

# Índice

---

Editorial .....	5
Propagación <i>in vitro</i> de camote [ <i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam.] en medio de cultivo suplementado con fertilizantes convencionales .....	7
<i>Rosa Mercedes Sosa-Amay, Consuelo Rojas-Idrogo y Guillermo Eduardo Delgado-Paredes</i>	
Caracterización física y microbiológica del almidón de yuca ( <i>Manihot esculenta</i> Crantz) producido en Canuto-Manabí (Ecuador) .....	25
<i>Lady's M. Álava Moreira, Beatriz M. Bravo Zamora, José F. Zambrano Ruedas, Dennys L. Zambrano Velásquez y Rosanna K. Loor Cusme</i>	
Efecto de la fertilización orgánica y de síntesis química en tomate verde ( <i>Physalis ixocarpa</i> Brot. Ex Horn) en Calakmul, Campeche (México) .....	41
<i>Yuriño Pilar Cruz Koizumi, José Armando Alayón Gamboa y Alejandro Morón Ríos</i>	
El follaje de la selva baja caducifolia como alimento nutracéutico y su potencial antihelmíntico en pequeños rumiantes .....	55
<i>Javier Ventura-Cordero, Carlos A. Sandoval-Castro, Pedro G. González-Pech y Juan F. J. Torres-Acosta</i>	
Germinación <i>in vitro</i> de semillas de <i>Vanilla planifolia</i> Jacks y comparación de métodos de micropropagación .....	69
<i>Oscar Flores Castaños, Juan Francisco Cuéllar Zometa, María Elena Montes de Godoy, Martín Roberto Gámez Pastrana, María Teresa González Arnao, Marina Guevara Valencia y Noé Aguilar Rivera</i>	
Los organismos públicos vinculados con la sanidad vegetal y forestal en Argentina. Desafíos jurídicos .....	85
<i>Clara María Minaverry</i>	
Indicaciones para los autores .....	101

# Index

---

Editorial .....	5
<i>In vitro</i> propagation of sweet potato [ <i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam.] in culture medium supplemented with conventional fertilizers .....	7
<i>Rosa Mercedes Sosa-Amay, Consuelo Rojas-Idrogo y Guillermo Eduardo Delgado-Paredes</i>	
Physical and microbiological characterization of cassava starch ( <i>Manihot esculenta</i> Crantz) produced in Canuto-Manabi (Ecuador) .....	27
<i>Lady's M. Álava Moreira, Beatriz M. Bravo Zamora, José F. Zambrano Ruedas, Dennys L. Zambrano Velásquez y Rosanna K. Loor Cusme</i>	
The effect of organic and chemical fertilization in green tomato plants ( <i>Physalis ixocarpa</i> Brot. Ex Horn) in Calakmul, Campeche (Mexico) .....	43
<i>Yuriko Pilar Cruz Koizumi, José Armando Alayón Gamboa y Alejandro Morón Ríos</i>	
Foliage of tropical deciduous forest as nutraceutic feed and their anthelmintic potencial in small ruminants .....	57
<i>Javier Ventura-Cordero, Carlos A. Sandoval-Castro, Pedro G. González-Pech y Juan F. J. Torres-Acosta</i>	
<i>In vitro</i> germination of <i>Vanilla planifolia</i> Jacks seeds and comparison of micropropagation methods.....	71
<i>Oscar Flores Castaños, Juan Francisco Cuéllar Zometa, María Elena Montes de Godoy, Martín Roberto Gámez Pastrana, María Teresa González Arnao, Marina Guevara Valencia y Noé Aguilar Rivera</i>	
Public agencies linked to plant and forest health in Argentina. Legal Challenges .....	87
<i>Clara María Minaverry</i>	
Instructions for authors.....	109

# Editorial

---

**D**urante el mes de octubre de 2017 se realizó en la ciudad de Varadero, Cuba, el XI Encuentro de Editores de Revistas Científicas y de Divulgación, organizado por el Instituto de Ciencia Animal (ICA), el cual, a través de la *Revista Cubana de Ciencia Animal* ha invitado a diferentes editores a presentar trabajos para que se discutan temas relacionados con los distintos aspectos de la edición de una revista científica.

Nuestra participación se enfoca en evidenciar el trabajo colaborativo que desarrollan los árbitros —colegas que realizan de manera desinteresada una labor medular en el proceso editorial—; dado que permite la selección de aquellos artículos para ser considerados en la publicación de la revista.

El objetivo fue demostrar que el arbitraje es un proceso de colaboración en la revisión de los artículos científicos; para ello, se analizó la base de datos de la *Revista Avances en Investigación Agropecuaria* (Rev. AIA) durante un periodo de cinco años (2012-2016) acerca de la participación de los científicos como árbitros.

Se describe que la institución de origen de los evaluadores estuvo asociada a las universidades o centros de investigación, en virtud de que éste significó un criterio de elección; mayoritariamente, pertenecen a Iberoamérica (16 de 19 países participantes), para un total de 429 invitados; y se logró  $229 \pm 150$  días, como promedio, para la publicación de un artículo científico, con un 73% de artículos aceptados, en sistema de evaluación doble ciego.

Un aspecto que debe resaltarse es el relativo a la forma de elección de los participantes en el proceso, pues para la selección de los árbitros se utilizaron los siguientes criterios:

1. El editor conoce el trabajo científico de los autores.
2. El editor selecciona a los árbitros, basado en una búsqueda en internet en revistas científicas en donde se publicaron artículos relacionados con el tema.
3. Los árbitros seleccionados, de preferencia, no tienen más de cinco años de haber publicado un artículo sobre el tema en cuestión.
4. Los árbitros seleccionados pertenecen a una institución de educación superior (universidad o instituto de investigación).
5. Se aceptan sugerencias de los árbitros seleccionados, por no estar en posibilidades de hacer la evaluación.
6. Se aceptan sugerencias de los autores sobre posibles árbitros, aunque los autores desconocen el resultado de su propuesta.

A los árbitros se les envía un carta formal de petición, en donde se presenta la revista, se considera su disponibilidad para ello; debido a que su capacidad profesional ya fue tomada en cuenta dentro del protocolo del proceso, se considera los siguientes puntos: su confidencialidad, tiempo de entrega de la evaluación, un formato con indicaciones a considerar, más la libertad de hacer los comentarios en los términos académicos que crean pertinentes; y, al final del proceso, se extiende un constancia de reconocimiento por la labor realizada.

Una cuestión que facilita la selección de árbitros es el uso del internet, puesto que ayuda a elegirlos con base en sus publicaciones; esto ha permitido el incorporar a colegas de 18 países, más los de México: Alemania, Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Colombia, Costa Rica, Cuba, Ecuador, España, Francia, Nicaragua, Perú, República Dominicana, Puerto Rico, Uruguay, Estados Unidos y Venezuela.

De los 429 seleccionados, aceptaron 256 (59.70%). De los que aceptaron el proceso, en su mayoría, eran de México (64.10%); asimismo, de los países que más apoyaron, aparecieron: Colombia (7.80%), Cuba (6.60%), Argentina (5.10%), Venezuela (5.50) y Chile (3.10%).

En la evaluación de los artículos se consideran los siguientes aspectos:

- 1) Técnico-formal
- 2) De contenido
- 3) Mejora de la presentación formal y los contenidos científicos
- 4) Decisión final
- 5) Recomendación sobre la prioridad en la publicación, evidenciados en los procesos señalados para la edición de Rev. AIA.

También existen otros elementos que se toman en cuenta en Rev. AIA: se les pregunta a los árbitros acerca de su disponibilidad, y si no tienen conflicto de intereses en realizar esta tarea, se les envía un protocolo como guía y se establece un tiempo determinado para su evaluación. En caso de que existiera algún conflicto de intereses, se deja en libertad al propio árbitro (su ética profesional); aunque este aspecto es previsto por el editor. Asimismo, se mantiene la confidencialidad en cuanto al manuscrito y a la revisión determinada por el estilo doble ciego. Respecto de la compensación económica, no existe en Rev. AIA; aunque sí un reconocimiento académico por parte de la revista, mediante una constancia de arbitraje.

*José Manuel Palma García*  
Director de Rev. AIA

# Propagación *in vitro* de camote [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] en medio de cultivo suplementado con fertilizantes convencionales

*In vitro* propagation of sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] in culture medium supplemented with conventional fertilizers

Rosa Mercedes Sosa-Amay, Consuelo Rojas-Idrogo  
y Guillermo Eduardo Delgado-Paredes\*

Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Ciudad Universitaria  
Juan XXIII No. 391, Lambayeque, Perú.

\* Correspondencia: guidelg2015@yahoo.es

## Resumen

El objetivo del estudio consistió en evaluar los fertilizantes convencionales urea, 12-12-12 (NPK) y nitrofoska foliar como sustitutos de las sales minerales  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  y  $\text{KNO}_3$  del medio de cultivo Murashige y Skoog (MS), reduciendo costos y prescindiendo de compuestos químicos utilizados ilegalmente en actividades subversivas en el Perú. Los fertilizantes convencionales urea, 12-12-12 (NPK) y nitrofoska foliar, fueron utilizados individualmente a las concentraciones de 1/2N, 1N y 2N, del peso equivalente del nitrógeno calculado; y también suplementado a una concentración de 1/10 de las sales minerales MS, en la propagación *in vitro* de camote *Ipomoea batatas*, cvs. UNPRG-8, UNPRG-15 y UNPRG-408. Segmentos nodales de 0.5-1.0 cm de altura, obtenidos de plantas *in vitro*, fueron utilizados como explantes iniciales en los diferentes tratamientos formulados. Estos tratamientos se suplementaron con tiamina.HCl 0.4 mg/l, m-inositol 100 mg/l, sacarosa 4.0%, agar 0.6%, pero sin reguladores de crecimiento. La mayor tasa de elongación del brote, número de nudos formados, desarrollo radicular y tasa de supervivencia y aclimatación fue alcanzado en los

## Abstract

The aim of the study was to evaluate conventional fertilizers urea, 12-12-12 (NPK) and Nitrofoska foliar as substitutes of the  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  and  $\text{KNO}_3$  mineral salts of Murashige and Skoog (MS) culture medium, reducing costs and dispensing with chemical compounds illegally used in subversive activities in Peru. The conventional fertilizers urea, 12-12-12 (NPK) and nitrofoska foliar, were individually used at concentrations of 1/2N, 1N and 2N, from the equivalent weight of nitrogen calculated, and also supplemented at 1/10 concentration of the mineral salts MS, in the *in vitro* propagation of sweet potato (*Ipomoea batatas*), cvs. UNPRG-8, UNPRG-15 and UNPRG-408. Nodal segments of 0.5-1.0 cm length, obtained from *in vitro* plants, were used as initial explants in the different formulated treatments. These treatments were supplemented with thiamine. HCl (0.4 mg/l), m-inositol (100 mg/l), sucrose (4.0%), agar (0.6%), but without growth regulators. The highest rate of shoot elongation, number of nodes formation, roots development and survival rate and acclimatization, was achieved in the treatments with the conventional fertilizer 12-12-12, especially in the treatments

tratamientos con el fertilizante convencional 12-12-12; especialmente en los tratamientos que incorporaron las sales minerales MS 1/10 suplementadas con 12-12-12 a 1/2N y 1N de concentración. Se concluye que el fertilizante convencional 12-12-12 puede sustituir parcial o totalmente a las sales minerales MS en la propagación *in vitro* de camote.

### Palabras clave

Cultivo *in vitro*, micropropagación, nitrofoska foliar, nitrógeno inorgánico, urea.

that incorporated the mineral salts MS 1/10 supplemented with 12-12-12 at concentrations of 1/2N y 1N. It is concluded that the conventional fertilizer 12-12-12 can partially or totally replace the MS mineral salts in the *in vitro* propagation of sweet potato.

### Keywords

*In vitro* culture, micropropagation, nitrofoska foliar, inorganic nitrogen, urea.

## Introducción

**I***pomoea batatas* (L.) Lam., es la especie más importante de la familia Convolvulaceae, la que comprende alrededor de 1,650 especies, predominantemente tropicales. El género *Ipomoea*, con aproximadamente 500-600 especies, es el más importante tanto en número de especies como en valor económico (Austin y Huamán, 1996). En el sistema propuesto por Angiosperm Phylogeny Group, la familia Convolvulaceae es ubicada conjuntamente con las Hydroleaceae, Montiniaceae, Solanaceae y Sphenocleaceae en el orden Solanales, Eusasterides I (APG, 2016).

*I. batatas* es conocida popularmente en el Perú como “camote”, vocablo muy parecido al de “kumar” o “kumara”, con la que es conocido en la Polinesia; otros nombres muy comunes utilizados en América son: “boniato”, “batata douce” o “sweet potato”. De acuerdo a la FAO (2010), 115 países produjeron 106.60 millones de toneladas métricas (TM), concentrándose en Asia la mayor producción, con 82.30%; destacando China, con 81.20 TM. América Latina produjo algo más de 2%, lo que significó 1.97 TM, en donde sobresalen Brasil, Cuba y Argentina (Santa-María *et al.*, 2009).

El camote tiene un considerable interés comercial, puesto que sus raíces tuberosas son muy utilizadas en el consumo humano y de diversos animales domésticos debido a que constituyen una buena fuente de carbohidratos, minerales y vitaminas. Adicionalmente, varios estudios han señalado que los cultivares de raíces tuberosas púrpuras o moradas, tienen altos contenidos de antocianinas con potente actividad antioxidante o secuestrador de radicales; y los cultivares de raíces tuberosas anaranjadas presentan altos contenidos de carotenos, precursores de la vitamina A (Rabah *et al.*, 2004; Yang *et al.*, 2006).

El desarrollo de la agricultura moderna ha tenido que atender numerosos retos, los que, en cierta forma, están siendo resueltos utilizando técnicas desarrolladas por el cultivo de tejidos vegetales *in vitro*, como el cultivo de meristemas para la obtención de plantas libres de virus y la micropropagación mediante el cultivo de ápices caulinares y segmentos nodales.

Al respecto, Vasil (2008) consideró que el desarrollo del cultivo de tejidos alcanzó un gran impulso en las décadas de los 60s y 70s (s. XX), con la formulación de nu-

merosos medios de cultivo, como MS (Murashige y Skoog, 1962), LS (Linsmaier y Skoog, 1965), B5 (Gamborg *et al.*, 1968), SH (Schenk y Hildebrandt, 1972), por citar algunos; incorporando sales nitrogenadas, como: nitrato de amonio ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ), nitrato de potasio ( $\text{KNO}_3$ ), sulfato de amonio [ $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$ ], fosfato de amonio monobásico [ $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ ], entre otras, en diversas concentraciones.

El medio de cultivo MS —tal vez el de mayor uso en cultivo de tejidos vegetales— incorpora las sales nitrogenadas: nitrato de amonio (1,650 mg/l) y nitrato de potasio (1,900 mg/l), cantidades inusualmente altas y que demandan un costo económico muy significativo para laboratorios de cultivo de tejidos con escasos presupuestos; el costo de estos insumos, sumado a otros rubros —como la mano de obra y la energía eléctrica— representan el 30-35% del costo de producción, en el caso de países en desarrollo (IAEA, 2004).

La literatura especializada reporta numerosos estudios donde se han utilizado diversos componentes inorgánicos y orgánicos, no necesariamente para reducir costos, sino para inducir un mayor crecimiento de los explantes, como fue el caso del crecimiento de la orquídea *Dendrobium parishii*; donde se evaluó el fertilizante químico 21-21-21 (Kaewduangta y Reamkatog, 2011).

En la propagación *in vitro* de dos orquídeas brasileñas, *Catasetum fimbriatum* y *Cyrtopodium paranaensis*, entre otras modificaciones realizadas al medio de cultivo MS, especialmente en los micronutrientes, también se evaluaron los fertilizantes comerciales NPK (10-5-5) 2 ml/l y NPK (10-30-20) 3 g/l (Rego-Oliveira y De Faria, 2005).

Por otro lado, con la finalidad de reducir costos en la micropropagación de yuca (*Manihot esculenta*) se ensayó el fertilizante foliar Easygro® (27:10:16 + trazas de elementos) como sustituto de las sales minerales MS (Ogero *et al.*, 2012a).

Asimismo, en la propagación de banano (*Musa* sp.) se sustituyeron completamente las sales minerales MS por soluciones nutritivas pobres en elementos minerales, como las sales de Knop (Ganapathi *et al.*, 1995). En esta especie, cv. Cavendish, también se estudió el efecto del fertilizante de origen natural Sulpomag o sulfato de potasio y magnesio, con la finalidad de sustituir parcialmente las sales minerales MS; específicamente,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  y  $\text{KNO}_3$ , y obtener un medio de cultivo que cumpla con la reglamentación establecida para el cultivo orgánico de banano en el norte del Perú (Montenegro-Juárez *et al.*, 2014).

En otros casos se utilizó el fertilizante foliar 7-6-19 en el enraizamiento de meristemas de *Cattleya* sp. (Gutiérrez, 1996), el fertilizante 20-10-20 en el cultivo de semillas de *Arabidopsis thaliana* (Pollack y Oppenheimer, 1999), los fertilizantes Peters (24-8-16), Floren (10-15-5) y Folifertil (20-30-10) en la micropropagación de *Laelia anceps* (Romero-Tirado *et al.*, 2007) y varios abonos foliares comerciales en la micropropagación de nudos de *Solanum tuberosum* (Azofeifa *et al.*, 2008).

En *Ipomoea batatas* solamente se conoce el estudio realizado en dos variedades élites con la finalidad de reducir los costos en la micropropagación donde los macronutrientes convencionales  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$  y  $\text{MgSO}_4$  de los medios de cultivo Sefasi y Nankin-ga (2010) y MS modificado, fueron sustituidos por los fertilizantes de amonio, potasio y Epsom, respectivamente (Mvuria y Ombori, 2014).

Es por ello que el objetivo de la investigación que se presenta radicó en desarrollar un medio de cultivo que sustituya total y parcialmente a las sales minerales MS por los fertilizantes convencionales urea, 12-12-12 y nitrofoska foliar, considerando que en el Perú existen muchas restricciones legales para la adquisición de tales insumos; especialmente  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  y  $\text{KNO}_3$  (debido a que son utilizados en actividades ilícitas relacionadas con el terrorismo y el narcotráfico), además de reducir costos en la micropropagación.

## Materiales y métodos

### *Material vegetal*

El material vegetal estuvo conformado por tres cultivares de camote (*Ipomoea batatas* Lam.), 'Blanco Local' (UNPRG-8), 'Lurín' (UNPRG-15) y 'Sin nombre' (UNPRG-408), existentes en el Banco de Germoplasma de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, de Lambayeque, Perú. Se sembraron, en condiciones de invernadero, 5-10 esquejes de 30 a 40 cm de longitud en las mejores condiciones fisiológicas, mostrando tallos gruesos y yemas vegetativas vigorosas, y fitosanitarias, carentes de plagas y enfermedades. Los esquejes fueron previamente desinfectados con una solución fúngica de Orthocide-80 6.0% durante 10 min.

### *Desinfección y establecimiento del cultivo*

Yemas apicales de 1.50 cm de longitud se lavaron con abundante agua con detergente antes de enjuagarlas con una solución mixta de tetraciclina y Homai 5 y 25 mg/l, respectivamente, durante 5 min. El proceso de desinfección, el cultivo de los explantes (ápices caulinares de 1-3 mm de altura), la formulación del medio de cultivo utilizado en el establecimiento del cultivo, el ajuste del pH y las condiciones ambientales de incubación (16/8 h luz/oscuridad de fotoperiodo, 10 W.m<sup>-2</sup> de iluminación con alta incidencia de luz azul, 24-26°C de temperatura y 85-90% de humedad relativa), se encuentran ampliamente detallados en trabajos previos (Bazán-Zafra *et al.*, 2014; Delgado-Paredes *et al.*, 2016).

Cuando las plántulas alcanzaron una altura de 8-10 cm, fueron seccionadas en segmentos nodales de 0.5-1.0 cm de altura y cultivadas en los tratamientos formulados con la incorporación de las sales minerales MS y los fertilizantes convencionales urea, 12-12-12 y nitrofoska foliar en diferentes concentraciones. Adicionalmente, con la finalidad de atenuar el posible efecto detrimental de los fertilizantes convencionales, éstos fueron suplementados con las sales minerales MS 1/10.

### *Características e incorporación de los fertilizantes convencionales urea, 12-12-12 (NPK) y nitrofoska foliar*

El medio de cultivo de experimentación estuvo conformado por las sales minerales MS 1 (Testigo), 1/5 y 1/10 de su concentración total. De los fertilizantes convencionales urea, 12-12-12 y nitrofoska foliar se determinaron los pesos equivalentes a las unidades de nitrógeno (mM) presentes en las sales inorgánicas MS, tomando como base el nitrato de amonio ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ), para cada uno de los fertilizantes convencionales evaluados. Las

concentraciones utilizadas fueron 1/2, 1 y 2 (mitad, completo y doble del peso equivalente del nitrógeno calculado); y en otros tratamientos se suplementó 1/10 de las sales minerales MS (cuadro 1).

### Cuadro 1

Tratamientos en estudio del efecto de las sales inorgánicas MS, urea, 12-12-12 y nitrofoska foliar en la propagación *in vitro* de camote en 45 días de cultivo.

No. orden (Trat.)	Medios de cultivo (Concentración)				Medio de cultivo	Concentración
	MS	Urea (g)	12-12-12 (g)	Nitrofoska foliar (g)		
T1 (Testigo)	1				M1	C1
T2	1/5				M1	C2
T3	1/10				M1	C3
T4		1/2N (0.64)			M2	C1
T5		1N (1.28)			M2	C2
T6		2N (2.56)			M2	C3
T7	1/10	1/2N (0.64)			M3	C1
T8	1/10	1N (1.28)			M3	C2
T9	1/10	2N (2.56)			M3	C3
T10			1/2N (2.41)		M4	C1
T11			1N (4.81)		M4	C2
T12			2N (9.62)		M4	C3
T13	1/10		1/2N (2.41)		M5	C1
T14	1/10		1N (4.81)		M5	C2
T15	1/10		2N (9.62)		M5	C3
T16				1/2N (1.45)	M6	C1
T17				1N (2.89)	M6	C2
T18				2N (5.78)	M6	C3
T19	1/10			1/2N (1.45)	M7	C1
T20	1/10			1N (2.89)	M7	C2
T21	1/10			2N (5.78)	M7	C3

MS: sales minerales de Murashige y Skoog (1962); 1, 1/5 y 1/10 de su concentración total; N: nitrógeno; 1/2: mitad de concentración; 1: concentración total y 2: doble de concentración. Cada tratamiento incluyó las vitaminas m-inositol 100 mg/l y tiamina. HCl 0.4 mg/l, sacarosa 4.0% y agar 0.7%.

En el caso de la urea, que contiene N 45% y  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  de las sales minerales MS, tiene un peso molecular de 80 g y 1.65 g/l, se obtuvo 1.28 g de urea para la concentración 1, 0.64 g para la concentración 1/2 y 2.56 g para la concentración 2. En el caso de 12-12-12 (N 12 g) y nitrofoska foliar (N 20 g) se siguió el mismo razonamiento y los valores se presentan en el cuadro 1. El tratamiento testigo o control correspondió a las sales minerales MS en la concentración 1 o concentración total.

La urea o carbodiamida  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ , fabricada por Petro Perú, Talara, con N 45%, es un abono orgánico simple, nitrogenado o amoniacal. El 12-12-12 es un abono compuesto NPK, fabricado por INDUS-Callao (Perú), donde N 12% está en forma de N amoniacal ( $\text{NH}_4^+$ ) 7% y nítrica ( $\text{NO}_3^-$ ) 5%; P 12% en forma de fosfato de calcio ( $\text{H}_2\text{PO}_4$ )<sub>2</sub>Ca y K en forma de cloruro de potasio (KCl) o sulfato de potasio ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) y nitrofoska foliar, es un abono compuesto NPK 20-19.2-19.3, fabricado por BASF-Perú, S.A.; donde, N 20% está en forma amídica (urea) 10.60%, amoniacal 3.80% y nítrica 5.60%; P 19.20% en forma de fosfato de amonio y K 19.30% en forma de sulfato de potasio.

### *Transferencia a suelo y aclimatación*

Plántulas de 2-3 cm de altura con 2-3 hojas expandidas y un buen desarrollo del sistema radicular fueron sembradas en sustrato esterilizado con calor seco, integrado por una mezcla de tierra de cultivo, compost y arena de río (1:1:1); luego se establecieron en una cámara de plástico para proporcionarles un ambiente artificial de alta humedad. Los riegos se realizaron diariamente con agua corriente; y después de un mes, las plantas se transfirieron a bolsas de polietileno con sustrato tierra de cultivo y arena de río (2:1), antes de sembrarlas en campo definitivo.

### *Variables evaluadas y análisis estadístico*

Después de 45 días de cultivo se evaluó la elongación del brote, número de nudos formados, desarrollo radicular, supervivencia *in vitro* y aclimatación, considerando plántulas normales a las que no mostraron signos visuales de deficiencia nutricional, clorosis, necrosis apical, vitrificación o albinismo. Cada tratamiento contó con 15 repeticiones y el experimento se repitió dos veces, simultáneamente.

Se utilizó el diseño de bloques completamente al azar y arreglo factorial con tres factores, 3 cultivares, 7 medios de cultivo y 3 concentraciones; y si bien las evaluaciones se realizaron a los 15, 30 y 45 días, solamente se presentan los resultados a los 45 días de iniciado el experimento. De acuerdo a este diseño, se realizaron los ANOVA con sus respectivas pruebas de F a 0.01 y 0.05 nivel de significación, coeficiente de variabilidad para cultivares, medios de cultivo, concentraciones y días de evaluación. Asimismo, se realizó la prueba de Tukey para establecer las diferencias entre tratamientos y la prueba de Tukey específica para cultivares, medios de cultivo, concentraciones y días de evaluación.

## Resultados

En la evaluación de la elongación de brotes de camote, en 45 días de cultivo, se observó que los tratamientos M1 (Testigo), M4 y M5, destacaron ampliamente sobre M6, M7, M2 y M3 (cuadro 2). M1, que incorporó MS en las concentraciones C1 y C2 (MS 1 y MS ½ de concentración), fue ligeramente superior a M5, que incorporó MS 1/10 suplementado con 12-12-12 a ½N (C1) y 1N (C2) de concentración; mientras que M4 —que incorporó únicamente 12-12-12 ½N (C1) y 1N (C2) de concentración— fue significativamente inferior respecto a M1 y M5. El mayor valor alcanzado de elongación fue 66.57 mm para M1C1, correspondiendo al cv. UNPRG-8. Los tratamientos M2 y M3, así como M6 y M7, que incorporaron urea y nitrofoska foliar, respectivamente, fueron los que ejercieron el menor efecto en elongación.

