Firmeza mesocarpio (N)	7,5 a	7,2 a	7,4 a
SST (°Brix)	8,6 a	8,4 a	8,7 a
Acidez valorable (ácido málico g L <sup>-1</sup> )	0,17 a	0,16 a	0,17 a
SST/AV	61,5 a	64,9 a	61,7 a

Promedios con letras distintas, dentro de una misma fila, indican diferencia significativa según la prueba de Duncan ( $P \leq 0,05$ ).

rápido crecimiento del fruto, coincidente con el periodo de máxima demanda evaporativa, sin impactar la producción ni la calidad del fruto. Evidentemente, estos estudios precisarán complementarse con otras estrategias de RDC en las que se reduzca el riego en las fases fenológicas no críticas para la producción.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la empresa Acqua Irrigación Ltda. y la Universidad Nacional de Colombia, proyecto Hermes 20719. El tercer autor es beneficiario de una beca FPU del gobierno de España.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allen, R.G., L.S. Pereira, D. Raes, y M. Smith. 1998. Crop evapotranspiration, guidelines for computing crop water requirements. Irrigation and Drainage Paper 56. FAO, Roma.
- Arenas-Bautista, M.C., J.E. Vélez y J.H. Camacho. 2012. Evaluación de dos sistemas de riego por goteo en la producción y la calidad de la fruta de pera (*Pyrus communis* L.) variedad Triunfo de Viena. Acta Agron. 61, 1-9.
- Campos, T. 2013. Especies y variedades de hoja caduca en Colombia. pp. 47-65. En: Miranda, D., G. Fischer y C. Carranza (eds.). Los frutales caducifolios en

- Colombia. Situación actual, sistemas de cultivo y plan de desarrollo. Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas, Bogotá.
- Chalmers, D.J., G. Burge, P.H. Jerie y P.D. Mitchell. 1986. The mechanism of regulation of 'Barlett' pear fruit and vegetative growth by irrigation withholding and regulated deficit irrigation. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 111, 904-907.
- De Swaef, T., K. Steppe y R. Lemeur. 2009. Determining reference values for stem water potential and maximum daily trunk shrinkage in young apple trees based on plant responses to water deficit. *Agr. Water Manage.* 96, 541-550. Doi: 10.1016/j.agwat.2008.09.013
- FAO. 2011. The state of food insecurity in the world. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma.
- Li, X., T. Wang, B. Zhou, W. Gao, J. Cao y L. Huang. 2014. Chemical composition and antioxidant and anti-inflammatory potential of peels and flesh from 10 different pear varieties (*Pyrus* spp.). *Food Chem.* 152, 531-538. Doi: 10.1016/j.foodchem.2013.12.010
- Marsal, J., G. López, M. Mata y J. Girona. 2012. Postharvest deficit irrigation in 'Conference' pear: Effects on subsequent yield and fruit quality. *Agr. Water Manage.* 103, 1-7. Doi: 10.1016/j.agwat.2011.10.012
- Marsal, J., M. Mata, A. Arbone's, J. Rufat y J. Girona. 2002. Regulated deficit irrigation and rectification of irrigation scheduling in young pear trees: an evaluation based on vegetative and productive response. *Eur. J. Agron.* 17, 111-122. Doi:10.1016/S1161-0301(02)00002-3
- Mohsenin, N.N. 1986. Physical properties of plant and animal materials. Vol. 1. Gordon and Breach Science Publisher, New York, NY.
- Mpelasoka, B., H. Behboudian y S. Ganesh. 2001. Fruit quality attributes and their interrelationship of 'Braeburn' apple in response to deficit irrigation and to crop load. *Gartenbauwiss.* 66(5), 247-253.
- Naor, A. 2006. Irrigation scheduling and evaluation of tree water status in deciduous orchards. *Hort. Rev.* 32, 111-165. Doi: 10.1002/9780470767986.ch3
- Parra, A., E. Hernández y J. Camacho. 2006. Comportamiento fisiológico de la pera variedad Triunfo de Viena (*Pyrus communis* L.) durante el periodo de poscosecha. *Rev. Bras. Frutic.* 28, 46-50. Doi: 10.1590/S0100-29452006000100015
- Sánchez-Blanco, M.J. y A. Torrecillas. 1995. Aspectos relacionados con la utilización de estrategias de riego deficitario controlado en cultivos leñosos. Riego deficitario controlado. Fundamentos y aplicaciones. Ed. Mundi-Prensa, Madrid. pp. 43-66.
- Scholander, P.F., H.T. Hammel, E.D. Bradstreet y E.A. Hemmingsen. 1965. Sap pressure in vascular plants. *Sci.* 184, 339-346.
- Tanrıöven, D. y A. Ekşi. 2005. Phenolic compounds in pear juice from different cultivars. *Food Chem.* 93(1), 89-93. Doi: 10.1016/j.foodchem.2004.09.009
- Turner, N.C. 1981. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant Soil.* 58, 339-336. Doi: 10.1007/BF02180062
- USDA. 2011. Report No. 114 from the economic Research service/USDA. United States Department of Agriculture, Washington DC.
- Vélez-Sánchez, J.E., J.H. Camacho-Tamayo y J.G. Álvarez-Herrera. 2013. Evaluación de goteros utilizados en micro irrigación en Colombia. *Rev. Colomb. Cienc. Hortic.* 7, 186-200. Doi: 10.17584/rcch.2013v7i2.2234
- Vélez, J., D. Intrigliolo y J.R. Castel. 2011. Programación de riego en base a sensores de medida del estado hídrico del suelo y de la planta. *Rev. UDCA Act. Div. Cient.* 14, 197-200.
- Vignoni, L., R. Césari M. Forte y M. Mirabile. 2006. Determinación de índice de color en ajo picado. *Inf. Tecnol.* 17, 63-67. Doi: 10.4067/S0718-07642006000600011
- Wu, Y., Z. Zhao, W. Wang, Y. Ma y X. Huang. 2013. Yield and growth of mature pear trees under water deficit during slow fruit growth stages in sparse planting orchard. *Sci. Hortic.* 164, 189-195. Doi: 10.1016/j.scienta.2013.09.025