En la evaluación del número de nudos formados, después de 45 días de cultivo, se observó que el tratamiento M5, que incorporó MS 1/10 suplementado con 12-12-12, alcanzó el mayor número de nudos formados con 14.4 en las concentraciones de ½N (C1) y 1N (C2) (cuadro 3). Por otro lado, M1 (Testigo) y M4, en todas las concentraciones evaluadas (C1, C2 y C3) ejercieron un efecto ligeramente menor en el número de nudos formados, en todos los cultivares evaluados; mientras que M6 y M7, suplementados con nitrofoska foliar, el número de nudos formados fue inferior a 6, y en M2 y M3, suplementado con urea, éstos no se formaron. La evaluación del número de hojas formadas siguió una tendencia similar a lo observado en nudos.

El mayor desarrollo radicular (++) y 100% de frecuencia se observó en el tratamiento M1 (Testigo), suplementado con MS, en todas las concentraciones ensayadas y cultivares evaluados, seguido por M5, que incorporó MS 1/10 suplementadas por 12-12-12 con valores mayormente (++) y 100% de frecuencia y M4, suplementado con 12-12-12 con tasas de enraizamiento (++) y alrededor de 50% de frecuencia (cuadro 4). En M6 y M7, suplementados con nitrofoska foliar, no se formó sistema radicular o mayormente alcanzó la escala (+), mientras que en M2 y M3, suplementados con urea, mayormente no se formó sistema radicular.

Cuadro 2

Efecto de las sales minerales MS, urea, 12-12-12 y nitrofoska foliar en la elongación de plántulas *in vitro* de camote en 45 días de cultivo.

No. orden (Tratamientos)	Tratamientos	Variedades			Promedio (variedades)	EEM
		UNPRG-8	UNPRG-15	UNPRG-408		
1	M1 C1	66.57 <sup>a</sup>	43.00 <sup>efg</sup>	60.43 <sup>abc</sup>	56.66	7.06
2	M1 C2	61.43 <sup>abc</sup>	44.57 <sup>defg</sup>	59.71 <sup>abcd</sup>	55.24	5.36
3	M1 C3	42.29 <sup>efgh</sup>	22.71 <sup>ijkl</sup>	33.43 <sup>ghi</sup>	32.81	5.72
4	M2 C1	1.86	1.36	0.43	1.22	0.42
5	M2 C2	1.29	0.86	0.43	0.86	0.25
6	M2 C3	0.00	0.00	0.43	0.14	0.14
7	M3 C1	1.00	3.14	1.43	1.86	0.65
8	M3 C2	0.86	0.00	2.71	1.19	0.80
9	M3 C3	0.86	0.29	0.57	0.57	0.16
10	M4 C1	24.00 <sup>ik</sup>	26.14 <sup>j</sup>	51.86 <sup>abcde</sup>	34.00	8.95
11	M4 C2	54.57 <sup>abcde</sup>	19.29 <sup>ijklm</sup>	17.86 <sup>klmn</sup>	30.57	12.01
12	M4 C3	26.86 <sup>hij</sup>	1.43 <sup>op</sup>	9.43 <sup>klmnop</sup>	12.57	7.51
13	M5 C1	54.29 <sup>abcde</sup>	59.71 <sup>abcd</sup>	65.43 <sup>a</sup>	59.81	3.22
14	M5 C2	64.29 <sup>ab</sup>	49.71 <sup>bcdef</sup>	48.29 <sup>defg</sup>	54.10	5.11
15	M5 C3	16.43 <sup>klmno</sup>	34.57 <sup>ghi</sup>	15.14 <sup>klmnop</sup>	22.05	6.27
16	M6 C1	8.71	1.86	4.86	5.14	1.98
17	M6 C2	4.57	0.00	1.71	2.09	1.33
18	M6 C3	2.43	0.00	0.00	0.81	0.81
19	M7 C1	8.29	1.00	2.71	4.00	2.20
20	M7 C2	5.00	0.43	2.57	2.66	1.32
21	M7 C3	1.71	7.57	0.00	3.09	2.29

M: medios de cultivo: M1 = Sales minerales MS; M2 = urea; M3 = urea + MS 1/10; M4 = 12-12-12; M5 = 12-12-12 + MS 1/10; M6 = nitrofoska foliar y M7 = nitrofoska foliar + MS 1/10.

C: concentraciones. C1 = Testigo/MS completo; C2 = MS 1/5 concentración y C3 = MS 1/10 concentración; urea: C1 (1/2 N/0.64 g), C2 (1 N/1.28 g) y C3 (2N/2.56 g); 12-12-12: C1 (1/2 N/2.41 g), C2 (1N/4.81 g) y C3 (2N/9.62 g) y nitrofoska foliar: C1 (1/2 N/1.45 g), C2 (1N/2.89 g) y C3 (2N/5.78 g). Valores con letras distintas indican diferencias significativas por la prueba de Tukey  $p \leq 0.05$ .

EEM, error estándar de la media.

Cuadro 3

Efecto de las sales minerales MS, urea, 12-12-12 y nitrofoska foliar en el número de nudos formados en plántulas *in vitro* de camote en 45 días de cultivo.

No. orden (Tratamientos)	Tratamientos	Variedades			Promedio (variedades)	EEM
		UNPRG-8	UNPRG-15	UNPRG-408		
1	M1 C1	7.9 <sup>cdefg</sup>	12.4 <sup>ab</sup>	10.7 <sup>abcd</sup>	10.3	1.3
2	M1 C2	8.8 <sup>bcdef</sup>	11.1 <sup>abc</sup>	7.6 <sup>cdefg</sup>	9.2	1.0
3	M1 C3	7.3 <sup>cdefgh</sup>	7.9 <sup>cdefg</sup>	7.1 <sup>defghi</sup>	7.5	0.2
4	M2 C1	1.3	1.4	0.4	1.0	0.3
5	M2 C2	1.1	0.4	0.4	0.6	0.2
6	M2 C3	0.0	0.0	0.4	0.1	0.1
7	M3 C1	0.7	3.1	1.0	1.6	0.8
8	M3 C2	0.9	0.0	2.0	1.0	0.6
9	M3 C3	0.7	0.0	1.4	0.7	0.4
10	M4 C1	4.3 <sup>ghijklmn</sup>	8.3 <sup>cdef</sup>	6.6 <sup>efghij</sup>	6.4	1.2
11	M4 C2	11.1 <sup>abc</sup>	7.6 <sup>cdefg</sup>	3.4 <sup>ijklmno</sup>	7.4	2.2
12	M4 C3	7.6 <sup>cdefg</sup>	1.1 <sup>no</sup>	5.4 <sup>ghijkl</sup>	4.7	1.9
13	M5 C1	11.1 <sup>abc</sup>	14.4 <sup>a</sup>	9.7 <sup>bcde</sup>	11.7	1.4
14	M5 C2	10.6 <sup>bcd</sup>	14.4 <sup>a</sup>	7.0 <sup>defghi</sup>	10.6	2.1
15	M5 C3	8.9 <sup>bcdef</sup>	12.3 <sup>ab</sup>	8.0 <sup>cdefg</sup>	9.7	1.3
16	M6 C1	5.7	2.6	2.9	3.7	1.0
17	M6 C2	3.7	0.0	1.4	1.7	1.1
18	M6 C3	3.7	0.0	0.0	1.2	1.2
19	M7 C1	5.1	2.0	2.1	3.1	1.0
20	M7 C2	3.1	0.7	1.3	2.4	0.7
21	M7 C3	1.5	2.3	0.0	1.3	0.7

M, medios de cultivo: M1, Sales minerales MS; M2, urea; M3, urea + MS 1/10; M4, 12-12-12; M5, 12-12-12 + MS 1/10; M6, nitrofoska foliar y M7, nitrofoska foliar + MS 1/10 C, concentraciones. C1 (Testigo/MS completo), C2 (MS 1/5 concentración) y C3 (MS 1/10 concentración); urea: C1 (1/2 N/0.64 g), C2 (1 N/1.28 g) y C3 (2N/2.56 g); 12-12-12: C1 (1/2 N/2.41 g), C2 (1N/4.81 g) y C3 (2N/9.62 g) y nitrofoska foliar: C1 (1/2 N/1.45 g), C2 (1N/2.89 g) y C3 (2N/5.78 g).

Valores con letras distintas indican diferencias significativas por la prueba de Tukey p<0.05.

EEM, error estándar de la media.

### Cuadro 4

Efecto de las sales minerales MS, urea, 12-12-12 y nitrofoska foliar en el enraizamiento de plántulas *in vitro* de camote en 45 días de cultivo.

No. orden (Tratamientos)	Tratamientos	Variedades								
		UNPRG-8			UNPRG-15			UNPRG-408		
		-	+	++	-	+	++	-	+	++
1	M1 C1	0	0	100	0	0	100	0	0	100
2	M1 C2	0	0	100	0	0	100	0	0	100
3	M1 C3	0	0	100	0	14	86	0	0	100
4	M2 C1	0	100	0	29	71	0	0	100	0
5	M2 C2	57	43	0	14	86	0	86	14	0
6	M2 C3	100	0	0	100	0	0	86	14	0
7	M3 C1	71	29	0	14	86	0	43	57	0
8	M3 C2	43	57	0	86	14	0	43	57	0
9	M3 C3	57	43	0	100	0	0	57	43	0
10	M4 C1	0	57	43	14	14	72	0	57	43
11	M4 C2	0	57	43	0	14	86	29	71	0
12	M4 C3	0	43	57	71	29	0	29	71	0
13	M5 C1	0	0	100	0	0	100	0	0	100
14	M5 C2	0	0	100	0	0	100	0	0	100
15	M5 C3	0	57	43	0	0	100	0	100	0
16	M6 C1	0	57	43	43	57	0	0	100	0
17	M6 C2	29	71	0	86	14	0	57	43	0
18	M6 C3	57	43	0	100	0	0	100	0	0
19	M7 C1	0	71	29	57	43	0	14	86	0
20	M7 C2	14	86	0	86	14	0	43	57	0
21	M7 C3	57	43	0	57	43	0	100	0	0

M, medios de cultivo: M1, Sales minerales MS; M2, urea; M3, urea + MS 1/10; M4, 12-12-12; M5, 12-12-12 + MS 1/10; M6, nitrofoska foliar y M7, nitrofoska foliar + MS 1/10

C, concentraciones. C1 (Testigo/MS completo), C2 (MS 1/5 concentración) y C3 (MS 1/10 concentración); urea: C1 (1/2 N/0.64 g), C2 (1 N/1.28 g) y C3 (2N/2.56 g); 12-12-12: C1 (1/2 N/2.41 g), C2 (1N/4.81 g) y C3 (2N/9.62 g) y nitrofoska foliar: C1 (1/2 N/1.45 g), C2 (1N/2.89 g) y C3 (2N/5.78 g).  
-, sin formación de raíces; +, 1-3 raíces, no mayores de 2 cm; ++, > 4 raíces, mayores de 2 cm

La tasa de supervivencia y aclimatación fue 100% para ambos parámetros, en el tratamiento M1 (Testigo), suplementado con MS, en todas las concentraciones ensayadas (C1, C2 y C3) (figura 1) y los cultivares evaluados, seguido por M5 (12-12-12 + MS 1/10) (figura 1), donde la tasa de supervivencia fue también 100%, aunque la tasa de aclimatación disminuyó entre 60-80% en la concentración C3. En M2 y M3 (urea), y M6 y M7 (nitrofoska foliar) la tasa de supervivencia disminuyó significativamente a menos de 50%, aunque la disminución en la tasa de aclimatación con 0% fue especialmente en los tratamientos suplementados con urea, razón por la cual los datos no se muestran en cuadro.

Figura 1

Plántulas de *Ipomea batatas* cv. UNPRG-15 *in vitro*.



Frasco derecha: plántulas de dos meses de edad en medio de cultivo MS.

Frasco izquierdo: plántulas de dos meses de edad en medio de cultivo MS 1/10 suplementado con fertilizante convencional 12-12-12 1/2 N.

El análisis de varianza para elongación del brote de los tres cultivares en estudio, en 45 días de evaluación, indicó una alta significación estadística para las fuentes de variación cultivares, medios de cultivo (tratamientos) y concentraciones y las interacciones cultivares x tratamientos, cultivares x concentraciones, tratamientos x concentraciones y cultivares x tratamientos x concentraciones; resultando los coeficientes de variación para cultivares, tratamientos y concentraciones superiores a 50% (cuadro 5). El análisis de varianza para número de nudos formados fue similar al observado para elongación de brotes.

### Cuadro 5

Análisis de varianza del efecto de las sales minerales MS, urea, 12-12-12 y nitrofoska foliar para días de cultivo, cultivares, tratamientos y concentraciones en la elongación de brotes en plántulas *in vitro* de camote.

Fuente de Variación	SC	GL	CM	FC	Significación
Bloques	538.15	6	89.69	0.61	NS
Cultivares	2802.89	2	1401.44	9.49	**
Error "a"	1771.24	12	147.60		
Tratamientos	173304.91	6	28884.15	227.61	**
Cultivar x Tratamientos	6310.24	12	525.85	4.14	**
Error "b"	13705.05	108	126.89		
Concentraciones	14066.80	2	7033.40	72.70	**
Cultivares x Concentraciones	2303.50	4	575.87	5.95	**
Tratamientos x Concentraciones	16676.52	12	1389.71	14.36	**
Cultivares x Tratamientos x Concentraciones	9016.16	24	375.67	3.88	**
Error "c"	24379.21	252	96.74		
Total	2648774.67	440			

CV "a" = 66.86%; CV "b" = 61.98%; CV "c" = 54.13%

En el cuadro 6, la prueba de Tukey muestra los resultados del efecto de las sales minerales MS y los fertilizantes convencionales urea, 12-12-12 y nitrofoska foliar sobre las variables estudiadas (días de cultivo, cultivares, medios de cultivo y concentraciones) y las características evaluadas (elongación y número de nudos). Sobre días de cultivo, en 45 días la elongación del brote y el número de nudos formados fue mayor respecto a 30 y 15 días de evaluación; en cultivares, si bien en la elongación del brote los cvs. UNPRG-8 y UNPRG-408 fueron superiores al cv. UNPRG-15, en el número de nudos formados los cvs. UNPRG-8 y UNPRG-15 fueron superiores al cv. UNPRG-408; sobre tratamientos, el M1 (Testigo) fue superior al M5 (12-12-12 + MS 1/10) y ambos largamente sobre los otros tratamientos ensayados y en concentraciones, C1 (1/2 N) fue superior a las otras concentraciones ensayadas.

Cuadro 6

Prueba de Tukey del efecto de las sales minerales MS, urea, 12-12-12 y nitrofoska foliar para días de cultivo, cultivares, tratamientos y concentraciones en la elongación y número de nudos formados en plántulas *in vitro* de camote.

Variables	Características evaluadas	
	Elongación (mm)	Nudos (N°)
a) Días de cultivo		
D3 (45 días)	18.17 <sup>a</sup>	4.50 <sup>a</sup>
D2 (30 días)	13.42 <sup>b</sup>	3.72 <sup>b</sup>
D1 (15 días)	5.77 <sup>c</sup>	1.89 <sup>c</sup>
	ALS = 0.6635	ALS = 0.3516
b) Cultivares		
UNPRG-8	14.51 <sup>a</sup>	3.67 <sup>a</sup>
UNPRG-408	13.16 <sup>a</sup>	2.96 <sup>b</sup>
UNPRG-15	9.70 <sup>b</sup>	3.49 <sup>a</sup>
	ALS = 1.7171	ALS = 0.327
c) Tratamientos		
M1 (MS)	31.87 <sup>a</sup>	6.14 <sup>b</sup>
M5 (12-12-12 + MS 1/10)	29.11 <sup>b</sup>	7.40 <sup>a</sup>
M4 (12-12-12)	18.24 <sup>c</sup>	4.43 <sup>c</sup>
M6 (NF)	2.98 <sup>d</sup>	2.09 <sup>d</sup>
M7 (NF + MS 1/10)	2.94 <sup>d</sup>	1.90 <sup>d</sup>
M3 (urea + MS 1/10)	1.31 <sup>d</sup>	1.03 <sup>e</sup>
M2 (urea)	0.75 <sup>d</sup>	0.61 <sup>e</sup>
	ALS = 2.8397	ALS = 0.6199
d) Concentraciones		
C1 (1/2 N)	15.70 <sup>a</sup>	3.95 <sup>a</sup>
C2 (1 N)	14.19 <sup>b</sup>	3.46 <sup>b</sup>
C3 (2N)	7.47 <sup>c</sup>	2.71 <sup>c</sup>
	ALS = 0.5064	ALS = 0.3016

C, concentraciones. C1 (Testigo/MS completo), C2 (MS 1/5 concentración) y C3 (MS 1/10 concentración); urea: C1 (1/2 N/0.64 g), C2 (1 N/1.28 g) y C3 (2N/2.56 g); 12-12-12: C1 (1/2 N/2.41 g), C2 (1N/4.81 g) y C3 (2N/9.62 g) y nitrofoska foliar: C1 (1/2 N/1.45 g), C2 (1N/2.89 g) y C3 (2N/5.78 g). ALS, Amplitud Límite de Significación.

## Discusión

Las diferencias observadas en la elongación, número de nudos formados, enraizamiento y tasa de supervivencia, en los tres cultivares de camote ensayados, se atribuyen al efecto de los fertilizantes convencionales —urea, 12-12-12 y nitrofoska foliar— ensayados como sustitutos parciales y totales de las sales minerales MS. Es por ello que el efecto fue altamente significativo en los cultivares y en las interacciones cultivares x tratamientos (medios), cultivares x concentraciones, tratamientos x concentraciones y cultivares x tratamientos x concentraciones.

En plántulas de banano (*Musa* sp. cv. Cavendishi), en 60 días de cultivo, si bien la mayor altura del brote fue 1.80 cm en medio de cultivo suplementado con MS, ésta fue sólo ligeramente superior a 1.60 y 1.50 cm, alcanzados en los tratamientos que incorporaron el fertilizante natural Sulpomag (0.1096 g/l) suplementado con MS 1/5 de  $\text{KNO}_3$  y  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  y agua de coco 20% y Sulpomag (0.1096 g/l) suplementado con MS 1/10 de  $\text{KNO}_3$  y  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  y caseína hidrolizada 500 mg/l, respectivamente; atribuyéndose, estos resultados, al efecto combinado de las sales minerales del Sulpomag y MS y los aditivos orgánicos suplementados (Montenegro-Juárez *et al.*, 2014).

En otro trabajo, Pollack y Oppenheimer (1999) no encontraron diferencias en el crecimiento de plantas de *Arabidopsis* al cultivarlas en medio de cultivo suplementado con 20-10-20, comparado con lo observado en el testigo, en el medio de cultivo MS; esta formulación NPK fue muy similar a la utilizada en el trabajo que se presenta en *I. batatas*. Asimismo, Azofeifa *et al.* (2008) reportaron un resultado similar al utilizar las formulaciones denominadas AMSF y AMSF+Intra, conformadas por combinaciones de sales minerales y fertilizantes comerciales, en la propagación *in vitro* de plantas de papa (*Solanum tuberosum*) cv. Atzimba. AMSF es una denominación convencional de un medio de cultivo preparado equiparando la molaridad de los macro y micronutrientes MS, con nueve productos comerciales; mientras que Intra es el producto comercial Intrafer® utilizado en la concentración de 0.66 ml.

En las variedades KSP 36 y KEMB 36 de *I. batatas*, después de cinco semanas del cultivo de segmentos nodales, en medio de cultivo suplementado con Epsom ( $\text{MgSO}_4$ ) el número de nudos formados fue 6.40 y 8.50, respectivamente, superando al medio de cultivo MS modificado que incorporó  $\text{MgSO}_4$  convencional; en medio de cultivo suplementado con  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  fue 4.60 y 5.30, respectivamente, resultando ligeramente inferior al medio de cultivo MS modificado, que incorporó  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  convencional; y en medio de cultivo suplementado con  $\text{KNO}_3$  fue 5.6 y 4.4, respectivamente, resultando ligeramente superior al medio de cultivo MS modificado que incorporó  $\text{KNO}_3$  convencional, aunque únicamente en la variedad KSP 36 (Mvuria y Ombori, 2014).

Los resultados obtenidos por estos autores en *I. batatas* con el uso de Epsom ( $\text{MgSO}_4$ ),  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  y  $\text{KNO}_3$  permitieron reducir los costos de producción con el uso de macronutrientes hasta 97.90%, prescindiendo de los nutrientes convencionales del medio de cultivo MS, sin observarse alteraciones fisiológicas ni modificaciones fenotípicas en las plántulas micropropagadas.

Un resultado similar —utilizando los mismos fertilizantes y reduciendo los costos hasta 94.70%— han sido reportados en las fases de iniciación y mutiplicación de banana (Gitonga *et al.*, 2010), y en el caso de la micropropagación de yuca (*Manihot esculenta*), utilizando sales de amonio *quarry*, Epsom y  $\text{KNO}_3$ , se redujeron los costos hasta 94.70% (Ogero *et al.*, 2012b), lo que guarda relación con los resultados exitosos obtenidos en *I. batatas*, donde MS fue sustituido por el fertilizante vegetativo Easygro, rico en micro y macronutrientes (Ogero *et al.*, 2012c). En el caso del presente estudio, con el uso de 12-12-12, el costo en la preparación de un litro de medio de cultivo se redujo en 7.60 veces.

El enraizamiento *in vitro* de plántulas de banano (*Musa sp. cv. Cavendishi*), respecto del número de raíces formadas, fue mejor en el tratamiento MS 1/5 suplementado con 250 y 500 mg/l de caseína hidrolizada (Montenegro-Juárez *et al.*, 2014), resultados concordantes con los datos que se presentan para *I. batatas*, donde MS 1/10 también indujeron un buen sistema radicular. Estos resultados fueron similares a los observados en la propagación *in vitro* de plántulas de *Laelia anceps*, donde la mayor formación y longitud de raíces ocurrió en los complejos fertilizantes Peters 25% (24-8-16) y Floren 25% (10-15-5), utilizados como sustitutos de MS, sin reguladores de crecimiento (Romero-Tirado *et al.*, 2007).

En las variedades KSP 36 y KEMB 36 de *I. batatas*, el medio de cultivo MS suplementado con Epsom,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  o  $\text{KNO}_3$ , posibilitaron que las plántulas *in vitro* fueran exitosamente aclimatadas en condiciones de invernadero (Mvuria y Ombori, 2014). En trabajos realizados en banano, la tasa de supervivencia y aclimatación en campo definitivo fue de 95 a 100% (Sandoval *et al.*, 1991; Montenegro-Juárez *et al.*, 2014). Todos estos resultados fueron similares a los obtenidos con las plántulas *in vitro* de camote aclimatadas, en el presente trabajo.

De manera general, en trabajos de campo realizados con fertilizantes químicos y orgánicos de cebolla (*Allium cepa*), entre los que se incluyó la urea, el análisis de varianza no mostró diferencia estadística significativa ( $P \geq 0.05$ ) entre tratamientos en varias características del desarrollo fenológico, como: altura de planta, diámetro del pseudotallo, número de hojas y diversas características productivas; atribuyéndose, la falta de respuesta del cultivo, a la aplicación de diferentes dosis y fuente de abonos, a las características fisiológicas y genóticas de la especie, más que a condiciones ambientales (Álvarez-Hernández *et al.*, 2011); hecho que no ha ocurrido con los fertilizantes ensayados en el trabajo que se presenta —donde se observaron diferencias muy significativas— destacando, ampliamente, 12-12-12 sobre nitrofoska foliar y urea.

Por otro lado, es posible atribuir los pobres resultados obtenidos con nitrofoska foliar al hecho de que la fertilización foliar (que es la nutrición a través de las hojas), es un complemento a la fertilización al suelo; y, además, su eficacia depende de varios factores que corresponden a la planta (cutícula, estomas y ectodesmos en la absorción foliar), el ambiente (temperatura, luz, humedad relativa y hora de aplicación) y la formulación foliar (pH y concentración de la solución, surfactantes y adherentes, sustancias activadoras, nutrimentos y el ion acompañante en la aspersión) (Trinidad y Aguilar, 1999); puesto

que, incluso, con el suplemento de MS 1/10, que simularía la fertilización al suelo en los cultivos *in vitro*, no se mejoró el efecto del fertilizante foliar. Sin embargo, en un estudio realizado en condiciones de campo, sobre el efecto de la fertilización foliar en el rendimiento y calidad de semilla y de cruza simples en maíz, se observó que los fertilizantes foliares tuvieron un efecto significativo sobre los porcentajes de germinación y de viabilidad, peso seco de parte aérea, de raíz y de plántula, pero no en floración media de los progenitores, ni en rendimiento ni calidad física (Zepeda *et al.*, 2002).

Asimismo, se estudió el efecto de la fertilización foliar con urea en combinación con fertilización a las raíces (solución de Steiner) en plantas de espinaca (*Spinacea oleracea*), observándose un incremento significativo sobre el contenido de proteínas solubles, aminoácidos libres, clorofila y la enzima Rubisco; observándose, también, que esta clase de fertilización combinada puede disminuir considerablemente la aplicación de fertilizantes al suelo, disminuyendo la contaminación del ambiente sin que se afecte la calidad proteica de la planta (Trejo-Téllez *et al.*, 2005).

## Conclusiones

El estudio realizado en la propagación *in vitro* de camote *Ipomoea batatas* en medio de cultivo MS suplementado con urea, 12-12-12 y nitrofoska foliar, determinó que la mejor formulación ensayada fue la que incorporó MS 1/10 suplementadas con 12-12-12 a 1/2N (C1) y 1N (C2), capaz de reemplazar exitosamente a la formulación completa MS. Esta formulación permitió reemplazar significativamente los macronutrientes  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  y  $\text{KNO}_3$ . No obstante de observarse un efecto varietal en el crecimiento, aun en los cultivares que mostraron menor crecimiento, las plántulas no exhibieron deficiencias fisiológicas, por el contrario, alcanzaron tasas de supervivencia y aclimatación de 100%.

## Agradecimiento

Los autores agradecen al Profr. Jorge Chanamé Céspedes, por su apoyo en la interpretación de los análisis estadísticos.

## Literatura citada

- Álvarez-Hernández, J.C.; Venegas-Flores, S.; Soto-Ayala, C.; Chávez-Vargas, A. y Zavala-Sánchez, L. (2011). Uso de fertilizantes químicos y orgánicos en cebolla (*Allium cepa* L.) en Apatzingán, Michoacán, México. *Avances en Investigación Agropecuaria* 15(2):29-43.
- Austin, D.F. y Huamán, Z. (1996). A synopsis of *Ipomoea* (Convolvulaceae) in the Americas. *Taxon* 45:3-38.
- Azofeifa, A.; Guevara, E. y Jiménez, V.M. (2008). Uso de abonos foliares comerciales en la elaboración de medios de cultivo in vitro. *Agronomía Costarricense* 32(2):149-160.
- APG (The Angiosperm Phylogeny Group). (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society* 181 (1):1-20.
- Bazán-Zafra, B.; Rojas-Idrogo, C. y Delgado-Paredes, G.E. (2014). *In vitro* conservation of sweet potato under slow-growth conditions with abscisic acid. *Journal of Biology* 2(2):25-31.
- Delgado-Paredes, G.E.; Rojas-Idrogo, C.; Chanamé-Céspedes, J.; Floh, E.I.S. y Handro, W. (2016). *In vitro* direct organogenesis in roots of *Ipomoea batatas*. *Asian Journal of Plant Science & Research* 6(3):17-27.

- Gamborg, O.L.; Miller, R.A. y Ojima, K. (1968). Nutrient requeriment of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental Cell and Research* 50(1):151-158.
- Ganapathi, T.R.; Mohan, J.S.S.; Suprasanna, P.; Bapat, V.A. y Rao, P.S. (1995). A low-cost strategy for *in vitro* propagation of banana. *Current Science* 68(6):646-650.
- Gitonga, N.M.; Ombori, O.; Murithi, K.S.D. y Ngugi, M. (2010). Low technology tissue culture materials for initiation and multiplication of banana plants. *African Crop Science Journals* 18(4):243-251.
- Gutiérrez, C. (1996). *Propagación clonal in vitro de Cattleya por medio de meristemas*. En: Memoria X Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. Vol. 1. San José, Costa Rica. p. 302. EUNED/EUNA (Editoriales Universitarias Públicas Costarricenses).
- Kaewduangta, W. y Reamkatog, P. (2011). Effect of modification on growth development of *Dendrobium parishii in vitro*. *American-Eurasian Journal Agriculture & Environmental Science* 11(1):117-121.
- IAEA (Organismo Internacional de Energía Atómica). (2004). *Informe Anual 2004*. Viena, Austria. 99 pp.
- Linsmaier, E.M. y Skoog, F. (1965). Organic growth factor requirements of tobacco tissue culture. *Physiology Plantarum* 18:100-127.
- Montenegro-Juárez, F.E., Rojas-Idrogo, C.; Quevedo-Calle, D. y Delgado-Paredes, G.E. 2014. Efecto del sulpomag y complejos orgánicos como sustitutos parciales del medio de cultivo de micropropagación de *Musa sp. cv. Cavendishi*. *Agronomía Costarricense* 38(1):147-159.
- Murashige, T. y Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15:473-497.
- Mvuria, J.M. y Ombori, O. (2014). Low cost macronutrients in the micropropagation of selected sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam] varieties. *Journal of Agriculture and Environmental Sciences* 3(1):89-101.
- Ogero, K.O.; Mburugu, G.N.; Mwangi, M.; Ombori, O. y Ngugi, M. (2012a). *In vitro* micropropagation of cassava through low cost tissue culture. *Asian Journal of Agricultural Sciences* 4(3):205-209.
- Ogero, K.; Gitonga, N.M.; Mwangi M.; Ombori, O. y Ngugi, M. (2012b). Cost-effective nutrient sources for tissue culture of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *African Journal of Biotechnology* 11(66):12964-12973.
- Ogero, K.O.; Mburugu G.N.; Mwangi, M.; Ngugi, M.M. y Ombori, O. (2012c). Low cost tissue culture technology in the regeneration of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). *Research Journal of Biology* 2(2):51-58.
- Pollack, M.A. y Oppenheimer, D.G. (1999). Inexpensive alternative to MS medium for selection of *Arabidopsis* plants in culture. *Bio/Technique* 26(2):254-257.
- Rabah, I.O.; Hou, D.X.; Komine, S.I. y Fuji, M. (2004). Potential chemopreventive properties of extract from baked sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam. Cv. Koganesengan). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(23):7152-7157.
- Rego-Oliveira, L.V. y De Faria, R.T. (2005). *In vitro* propagation of Brazilian orchids using traditional culture media and commercial fertilizers formulations. *Acta Scientiarum. Agronomy, Maringá* 27(1):1-5.
- Romero-Tirado, R.; Luna, B. y Barba, A. (2007). Uso de complejos comerciales como sustitutos de componentes del medio de cultivo en la propagación *in vitro* de *Laelia anceps*. *Lankesteriana* 7(1-2):353-356.
- Sandoval, J.A.; Brenes, G. y Sánchez, L.P. (1991). *Micropropagación de plátano y banano (Musa AAB, AAA) en el CATIE. Serie Técnica. Informe Técnico No. 186*. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica. 24 pp.
- Santa María, M.K.; Pecota, C.G.; Yencho, C.G.; Allen, G. y Sosinski, B. (2009). Rapid shoot regeneration in industrial 'high starch' sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) genotypes. *Plant Cell, Tissue & Organ Culture* 97(1):109-117.
- Schenk, R.U. y Hildebrandt, A.C. (1972). Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Canadian Journal of Botany* 50(1):199-204.
- Sefasi, A. y Nankinga, G. (2010). Preparation of solutions and media for sweet potato tissue culture. In: Y. Baguma, R. Kawuki, M. Otim, C.W. Masinga y C. Mugoya (Eds.). *Tissue Culture Conservation Biotechnology, Virus Indexing and Seed Systema for Vegetative Crops* (pp. 10). A Training Manual. Source URL: Disponible en la red mundial en: <http://www.asareca.org/~asareca/publication/tissue>

- culture-conservation-biotechnology-virusindexing-and-seed-systems-vegetative (Consultado el 24 de abril del 2016).
- Trejo-Téllez, L.I.; Gómez-Merino, F.C.; Rodríguez-Mendoza, Ma. N. y Alcántar-González, G. (2005). Fertilización foliar con urea en la partición de nitrógeno en espinaca. *Terra Latinoamericana* 23(4):495-503.
- Trinidad, A. y Aguilar, D. (1999). Fertilización foliar, un respaldo importante en el rendimiento de los cultivos. *Terra Latinoamericana* 17(3):247-255.
- Vasil, I.K. (2008). A history of plant biotechnology: from the Cell Theory of Schleiden and Schwann to biotech crops. *Plant Cell Reports* 27(9):1423-1440.
- Yang, X.; Yang, Z. y Gao, F. (2006). Advances in anthocyanin pigments from purple sweet potato. *Chinese Agricultural Science Bulletin* 22(4):94-98.
- Zepeda, R.; Carballo, A.; Alcántar G.; Hernández, A. y Hernández, J.A. (2002). Efecto de la fertilización foliar en el rendimiento y calidad de semilla de cruza simples en maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana* 25(4):419-426.

Recepción: 23 de septiembre de 2016

Envío arbitraje: 05 de octubre de 2016

Dictamen: 20 de julio de 2017

Aceptación: 18 de agosto de 2017

# Caracterización física y microbiológica del almidón de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) producido en Canuto-Manabí (Ecuador)

Physical and microbiological characterization of cassava starch (*Manihot esculenta* Crantz) produced in Canuto-Manabi (Ecuador)

Ladys M. Álava Moreira, Beatriz M. Bravo Zamora, José F. Zambrano Ruedas,\* Dennys L. Zambrano Velásquez y Rosanna K. Loor Cusme

Carrera de Ingeniería Agroindustrial  
Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López”  
Campus Politécnico, Sitio EL Limón, vía a La Pastora  
Calceta, Manabí (Ecuador).

\* Correspondencia: jfernando86@hotmail.es

## Resumen

La investigación tuvo como finalidad determinar las características físicas y microbiológicas del almidón de yuca (*Manihot esculenta*) producido en la parroquia Canuto del cantón Chone. El aporte científico del estudio de las mencionadas cualidades permitirá el mejoramiento del proceso de elaboración del producto; para tal efecto, se seleccionaron 30 productores de las localidades (Bejuquillo, Tarugo, La Loza, San Elías, Olla Vieja, Pichilingo). Se aplicó una ficha de observación y encuesta para recoger información primaria sobre la producción, proceso y comercialización del producto. Se evaluó la calidad física (porcentaje de humedad y cenizas) y microbiológica (mohos, levaduras, *Escherichia coli* y *Salmonella*) de 30 muestras de almidón y se determinó el porcentaje de humedad con un rango entre 10.49 y 15.57%; cenizas entre 0.10, y 0.44%; mientras que los análisis microbiológicos indican que en el 17% de las muestras hubo presencia de mohos (*Mucor spp*, *Aspergillus spp* y *Penicillium spp*), el 13% evidenció levaduras, y un 43% presentó

## Abstract

The purpose of the investigation was to determine the physical and microbiological characteristics of cassava starch (*Manihot esculenta*) produced in the parish Canuto of the Chone Canton. The scientific contribution of the study of the aforementioned qualities will allow the improvement of the process of elaboration of the product, for the effect were selected 30 producers of the localities (Bejuquillo, Tarugo, La Loza, San Elías, Olla Vieja, Pichilingo). A data sheet and survey was applied to collect primary information on the production, process and commercialization of the product. We assessed the physical quality (percentage of moisture and ashes) and microbiological (molds, yeasts, *Escherichia coli* and *Salmonella*) of 30 samples of starch and determined the percentage of humidity with a range between 10.49 and 18.99%; ashes between 0.10 and 0.44% while microbiological analyses indicate that in 17% of the samples there was presence of molds, (*Mucor spp*, *Aspergillus spp* and *Penicillium spp*), 13% showed yeast and 43% presented *E. coli*,

*E. coli*, con ausencia de *Salmonella*. El alto contenido de humedad en las muestras analizadas, genera una condición favorable para el desarrollo de microorganismos; de ello se evidenció que el 73.34% de las muestras presentaron mohos, levaduras, *E. coli*, y el 26.66% de las muestras de almidón mostraron esterilidad comercial. Se comprobó la incidencia de un alto incumplimiento de las buenas prácticas de procesamiento y la presencia de animales domésticos que demeritan la calidad del producto.

### Palabras clave

Almidón, calidad física, secado, levaduras, bacterias.

with absence of salmonella. The high moisture content in the analyzed samples generates a favorable condition for the development of microorganisms; it was evident that the 73.34% of the samples showed molds, yeast, *E. coli* and 26.66% of the starch samples showed commercial sterility. The incidence of a high failure to comply with good processing practices and the presence of domestic animals that demerit the quality of the product was verified.

### Keywords

Starch, physical quality, drying, yeast, bacteria.

## Introducción

El almidón es una materia prima fundamental con múltiples aplicaciones en la industria alimentaria, textil, de papel y adhesivos. Otras aplicaciones potenciales son la producción de dextrosa y derivados, así como la obtención de alcohol (Suárez y Mederos, 2012). Debido a que el almidón es el polisacárido más utilizado como ingrediente funcional (espesante, estabilizante y gelificante), es necesario buscar nuevas fuentes de extracción, ya que con una producción mundial de 48.50 millones de t/año, existe una demanda insatisfecha del mismo (Hernández *et al.*, 2008).

Su producción es común en toda América Latina; particularmente, en Brasil, Colombia y Paraguay (Vargas, 2010). Este producto se conoce como almidón agrio, el cual es utilizado en ciertos productos de panadería. La creciente demanda de almidones para la producción alimenticia, ha creado interés en nuevas fuentes de obtención de este polisacárido, a partir de materia como hojas, semillas de leguminosas y frutas (Betancurt-Ancona *et al.*, 2004).

Entre las materias primas que pueden ser utilizadas como nuevas fuentes de extracción de este polímero, se encuentran los tubérculos, tal como lo mencionan Hernández *et al.* (2008); ya que éstos juegan un papel significativo en el sistema global de alimentación.

Según Guízar *et al.* (2008), los tubérculos de muchas plantas y sus almidones representan un importante subsidio alimenticio en los países tropicales y subtropicales; existen especies que proporcionan casi un 99% de la producción mundial de almidón; éstas son: papa (*Solanum tuberosum*, 46%), yuca (*Manihot esculenta*, 28%), papa dulce (*Ipomoea batatas*, 18%), ñame (*Dioscorea spp.*, 6%).

El proceso de extracción de almidón de yuca presenta puntos críticos, según menciona Vargas (2010); la etapa de la fermentación es la base de la producción de un almidón agrio de calidad. La mayoría de los investigadores en el tema concluyen que el pH

ideal para iniciar el proceso de secado del almidón es entre 3.50 y 4; al finalizar el proceso de fermentación, se realiza el secado del almidón agrio.

Asimismo, Vargas *et al.* (2012), mencionan que el almidón agrio se produce a partir de la fermentación ácido-láctica natural, durante 20 a 30 días, seguido por un secado al sol.

Por otra parte, Meneses *et al.* (2007), indican que el almidón nativo o dulce se caracteriza por no someterse al proceso de fermentación; sino que, una vez culminada la sedimentación, es secado al sol.

Ambos productos (dulce y agrio) artesanales son típicos en la provincia de Manabí, representan la principal fuente de ingreso económico para las familias; consecuentemente, el producto carece de registro sanitario como aval de inocuidad. De ahí la importancia del aporte científico en efectuar un diagnóstico sobre el procesamiento y comercialización del almidón de yuca (*Manihot esculenta*), mediante la evaluación de su calidad física y microbiológica; el cual es producido en la parroquia Canuto, del cantón Chone, para beneficio de los productores del mismo.

## Materiales y métodos

### *Tipo de investigación*

Es una investigación descriptiva basada en la recopilación de información primaria respecto de la producción, proceso y comercialización del almidón de yuca, que sirve como antecedente para nuevas propuestas referentes a la calidad final del producto.

### *Procedimiento*

Esta investigación se desarrolló en dos fases: diagnóstico y muestreo; donde se consideraron 30 productores como muestra (de un total de 43), de la parroquia Canuto, Ecuador. Se tomó como referencia el teorema de límite central (Walpole *et al.*, 2012).

### *Diagnóstico*

Se acudió a los diferentes sitios de la parroquia Canuto (Bejuquillo, Tarugo, La Loza, San Elías, Pichilingo, Olla Vieja) para evaluar —mediante una ficha de observación— si se cumplían con las buenas prácticas de manufactura para producción de alimentos, según la FAO (1999), que indica tener en cuenta las posibles fuentes de contaminación del ambiente.

En particular, la producción primaria de alimentos no se debe llevar a cabo en zonas donde exista la presencia de sustancias posiblemente peligrosas, agua contaminada con microorganismos patógenos y presencia de animales de crianza (aves, cerdos) que conduzcan a un nivel inaceptable de estas sustancias en los productos alimenticios; se debe cumplir con la correcta producción higiénica, manipulación, almacenamiento y transporte; además de llevar a cabo la limpieza, mantenimiento e higiene del personal involucrado en la producción primaria.

La aplicación de la encuesta se realizó para obtener información primaria sobre la producción, proceso, comercialización del almidón y cumplimiento de BPM (Buenas Prácticas de Manufactura).

### *Toma de muestra*

Se inició con la toma de muestra de 250 g de almidón de yuca por cada productor (30 productores), envasándolas en recipientes estériles, rotulados e identificados con nombres y apellidos de los productores y el sitio de origen.

### *Técnicas analíticas*

Se realizaron los análisis físicos de humedad, de acuerdo a la metodología descrita por NTE INEN 0464 (1980); cenizas, según NTE INEN 0467 (1981); y microbiológicos, para el conteo de mohos; levaduras, según la técnica descrita en NTE INEN 1529-10 (2013); *Salmonella* sp, por INEN 1529-15 (2009); y *Escherichia coli*, de acuerdo a INEN 1529-8 (2015).

Todos los análisis fueron realizados en los laboratorios de Bromatología y Microbiología de la carrera de Agroindustria de la ESPAM “MFL” (Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López”).

### *Análisis estadístico*

Para determinar la cantidad de productores de almidón de yuca a investigar, se realizó un muestreo mediante el teorema del límite central, que consistió en tomar como muestra 30 productores de diferentes localidades de la parroquia Canuto; las pruebas estadísticas del análisis físico y de los análisis microbiológicos se realizaron en la hoja de cálculo de Microsoft Excel, mediante la aplicación de la estadística descriptiva (histograma, media y rango).

## Resultados

### *Diagnóstico de producción del almidón de yuca*

Los datos obtenidos del diagnóstico de procesamiento de almidón de yuca (cuadro 1) mostraron que el 93% de los productores realizan el lavado de la yuca después del pelado, utilizando agua no tratada de pozo (100 %), el 97% cuenta con maquinarias o equipos en buen estado, mientras que el 3% cuenta con máquinas o equipos en mal estado. El 40% de productores cumple con un área de procesamiento libre de animales domésticos, el 60% no cumple con dicho aspecto. En cuanto al uso de mandil de plástico, botas, cofias por parte del personal que trabaja en el proceso del almidón, sólo el 7% de procesadoras cumplen; así, el 93% de procesadoras incumplen ante dicha observación.

## Cuadro 1

## Datos obtenidos del diagnóstico de procesamiento de almidón de yuca.

Ficha de observación del almidón de yuca	Cumple		No cumple	
	No.	%	No.	%
Lava la yuca después del pelado	28	93	2	7
Utilizan agua tratada, como el agua potable, para la elaboración del almidón	0	0	30	100
Las maquinarias o equipos se encuentran en buen estado y funcionamiento	29	97	1	3
El lugar donde se procesa el almidón está libre de animales domésticos	12	40	18	60
El personal que trabaja en el proceso del almidón usa mandiles de plástico, botas, cofias, entre otros	2	7	28	93

El cuadro 2 indica que el secado del almidón de yuca depende de las estaciones del año: en días soleados (como en el verano) la mayoría de los productores (21) realizan el secado en un día; mientras que en días de poco sol (como en el invierno) catorce productores lo secan durante más de cuatro días.

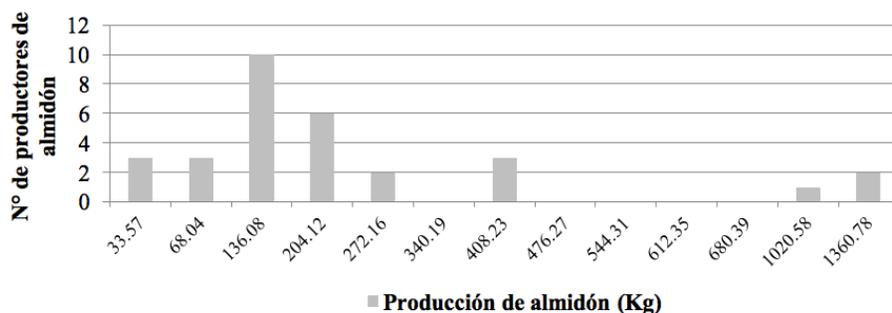
## Cuadro 2

## Periodos de secado del almidón de yuca.

Días de secado del almidón de yuca en días soleados	Productores	Días de secado del almidón de yuca en días de poco sol	Productores
1	21	1	1
2	6	2	9
3	3	3	6
4	0	>4	14
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>Total</b>	<b>30</b>

Como se aprecia en la figura 1, diez productores procesan diariamente 136.08 kg de producto; por otra parte, seis productores obtienen 204.12 kg; mientras que tres productores producen 33.57, 68.04 y 408.23 kg. Sin embargo, dos de los productores procesan 272.16 y 1,360.78 kg, y un productor obtiene en almidón 1,020.58 kg, dicho comportamiento refleja una heterogeneidad entre los productores.

Figura 1  
Producción promedio diaria de almidón (kg).



### Evaluación física

En el diagnóstico de análisis físico y microbiológico se evidencia que el 93% (28 productores) manifestaron no haber realizado análisis de laboratorio al almidón (cuadro 3); sin embargo, un 7% (dos productores) respondieron haber realizado análisis de humedad, cenizas, mohos, levaduras, bacterias (*Escherichia coli*, *Salmonella*).

Cuadro 3

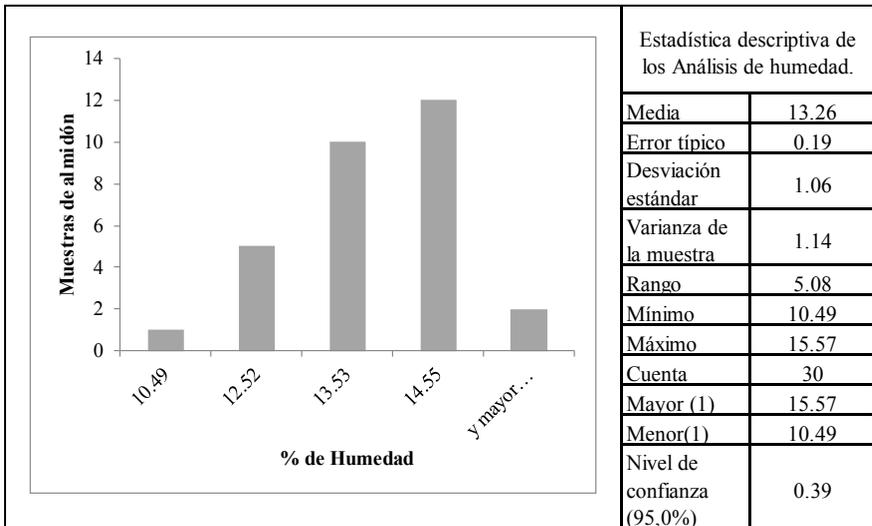
### Análisis de laboratorio realizados por los productores al almidón de yuca.

Análisis de laboratorio	Pro-duc-tores	%	Análisis realizados por productores					
			Humedad	Ceni-zas	Mohos y levaduras	Coliformes fecales	<i>Esche-richia coli</i>	<i>Salmo-nella</i>
Sí	2	7	2	1	2	1	2	1
No	28	93						
<b>Suma total</b>	<b>30</b>	<b>100</b>						

Al determinar el porcentaje de humedad de las muestras, tal como lo indica la figura 2, el rango está entre 10.49 y 15.57%, con una media de 13.26% (figura 5).

Figura 2

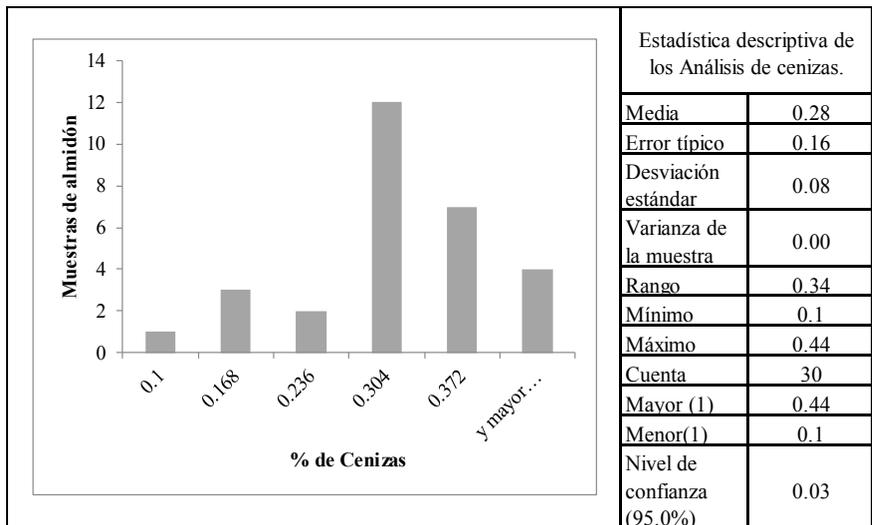
Análisis de humedad en 30 muestras de almidón de yuca.



En cuanto al porcentaje de cenizas determinado en las 30 muestras de almidón (figura 3), se evidencian resultados entre 0.10 y 0.44%, y la media en 0.28%.

Figura 3

Análisis de cenizas en 30 muestras de almidón de yuca.



### *Evaluación microbiológica*

Tal como se menciona en el cuadro 4, los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos realizados a las 30 muestras de almidón, evidenciaron que el 17% (cinco muestras) presentaron mohos (*Mucor spp*, *Aspergillus spp* y *Penicillium spp*), con un máximo de  $3 \times 10^3$  UFC/g<sup>-1</sup>, el 13% (cuatro muestras) reveló levaduras, con un máximo de  $6 \times 10^3$  UFC/g<sup>-1</sup>, el 43% (13 muestras) *Escherichia coli*, con un máximo de  $8.8 \times 10^2$  UFC/g<sup>-1</sup>; y todas las muestras reportaron ausencia de *Salmonella*.

## Cuadro 4

## Resultados microbiológicos de las 30 muestras de almidón de yuca.

No. de productor	Análisis microbiológicos			
	Mohos UFC/g <sup>1</sup>	Levaduras UFC/g <sup>1</sup>	<i>Salmonella</i> UFC/25g <sup>1</sup>	<i>E. coli</i> UFC/g <sup>1</sup>
1	-	-	-	1x10 <sup>2</sup>
2	-	-	-	-
3	-	-	-	4x10 <sup>2</sup>
4	1x10 <sup>3</sup> ( <i>Mucor spp</i> )	-	-	3x10 <sup>2</sup>
5	-	-	-	2.8x10 <sup>2</sup>
6	-	-	-	-
7	-	-	-	-
8	-	-	-	4x10 <sup>2</sup>
9	-	6x10 <sup>3</sup>	-	-
10	-	-	-	-
11	-	-	-	1.69x10 <sup>2</sup>
12	3x10 <sup>3</sup> ( <i>Mucor spp</i> )	-	-	-
13	1x10 <sup>3</sup> ( <i>Mucor spp</i> )	3x10 <sup>3</sup>	-	-
14	-	-	-	1x10 <sup>2</sup>
15	-	-	-	-
16	1x10 <sup>3</sup> ( <i>Aspergillus spp</i> )	-	-	1.28x10 <sup>2</sup>
17	-	-	-	-
18	-	-	-	1.02x10 <sup>2</sup>
19	-	-	-	1.08x10 <sup>2</sup>
20	-	-	-	1x10 <sup>2</sup>
21	-	-	-	8.8x10 <sup>2</sup>
22	-	-	-	3x10 <sup>2</sup>
23	-	-	-	2x10 <sup>2</sup>
24	-	-	-	-
25	-	5x10 <sup>3</sup>	-	-
26	-	1.8x10 <sup>3</sup>	-	1.17x10 <sup>2</sup>
27	1x10 <sup>3</sup> ( <i>Penicillium spp</i> )	1.3x10 <sup>3</sup>	-	-
28	-	5.1x10 <sup>3</sup>	-	-
29	-	-	-	3x10 <sup>2</sup>
30	-	-	-	-

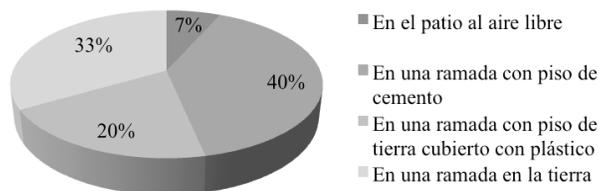
- : Ausencia

## Diagnóstico del proceso y comercialización del almidón de yuca

En la figura 4 se detalla que el 40% (12 productores) realizan la recepción de la yuca en una ramada con piso de cemento, con el fin de aislar (de algún modo) la yuca de las impurezas de la tierra; sin embargo, el 33% (10 productores) utilizan una ramada con piso de tierra.

Figura 4

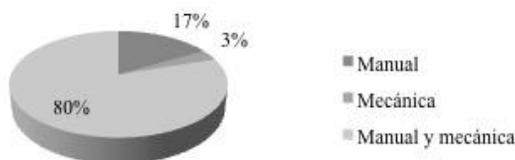
Condiciones del lugar de recepción de la yuca, previa a la etapa de proceso.



En las formas de realizar los procesos posteriores al pelado, como el rallado y colado, el 80% (24 productores) lo hacen de forma manual y mecánica; mientras que el 17% (5 productores) manifestaron realizarlo de forma manual, y el 3% (1 productor) aplica un proceso únicamente mecanizado (figura 5).

Figura 5

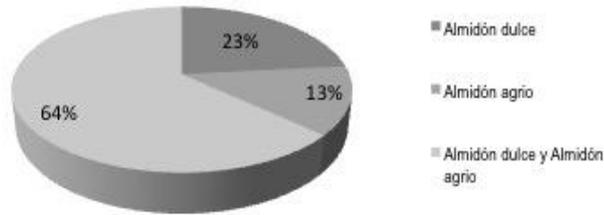
Tipos de procesos post-pelado.



En la figura 6 se muestran los tipos de almidón que generalmente elaboran los productores: el 64% (19 productores) produce almidón dulce y agrio, un 23% (7 productores) producen almidón dulce, y un 13% (4 productores) produce almidón agrio.

Figura 6

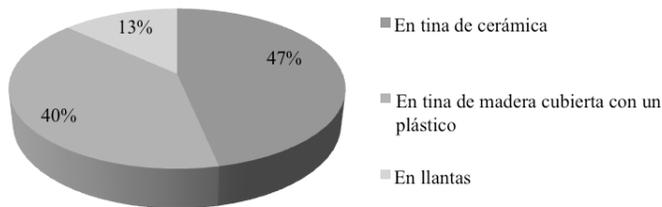
Clases de almidón elaborado.



El 47% de los productores utilizan tinajas de cerámica para sedimentar el producto después de haber sido previamente colado, el 40% (12 productores) usan tinajas de madera cubiertas con plástico, y un 13% (4 productores) usan llantas (figura 7).

Figura 7

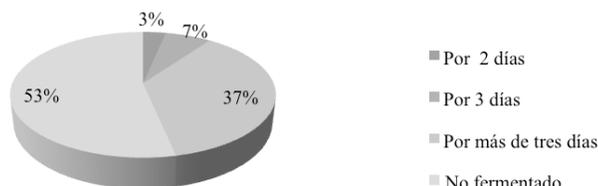
Recipientes utilizados para la sedimentación.



En lo que respecta al tiempo de fermentación, el 53% de los productores (16) no dejan fermentar el almidón (por tratarse de almidón dulce o nativo, que no requiere de fermentación), el 37% de los productores (11) lo dejan fermentar por más de tres días, mientras que el 7% lo fermentan durante tres días y el 3% lo fermenta por dos días (figura 8).

Figura 8

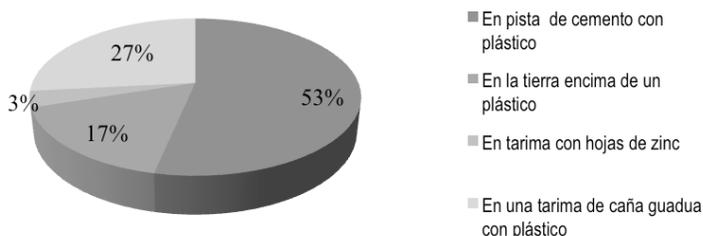
Tiempo de fermentación del almidón de yuca en base húmeda.



En la figura 9 se detallan los lugares donde se realiza el secado del almidón en base húmeda: el 53% de los productores (16) lo realizan en una pista de cemento, la cual cubren con una manta de plástico (con la finalidad de proteger el producto del contacto directo con el piso), el 27% de los productores (8) usan tarimas de caña guadua cubiertas con mantas de plástico; sin embargo, un 17% de los productores (5) lo secan en la tierra encima de una manta de plástico, y un 3% de los productores (1) lo secan en tarimas sobre hojas de zinc.

Figura 9

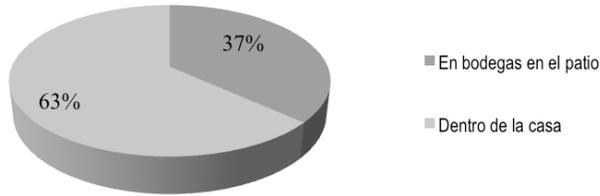
Lugares donde se seca el almidón de yuca en base húmeda.



Al referirse a los lugares de almacenamiento del almidón —como lo indica la figura 10— la opción dentro de la casa mantuvo un 63% (19 productores), y el 37% (11 productores) lo almacenan en bodegas en el patio.

Figura 10

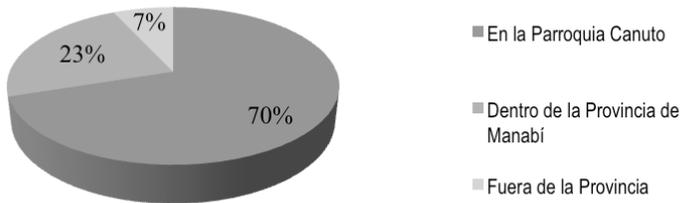
Almacenamiento del almidón de yuca.



El 70% (21 productores) comercializan el almidón en la misma parroquia Canuto, el 23% (siete productores) lo comercializan en otros cantones de la provincia (figura 8); en tanto que el 7% (dos productores) respondieron que tienen vías de comercialización del almidón fuera de la provincia de Manabí (figura 11).

Figura 11

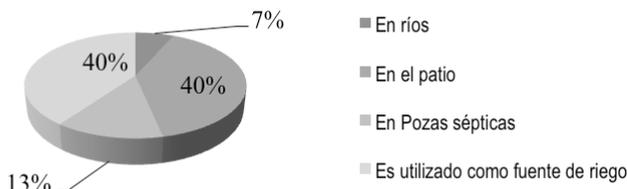
Comercialización del almidón de yuca.



Los desechos que se originan en el proceso de obtención del almidón son los residuos líquidos; y, tal como lo señala la figura 12, el 40% (12 productores) lo utilizan como fuente de riego para el cacao y el plátano; este mismo porcentaje lo desechan en el patio sin ningún fin, el 13% (4 productores) lo descarta en pozas sépticas, y un 7% (dos productores) lo eliminan, tirándolo al río.

Figura 12

Lugares donde son desechados los residuos líquidos.



## Discusión

Los componentes para la calidad del almidón de yuca no están dentro de los rangos o límites permisibles por las normas INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización), debido a: la falta de cumplimiento de vestimenta adecuada por parte del personal, el uso de agua no tratada, y la ejecución del procesamiento en lugares abiertos, donde existe contaminación cruzada de microorganismos patógenos (debido a la presencia de animales domésticos e impurezas del suelo).

En cuanto a la evaluación de las muestras, en el análisis de humedad, ninguna se ajusta a los parámetros recomendados por *Alvis et al.* (2008), entre 7.80% y 8.47%; mientras que *Morales et al.* (2012) sostienen que materiales que contienen más del 12% de humedad presentan una menor estabilidad en el almacenamiento; la falta de infraestructura en la mayoría de los productores (secaderos) provocó que las medias de humedad estén por encima de las sugeridas por los autores antes mencionados, esto provoca que el producto tenga grumos, lo que reduce su calidad tanto física como microbiológica; ya que se encontró mayor presencia de microorganismos en el almidón con humedad superior a la media, 13.26%.

En el análisis del contenido de cenizas, las muestras se ajustan a lo recomendado por *Alvis et al.* (2008), ya que el rango debe estar entre 0.11% y 0.16%.

En los análisis microbiológicos, al comparar los resultados obtenidos con la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 2051:95 (1995), se observa que el 17% de las muestras superan el límite máximo permitido en mohos y levaduras —que es de 500 UFC/g<sup>-1</sup>—; el 43% de las muestras superan el límite máximo permitido de *E. coli*, que es de 0 UFC/g<sup>-1</sup>, y el 100% de muestras concuerdan con el límite máximo permitido en *Salmonella*, que es de 0 UFC/25g<sup>-1</sup>.

En lo que respecta a *E. coli*, *Fernández y Padola* (2013), indican que es la bacteria anaerobia facultativa más abundante de la flora normal del tracto gastrointestinal que se coloniza en los mamíferos recién nacidos y en las aves. En consecuencia, las *E. coli* ambientales se interpretan como resultado de contaminación fecal (*Souza et al.*, 2013).

En referencia a la comercialización del producto, ningún productor exporta el almidón, pues el hecho de no contar con registros sanitarios que certifiquen la calidad e inocuidad del producto, crea límites al momento de comercializarlo.

Respecto al desecho de residuos líquidos del proceso de obtención del almidón, la mayoría de los productores, a este tipo de desecho no le dan un mejor tratamiento para evitar el impacto ambiental. Las aguas residuales del proceso de extracción de almidón de yuca se caracterizan por ser un residuo acidificado con alta carga contaminante (Cajigas *et al.*, 2005).

## Conclusiones

La principal fuente de ingreso económico para muchas familias de las diferentes localidades de la parroquia Canuto es la producción de almidón de yuca; sin embargo, se evidenció un alto incumplimiento de las buenas prácticas de procesamiento: especialmente, en la forma de secado, dado que se realiza en pistas de cemento al aire libre, o en la tierra (encima de una manta de plástico), en donde existe la presencia de animales domésticos, y microorganismos patógenos que demeritan la calidad del producto.

El alto contenido de humedad detectado en las muestras analizadas, puede generar mayores probabilidades para el desarrollo de microorganismos; de ello fue notorio que el 73.34% de las muestras presentaron mohos, levaduras, *E. coli*, y el 26.66% de las muestras de almidón mostraron esterilidad comercial.

## Literatura citada

- Alvis, A.; Vélez, C.; Villada, H. y Mendoza, M. (2008). Análisis físico-químico y morfológico de almidones de ñame, yuca y papa y determinación de la viscosidad de las pastas. *Revista Información Tecnológica* 19 (1): 19-28.
- Betancur-Ancona, D.; Gallegos-Tintoré, S. y Chel-Guerrero, L. (2004). Wet-fractionation of *Phaseolus lunatus* seeds: partial characterization of starch and protein. *Journal of the Science and Food Agriculture* 84 (10): 1193-1201.
- Cajigas, A.; Pérez, A. y Torres, P. (2005). Importancia del pH y la alcalinidad en el tratamiento anaeróbico de las aguas residuales del proceso de extracción de almidón de yuca. *Scientia et Technica* 27 (0): 243-248.
- FAO (Food and Agriculture Organization). (1999). *Higiene de los alimentos textos básicos*. Disponible en: <http://www.fao.org> (Consultada el 8 de mayo de 2017).
- Fernández, D. y Padola, N. (2013). *Escherichia coli* verocitotóxico: varias cuestiones y los tambos también. *Revista Argentina de Microbiología* 44 (4): 312-323.
- Guízar, A.; Montañez, J. y García, I. (2008). Parcial caracterización de nuevos almidones obtenidos del tubérculo de camote del cerro (*Dioscorea spp*). *Revista Iberoamericana de Tecnología Poscosecha* 9 (1): 81-88.
- Hernández, M.; Torruco, J.; Chel, L. y Betancur, D. (2008). Caracterización físicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán. *Revista Cienc. Tecnol. Aliment.* 28 (3): 718 -726.
- Meneses, J.; Corrales, C. y Valencia, M. (2007). Síntesis y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca. *Revista EIA*. 4 (8): 57-67.
- Morales, M.; Rodríguez, E. y Sepúlveda, J. (2012). Evaluación de las propiedades físicas y texturales del buñuelo. *Revista Lasallista de Investigación* 9 (2): 112-121.
- NTE INEN 0464. (1980). *Harina de pescado. Determinación de la pérdida por calentamiento*. Disponible en: <http://www.normalización.gob.ec/> (Consultada el 17 de septiembre de 2014).
- NTE INEN 0467. (1981). *Harina de pescado determinación de las cenizas*. Disponible en: <http://www.normalización.gob.ec/> (Consultada el 17 de septiembre de 2014).
- NTE INEN 1529-8. (2015). *Control microbiológico de los alimentos. Determinación de coliformes fecales y E. coli*. Disponible en: <http://www.normalización.gob.ec/> (Consultada el 22 de enero de 2017).
- NTE INEN 1529-10. (2013). *Control microbiológico de los alimentos. Mohos y levaduras viables*. Disponible en: <http://www.normalización.gob.ec/> (Consultada el 12 de noviembre de 2014).

- NTE INEN 1529-15. (2009). *Control microbiológico de los alimentos. Salmonella. Método de detección*. Disponible en: <http://www.normalización.gob.ec/> (Consultada el 22 de septiembre de 2014).
- NTE INEN 2051-95. (1995). *Granos y cereales. Maíz molido, sémola, harina, critz. Requisitos*. Disponible en: <http://www.normalización.gob.ec/> (Consultada el 22 de septiembre de 2014).
- Suárez, L. y Mederos, V. (2012). Apuntes sobre el cultivo de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz). *Revista Cultivos Tropicales* 32 (3): 27-35.
- Souza, V.; Castillo, A.; Rocha, M.; Sandner, L.; Silva, C. y Eguiarte, L. (2013). Ecología evolutiva de *Escherichia coli*. *Revista Interciencia* 26 (10): 513-517.
- Vargas, P. (2010). Obtención de almidón fermentado a partir de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) variedad valencia, factibilidad de uso en productos de panadería. *Revista Tecnología en Marcha* 23 (3): 15-23.
- Vargas, P.; Araya, Y.; López, R. y Bonilla, A. (2012). Características de calidad y digestibilidad *in vitro* del almidón agrio de yuca (*Manihot esculenta*) producido en Costa Rica. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos* 3 (1): 001-013.
- Walpole, R.; Myers, R.; Myers, S. y Ye, K. (2012). *Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias*. 9ª. Ed., México, Pearson, 234 pp.

Recepción: 10 de enero de 2017

Envío arbitraje: 30 de enero de 2017

Dictamen: 18 de abril de 2017

Aceptado: 3 de agosto de 2017

# Efecto de la fertilización orgánica y de síntesis química en tomate verde (*Physalis ixocarpa* Brot. Ex Horn) en Calakmul, Campeche (México)

The effect of organic and chemical fertilization in green tomato plants (*Physalis ixocarpa* Brot. Ex Horn) in Calakmul, Campeche (Mexico)

**Yuriko Pilar Cruz Koizumi, José Armando Alayón Gamboa\* y Alejandro Morón Ríos**

Departamento de Conservación de la Biodiversidad ECOSUR-  
Unidad Campeche  
Av. Rancho Polígono 2A, Ciudad Industrial  
Lerma Campeche, Campeche (México) (C. P. 24500).  
Tel. 01(981) 1273720

\*Correspondencia: jalayon@ecosur.mx

## Resumen

El uso desmedido de agroquímicos ha impactado negativamente los ecosistemas y sistemas agrícolas, aun en condiciones controladas, donde se concentra el uso de grandes cantidades de químicos para asegurar el aporte de nutrientes a los cultivos. El objetivo del estudio consistió en comparar el efecto de la fertilización orgánica y de síntesis química en el crecimiento, floración, mortalidad y daños foliares en plantas de tomate verde bajo condiciones de malla sombra. Se probaron cuatro tratamientos: a) sin aplicación de fertilizante (C); b) aplicación de 49.70 g de abono orgánico (vermicomposta) equivalente a 160 kg de  $Nha^{-1}$  (TOV); c) aplicación de abono orgánico (vermicomposta adicionado con lixiviados a razón de 20 L/ha<sup>-1</sup> TOL); y, d) aplicación de 2.26 g de fertilizante de síntesis química N-P-K (convencional, TSQ) a razón de 160 kg  $Nha^{-1}$ , en un diseño completamente al azar con 15 macetas por tra-

## Abstract

Excessive use of agrochemicals negatively impacts the ecosystem and agricultural systems, even under controlled conditions because of the large amount of concentrated agrochemicals that are meant to provide sufficient nutrients to crops. The objective of this study was to compare the effects of organic and chemical fertilization on growth, flowering and leaf damage in green tomato plants under shade mesh conditions. We tested four different treatments: a) no fertilization (C), b) application of an organic fertilizer to a ratio of 49.70 gr (vermicompost) equivalent to 160 kg of N / ha-1 (TOV); C) application of an organic fertilizer (vermicompost plus worm leachates) equivalent to 20 liters / ha-1 (TOL), and d) application of a chemical fertilizer N-P-K (TSQ) to a ratio of 2.26 gr equivalent to 160 kg N / ha-1. We used a completely randomized design with 15 plant pots per treatment. The vermicompost

tamiento. El tratamiento con vermicomposta tuvo una mayor producción de biomasa aérea total (2.20 g peso seco), de follaje ( $p=0.001$ ) y flores ( $p=0.001$ ), y presentó menor daño foliar con respecto al tratamiento de fertilización química. Los tratamientos TOL y Control tuvieron similar producción de biomasa total, follaje y flores. Se concluye que para promover mayor producción de biomasa, menor mortalidad y un menor daño foliar de las plantas de tomate verde en condiciones de malla sombra es recomendable utilizar vermicomposta como fertilizante orgánico.

### Palabras clave

Vermicomposta, fertilización química, daño foliar.

treatment TOV resulted in higher total biomass production (2.20 g dry weight), more leaves ( $p=0.0001$ ) and flowers ( $p=0.0001$ ) and the lowest leaf damage than chemical treatment. The TOL treatment and the Control treatment had similar results in terms of the production of total biomass, foliage and flowers. Our results showed vermicompost were organic fertilizers enabled to optimize green tomato plants development under shade mesh conditions.

### Keywords

Vermicompost, chemical fertilization, leaf damage.

## Introducción

La agricultura en México enfrenta serios problemas de producción por la reducida fertilidad y pérdida de suelos, obligando a los productores a usar indiscriminadamente grandes cantidades de fertilizantes de síntesis química (Palm *et al.*, 2013). Ello da como resultado efectos negativos en la calidad de los frutos, en las características físicas, químicas y biológicas del suelo (Arnhold *et al.*, 2014), en la biodiversidad (Barral *et al.*, 2015) y en los modos de vida de los productores (Morón-Ríos y Alayón-Gamboa, 2014); esta situación provoca pérdida de cultivos y empobrecimiento de los agricultores.

En respuesta a los problemas ambientales que ha generado el uso excesivo de los fertilizantes de síntesis química, se ha impulsado de manera considerable el cultivo agrícola con técnicas agroecológicas (Taylor *et al.*, 2003), mediante la utilización de fertilizantes orgánicos —como la vermicomposta y la incorporación de tecnologías, como los invernaderos, estructuras de cubierta y protección como la malla sombra— que permitan reducir la sensibilidad de los cultivos ante las inclemencias del clima y las plagas, principalmente en el cultivo de hortalizas (Gamliel y Bruggen-Van, 2015).

Entre las hortalizas que se cultivan en México, el tomate verde (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horn), tiene un papel preponderante. Su producción nacional anual es de alrededor de 698,016 toneladas (SIAP, 2016). Pero esta hortaliza es sensible a suelos con baja disponibilidad de nitrógeno (N), y para su cultivo se requieren, al menos, 3.80 kg de este elemento para producir una tonelada de fruto de tomate verde (Islas-Blancas, 2006).

Además, se ha observado que con la aplicación de macronutrientes, como el Fósforo (P) y el Potasio (K) y de micronutrientes, como el Zinc (Zn), Magnesio (Mg) y Manganeseo (Mn), se obtiene una respuesta positiva en la producción de fruto (Islas-Blancas, 2006).

Por ello, cuando se cultiva en suelos que pierden rápidamente su fertilidad y la concentración y disponibilidad de macronutrientes —como ocurre en los suelos de la Península de Yucatán— baja la producción, aumenta la sensibilidad a plagas y se reduce la calidad del cultivo, por lo que se hace necesaria la incorporación de fertilizantes (Solís y Campo, 2004). Los fertilizantes de síntesis química o inorgánicos, son los que regularmente ocupan los productores en cantidades indiscriminadas y con pocas medidas de seguridad en su aplicación (Vasile *et al.*, 2015).

La prolongada aplicación de grandes cantidades de fertilizante de síntesis química ha impactado negativamente la diversidad de la rizósfera, afectando procesos en el suelo que hacen posible la disponibilidad, reciclaje y utilización de nutrientes (Solís y Campo, 2004), comprometiendo a largo plazo la productividad agrícola, la viabilidad de las plantas y, en general, la capacidad de recuperación del ecosistema agrícola (Crittenden *et al.*, 2015).

Por otro lado, con la utilización de fertilizantes orgánicos (p. ej.: vermicomposta), para la producción hortícola, se han logrado resultados positivos en la calidad de los productos cultivados, en producción de biomasa, en el rendimiento (Singh *et al.*, 2010; Doan *et al.*, 2015), en el crecimiento, floración y fructificación (Peyvast *et al.*, 2008; Ladan-Moghadam *et al.*, 2012); y, sobre todo, en la conservación, calidad y estructura del suelo (Crittenden *et al.*, 2015; Khan *et al.*, 2015).

Esto se debe al incremento en el contenido de materia orgánica, macro y micro elementos (como el N, P, C, Mg, Si), la liberación de ácidos húmicos e incremento de la actividad biológica en la rizósfera; inclusive, con efectos a corto plazo, como en los cultivos de ciclo corto (Singh *et al.*, 2008; Amaya-Carpio *et al.*, 2009; Cruz-Koizumi, 2015). Sin embargo, las respuestas positivas observadas varían y están estrechamente vinculadas al contexto geográfico y ecológico donde se aplican estas prácticas agroecológicas.

En la presente investigación realizada en el municipio de Calakmul, Campeche (México), se espera encontrar que mediante una fertilización orgánica con vermicomposta en las plantas de tomate verde, se obtendrá una mayor producción de biomasa área y de raíz y que influirá en la producción de hojas y de flores, favoreciendo un mejor desarrollo de las plantas, al disminuir la afectación foliar por patógenos, nutrición y mortalidad.

Por ello, el presente estudio tiene por objetivo evaluar el efecto de la fertilización orgánica y de síntesis química en la producción de biomasa aérea y de raíz, en los daños foliares, y la mortalidad de las plantas de tomate verde bajo condiciones de malla sombra.

## Materiales y métodos

### *Ubicación y área de estudio*

El estudio se realizó en los terrenos pertenecientes a la localidad El Chichonal; ubicado, aproximadamente, a 14 km al oeste de la cabecera municipal de Xpujil, Campeche (México), 18°30'52" N, 89°31'24" O, dentro de la zona de amortiguamiento de la Reserva de la Biosfera de Calakmul (RBC) (18°07'21" N y 89°48'56" O), en el municipio de Calakmul, Campeche (México).

Se seleccionó una unidad productiva agrícola ubicada a 2 km de la localidad que tuviera, dentro de su esquema de producción multipropósito, el uso de técnicas de manejo orgánico para la producción; y que, además, contara con instalaciones rústicas necesarias de malla sombra para el control de la producción.

La topografía del terreno es plana y se encuentra a una altitud de 250 msnm. En el área predomina el clima cálido subhúmedo, con temperatura media anual de 25°C y precipitación anual que varía de 500 a 2,500 mm (Martínez y Galindo-Leal, 2002). Existen dos épocas marcadas, lluvia y seca.

El material parental de los suelos es la roca caliza, muy pobre en hierro, sílice y aluminio. Su pH es alcalino, el contenido de materia orgánica es muy alto y los contenidos de fósforo y de los micronutrientes (Zinc y Cobre) son bajos; presenta un tipo de suelo cárstico en la mayoría de la región, debido a la disolución de la roca caliza (INE, 1999; Martínez y Galindo-Leal, 2002).

### *Elección del sitio y preparación de fertilizante orgánico*

Se utilizó una cubierta de malla sombra (16 x 14 hilos por pulgada cuadrada) con sombra del 40%, construida con madera obtenida de la misma unidad productiva. Debajo de la estructura malla sombra se utilizaron macetas de 2 kg de capacidad, se llenaron con suelo procedente de la misma parcela agrícola (cuadro 1), donde el productor ha cultivado durante más de 10 años con fertilización orgánica.

## Cuadro 1

## Caracterización fisicoquímica del suelo utilizado.

Variable	Valor
Materia orgánica, %	11.05
pH	7.47
Fósforo extraíble, mg kg	19.80
Nitrógeno total, %	0.55
Potasio, Cmol kg	0.45
Conductividad eléctrica, dS m	0.14
Capacidad de intercambio catiónico, Cmol kg	48.78
Arena, %	40.30
Arcilla, %	31.70
Limo, %	28.00
Densidad aparente, g mL	0.98

Por otro lado, previo a la siembra del cultivo, se preparó un fertilizante orgánico para la generación de vermicomposta en el mes de noviembre de 2014. Se utilizó, como materia prima, el rastrojo de maíz (*Zea mays*) 40%, pasto Taiwán (*Pennisetum purpureum*) 40% y hojas y tallos tiernos de Árnica (*Thitonia diversifolia*) 20%. Estos materiales se pesaron con una báscula (marca Torrey) y se picaron con un molino de martillos (marca Koltler 2500 rpm y 14 HP) a un tamaño de partícula de 5 mm. La biomasa total se mezcló con estiércol seco de borrego a una proporción 1:1.

Se adicionó agua y se mezcló homogéneamente. Al finalizar, se cubrió con un plástico en un compostero fabricado con paredes y piso de concreto y un canal de escorrentía para la obtención de lixiviados en un recipiente de plástico. La composta se mantuvo húmeda y se procesó durante un mes.

Concluido el proceso de compostaje, se inocularon 3 kg de lombriz roja (*Lumbricus rubellus*) equivalentes aproximadamente a 1,500 lombrices y se mantuvo por un lapso de 35 días para la formación de vermicomposta y la obtención de lixiviados provenientes de la escorrentía. Los lixiviados se capturaron en un tanque de 200 l. Al finalizar el periodo, se obtuvo una muestra representativa de la vermicomposta y de los lixiviados de lombriz para su análisis químico (cuadro 2).

## Cuadro 2

## Análisis químico de los fertilizantes orgánicos utilizados en los tratamientos evaluados.

	CE	pH	MO	N	P	K
Lombricomposta	-	-	36.59	0.40	18.82	26.80
Humus	13.63	8.80	--	---	20.80*	254.60*

CE= Conductividad eléctrica (ds m), MO= Materia orgánica (%), N= Nitrógeno total (%), P= Fósforo (Cmol kg), K= Potasio (Cmol kg) \* mg L.

*Tratamientos y diseño experimental*

El suelo que se utilizó para las macetas se tamizó con una malla 2 cm de apertura, con el fin de eliminar detritos de vegetación, piedras y unificar el tamaño de partícula. Posteriormente, se esterilizó con un autoclave eléctrico (Mod 25x-1 de 120 Volts marca ALL AMERICAN). Cada muestra de suelo se sometió a dos ciclos de esterilización de 40 min a 1.15 kg cm<sup>-2</sup> de presión y 126°C con el propósito de eliminar los microorganismos que pudieran estar presentes del suelo.

La efectividad de la esterilización se corroboró mediante el cultivo y conteo de la presencia de hongos en condiciones de laboratorio. Posteriormente, en el mes de febrero de 2015, se sembraron de cinco a ocho semillas de tomate verde (*P. ixocarpa*) por maceta. Se utilizó semilla comercial de tomate verde variedad Rendidora (90% de germinación marca Alestar) y se aplicó riego (1.50 l/maceta) manual, tres veces por semana, equivalente a 1.878 mm de agua en lámina de riego.

Una vez germinadas las semillas, se permitió el crecimiento de las tres mejores plantas por maceta. Para el mantenimiento y cuidado de las plantas se siguieron las recomendaciones del manual de cultivo del tomate verde del Instituto Nacional de Investigación Forestal Agrícola y Pecuaria (INIFAP) (Gûemes-Guillen *et al.*, 2001).

Los tratamientos que se evaluaron fueron: a) sin aplicación de fertilizante (control, C); b) aplicación de 49.70 gr de abono orgánico (vermicomposta) por maceta, equivalente a 160 kg de N/ha<sup>-1</sup> (TOV); c) aplicación de abono orgánico más lixiviados a razón de 20 l ha<sup>-1</sup> (TOL) y d) aplicación de 2.26 gr de fertilizante de síntesis química N-P-K (triple 17, convencional) por maceta, a razón de 160 kg N/ha<sup>-1</sup> (TSQ).

Los tratamientos se aplicaron 15 días después de la germinación de las plantas, cuando éstas presentaron de tres a cinco hojas verdaderas y las plantas se distribuyeron en un diseño experimental completamente al azar, con 15 repeticiones por tratamiento (Kuehl, 2001).

*Producción de biomasa y cuantificación del número de hojas y flores*

La producción de biomasa por tratamiento se cuantificó en fresco y en seco, separando la biomasa aérea y la biomasa de raíz. Para la biomasa aérea se consideró la producción

de tallos, hojas y flores; mientras que para la biomasa de raíces se consideraron las raíces principales y secundarias.

La cosecha de biomasa se realizó mediante la extracción de la tierra de las macetas con la precaución de no romper las raíces y por separación de la biomasa aérea de la biomasa de raíz, cortándolas con unas tijeras de podar (marca Truper). Cada fracción se pesó con una báscula digital (marca Torrey Mod. MFQ-40). Posterior a la extracción de cada fracción, se tomaron cinco muestras de cada tratamiento para determinar el peso seco. Las muestras se sometieron a secado en estufas hasta alcanzar un peso constante y se registró su peso.

Adicionalmente, se cuantificó el número total de hojas y flores mediante conteo directo a los 40 días después de aplicados los tratamientos.

### *Cuantificación de los daños a las plantas*

Los daños en las plantas, se evaluaron a los 15 y 45 días de crecimiento del cultivo. Se utilizaron cinco criterios cualitativos de clasificación tomando como base lo expuesto por Apodaca-Sánchez *et al.* (2008); en ningún caso se determinó el agente causal o se midió la concentración de los nutrimentos. Los criterios a evaluar fueron: 1) pérdida foliar (perforaciones de partes de la lámina foliar); 2) manchas (manchas circulares o semicirculares delimitadas por las nervaduras de color café claro en partes de la lámina foliar); 3) nutrición (decoloración amarillenta en partes de la lámina foliar); 4) virosis (hojas rizadas), y 5) necrosis (manchas de color negro en partes de la lámina foliar).

A cada criterio se le asignó una categoría de 0 a 4, de acuerdo con el porcentaje de daño que presentó la planta, donde 4 es el 100% de daño. Y se calculó la tasa de cambio de los daños presentes del tiempo 1 (a los 15 días de aplicación de los tratamientos) al tiempo 2 (a los 45 días de aplicación de los tratamientos).

### *Cuantificación de la mortalidad*

La mortalidad de las plantas se determinó con base en el porcentaje de plantas que sobrevivieron durante los 45 días del período en el que se mantuvo el cultivo, con respecto al total de plantas que germinaron; para su determinación, se realizaron conteos al inicio del estudio y tres días antes de cosechar la biomasa.

### *Análisis estadísticos*

Los datos de biomasa aérea, biomasa de raíz, daños a las hojas y mortalidad se analizaron con una prueba de Kruskal-Wallis y se compararon las medianas con una prueba Post Hoc de Wilcoxon, usando el paquete estadístico Agricolae de R (R version 3.1, 2014), debido a que la distribución de los datos no cumplía con los parámetros de normalidad y homocedasticidad.

El número de hojas y flores se analizó con un Modelo Lineal Generalizado con distribución Poisson mediante el *software* estadístico R (R version 3.1, 2014) y se compararon las medias de los tratamientos por comparación múltiple de medias de Tukey (Gómez y Gómez, 1983).

## Resultados

### Evaluación de la producción de biomasa, número de hojas y de flores

La producción de biomasa aérea en peso seco, a los 45 días, fue significativamente mayor ( $p=0.006$ ) con la aplicación de vermicomposta. En la biomasa de raíz en peso seco no fue significativamente diferente entre los tratamientos utilizados. En el cuadro 3 se presentan los rangos obtenidos de la prueba K-W para la producción de biomasa de las plantas de tomate verde.

Cuadro 3

Efecto de la fertilización orgánica y de síntesis química sobre la producción de biomasa de las plantas de tomate verde (*P. ixocarpa*).

Variable	Tratamientos				
	C (n=15)	TOL (n=15)	TOV (n=15)	TSQ (n=15)	P
Biomasa aérea PS	28.40 <sup>b</sup>	29.66 <sup>b</sup>	42.96 <sup>a</sup>	20.96 <sup>b</sup>	0.006
Biomasa raíz PS	25.16	30.96	39.13	26.75	0.12

NOTA: Los valores son los rangos obtenidos mediante la prueba de Kruskal-Wallis.

PS= peso seco de las muestras. C=sin fertilización (control), TOV= tratamiento orgánico con vermicomposta, TOL= tratamiento orgánico con lixiviados y vermicomposta y TSQ= tratamiento síntesis química. Las diferentes literales en superscript (a, b y c) en la misma fila muestran diferencias significativas ( $p<0.05$ ). Prueba de comparación de medianas Post Hoc de Wilcox.

El efecto de la fertilización sobre la producción de hojas y flores se observó a los 45 días de la aplicación de los tratamientos. Se encontró un efecto significativo en la producción de hojas ( $p=0.001$ ) y de flores ( $p=0.001$ ).

En el cuadro 4, se observa que el tratamiento con la aplicación de fertilizante de síntesis química presentó una menor producción de hojas y flores, en comparación con la observada en los otros tratamientos.

El tratamiento TOV y control presentaron un número similar de hojas; mientras que en el tratamiento TOL se obtuvo un mayor número de hojas con respecto a TSQ, pero un menor número de hojas con respecto a TOV y C. Respecto al número de flores, el tratamiento TOV fue el que produjo una mayor cantidad, mientras que los tratamientos control y TOL fueron similares.

## Cuadro 4

Efecto de la fertilización orgánica y de síntesis química sobre la cantidad de hojas y flores de tomate verde (*P. ixocarpa*) a los 45 días del cultivo.

Variable	Tratamientos				
	C (n=15)	TOL (n=15)	TOV (n=15)	TSQ (n=15)	P
No. de hojas	75.40 ± 28.5 <sup>a</sup>	69.53 ± 24.9 <sup>b</sup>	75.3 ± 17.4 <sup>a</sup>	53.66 ± 34.6 <sup>c</sup>	0.001
No. de flores	26.40 ± 12.8 <sup>b</sup>	24.13 ± 8.0 <sup>b</sup>	31.13 ± 11.3 <sup>a</sup>	20.80 ± 15.1 <sup>c</sup>	0.001

NOTA: Los datos son la media de n=15 ±DS.

C=sin fertilización (control), TOV= tratamiento orgánico con vermicomposta, TOL= tratamiento orgánico con lixiviados y vermicomposta y TSQ= tratamiento síntesis química. a, b y c= literales diferentes en la misma fila son significativamente ( $p < 0.05$ ) diferentes. Prueba de comparación de medias de Tukey.

### Evaluación de los daños foliares

Se encontraron diferencias significativas ( $p = 0.02$ ) en el porcentaje de hojas con manchas y con decoloración (amarillamiento) ( $p = 0.001$ ). El tratamiento con fertilización de síntesis química presentó el mayor porcentaje de daño por nutrición, con respecto a lo observado en las plantas que recibieron tratamiento con fertilizante orgánico; mientras que el tratamiento control y el TSQ presentaron el mayor porcentaje de afectación por manchas en las hojas con respecto al observado con el tratamiento de vermicomposta.

Respecto a la pérdida foliar, los daños por virosis y necrosis no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos. En el cuadro 5, se presentan los rangos obtenidos de la prueba KW para el porcentaje de daño foliar en las plantas de tomate verde.

## Cuadro 5

Efecto de la fertilización orgánica y de síntesis química en el porcentaje de daño en las plantas de tomate verde (*P. ixocarpa*).

Variable	Tratamientos				
	C (n=15)	TOL (n=15)	TOV (n=15)	TSQ (n=15)	P
Pérdida foliar	37.33	35.00	25.93	23.73	0.07
Manchas	38.46 <sup>a</sup>	33.00 <sup>a</sup>	19.83 <sup>b</sup>	30.70 <sup>ab</sup>	0.02
Nutrición	29.16 <sup>b</sup>	23.06 <sup>b</sup>	23.56 <sup>b</sup>	46.20 <sup>a</sup>	0.001
Virosis	34.56	29.10	24.96	33.36	0.40
Necrosis	32.00	33.86	21.66	34.46	0.10

NOTA: Los valores son los rangos obtenidos por la prueba de K-W.

C= Control (sin fertilización), TOV= tratamiento orgánico con vermicomposta, TOL= tratamiento orgánico con lixiviados y vermicomposta y TSQ= tratamiento síntesis química. a, b y c= literales distintas en la misma fila son significativamente ( $p < 0.05$ ) diferentes. Prueba de comparación de medianas por Post Hoc de Wilcox.

## Mortalidad de las plantas de tomate verde

Se encontraron diferencias significativas ( $p=0.008$ ) entre los tratamientos sobre la mortalidad de las plantas. El tratamiento de síntesis química presentó un mayor porcentaje de mortalidad; mientras que el tratamiento con vermicomposta no tuvo mortalidad, el tratamiento control y el TOL presentaron baja mortalidad respecto al tratamiento TSQ.

En el cuadro 6 se presentan los rangos obtenidos de la prueba K-W para el porcentaje de mortalidad de las plantas de tomate verde.

### Cuadro 6

Efecto de la fertilización orgánica y de síntesis química en la mortalidad de plantas de tomate verde (*P. ixocarpa*) creciendo en condiciones de invernadero.

Variable	Tratamientos				
	C (n=15)	TOL (n=15)	TOV (n=15)	TSQ (n=15)	P
Mortalidad	27.833 <sup>b</sup>	29.666 <sup>b</sup>	26.000 <sup>b</sup>	38.500 <sup>a</sup>	0.008*

C=sin fertilización, TOV= tratamiento orgánico con vermicomposta, TOL= tratamiento orgánico con lixiviados y vermicomposta y TSQ= tratamiento síntesis química.

\*Prueba de Kruskal-Wallis; a, b y c= literales distintas difirieron significativamente ( $p<0.05$ ).

## Discusión

La aplicación de fertilizantes orgánicos favorece la producción de biomasa (Khan *et al.*, 2015) y mejora la fertilidad y calidad del suelo (Crittenden *et al.*, 2015), debido a que aporta sustancias promotoras del crecimiento vegetal (vitaminas, hormonas, enzimas) que favorecen el crecimiento y desarrollo de la planta (Cavender *et al.*, 2003; Doan *et al.*, 2015). A diferencia de la fertilización química, que sólo aporta ciertos nutrimentos, dependiendo del tipo de fertilizante utilizado, lo que hace que la planta crezca con menor vitalidad.

Probablemente, a esto se debió que la producción de biomasa aérea fuera menor con la fertilización de síntesis química; lo que concuerda con los resultados obtenidos por Buffalo *et al.* (2015) al aplicar 150 kg/ha de fertilizante orgánico en un cultivo de albaica (*Ocimum basilicum* L.) en condiciones de invernadero.

Sin embargo, al estimar la producción de biomasa de raíz, nuestros resultados difieren con lo señalado por Singh *et al.* (2010), quienes determinaron un incremento en la cantidad de raíces al aplicar lixiviados de lombriz en plantas de fresa (*Fragaria ananassa* Duch.). No obstante, se asume que la fertilización orgánica estimuló la absorción de nutrimentos en las plantas; ya que, a los 45 días de la aplicación de la vermicomposta se observó un aumento significativo en la formación de hojas y flores en las plantas; tal como lo demostraron los estudios de Peyvast *et al.* (2008) y Papathanasiou *et al.* (2012), donde encontraron un incremento significativo en la producción de hojas y flores en plantas

de espinaca (*Spinacia oleracea* L.) y lechuga (*Lactuca sativa* L.), respectivamente, al aplicarles vermicomposta en condiciones de invernadero.

Este efecto se ha asociado con un incremento en la actividad bacteriana en el suelo y un mayor aporte de micro nutrientes —como el Zn, Mg, Ca, Fe y Cu (Peyvast *et al.*, 2008; Khan *et al.*, 2015)—; estos elementos son esenciales para un óptimo desarrollo de las plantas y la producción de una mayor cantidad de hojas y a la regulación de los ciclos de nutrientes para la conservación de la calidad del suelo (Peyvast *et al.*, 2008; Papathanasiou *et al.*, 2012; Doan *et al.*, 2015).

La fertilización con vermicomposta y lixiviados, además, aporta ácidos húmicos que favorecen la absorción de micro y macronutrientes, controlan infecciones virales y amortiguan efectos del estrés hídrico, lo que reduce la aparición de daños foliares y la mortalidad de las plantas (Oliva *et al.*, 2008); en este experimento se probó que, con una fertilización química, el daño por nutrición y la aparición de manchas es mayor que con la aplicación de vermicomposta y lixiviados.

Posiblemente, la aplicación de fertilizantes orgánicos no hizo más apetecible a la planta al ataque de posibles herbívoros; y nuestros resultados difirieron de los encontrados por Edwards *et al.* (2010), quienes encontraron —al aplicar lixiviados de vermicomposta en tomate (*Solanum lycopersicum* L.)— que se incrementó la susceptibilidad de daño foliar.

Por otro lado, la aplicación de tratamientos orgánicos pudo favorecer que las plantas concentraran los contenidos fenólicos solubles y un incremento en el N disponible en los tejidos de las hojas, reduciendo el ataque por plagas (Arancon *et al.*, 2006). Esto, posiblemente, se vincule con lo observado en una menor presencia de manchas con el tratamiento con vermicomposta. La presencia de este tipo de mancha está asociada, principalmente, con el hongo *Cercospora physalidis* Ellis, que produce una coloración café, delimitada por las nervaduras de las hojas (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008).

La calidad de la plantas de tomate se favoreció con la aplicación de los tratamientos con vermicomposta y ello derivó en un menor porcentaje de mortalidad con respecto al tratamiento de fertilización con síntesis química. Asimismo, la similitud de las respuestas observadas con la aplicación de tratamientos orgánicos con respecto al tratamiento control pudo estar influenciada por la calidad del suelo que se utilizó en el estudio; el cual se obtuvo de la parcela que ha estado bajo manejo orgánico por mucho tiempo (10 años).

## Conclusiones

Lograr una buena calidad del suelo es esencial para el óptimo desarrollo de la planta de tomate verde; y esta cualidad puede ser favorecida con la aplicación de vermicomposta como alternativa de fertilización orgánica en sistemas protegidos. Su aplicación favorece la producción de biomasa y una mayor producción de hojas y flores. Además, apoya el desarrollo de las plantas, al disminuir los daños foliares y su mortalidad.

## Literatura citada

- Amaya-Carpio, L.; Davies, F. T.; Fox, T. y He, C. (2009). Arbuscular mycorrhizal fungi and organic fertilizer influence photosynthesis, root phosphatase activity, nutrition, and growth of *Ipomoea carnea* ssp. *fistulosa*. *Photosynthetica*, 47(1), 1–10.
- Apodaca-Sánchez, M.; Barreras-Soto, M.; Mondaca-Cortez, E. y Quintero-Benítez, J. (2008). *Enfermedades del tomate de cáscara en Sinaloa*. 1ª. Ed. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Ed. D. F., México. 32 pp.
- Arancon, N.; Edwards, C.; Yardim, E.; Oliver, T.; Byrne, R. y Keeney, G. (2006). Suppression of two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*), mealy bug (*Pseudococcus* sp) and aphid (*Myzus persicae*) populations and damage by vermicomposts. *Crop Protection*, 26(2007): 29–39.
- Arnhold, S.; Lindner, S.; Lee, B.; Martin, E.; Kettering, J.; Nguyen, T. T. y Huwe, B. (2014). Conventional and organic farming: Soil erosion and conservation potential for row crop cultivation. *Geoderma*, 219(220): 89–105.
- Barral, M.; Rey-Benayas, J.; Meli, P. y Maceira, N. (2015). Quantifying the impacts of ecological restoration on biodiversity and ecosystem services in agroecosystems : A global meta-analysis. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 202, 223–231.
- Bufalo, J.; Cantrell, C. L.; Astatkie, T.; Zheljzkov, V. D.; Gawde, A. y Boaro, C. S. F. (2015). Organic versus conventional fertilization effects on sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) growth in a greenhouse system. *Industrial Crops and Products*, 74, 249–254.
- Cavender, N. D.; Atiyeh, R. M. y Knee, M. (2003). Vermicompost stimulates mycorrhizal colonization of roots of *Sorghum bicolor* at the expense of plant growth. *Pedobiologia*, 47(1): 85–89.
- Crittenden, S. J.; Poot, N.; Heinen, M.; van Balen, D. J. M. y Pulleman, M. M. (2015). Soil physical quality in contrasting tillage systems in organic and conventional farming. *Soil and Tillage Research*, 154: 136–144.
- Cruz-Koizumi, Y. (2015). *Análisis comparativo de calidad suelo y productividad en dos sistemas de cultivo de tomate verde (Physalis ixocarpa) en Calakmul, Campeche*. Tesis de Maestría. El Colegio de la Frontera Sur. Chiapas, México. 65 pp.
- Doan, T. T.; Henry-des-Tureaux, T.; Rumpel, C.; Janeau, J.-L. y Jouquet, P. (2015). Impact of compost, vermicompost and biochar on soil fertility, maize yield and soil erosion in Northern Vietnam: a three year mesocosm experiment. *The Science of the Total Environment*, 514: 147–54.
- Edwards, C. A.; Arancon, N. Q.; Vasko-bennett, M.; Askar, A. y Keeney, G. (2010). Effect of aqueous extracts from vermicomposts on attacks by cucumber beetles (*Acalymna vittatum*) (Fabr.) on cucumbers and tobacco hornworm (*Manduca sexta*) (L.) on tomatoes. *Pedobiologia*, 53(2): 141–148.
- Edwards, C. A.; Arancon, N. Q.; Vasko-bennett, M.; Askar, A.; Keeney, G. y Little, B. (2010). Suppression of green peach aphid (*Myzus persicae*) (Sulz.), citrus mealybug (*Planococcus citri*) (Risso), and two spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) (Koch.) attacks on tomatoes and cucumbers by aqueous extracts from vermicomposts. *Crop Protection*, 29(1): 80–93.
- Gamliel, A. y van Bruggen, A. H. C. (2015). Maintaining soil health for crop production in organic greenhouses. *Scientia Horticulturae* 208 (29):120-130.
- Gómez, K. y Gómez, A. (1983). *Statistical procedures for agricultural research*. (W. Publication, Ed. Second Edi, Vol. 6. NY, USA: John Wiley & Sons. 630 pp.
- Güemes-Guillen, M. J.; Palacios-Álvarez, A.; Ramírez-Rojas, S.; García-Pérez, F.; Salazar-Pedroza, A. e Inoue, K. (2001). *Guía para cultivar tomate de cáscara en el estado de Morelos*. INIFAP. Centro de Investigación Regional del Centro Campo Experimental “Zacatepec” Zacatepec, Morelos, México, 19 pp.
- INE (1999). *Programa de Manejo de la Reserva de la Biosfera Calakmul*. México, D. F. 277 pp.
- Islas-Blancas, A. (2006). *Efecto de la fertilización y riego con aguas negras en la calidad poscosecha de tomate de cáscara (Physalis ixocarpa Brot.) Var. titán*. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

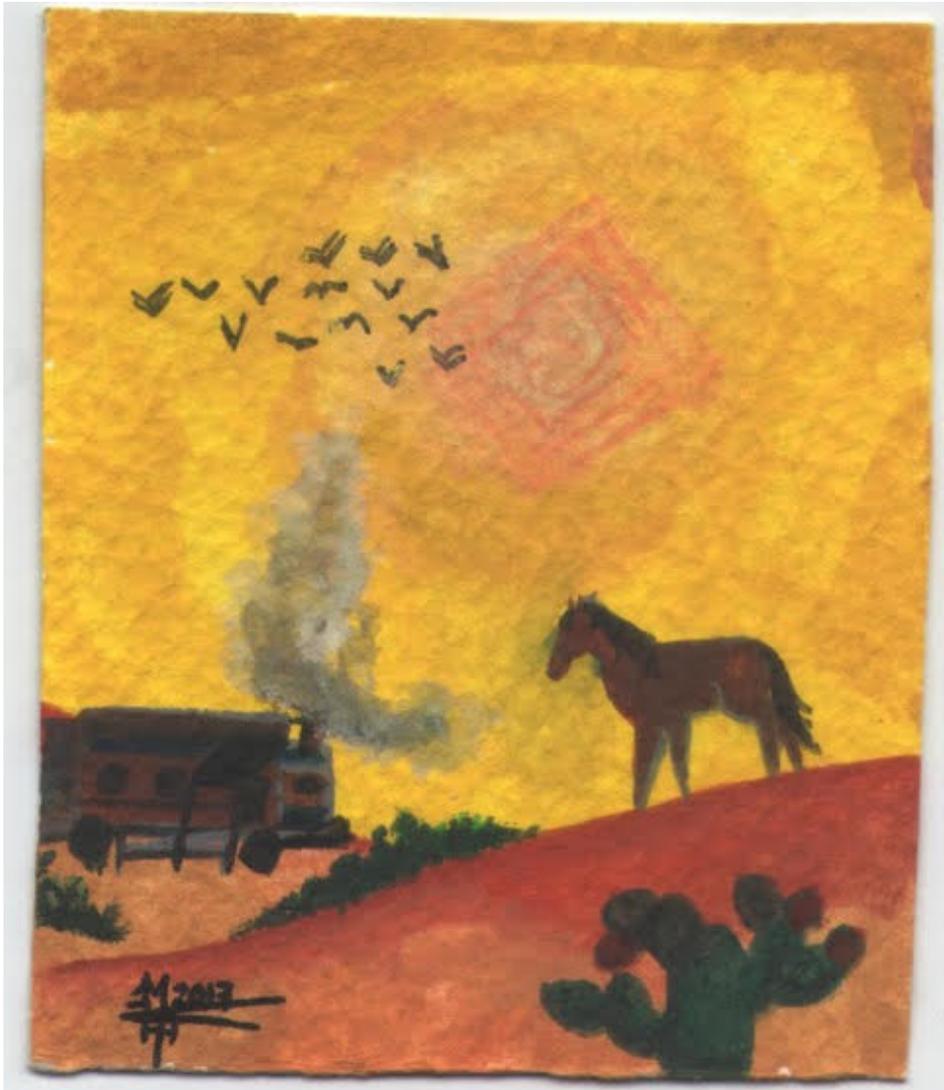
- Khan, K.; Pankaj, U.; Verma, S. K.; Gupta, A. K.; Singh, R. P. y Verma, R. K. (2015). Bio-inoculants and vermicompost influence on yield, quality of *Andrographis paniculata*, and soil properties. *Industrial Crops and Products*, 70: 404–409.
- Kuehl, R. (2001). *Diseño de experimentos: Principios estadísticos de diseño y análisis de investigación*. Edit Thomson Le. 668 pp.
- Ladan Moghadam, A. R.; Oraghi Ardebili, Z. y Saidi, F. (2012). Vermicompost induced changes in growth and development of *Lilium Asiatic* hybrid Var. Navona. *African Journal of Agricultural Research* 7(17): 2609–2621.
- Martínez, E. y Galindo-Leal, C. (2002). La vegetación de Calakmul, Campeche, México: clasificación, descripción y distribución. *Bol. Soc. Bot. México*, 71: 7–32.
- Morón-Ríos, A. y Alayón-Gamboa, J. (2014). Productividad del cultivo de chile jalapeño (*Capsicum anuum* L.) con manejo orgánico o convencional en Calakmul, Campeche, México. *Avances en investigación agropecuaria* 18(3): 35–40.
- Oliva, M. A.; Rincón, R.; Zenteno, E.; Pinto, A.; Dendooven, L. y Gutiérrez, F. (2008). Rol del vermicompost frente al estrés por cloruro de sodio en el crecimiento y fotosíntesis en plántulas de tamarindo. *Gayana Bot.* 65(1): 10–17.
- Palm, C.; Blanco-Canqui, H.; DeClerck, F.; Gatere, L. y Grace, P. (2013). Conservation agriculture and ecosystem services: An overview. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 19. <http://doi.org/10.1016/j.agee.2013.10.010>
- Papathanasiou, F.; Papadopoulos, I.; Tsakiris, I. y Tamoutsidis, E. (2012). Vermicompost as a soil supplement to improve growth, yield and quality of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 10(2): 677–682.
- Peyvast, G.; Olfati, J. A.; Madeni, S. y Forghani, A. (2008). Effect of vermicompost on growth, yield and quality of spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 6(1): 110–113.
- R version 3.1.1, 2. (2014). “Pumpkin Helmet”. *Package Agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research y Copyright (C) 2014 The R Foundation for Statistical.*
- SIAP (2016). *Anuario Estadístico de la Producción Agrícola*. [http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola\\_siap\\_gb/ient](http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/ient). (Consultada el 12 de mayo de 2017).
- Singh, R.; Gupta, R. K.; Patil, R. T.; Sharma, R. R.; Asrey, R.; Kumar, A. y Jangra, K. K. (2010). Sequential foliar application of vermicompost leachates improves marketable fruit yield and quality of strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.). *Scientia Horticulturae*, 124(1): 34–39.
- Singh, R.; Sharma, R. R.; Kumar, S.; Gupta, R. K. y Patil, R. T. (2008). Vermicompost substitution influences growth, physiological disorders, fruit yield and quality of strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.). *Bioresource Technology*, 99(17): 8507–11.
- Solís, E. y Campo, J. (2004). Soil N and P dynamics in two secondary tropical dry forests after fertilization. *Forest Ecology and Management*, 195: 409–418.
- Taylor, P.; Francis, C.; Lieblein, G.; Gliessman, S.; Breland, T. A.; Creamer, N. y Harwood, R. (2003). Agroecology : The Ecology of Food Systems. *Journal of Sustainable Agriculture* 22(3): 99–118.
- Vasile, A. J.; Popescu, C.; Ion, R. A. y Dobre, I. (2015). From conventional to organic in Romanian agriculture – Impact assessment of a land use changing paradigm. *Land Use Policy* 46: 258–266.

Recepción: 17 de enero de 2017

Envío arbitraje: 21 de enero de 2017

Dictamen: 08 de mayo de 2017

Aceptado: 30 de julio de 2017



Título: *El rancho*

Dimensiones: 9 cm x 10 cm

Técnica: Acuarela sobre papel

Autora: Marisol Herrera Sosa

# El follaje de la selva baja caducifolia como alimento nutracéutico y su potencial antihelmíntico en pequeños rumiantes\*

Foliage of tropical deciduous forest as nutraceutical feed and their anthelmintic potential in small ruminants

**Javier Ventura-Cordero,<sup>1,2</sup> Carlos A. Sandoval-Castro,<sup>1\*</sup> Pedro G. González-Pech<sup>1,2</sup> y Juan F. J. Torres-Acosta<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia  
Universidad Autónoma de Yucatán  
Km 15.5 Carretera Mérida-Xmatkuil  
Mérida, Yucatán (México).

<sup>2</sup> Centro Multidisciplinario de Educación Ciencia y Cultura S.C.P.  
Calle 35 C No. 43, Fracc. Colonial Buenavista  
Mérida, Yucatán (México) (C. P. 97215)

\* Correspondencia: ccastro@correo.uady.mx  
•ARTÍCULO INVITADO

## Resumen

La selva baja caducifolia (SBC) es una fuente de recursos que pueden ser aprovechados para la producción de pequeños rumiantes. La SBC, frecuentemente, ha sido calificada como un recurso de baja calidad; sin embargo, este tipo de vegetación tiene una calidad nutricional elevada y representa una opción viable para la alimentación de rumiantes en el trópico. Asimismo, la SBC es abundante en plantas con potencial nutracéutico. Dichas plantas proveen beneficios en la salud animal, ya que tienen un valor nutritivo y algunas de ellas muestran actividad antihelmíntica en contra de los nematodos gastrointestinales. En este trabajo se aborda la relación entre la conducta ingestiva de los pequeños rumiantes y el potencial antihelmíntico de algunas plantas de la SBC. Esta interacción se describe desde el punto de vista de la selección de recursos y algunos índices de selección que se han explorado en los pequeños rumiantes. A

## Abstract

The tropical deciduous forest (TDF) is a resource that could be used for small ruminant production. The TDF has been frequently considered as a low-quality feed, however, this type of vegetation has a high nutritional value and represents a valuable alternative for ruminant feeding in the tropics. In addition, TDF has a large diversity of plant species with nutraceutical potential. Such plants could provide benefits in animal health, because they have high nutritional value and show an anthelmintic activity against the gastrointestinal nematodes. This study addresses the relationship between feeding behavior of small ruminants and the anthelmintic potential of some plants of the TDF. This interaction is described from the resource selection perspective and explore some selection indexes that have been used to explain small ruminant forage selection. Also, the factors associated with plant, animal and

su vez, se indican los factores de las plantas, los animales y los parásitos que afectan la selección. También, se menciona el papel que desempeñan los nematodos gastrointestinales en la selección de recursos de las cabras y ovejas.

### *Palabras clave*

Cabras, nematodos gastrointestinales, ovejas, selección de recursos, zoofarmacognosia.

parasite that could modify resource selection. Finally, the role of gastrointestinal nematodes in the goats and sheep is presented.

### *Keywords*

Goats, gastrointestinal nematodes, sheep, resource selection, zoopharmacognosy.

## Introducción

Existe gran interés por utilizar racionalmente los recursos arbóreos de la selva baja caducifolia (SBC), como forraje, para la producción de rumiantes (Torres-Acosta *et al.*, 2012). Lo anterior se debe a que se han identificado numerosas especies de plantas de la SBC que se han empleado en la alimentación animal en comunidades indígenas de Yucatán; y estas plantas pueden considerarse como un recurso potencialmente valioso para la producción animal (Flores y Bautista, 2012).

Otra característica importante del recurso forrajero de la SBC es su calidad nutricional, ya que puede ser considerada como de alto contenido de proteína cruda y digestibilidad aceptable (Ventura-Cordero *et al.*, 2013). Son escasos los estudios que relacionen la SBC con la conducta de ingestión de los pequeños rumiantes. Además, diversas especies encontradas en la SBC son prometedoras para controlar los nematodos gastrointestinales (NGI) en los ovinos y caprinos (Hoste *et al.*, 2015). Es decir, la SBC es un recurso que tiene un valor nutricional para alimentación animal y, además, ejercen un beneficio para la salud de los animales (actividad antihelmíntica); a este tipo de alimento se le conoce como nutracéutico (Andlauer y Fürst, 2002).

### *I. La selva baja caducifolia como recurso para la alimentación animal*

Los productores de pequeños rumiantes alrededor del mundo utilizaron la vegetación nativa como base para la alimentación de ovejas y cabras durante siglos. Este tipo de vegetación era la fuente de alimentación para los animales provenientes de Europa, tanto en zonas de clima templado como tropical, incluyendo a México (Alonso-Díaz *et al.*, 2014). En Yucatán, la SBC se considera como la principal fuente de nutrientes para pequeños rumiantes, puesto que se emplea para el mantenimiento de estos animales, aprovechando los recursos presentes (May, 2002).

Sin embargo, existen prácticas comunes en la producción ganadera que promueven la sustitución de la vegetación nativa por monocultivos, como pastos de baja calidad o, en el mejor de los casos, por sistemas silvopastoriles, con una mezcla de dos o hasta tres especies de plantas (generalmente, gramíneas y alguna especie de leguminosa arbustiva).

Aun cuando los sistemas silvopastoriles pueden tener numerosos aspectos positivos para la producción animal (Murgueitio *et al.*, 2011), también habría que considerar que

el reemplazo de la SBC puede repercutir negativamente en el medio ambiente, ocasionando, por ejemplo: pérdida de biodiversidad animal y vegetal, así como de recursos vegetales valiosos para la producción animal, apícola, forestal, etcétera.

La SBC tiene especies de plantas con características que podrían aprovecharse para la producción de pequeños rumiantes. Es una fuente de follaje durante la época de sequía y de lluvia, tiene plantas con un valor nutricional de medio a alto, diversas formas de vida, potencial como nutraceuticos en la producción animal (Torres-Acosta *et al.*, 2016). Estos mismos autores han señalado la importancia de diversas especies vegetales de la SBC para la producción animal y algunos aspectos relacionados con el manejo integrado de parásitos.

Un nutraceutico puede definirse como un alimento que proporciona un efecto positivo en la salud, incluyendo la prevención o tratamiento de una enfermedad (Andlauer y Fürst, 2002). Por su parte, Waller y Thamsborg (2004) definen a los nutraceuticos como plantas con compuestos secundarios (CS) que tienen un efecto benéfico para la salud animal, además de proveer nutrientes. Este concepto y algunos aspectos asociados ha sido revisado de manera breve por Ventura-Cordero *et al.* (2016).

Es prioritario realizar estudios que permitan hacer un uso racional y eficiente de los recursos de la SBC, evitando un deterioro en la vegetación, con el fin de lograr una producción animal óptima y sustentable. Para alcanzar este objetivo, es importante determinar la conducta de ingestión de las ovejas y cabras, y si éstas poseen la capacidad de seleccionar recursos en la selva baja caducifolia.

## II. Conducta de ingestión en pequeños rumiantes

La conducta ingestiva de los pequeños rumiantes ha sido ampliamente estudiada con diversos objetivos en diferentes ecosistemas, demostrando que una gran variedad de factores puede afectarla. Algunos de ellos, que destacan, son: el estado fisiológico, la carga animal, el tipo de vegetación, la raza de los animales, la presencia de nematodos gastrointestinales, etcétera; los cuales se abordan con mayor detalle más adelante.

En la SBC existen pocos estudios que evalúen la interacción entre cabras y ovejas con la vegetación heterogénea. Algunos autores realizaron estudios pioneros en el tema, como: Ortega-Reyes (1985), quien determinó las especies de plantas consumidas por ovejas Pelibuey en libre pastoreo de vegetación nativa y, además, cuantificó la digestibilidad de las especies que conformaron la dieta de los ovinos.

Otro ejemplo es el trabajo realizado por Ríos y Riley (1985), quienes identificaron la conducta de ingestión de cabras (Criollo-Nubia) ramoneando vegetación nativa. Estos autores concluyeron que las cabras cambiaron su patrón de consumo durante el periodo experimental; y, de manera similar al estudio anterior, determinaron la composición química de nueve especies de plantas consumidas por los caprinos. Aunque, este último, fue uno de los primeros acercamientos para medir la conducta de ingestión de cabras; el trabajo se realizó durante la época de secas y sólo en forma cualitativa.

Otro estudio fue desarrollado, recientemente, también durante la época de seca, por González-Pech *et al.* (2015); estos autores determinaron la conducta de ingestión

de ovejas y cabras en ramoneo de la SBC, utilizando el monitoreo continuo de bocados mediante el método de observación directa. Dicho trabajo demostró que ambas especies de pequeños rumiantes consumen especies de plantas similares en época de seca; sin embargo, la cosecha de nutrientes es diferente. En general, la evidencia a la fecha indica que las modificaciones conductuales tienen como objetivo lograr un consumo de nutrientes (principalmente, proteína y energía) que les permita cubrir las demandas nutricionales de los animales.

### *III. Selección de recursos alimenticios*

Los experimentos previamente realizados en la SBC tienen en común dos aspectos: 1) se realizaron durante la época de sequía; y 2) se determinó la conducta de ingestión, pero no la selección de recursos. Por otro lado, de manera contrastante a la época de sequía, en la de lluvias, se espera una abundancia de recursos y de especies de plantas (Roa-Fuentes *et al.*, 2012).

Evidencias previas señalan que durante la época de lluvias, los cabritos se benefician de la suplementación con harina de soya y sorgo, lo que les permite expresar una mejora en la resiliencia y la resistencia contra NGI, comparados con cabritos no suplementados (Torres-Acosta *et al.*, 2004). Dicho trabajo mostró que se puede hacer un uso más eficiente de la SBC, si se mejora la nutrición, pero no se identificó qué consumían los animales en la SBC; o si seleccionaban algún recurso forrajero, como consecuencia del suplemento ofrecido, o por la infección por NGI. Por lo tanto, es necesario efectuar estudios donde se determine la conducta de ingestión de pequeños rumiantes durante la época de lluvias en la SBC.

Newman *et al.* (1995) definen la selección de recursos como la decisión que efectúan los animales con respecto a los materiales (plantas) que ellos eligen (partes de las plantas, especies de plantas, etcétera.), y estas decisiones dependen de muchos factores. Manly *et al.* (2002) emplearon los estudios de selección de recursos en fauna silvestre para medir objetivamente la selectividad y comparar la intensidad de selección de los mismos. Para describir la selección de recursos se emplean los índices de selección. A lo largo de la historia se ha propuesto una variedad de índices; los cuales se formulan, básicamente, con dos componentes: el consumo y la disponibilidad de los recursos (Manly *et al.*, 2002).

Entre los primeros utilizados, el índice de Ivlev (1961) relaciona la proporción del recurso consumido entre la proporción disponible del mismo. Este índice lo han utilizado para determinar la preferencia de guanacos (*Lama guanicoe*) en la vegetación heterogénea del noreste de la Patagonia, y presenta la debilidad de estar altamente influenciado por la disponibilidad de los recursos. Por lo tanto, no se debe utilizar cuando se compara la selección y la disponibilidad relativa del recurso. Posteriormente, Jacobs (1974) implementó una modificación al índice de Ivlev. Con esta adaptación, la pérdida del recurso disponible debida al consumo ya no influye en la selección de los mismos; e, igualmente, la disponibilidad se vuelve independiente de la selección.

El índice de Jacobs se aplicó para determinar la selección de cabras (*Capra hircus*) en los matorrales montañosos de la Huesca en España. Por su parte, Owen-Smith y Co-

per (1987) aplicaron diferentes índices para determinar la conducta de ingestión de kudus (*Tragelaphus strepisceros*) en una sabana seca caducifolia. En éste, el índice de aceptación basado en el sitio consiste en el número de veces que una planta es consumida entre el número de veces que está disponible dicha planta, en 10 m alrededor del animal.

Otra variante de este índice de aceptación se calcula dividiendo las plantas consumidas entre el número de plantas encontradas al alcance del cuello del animal. Sin embargo, estos índices presentan la desventaja de una interdependencia estadística entre las plantas que se encuentran alrededor de los animales. En la siguiente sección se describen algunos factores que afectan la selección de recursos en los pequeños rumiantes.

#### IV. Factores que afectan la selección en los pequeños rumiantes

##### IV. 1. Factores físicos de las plantas

Entre los factores físicos que pueden afectar la selección de las plantas consumidas por las cabras, se encuentran: la fenología de las hojas, la morfología de los rebrotes y la presencia/ausencia de espinas. Dziba *et al.* (2003) encontraron que las espinas pueden limitar el acceso a las plantas y reducir el consumo de algunas especies, y existen diferencias morfológicas entre espinas que también pueden influir. También, observaron que las especies deciduas fueron más seleccionadas que las perennes durante el verano. Por último, los brotes cortos limitaron el consumo con respecto a los brotes más largos. Lo anterior, debido al mayor tiempo requerido para cosechar una misma cantidad de biomasa.

Así, en otro estudio, se comparó el consumo de especies de plantas con y sin espinas, entre dos especies de rumiantes ramoneadores de similar tamaño corporal: antílopes (*Tragelaphus scriptus*) y cabras Boer (*Capra hircus*). Los autores reportaron que las cabras fueron capaces de incrementar la tasa de ingestión cuando consumieron plantas con espinas en comparación con los antílopes, además de cambiar el estilo de bocado. En este estudio, la morfología de la planta, la presencia de espinas y el tamaño pequeño de la hoja, influenciaron de manera importante la selección de los animales (Wilson y Kerley, 2003).

Por su parte, Basha *et al.* (2012) hallaron que las cabras son más selectivas durante la época seca, cuando la disponibilidad de follaje es baja; consumiendo, incluso, especies de plantas que han sido reportadas como tóxicas. Un aspecto que determinó la selección en la dieta de diferentes especies fue la cantidad de hojas en las plantas, a través de las diferentes épocas del estudio (secas, lluvias tempranas y lluvias tardías).

##### IV. 2. Disponibilidad de las plantas

No existe información relacionada con carga animal en cuanto a SBC se refiere, ya que los trabajos efectuados a la fecha han tenido otros objetivos. Gallardo *et al.* (2014) compararon la conducta de ingestión y la selectividad de corderos Chilota y Suffolk Down, mediante el análisis micro-histológico de las heces y encontraron que los corderos de diferentes razas tenían dietas similares, a pesar de que los corderos Chilota ramonearon más

tiempo que los corderos Suffolk Down. La selectividad por los pastos disminuyó cuando aumentó la disponibilidad de los mismos.

El trabajo de Osoro *et al.* (2013) con cabras Cashmere pastoreando en diferentes parcelas, donde predominaban las especies *Ulex gallii*, brezo (*Erica umbellata*, *Erica cinerea* y *Calluna vulgaris*) y pastos (*Pseudarrhenatherum longifolium* y *Agrostis curtisii*), mostró que la dieta seleccionada se basó en la disponibilidad de la vegetación. En la parcela predominante con pasto y *Ulex gallii* las cabras seleccionaron brezos (*Erica umbellata*, *Erica cinerea* y *Calluna vulgaris*). Sin embargo, cuando la vegetación predominante fue el brezo, las cabras no lo seleccionaron. Por consiguiente, las cabras seleccionaron la vegetación menos disponible dentro de las parcelas. No se encontraron estudios relacionados con el efecto o la intensidad del ramoneo sobre la supervivencia o persistencia de las plantas de la SBC.

### IV.3. Composición química de las plantas

Ferreira *et al.* (2013) midieron la selectividad de diferentes especies de animales (vacas, yeguas, ovejas y cabras) mediante la técnica de alcanos en brezales (75% vegetación heterogénea y 25% de pastos mejorados). Entre los resultados, los autores reportaron que, a pesar de haber mayor disponibilidad de pasto, las cabras favorecieron la selección de vegetación heterogénea. Asimismo, el cambio de épocas tuvo un mayor efecto sobre la selección de las especies arbustivas, debido a la calidad y la cantidad de los CS.

Basha *et al.* (2009) determinaron la selección de recursos alimenticios en cabras Nguni en bosque costero y espinoso. Estos autores reportaron que las cabras seleccionaron intensamente el follaje de *Acacia nilotica*, la planta con mayor cantidad de taninos condensados (13.20%). Sin embargo, también reportaron una correlación negativa entre los componentes fibrosos (fibra detergente neutra, fibra detergente ácida y lignina) y el índice de selección. En este caso, las cabras no evitaron las plantas con CS.

Cabe señalar que durante la sequía en la SBC es posible encontrar una gran cantidad de frutos y semillas de buena calidad nutricional y que son consumidas por los rumiantes, llegando a representar hasta el 40% del consumo de materia seca de los pequeños rumiantes (González-Pech *et al.*, 2015). A pesar de que algunos frutos y semillas poseen CS, estos materiales no han sido evaluados en cuanto a los factores que pudieran limitar su consumo o su potencial como antihelmíntico.

### IV.4. Características físicas de los animales

Mellado *et al.* (2007) correlacionaron mediciones morfométricas de la mandíbula y dientes y las especies de plantas consumidas por las cabras. En este estudio determinaron que la anatomía bucal de las cabras puede afectar el grado de selectividad hacia algunas especies de plantas en ambientes con vegetación heterogénea. Sin embargo, estas diferencias no afectan la calidad de la dieta y les permiten modular la selección en este tipo de ambientes.

#### IV.5. Estatus fisiológico de los animales

El estado fisiológico de los animales puede influir en la selección de recursos alimenticios de los pequeños rumiantes. Esto, probablemente, se deba a los cambios en los requerimientos nutricionales de las cabras para cumplir sus funciones fisiológicas. Mellado *et al.* (2005) investigaron el efecto de diferentes etapas fisiológicas sobre la selección de recursos del agostadero desértico del norte de México, y observaron que las cabras gestantes seleccionaban los pastos para incrementar la tasa de ingestión de nutrientes, a diferencia de las cabras vacías. Además, las cabras lactantes seleccionaron una gran cantidad de herbáceas (mayor concentración de nutrientes) que arbustivas, comparado con las cabras vacías.

#### V. Estatus de infección con nematodos gastrointestinales

Se asume que el estatus de infección por NGI puede modificar la conducta ingestiva y la selección de recursos. Con relación a la conducta de ingestión, se ha demostrado que la infección por NGI (*Ostertagia circumcincta*) en ovejas, ocasiona una conducta de evasión de potreros contaminados y de reducción del tamaño y cantidad de los bocados, en comparación con ovejas no parasitadas (Hutchings *et al.*, 1998).

Con relación a la selección de recursos, una de las primeras evidencias del nulo efecto de los parásitos sobre dicha selección fue descrita por Hutchings *et al.* (2000), quienes utilizaron el índice de Ivlev para determinar el efecto del estatus parasitario de ovejas de la raza Blackface sobre la selección de la dieta en libre pastoreo de pasto/trébol. Se suponía que las ovejas parasitadas seleccionarían trébol (*Trifolium repens*), por su alta digestibilidad y contenido de nitrógeno, en comparación con el pasto.

No obstante, ambos grupos (parasitado *vs.* desparasitado) seleccionaron el trébol de la misma manera. Por lo tanto, concluyeron que el parasitismo no tuvo un efecto sobre la selección de la dieta en las ovejas. Por otro lado, Kyriazakis *et al.* (1996) reportaron que las ovejas infectadas por NGI seleccionaban una mayor cantidad del alimento rico en proteína comparado con ovinos no infectados.

Para evaluar de manera controlada la zoofarmacognosia, Ventura-Cordero *et al.* (2017) realizaron un estudio de cafetería con cuatro plantas (*Mimosa bahamensis*, *Viguiera dentata*, *Gymnopodium floribundum* y *Leucaena leucocephala*), presentes en la SBC, y que contenían diferentes niveles de taninos y emplearon cabras adultas con niveles de infección alto, medio y sin infección. El objetivo consistía en evaluar si las cabras infectadas y desparasitadas seleccionaban follajes con la finalidad de variar el consumo de taninos y obtener un efecto nutracéutico. Sin embargo, concluyeron que las cabras con infección natural de NGI no modificaron la selección de los recursos.

#### VI. Efectos de los nematodos gastrointestinales sobre los pequeños rumiantes

La infección por NGI representa uno de los mayores problemas para la producción de pequeños rumiantes en el mundo. Cada año ocasiona grandes pérdidas económicas para la industria animal. Los NGI afectan la nutrición y salud de ovejas y cabras y, por ende, reducen la productividad de éstas, medida en términos de producción de leche y la ganancia

diaria de peso. Los efectos negativos de los parásitos reportados en las ovejas y cabras son: anorexia, disminución de la digestión y absorción de nutrientes, anemia y la alteración del metabolismo proteico y energético (Coop y Holmes, 1996; Coop y Kyriazakis, 1999).

Además de los efectos negativos de los parásitos sobre los pequeños rumiantes, se ha estado estudiando la posibilidad de que los mismos animales sean capaces de consumir diferentes forrajes con CS, que sirven para controlar a estos mismos parásitos. A este fenómeno se le conoce como *zoofarmacognosia* (Huffman, 2003). Forbey *et al.* (2009), lo definen, desde una perspectiva diferente e indican que los animales pueden seleccionar CS como tratamiento en contra de desafíos internos o externos para restablecer la homeostasis. Villalba *et al.* (2014) denominan la *zoofarmacognosia* (o automedicación) en los pequeños rumiantes como la selección de alimentos con compuestos que ayuden a disminuir o controlar las infecciones por parásitos.

La *zoofarmacognosia* se clasifica en: preventiva y curativa. La primera, se presenta cuando los animales no muestran signos de enfermedad; y la segunda, cuando los animales presentan signos de enfermedad (Costa-Neto, 2012). La *zoofarmacognosia* preventiva ha sido reportada en cabras de la raza Damascus infectadas artificialmente con nematodos gastrointestinales (*Teladorsagia circumcincta*, *Trichostrongylus colubriformes* y *Chabertia ovina*), las cuales fueron alimentadas con el arbusto *Pistacia lentiscus* como alimento nutracéutico (Amit *et al.*, 2013).

De manera similar, en condiciones tropicales se observó que las cabras criollas pueden expresar la *zoofarmacognosia* de una manera preventiva, debido a que cabras sin infección consumían el follaje de la *Mimosa bahamensis* y *Gymnopodium floribundum* (ricas en taninos condensados), posiblemente, para evitar una infección de NGI; dichas plantas se encuentran ampliamente distribuidas en la SBC (Ventura-Cordero *et al.*, 2017).

Por otra parte, Juhnke *et al.* (2012) realizaron un experimento con corderos divididos en dos grupos experimentales: el de control, alimentado con pulpa de remolacha; el de tratamiento, recibió la dieta con pulpa de remolacha, más una fuente de taninos condensados. Ambos grupos experimentales fueron infectados artificialmente con 10,000 L<sub>3</sub> de *H. contortus*.

En este estudio se encontró que cuando se ofrecía una dieta con y sin taninos, los corderos del grupo tratamiento incrementaron su preferencia por la dieta que presentaba taninos; además, redujeron la cuenta de huevos en heces en comparación con el grupo control. Los autores concluyeron que los corderos expresaron una automedicación curativa debido a que aprendieron a asociar el efecto antihelmíntico de la ingestión de los taninos condensados cuando estaban parasitados.

El estudio *in vivo* de Martínez-Ortiz-de-Montellano *et al.* (2010) evaluó el efecto antihelmíntico del consumo de follaje de *L. latisiliquum* sobre *H. contortus* en ovinos adultos utilizando una prueba de cafetería. Se observó que los ovinos infectados consumieron una mayor cantidad de *L. latisiliquum*, en comparación con los ovinos no infectados. Además, ocasionó una reducción en la excreción de huevos por gramo de heces (HPG) de *H. contortus*, comparado con los animales, consumiendo un material sin CS. Por su parte, Méndez-Ortiz *et al.* (2012) —en un estudio de cafetería— ofrecieron fo-

llaje de *Havardia albicans* a ovinos de pelo (infectados vs. desparasitados) evaluando el efecto sobre la excreción de huevos de *H. contortus*. Los resultados mostraron que el grupo infectado consumió una mayor cantidad de *H. albicans*; además, redujo un 58.80% la excreción de HPG.

Existen numerosas revisiones que resumen los principales tipos de compuestos secundarios y sus posibles efectos positivos y negativos (Torres-Acosta *et al.*, 2008). Los CS, durante muchos años, se consideraron como compuestos antinutricionales (Torres-Acosta *et al.*, 2012). A pesar de ello, los animales no parecen evitar el consumo de la biomasa que contiene CS; ya que, aparentemente, los consumen con diferentes objetivos: como estimulantes, antihelmínticos, laxantes, antibióticos, antibacterianos y también como antídoto contra toxinas (Janzen, 1978).

Entonces, los animales tienen la capacidad de consumir plantas con posibles fines medicinales y esta estrategia les permite aprovechar la diversidad de plantas disponibles. Entre los tipos y mezclas de CS de las plantas que pudieran resultar del consumo de la SBC algunas han sido descritas con actividad antihelmíntica. Por lo tanto, la zoofarmacognosia puede ser considerada como una probable estrategia que manifiesten los rumiantes que pastorean/ramonean la vegetación heterogénea de la SBC.

## VII. Plantas de la selva baja caducifolia con actividad antihelmíntica

Entre los CS de plantas más investigados en cuanto a su actividad antihelmíntica contra los NGI se encuentran los taninos que pertenecen a la familia de los polifenoles (Mueller-Harvey, 2006). Como consecuencia, diversas plantas de la vegetación nativa de Yucatán, que son consideradas ricas en taninos, han sido evaluadas por su potencial efecto antihelmíntico.

Algunos ejemplos son: el tzalam (*Lysiloma latisiliquum*), chucum (*Havardia albicans*), boxkatzin (*Acacia gaumeri*), huaxín (*Leucaena leucocephala*) y jabín (*Piscidia piscipula*) (Alonso-Díaz *et al.*, 2008 a;b). Los estudios sugieren que algunos CS, como los taninos condensados, pueden tener efecto en contra de los NGI. Este aspecto ha sido revisado previamente por Mueller-Harvey (2006) y Hoste *et al.* (2012).

La mayoría de los trabajos que ha evaluado la actividad antihelmíntica de plantas de la SBC ha empleado el parásito *H. contortus* como modelo de estudio, debido al impacto económico que representa en la producción animal. En estudios *in vitro* el extracto de acetona:agua (70:30) de *H. albicans* mostró mayor potencial antihelmíntico que el extracto de *A. gaumeri* sobre larvas L<sub>3</sub> de *Haemonchus contortus*, inhibiendo hasta un 53.10% la migración larval a una concentración de 2,400 µg/ml (Hernández-Orduño *et al.*, 2008).

En otro trabajo, utilizando las pruebas de inhibición de la migración larval y un bioensayo de desvaine larval, se demostró que el extracto acetona:agua de *Vachelia pennatula* inhibió la migración larval en un 43% y el desvaine de 97.20% sobre larvas L<sub>3</sub> de *Haemonchus contortus* (Alonso-Díaz *et al.*, 2008a).

En contraste con los trabajos anteriores —en un estudio, con el fin de determinar el efecto del consumo del follaje de *H. albicans* sobre la digestibilidad y una evaluación

post-mortem de la infección de *H. contortus*— demostró que los ovinos infectados y no infectados consumieron una cantidad similar de *H. albicans*; por lo tanto, los parásitos aparentemente no modificaron el consumo. Sin embargo, hubo un efecto directo del follaje sobre los parásitos, disminuyendo la longitud y la fecundidad de las hembras (Galicia-Aguilar *et al.*, 2012).

La mayoría de los trabajos *in vivo* que se han realizado en condiciones controladas han evaluado una sola planta en cada ocasión. Esto es debido a dos razones principales: a) estimar el potencial antihelmíntico de cada planta; y, b) la dificultad inherente de evaluar posibles efectos farmacológicos que provienen de los múltiples compuestos hallados en una mezcla de plantas. No obstante, los trabajos de conducta ingestiva y selección de recursos arriba referidos representan un primer esfuerzo para explicar los mecanismos de posibles efectos nutracéuticos.

Así, los trabajos antes descritos demostraron que algunas plantas de la SBC poseen actividad antihelmíntica y pueden considerarse como nutracéutica. Entonces, si existen este tipo de plantas en la selva baja caducifolia, ¿por qué existen animales parasitados? La respuesta a esta interrogante es más complicada de determinar, debido a las interacciones entre la planta-animal-parásito; por lo que reviste un trabajo que continuará realizándose durante los próximos años.

## Conclusiones

La información reportada en el presente trabajo es un avance para priorizar el manejo de las plantas como alimento nutracéutico y así disminuir la carga de NGI; de esta manera se mejorará la homeostasis de los pequeños rumiantes. Ésta, contribuirá para la administración de este recurso de manera sustentable; para que, en un periodo a corto plazo, se diseñen estrategias del correcto uso de la selva baja caducifolia como recurso para la alimentación animal. Sumado a esto, se presentó evidencia de cómo las plantas de la SBC tienen un efecto antihelmíntico, en estudios *in vitro* e *in vivo* en ovinos y caprinos. En conjunto, ayudará a enfatizar las bondades que presenta esta vegetación; y, así, promover su revalorización para los diferentes sistemas de producción. Sin embargo, se abren nuevas expectativas para seguir explorando la compleja relación entre las plantas, los pequeños rumiantes y los nematodos gastrointestinales.

## Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por otorgar la beca de “Estancias posdoctorales y sabáticas vinculadas para el fortalecimiento en Ciencias Agropecuarias y Manejo de Recursos Naturales Tropicales” del proyecto con el número de convenio CB-2013/221041.

## Literatura citada

- Andlauer, W. y Fürst, P. (2002). Nutraceuticals: a piece of history, present status and outlook. *Food Res. International*. 35(2): 171-176.
- Alonso-Díaz, M. A.; Torres-Acosta, J. F. J.; Sandoval-Castro, C. A.; Aguilar-Caballero, A. J. y Hoste, H. (2008a). *In vitro* larval migration and kinetics of exsheathment of *Haemonchus contortus* larvae exposed to four tropical tanniniferous plant extracts. *Vet. Parasitol.* 153(3):313-319.
- Alonso-Díaz, M. A.; Torres-Acosta, J. F. J.; Sandoval-Castro, C. A.; Hoste, H.; Aguilar-Caballero, A. J. y Capetillo-Leal, C. M. (2008b). Is goats' preference of forage trees affected by their tannin or fiber content when offered in cafeteria experiments? *Anim. Feed Sci. Technol.* 141(1):36-48.
- Alonso-Díaz, M. A.; Torres-Acosta, J. F. J.; Sandoval-Castro, C. A. y Campbell, W. B. (2014). Controlling the introduction and augmentation of parasites in and on domesticated livestock. (Eds. W. B. Campbell y S. López-Ortíz). In: *Sustainable Food Production Includes Human and Environmental Health*. Netherlands. (Springer). pp: 191-228.
- Amit, M.; Cohen, I.; Marcovics, A.; Muklada, H.; Glasser, T. A.; Ungar, E. D. y Landau, S. Y. (2013). Self-medication with tannin-rich browse in goats infected with gastro-intestinal nematodes. *Vet. Parasitol.* 198(3):305-311.
- Andlauer, W. y Fürst, P. (2002). Nutraceuticals: a piece of history, present status and outlook. *Food Res.* 35(2):171-176.
- Basha, N. A. D.; Scogings, P. E. y Nsahlai, I. V. (2009). Diet selection by Nguni goats in the Zululand Thornveld. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 39(5):33-36.
- Basha, N. A. D.; Scogings, P. F.; Dziba, L. E. y Nsahlai, I. V. (2012). Diet selection of Nguni goats in relation to season, chemistry and physical properties of browse in sub-humid subtropical savanna. *Small Rumin. Res.* 102(2):163-171.
- Coop, R. L. y Holmes, P. H. (1996). Nutrition and parasite interaction. *Int. J. Parasit.* 26(8):951-962.
- Coop, R. L. y Kyriazakis, E. (1999). Nutrition-Parasite interaction. *Vet. Parasitol.* 84(3):187-204.
- Costa-Neto, E. M. (2012). Zoopharmacognosy, the self-medication behavior of animals. *Interfaces Científicas-Saúde e Ambiente.* 1(1):61-72.
- Dziba, L. E.; Scogings, P. F.; Gordon, I. J. y Raats, J. G. (2003). Effects of season and breed on browse species intake rates and diet selection by goats in the False Thornveld of the Eastern Cape, South Africa. *Small Rumin. Res.* 47(1):17-30.
- Ferreira, L. M. M.; Celaya, R.; Benavides, R.; Jáuregui, B. M.; García, U.; Santos, A. S.; García, R. R.; Rodrigues, M. A. M. y Osoro, K. (2013). Foraging behaviour of domestic herbivore species grazing on heathlands associated with improved pasture areas. *Lives. Sci.* 155(2-3):373-383.
- Flores, S. J. y Bautista, F. (2012). Knowledge of the Yucatec Maya in seasonal tropical forest management: the forage plants. *Rev. Mex. Biodivers.* 83(2):503-518.
- Forbey, J. S.; Harvey, A. L.; Huffman, M. A.; Provenza, F. D.; Sullivan, R. y Tasdemir, D. (2009). Exploitation of secondary metabolites by animals: A response to homeostatic challenges. *Integr. Comp. Biol.* 49(3):314-328.
- Galicia-Aguilar, H. H.; Rodríguez-González, L. A.; Capetillo-Leal, C. M.; Cámara-Sarmiento, R.; Aguilar-Caballero, A. J.; Sandoval-Castro, C. A. y Torres-Acosta, J. F. J. (2012). Effects of *Havardia albicans* supplementation on feed consumption and dry matter digestibility of sheep and the biology of *Haemonchus contortus*. *Anim. Feed Sci. Technol.* 176(1):178-184.
- Gallardo, M. A.; Rivero, M. J. y Faúndez, L. (2014). The grazing behavior and diet selectivity of two lamb breeds on secondary successional pastures in the Chiló Archipelago. *Livest. Sci.* 161:69-79.
- González-Pech, P. G.; Torres-Acosta, J. F. J.; Sandoval-Castro, C. A. y Tun-Garrido, J. (2015). Feeding behavior of sheep and goats in a deciduous tropical forest during the dry season: the same menu consumed differently. *Small Rumin. Res.* 133: 128-134.
- Hernández-Orduño, G.; Torres-Acosta, J. F. J.; Sandoval-Castro, C. A.; Aguilar-Caballero, A. J.; Reyes Ramírez, R. R.; Hoste, H. y Calderón-Quintal, J. A. (2008). *In vitro* anthelmintic effect of *Acacia*

- gaumeri, *Havardia albicans* and quebracho tannin extracts on a mexican strain of *Haemonchus contortus* L3 larvae. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 8(2):191-197.
- Hoste, H.; Martínez-Ortiz-De-Montellano, C.; Manolaraki, F.; Brunet, S.; Ojeda-Robertos, N.; Fourquaux, I.; Torres-Acosta, J. F. J. y Sandoval-Castro, C. A. (2012). Direct and indirect effects of bioactive tannin-rich tropical and temperate legumes against nematode infections. *Vet. Parasitol.* 186(1):18-27.
- Hoste, H.; Torres-Acosta, J. F. J.; Sandoval-Castro, C. A.; Mueller-Harvey, I.; Sotiraki, S.; Louvandini, H.; Thamsborg, S. M. y Terrill, T. H. (2015). Tannin containing legumes as a model for nutraceuticals against digestive parasites in livestock. *Vet. Parasitol.* 212(1):5-17.
- Huffman, M. A. (2003). Animal self-medication and ethno-medicine: exploration and exploitation of the medicinal properties of plants. *Proc. Nutr. Soc.* 62(2):371-381.
- Hutchings, M. R.; Gordon, I. J.; Robertson, E.; Kyriazakis, I. y Jackson, F. (2000). Effects of parasitic status and level of feeding motivation on the diet selected by sheep grazing grass/clover swards. *J. Agric. Sci.* 135(1):65-75.
- Hutchings, M. R.; Kyriazakis, I.; Anderson, D. H.; Gordon, I. J. y Coop, R. L. (1998). Behavioural strategies used by parasitized and non-parasitized sheep to avoid ingestion of gastro-intestinal nematodes associated with faeces. *Animal Science.* 67(1):97-106.
- Ivlev, V. S. (1961). *Experimental ecology of the feeding of fishes.* Yale. Univ. Press, New Haven, CT. USA. 302 pp.
- Jacobs, J. (1974). Quantitative measurements of food selection a modification of the forage ration and Ivlev's elective index. *Oecologia.* 14(4):413-417.
- Janzen, D. H. (1978). Complications in interpreting the chemical defenses of tree against tropical arboreal plant-eating vertebrates. (Editor: Montgomery G.G.). *The ecology of arboreal folivores.* Washington. Smithsonian Institute Press. pp. 73-84.
- Juhnke, J.; Miller, J.; Hall, J. O.; Provenza, F. D. y Villalba, J. J. (2012). Preference for condensed tannins by sheep in response to challenge infection with *Haemonchus contortus*. *Vet. Parasitol.* 188(1):104-114.
- Kyriazakis, I.; Anderson, D. H.; Oldham, J. D.; Coop, R. L. y Jackson, F. (1996). Long-term subclinical infection with *Trichostrongylus colubriformis*; effects on food intake, diet selection and performance of growing lambs. *Vet. Parasitol.* 61(3-4): 297-313.
- Manly, B. F.; McDonald, L. L.; Thomas, D. L.; McDonald, T. L. y Erickson, W. P. (2002). *Resource selection by animals*, second ed. Editorial Springer. Netherlands. 221 pp.
- Martínez-Ortiz-de-Montellano, C.; Vargas-Magaña, J. J.; Canul-Ku, H. L.; Miranda-Soberanis, R.; Capetillo-Leal, C.; Sandoval-Castro, C. A.; Hoste, H. y Torres-Acosta, J. F. J. (2010). Effect of a tropical tannin-rich plant *Lysiloma latisiliquum* on adult populations of *Haemonchus contortus* in sheep. *Vet. Parasitol.* 172(3):283-290.
- May, N. G. (2002). *Caracterización de los sistemas de producción caprina del estado de Yucatán: resultados de una encuesta estática.* Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán, México.
- Mellado, M.; Rodríguez, A.; Villarreal, J. A. y Olvera, A. (2005). The effect of pregnancy and lactation on diet composition and dietary preference of goats in a desert rangeland. *Small Rumin. Res.* 58(1): 79-85.
- Mellado, M.; Olivares, L.; Pittroff, W.; Díaz, H.; López, R. y Villarreal, J. A. (2007). Oral morphology and dietary choices of goats on rangeland. *Small Rumin. Res.* 71(1):194-199.
- Méndez-Ortíz, F. A.; Sandoval-Castro, C. A. y Torres-Acosta, J. F. J. (2012). Short term consumption of *Havardia albicans* tannin rich fodder by sheep: Effects on feed intake, diet digestibility and excretion of *Haemonchus contortus* eggs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 176(1):185-191.
- Mueller-Harvey, I. (2006). Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *J. Sci. Food Agric.* 86(13):2010-2037.
- Murgueitio, E.; Calle, Z.; Uribe, F.; Calle, A. y Solorio, B. (2011). Native trees and shrubs for the productive rehabilitation of tropical cattle ranching lands. *For. Ecol. Manage.* 261(10):1654-1663.
- Newman, J. A.; Parsons, A. J.; Thornley, J. H. M.; Penning, P. D. y Krebs, J. R. (1995). Optimal diet selection by a generalist grazing herbivore. *Funct. Ecol.* 9(2):255-268.

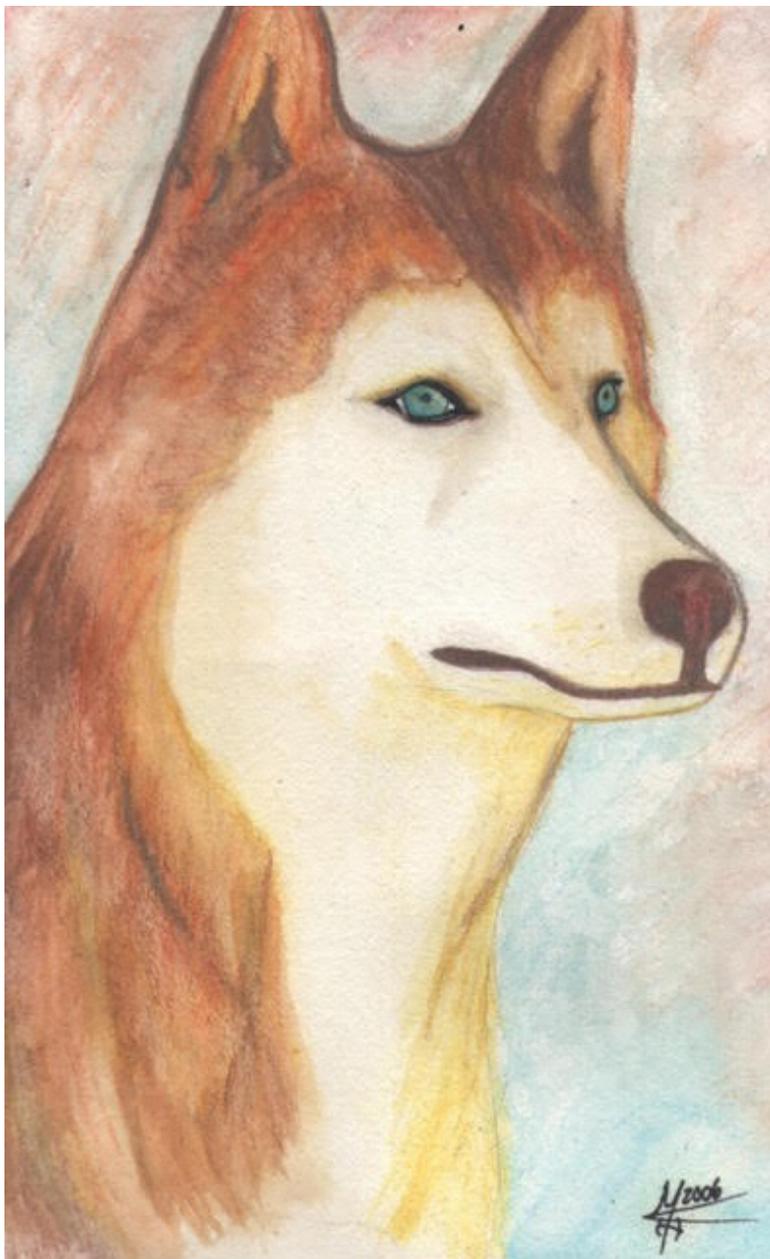
- Ortega-Reyes, L. (1985). Composición química y digestibilidad de la dieta de ovinos pelibuey bajo condiciones de libre pastoreo en un henequenal de Yucatán, México. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 48: 17–23.
- Osoro, K.; Ferreira, L. M. M.; García, U.; Jáuregui, B. M.; Martínez, A.; García, R. R. y Celaya, R. (2013). Diet selection and performance of sheep and goats grazing on different heathland vegetation types. *Small Rumin. Res.* 109(2):119-127.
- Owen-Smith, N. y Cooper, S. M. (1987). Assessing food preferences of ungulates by acceptability indices. *J. Wildl. Manage.* 51(2):372-378.
- Ríos, G. y Riley, J. A. (1985). Preliminary studies on the utilization of the natural vegetation in the henequen zone of Yucatán for the production of goats I. Selection and nutritive value of native plants. *Trop. Anim. Product.* 10:1-10.
- Roa-Fuentes, L. L.; Campo, J. y Parra-Tabla, V. (2012). Plant biomass allocation across a precipitation gradient: an approach to seasonally dry tropical forest at Yucatan, Mexico. *Ecosystems* 15(8):1234-1244.
- Torres-Acosta, J. F. J.; Jacobs, D. E.; Aguilar-Caballero, A.; Sandoval-Castro, C. A.; May-Martínez, M. y Cob-Galera, L. A. (2004). The effect of supplementary feeding on the resilience and resistance of browsing Criollo kids against natural gastrointestinal nematode infections during the rainy season in tropical Mexico. *Vet. Parasitol.* 124(3):217-238.
- Torres-Acosta, J. F. J.; Alonso-Díaz, M. Á.; Hoste, H.; Sandoval-Castro, C. A. y Aguilar-Caballero, A. J. (2008). Efectos negativos y positivos del consumo de forrajes ricos en taninos en la producción de caprinos. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 9(1):83-90.
- Torres-Acosta, J. F. J.; Sandoval-Castro, C. A.; Hoste, H.; Aguilar-Caballero, A. J.; Cámara-Sarmiento, R. y Alonso-Díaz, M. A. (2012). Nutritional manipulation of sheep and goats for the control of gastrointestinal nematodes under hot humid and subhumid tropical conditions. *Small Rumin. Res.* 103(1):28-40.
- Torres-Acosta, J. F. J.; González-Pech, P. G.; Ortíz-Ocampo, G. I.; Rodríguez-Vivas, R. I.; Tun-Garrido, J.; Ventura-Cordero, J.; Castañeda-Ramírez, G. S.; Hernández-Bolio, G. I.; Sandoval-Castro, C.A.; Chan-Pérez, J. I. y Ortega-Pacheco, A. (2016). Revalorizando el uso de la selva baja caducifolia para la producción de rumiantes. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 19(1): 3-80.
- Ventura-Cordero, J.; Pech-Cervantes, A.; Sandoval-Castro, C. A.; Torres-Acosta, J. F. J.; González-Pech, P. G. y Sarmiento-Franco, L. A. (2013). Relación herbívoro-tanino: adaptación de ovinos y caprinos a la vegetación rica en taninos de la Península de Yucatán. *Bioagrociencias.* 6(1):19-25.
- Ventura-Cordero, J.; González-Pech, P. G.; Jaimez-Rodríguez, P. R.; Ortíz-Ocampo, G. I.; Sandoval-Castro, C. A. y Torres-Acosta, J. F. J. (2017). Gastrointestinal nematode infection does not affect selection of tropical foliage by goats in a cafeteria trial. *Trop. Anim. Health. Prod.* 49(1):97-104.
- Ventura-Cordero, J.; Sandoval-Castro, C. A.; González-Pech, P. G.; Torres-Acosta, J. F. J.; Capetillo-Leal, C. M. y Santos-Ricalde, R. H. (2016). Nutracéuticos: ¿Qué son y para qué sirven? *Bioagrociencias.* 9(2):19-26.
- Villalba, J. J.; Miller, J.; Ungar, E. E.; Landau, S. Y. y Glendining, J. (2014). Ruminant self-medication against gastrointestinal nematodes: evidence, mechanism, and origins. *Parasite.* 21: 31.
- Waller, P. J. y Thamsborg, S. M. (2004). Nematode control in 'green' ruminant production systems. *Trends in Parasitol.* 20(10):493-497.
- Wilson, S. L. y Kerley, G. I. H. (2003). The effect of plant spinescence on the foraging efficiency of bushbuck and Boer goats: browsers of similar body size. *J. Arid. Environ.* 55(1):150-158.

Recepción: 31 de enero de 2017

Envío arbitraje: 04 de febrero de 2017

Dictamen: 06 de abril de 2017

Aceptado: 07 de julio de 2017



Título: *Husky retrato*

Dimensiones: 17.7 cm x 26.7 cm

Técnica: Acuarela sobre papel

Autora: Marisol Herrera Sosa

# Germinación *in vitro* de semillas de *Vanilla planifolia* Jacks y comparación de métodos de micropropagación

*In vitro* germination of *Vanilla planifolia* Jacks seeds and comparison of micropropagation methods

Oscar Flores Castaños,<sup>1</sup> Juan Francisco Cuéllar Zometa,<sup>2</sup>  
María Elena Montes de Godoy,<sup>2</sup> Martín Roberto Gámez Pastrana,<sup>1</sup>  
María Teresa González Arnao,<sup>3\*</sup> Marina Guevara Valencia<sup>3</sup>  
y Noé Aguilar Rivera<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad Veracruzana (UV), Campus Córdoba-Orizaba  
Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias  
Peñuela, Amatlán SN, Centro  
Amatlán de los Reyes, Veracruz (México) (C. P. 94945).  
Teléfono: 01 2717166129

<sup>2</sup> Universidad Católica de El Salvador (UNICAES)  
By pass a Metapán y Carretera Antigua a San Salvador  
Santa Ana, El Salvador.  
Teléfono: 5032484060

<sup>3</sup> Universidad Veracruzana (UV), Campus Córdoba-Orizaba  
Facultad de Ciencias Químicas  
Prolongación de Avenida Oriente 6 1009, Rafael Alvarado  
Orizaba, Veracruz (México) (C. P. 94340).  
Teléfono: 01 2727240120

\*Correspondencia: mtgarnao1@hotmail.com

## Resumen

En este trabajo se evaluó el cultivo *in vitro* con la especie *Vanilla planifolia*, a través de la germinación de semillas de cápsulas colectadas en áreas identificadas en El Salvador. Se compararon dos métodos de micropropagación, el convencional por cultivo en medio semisólido y en medio líquido usando biorreactores de inmersión temporal. Por análisis de prospección se seleccionó una localidad al occidente del país donde se colectaron cápsulas de tres tamaños: 4 cm, 9 a 10 y de 15 a 18 cm. La germinación *in vitro* de semillas se indujo en medio semisólido Murashige y Skoog (MS) con la adición o no

## Abstract

In this work, we evaluated the *in vitro* culture of *Vanilla planifolia* specie through germination of seeds from capsules collected in identified areas of El Salvador. Two micropropagation methods were compared, the conventional by the culture on semisolid medium, and in liquid medium using temporary immersion bioreactors. By prospection analysis we selected a location at the occident of the country where capsules of three sizes: 4 cm, 9 to 10 and 15 to 18 cm were collected. *In vitro* germination of seeds was induced on semisolid medium Murashige and Skoog (MS) with or without addition of

de carbón activado y el cultivo en condiciones de fotoperiodo o en total oscuridad. Los brotes obtenidos se propagaron después de cinco subcultivos en medio semisólido MS modificado con la adición de hormonas y en biorreactores de inmersión temporal tipo BIT®. Con ambos métodos, se evaluó la altura alcanzada, el número de brotes formados y la capacidad formadora de brotes (CFB) a los 30 días de cultivo. Los resultados demostraron que el 90 % de las semillas inmaduras de cápsulas de 9 a 10 cm germinaron *in vitro* a los dos meses de cultivo en oscuridad. No se encontraron diferencias significativas entre el número de brotes y la CFB para ambos métodos de propagación, aunque la inmersión temporal, propició un mayor crecimiento en el mismo tiempo de cultivo. No obstante, los resultados obtenidos corroboraron la utilidad de ambas alternativas biotecnológicas para la multiplicación *in vitro* de vainilla.

### Palabras clave

Prospección, colecta, cápsulas, medio semisólido, inmersión temporal.

activated charcoal, and by culture under photoperiod conditions or in total darkness. Shoot regenerated were multiplied after five subcultures on semisolid medium MS modified with addition of hormones and in liquid medium using temporary immersion bioreactors BIT® type. With both methods the height reached was evaluated, the number of shoots formed and the shoot formation capacity (SFC) after 30 days of culture. The results demonstrated that 90 % of immature seeds from capsules of 9-10 cm germinated *in vitro* after two months of culture in darkness. No significant differences were detected between the number of shoots formed and the SFC for both methods, although the temporary immersion, produced more growth in the same culture time. Nevertheless, the obtained results corroborated the utility of both biotechnological alternatives for *in vitro* multiplication of vanilla.

### Keywords

Prospection, collect, capsules, semisolid medium, temporary immersion.

## Introducción

**V***anilla planifolia* es una especie que pertenece a la familia Orchidaceae y constituye la fuente natural por excelencia para la obtención de vainillina, producto de gran valor comercial por su amplio uso a nivel industrial como saborizante y aromatizante (Dignum *et al.*, 2001; Sagarpa, 2010). Este género comprende alrededor de 110 especies distribuidas en las regiones tropicales del mundo, excepto en Australia (Purseglove *et al.*, 1981; Bory *et al.*, 2008).

De las especies reconocidas del género *Vanilla*, se ha determinado que 15 son originarias de México y Centroamérica; de las cuales, las dos más cultivadas son *V. planifolia* y *V. pompona*, que además se encuentran emparentadas (Azofoifa-Bolaños *et al.*, 2014; Soto-Arenas y Dressler, 2010).

Las áreas con mayor prioridad de protección son aquellas con altas concentraciones de especies que mantienen la estructura y funcionalidad de los ecosistemas. La identificación y localización de estas áreas se realiza mediante estudios de prospección, utilizando como antecedentes fundamentales los indicadores del grado de polimorfismo, distribución geográfica de las especies, configuración de los paisajes, entre otros parámetros (Squeo y Arroyo, 2001). Por lo tanto, la identificación y localización de estas áreas potenciales contribuye al desarrollo del conocimiento biológico de las especies, a la conser-

vación de la biodiversidad y representan una alternativa importante de apoyo para el rescate y preservación de un patrimonio natural en términos ecosistémicos (Azofeifa-Bolaños *et al.*, 2014).

La importancia del estudio de la vainilla como cultivo, no sólo radica en su potencial económico, sino también, por su relevancia como recurso genético primario que se encuentra severamente amenazado en su hábitat original. Las causas fundamentales están asociadas al desconocimiento de la variación genética de especies silvestres, a la excesiva recolección para su propagación vegetativa y a la pérdida de la calidad del producto, debido a la subutilización de otras especies distintas a la *V. planifolia* (Bory *et al.*, 2008; Herrera-Cabrera *et al.*, 2012; Soto-Arenas, 2006).

Esta problemática afecta principalmente a los productores que la utilizan como sustento familiar, por lo que resulta necesario establecer alternativas que contribuyan no sólo al rescate de la especie, sino también a establecer metodologías de propagación que garanticen la disponibilidad de material para solventar las necesidades de los distintos sectores de interés.

La micropropagación es el proceso de multiplicación asexual de plantas utilizando las técnicas de cultivo de tejidos *in vitro*. Esta es una de las aplicaciones más extendidas entre todas las técnicas que componen la llamada biotecnología vegetal; ello se debe a su enorme productividad, al compararse con las técnicas tradicionales de propagación (Debergh y Read, 1991). Entre las ventajas que ofrece este proceso destacan: el mantenimiento de las características genotípicas del material inicial, el uso de ambientes controlados en condiciones asépticas y el número ilimitado de plantas que se pueden obtener a corto plazo (Pérez-Molphe-Balch *et al.*, 1999).

La tasa a la cual los cultivos *in vitro* crecen y producen yemas durante la micropropagación puede estar influenciada por la composición y tipo de medio de cultivo utilizado (George *et al.*, 2008). Generalmente, se emplean medios semisólidos o medios líquidos. El medio semisólido presenta la desventaja de tener una baja tasa de multiplicación en algunas especies y que se requiera lavar el agente gelificante utilizado (Agar, fitagel, entre otros) de las raíces, antes de trasladar las plántulas al sustrato para su cultivo *ex vitro* (Evans *et al.*, 1984).

Por su parte, el medio líquido —aunque propicia mayores tasas de crecimiento— debido a que facilita la adsorción de nutrientes por el aumento de la superficie de contacto del explante con el medio, presenta la desventaja de que la inmersión continua de los tejidos provoca síntomas de estrés por oxidación y vitrificación (Hvoslef-Eide *et al.*, 2005). Los problemas que presentan los medios líquidos pueden ser superados con el uso de métodos alternativos, como los biorreactores de inmersión temporal; los cuales se basan en sólo la inmersión periódica de los explantes en el medio de cultivo, permitiendo el intercambio gaseoso dentro del recipiente que los contiene (Damiano *et al.*, 2003).

La implementación de estos sistemas automatizados para la propagación de plantas en condiciones *in vitro*, y específicamente en el caso de la *Vanilla planifolia*, ha demostrado que el sistema de Biorreactores de Inmersión Temporal tipo BIT® favorece la generación de plantas vigorosas y sin anomalías morfológicas, además de representar una

alternativa económica para la micropropagación comercial que puede aplicarse a otras especies (Ramírez-Mosqueda e Iglesias-Andreu, 2016).

El cultivo *in vitro* de la vainilla, generalmente, se inicia con la introducción y establecimiento de las yemas axilares después de un proceso riguroso de desinfección de los explantes. Aunque pudiera pensarse que inducir la geminación *in vitro* de sus semillas sería una práctica muy conveniente, este proceso no se realiza porque —a diferencia de muchas otras orquídeas— sus semillas no germinan.

Al considerar estas dificultades y con la intención de definir alternativas metodológicas que contribuyan a mitigar estos aspectos, el objetivo de este trabajo fue aplicar técnicas de cultivo de tejidos para estudiar la germinación *in vitro* de semillas de *Vanilla planifolia* colectadas en El Salvador y evaluar, comparativamente, dos métodos de micropropagación: cultivo en medio semisólido y en sistemas de inmersión temporal.

## Materiales y métodos

### *Parámetros utilizados para la realización de estudios de prospección*

Se utilizaron datos georreferenciados de colectas de especies nativas del género *Vanilla*, distribuidas desde México hasta el norte de Sudamérica, a través de la Infraestructura Mundial de Información en Biodiversidad (GBIF) con mayor énfasis en la localización de áreas en el territorio salvadoreño. Para cada sitio se verificó la ubicación, empleando la base de datos de GEOnet Names Server (GNS). La identidad taxonómica se corroboró utilizando la lista de cotejo para la familia Orchidaceae (Govaerts *et al.*, 2015).

Los datos georreferenciados por especie, junto con 19 capas de información bioclimática de WORLDCLIM versión 1.4 (Hijmans *et al.*, 2008) a una resolución de 30 segundos de arco y modelos digitales de elevación para el área (Jarvis *et al.*, 2008), fueron empleados para la generación de mapas de distribución potencial por especie. Las variables bioclimáticas se derivaron de valores mensuales de temperatura y precipitación, que representan tendencias anuales, estacionales y factores extremos ambientales. Los datos utilizados correspondieron a colectas de material biológico dentro de un amplio rango temporal, desde 1960 hasta el año 2015, realizadas desde el norte de México hasta el norte de Sudamérica.

Los modelos de distribución potencial se realizaron usando el programa MaxEnt versión 3.3.3k (Elith *et al.*, 2011) y los parámetros: porcentaje de prueba aleatoria de 20%, dos réplicas y, como regla de umbral, el percentil 10 de los datos de presencia de entrenamiento. Los mapas generados por MaxEnt se reclasificaron para generar mapas binarios de ausencia-presencia, con una línea de corte igual al promedio de los umbrales de las dos réplicas.

Del total de especies se seleccionaron aquellas cuyos mapas binarios indicaban sitios idóneos para la presencia de *Vanilla* dentro del territorio salvadoreño y se sumaron para generar un mapa único que mostrara espacialmente la factibilidad de encontrar de una a

tres especies. Para la obtención de límites departamentales se utilizó la base de datos de áreas administrativas globales, versión 2.8.

### *Colecta e introducción in vitro semillas*

Se realizó la colecta de cápsulas en el mes de junio antes del mediodía, en temporada de lluvias en la finca Matala, Ahuachapán en el municipio de la Concepción de Ataco (El Salvador). Se seleccionaron tres cápsulas de tres tamaños (4 cm, 9 a 10 cm y de 15 a 18 cm) con un grosor de 0.5 a 1 cm y todas de coloración verde intenso, a pesar de las diferencias en las dimensiones. El material colectado se transfirió al Laboratorio de Cultivo de Tejido de la Universidad Católica de El Salvador (UNICAES) para iniciar los trabajos de germinación *in vitro*.

### *Desinfección de las cápsulas y cultivo in vitro de semillas*

Se realizó la desinfección superficial manteniendo las cápsulas sumergidas en una solución de hipoclorito de sodio al 5% y tres gotas de Tween® 80 en 100 mL de agua durante 20 minutos. Se realizaron tres lavados con agua tratada en ósmosis inversa durante tres minutos y el material lavado se introdujo en una cámara de flujo laminar. Posteriormente, las cápsulas se sumergieron en etanol al 95% y se colocaron sobre una lámina de papel aluminio donde se flamearon hasta la combustión total del etanol.

Terminado el proceso de desinfección en condiciones asépticas, se procedió a realizar la disección de las cápsulas con ayuda de un bisturí, efectuando cortes primeramente en los extremos y luego un solo corte longitudinal a la mitad de la cápsula. Las semillas con un tamaño máximo de 0.5 mm y de color blanco arenoso se extrajeron y dispersaron sobre el medio de cultivo semisólido MS (Murashige y Skoog, 1962) con la adición ( $2.5 \text{ g L}^{-1}$ ), o no, de carbón activado, ajustado a un pH de 5.8 y previamente esterilizado a  $122^\circ\text{C}$  a una presión de  $1.75 \text{ kg cm}^2$  por 15 minutos.

Para inducir la germinación *in vitro*, las semillas colocadas sobre el medio nutritivo se mantuvieron bajo dos condiciones de cultivo: fotoperiodo a 16h luz/8h oscuridad con una intensidad lumínica de  $36 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  y en total oscuridad; ambas, a una temperatura de  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ . Cuando las semillas mantenidas a la oscuridad mostraron indicios claros de ruptura de la testa, fueron transferidas a las condiciones de fotoperiodo, con la finalidad de inducir su desarrollo expuestas al nivel de iluminación estándar utilizado en el cultivo *in vitro*.

A los cuatro meses de iniciados los experimentos de germinación, los brotes que se desarrollaron fueron propagados en un medio MS semisólido modificado por la adición de  $2 \text{ mg L}^{-1}$  de 6-*N*-Bencilaminopurina (BAP),  $1 \text{ mg L}^{-1}$  de Ácido Indol-3-Butírico (IBA) y  $3 \text{ g L}^{-1}$  de fitagel (SIGMA).

### *Propagación in vitro*

#### Medio semisólido

La propagación en medio semisólido se realizó utilizando plántulas de la especie *V. planifolia* donadas por la UNICAES al Laboratorio de Biotecnología y Criobiología Vegetal

de la Universidad Veracruzana, las cuales se obtuvieron por germinación *in vitro* de semillas de los frutos colectados en El Salvador. Después de 30 días del último subcultivo (cinco subcultivos) en el medio de propagación, anteriormente descrito, el material se homogenizó mediante el corte a una altura inicial de 2 cm y los explantes se transfirieron nuevamente al medio de cultivo semisólido y se mantuvieron bajo las mismas condiciones de fotoperiodo y temperatura.

### *Biorreactores de inmersión temporal tipo BIT®*

Para la propagación mediante el método de inmersión temporal, se empleó el modelo tipo BIT® utilizando igualmente explantes con un tamaño inicial de 2 cm y provenientes de la propagación en medio semisólido, como se describió anteriormente. Se instaló un módulo de cinco biorreactores consistente, cada uno, de dos recipientes de capacidad de 1 litro interconectados por tubos de silicona. Un frasco se utilizó para mantener el medio de cultivo líquido, empleando 230 mL, y otro, para contener los explantes. Los biorreactores se esterilizaron primeramente vacíos en autoclave a la misma presión descrita, pero aumentando el tiempo de esterilización a 20 minutos.

Posteriormente, se armaron en campana de flujo laminar y se colocaron 13 vitroplántulas por cada sistema, así como el volumen de medio de cultivo, previamente indicado en los respectivos frascos. El periodo de inmersión de las plántulas en el medio líquido y la frecuencia se reguló a 1 minuto de inmersión cada 4 horas, mediante el uso de cronómetros programados y conectados a válvulas solenoides que controlan el paso del aire y regulan el traslado del medio líquido de un recipiente a otro. Todo esto, producto de la presión de aire interna en el rango de 60-100 Bar generada con ayuda de un compresor.

### *Evaluación del crecimiento y formación de nuevos brotes*

Se realizó la evaluación del desarrollo de los explantes sometidos a ambos métodos de propagación a los 30 días de cultivados. Se midió la altura de las plántulas en crecimiento y se contabilizó el número de brotes obtenidos. Adicionalmente, se calculó la capacidad de formación de brotes (CFB), acorde a la formulación establecida por Pulido *et al.* (1992).

$$CFB = \frac{(\text{Promedio de brotes por explante})(\% \text{ de explantes con brotes})}{100}$$

### *Análisis estadístico*

Los experimentos de germinación *in vitro* a pesar de que contemplaron la comparación de tres tamaños de cápsulas, la adición o no de carbón activado al medio nutritivo y dos condiciones de cultivo (luz y oscuridad), no se procesó estadísticamente debido a la imposibilidad de cuantificar el número de semillas por cápsula. La evaluación de este proceso únicamente se realizó observando la ocurrencia de germinación o no. Los ensayos de los dos métodos de propagación (medio semisólido y BIT) se llevaron a cabo por duplicado

con una n: 13 y los parámetros evaluados fueron altura, formación de nuevos brotes y CFB. Se aplicó un análisis de varianza y las medias se compararon según la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) utilizando el programa estadístico MINITAB® Versión 17.1.0 (Lesik, 2009).

## Resultados

### Estudios de prospección

Los estudios de prospección realizados permitieron identificar áreas potenciales de colecta con probabilidades de encontrar de una a tres especies de vainilla. Acorde al programa MaxEnt, las especies con mayor probabilidad de presencia en el territorio salvadoreño fueron *V. odorata*, *V. planifolia* y *V. pompona*.

El mapa resultante mostró la localización de zonas geográficas con base en una escala de grises, la cual se representó gráficamente en la figura 1 con formas geométricas: sitios donde encontrar una sola especie, se indicaron con el rectángulo; dos especies, con el óvalo; y hasta tres especies, con el triángulo.

A partir de este análisis se asumió que las dos áreas señaladas con triángulos y localizadas en la zona occidental o centro-oriental del Territorio de El Salvador, deberían ser las más apropiadas para realizar colecta. Estratégicamente, se seleccionó por cercanía y facilidades de acceso desde Santa Ana, el departamento de Ahuachapán, región ubicada en el Municipio de la Concepción de Ataco y se trazó una ruta factible para llegar al área localizada en las siguientes coordenadas: 13°49'06.10"N y 89°54'26.00"O (figura 2).

Figura 1

Distribución potencial de *V. odorata*, *V. planifolia* y *V. pompona* en El Salvador.

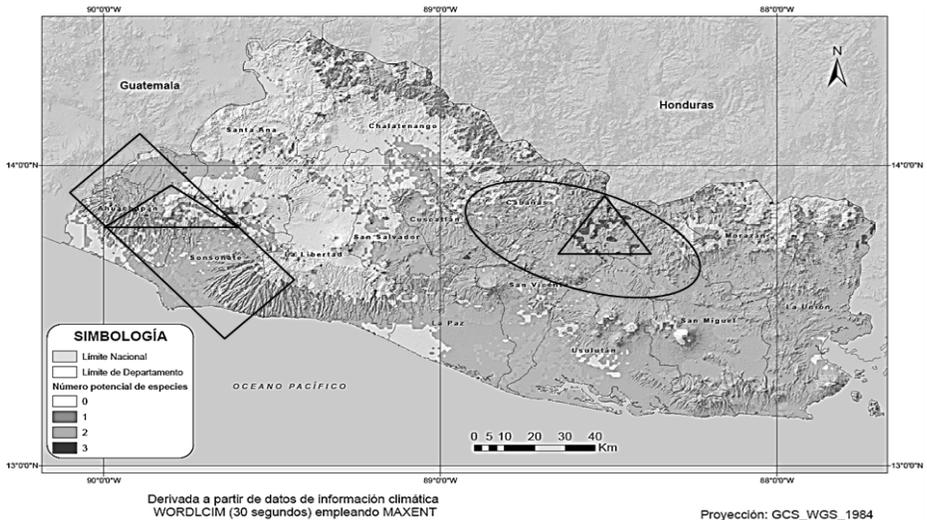


Figura 2

Ruta establecida para la colecta de cápsulas de vainilla (*V. planifolia*) en el departamento de Ahuachapán, municipio de la Concepción de Ataco (El Salvador).



### *Estudios de germinación de semillas in vitro*

La evaluación realizada —a los cuatro meses de cultivo *in vitro* de las semillas de vainilla— demostró que las que provenían de cápsulas con tamaños de 4 y de 15 a 18 cm, no germinaron bajo ninguna de las condiciones estudiadas de medio de cultivo (con o sin carbón activado) y expuestas, o no, al fotoperiodo.

En cambio, las semillas obtenidas de cápsulas de tamaño intermedio (9 a 10 cm), empezaron a germinar (alrededor del 90%), al cabo de los dos meses de cultivo, cuando se utilizó el medio MS sin carbón activado y se mantuvieron en total oscuridad.

Después de este periodo, los brotes generados y transferidos a la luz, alcanzaron un tamaño aproximado de 1 cm después de los siguientes dos meses y a pesar de que se observó una ligera segregación de fenoles hacia el medio de cultivo (figura 3). Las semillas cultivadas igualmente en la oscuridad, pero en medio con carbón activado, no germinaron (figura 4).

Figura 3

Brotos obtenidos de la germinación *in vitro* de semillas de *V. planifolia* después de 2 meses de cultivo en medio MS (Murashige y Skoog, 1962) semisólido en total oscuridad y 2 meses posteriores expuestos a fotoperiodo (intensidad lumínica  $36 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) y temperatura  $26^\circ\text{C}$ .



Figura 4

Semillas de *V. planifolia* no germinadas después de 2 meses de cultivo en la oscuridad en medio MS con carbón activado.



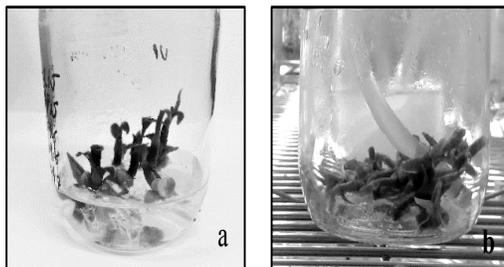
### *Comparación de la propagación en medio semisólido y en biorreactores de inmersión temporal*

En las figuras 5a y b, se puede apreciar el desarrollo de los brotes a los 30 días de cultivo, bajo ambos métodos de propagación.

Figura 5

Propagación *in vitro* de explantes de *Vanilla planifolia*  
después de 30 días de cultivo:

a) propagación en medio semisólido, b) propagación en el biorreactor tipo BIT®.

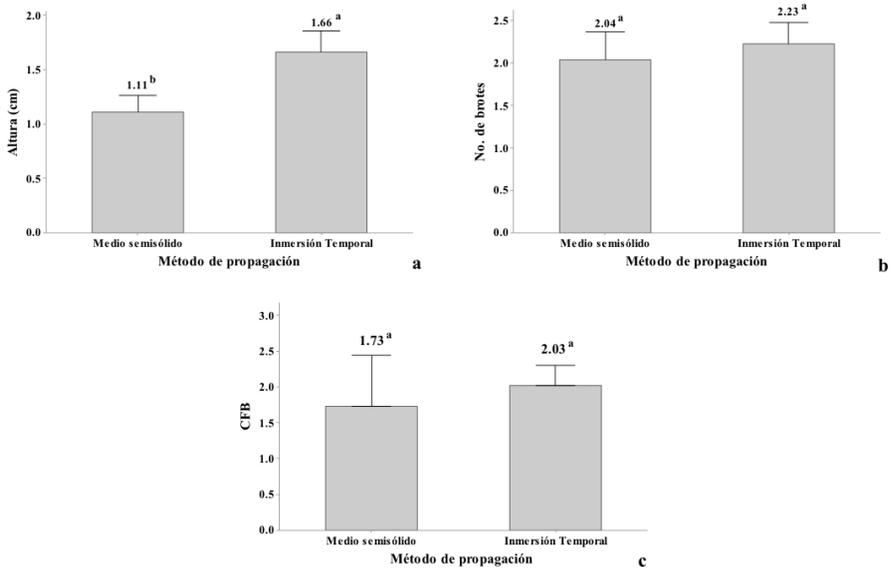


En el medio de cultivo semisólido, los explantes alcanzaron una altura máxima de 2.10 cm, con un crecimiento promedio de 1.11 cm. En el caso de la propagación en biorreactores, se observó que la elongación máxima alcanzada ascendió a 4.10 cm, duplicando la obtenida en medios semisólidos y lo que resultó significativamente mayor, con un crecimiento promedio de 1.66 cm.

A los 30 días de cultivo, el mayor número de brotes formados con la propagación en medio semisólido fue de 8, con una media general de 2.04 por explante y el 15%, no generó brotes y la CFB fue de 1.73; con el método de inmersión temporal, el mayor número de brotes formados fue de 5 con un promedio general de 2.23 y el 23 %, no generó brotes, y la CFB fue 2.03, lo que representó 0.30 unidades más que con la propagación en medio semisólido. No se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre estos parámetros para los dos métodos evaluados (figura 6b y c).

Figura 6

Efecto del método de propagación en la altura (a), formación de brotes (b) y Capacidad Formadora de Brotes (CFB) (c) después de 30 días de cultivo.



La instalación de un sistema de biorreactores de inmersión temporal tipo BIT® (figura 7a y b) en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos de la UNICAES, igualmente evidenció altos índices de multiplicación de plántulas vigorosas desarrolladas al cabo de tres meses de cultivo (figura 7c y d).

Figura 7

Implementación de biorreactores de inmersión temporal para la propagación *in vitro* de *V. planifolia* en la UNICAES: a) y b) implementación, c) extracción de las vitroplantas obtenidas en el biorreactor, d) evaluación de la calidad de las plantas.



## Discusión

Realizar estudios exploratorios y de prospección, favorece el desarrollo de estrategias de colecta y la adquisición de material biológico perteneciente a un ecosistema con características específicas (Prina y Alfonso, 2002). Estos análisis sobre bases científicas contribuyen a la localización de territorios donde pueden encontrarse especies de interés, aun cuando no hayan sido anteriormente explorados.

Los estudios de prospección usando un número similar de capas de información ambiental (WorldClim y altitud) ha sido empleado con éxito para determinar la distribución de otras especies de orquídeas como *Vanda bicolor* (Deb *et al.*, 2017). En el caso específico de El Salvador y de acuerdo a datos de investigaciones anteriores (Soto-Arenas y Dressler, 2010), existe información muy limitada sobre la distribución del género *Vanilla*. Por lo tanto, estos resultados fueron de utilidad para identificar áreas donde encontrar diferentes especies de vainilla en dicho país y en Centroamérica.

El uso del cultivo de tejidos para el establecimiento de colecciones y bancos de germoplasma a partir de la germinación *in vitro* de semillas de vainilla, es una alternativa subutilizada, dado que se conoce que es un proceso complejo e ineficiente, que no es recomendable debido a que la germinación es errática (Azofeifa-Bolaños *et al.*, 2014), sus semillas son muy pequeñas, presentan un embrión indiferenciado, tienen tegumentos muy duros (Pedroso-de-Moraes *et al.*, 2012) y cerosos que contienen inhibidores de germinación (Bory *et al.*, 2008).

En respuesta a esta problemática, diversos autores han ensayado distintas metodologías y en la mayoría de los reportes logrados, se han utilizado híbridos de esta especie. Los máximos valores de germinación han sido variables: 33% (Knudson, 1950), 64% (Lugo, 1955) y 85% (Menchaca *et al.*, 2011); mediante modificaciones del medio de cultivo, como la disminución de la concentración de nitrógeno o de iones (Lugo, 1955) o añadiendo reguladores como glutamina y el sulfato de adenina (Menchaca *et al.*, 2011).

En algunos casos se ha recomendado realizar una escarificación de las semillas utilizando altas concentraciones de ácido sulfúrico en tiempos cortos (Pedroso-de-Moraes *et al.*, 2012) o simplemente, incubar a 32 °C en total oscuridad (Knudson, 1950). Experimentos realizados con semillas de cápsulas maduras con coloración en tonos café y cultivadas *in vitro* bajo las mismas condiciones que resultaron favorables en este estudio, no garantizaron la germinación y, por el contrario, sólo mostraron el hinchamiento y oxidación de las semillas, lo que demuestra que el estado fisiológico respecto al grado de madurez de las cápsulas y por consiguiente de las semillas, es determinante (resultados no publicados), sin embargo, a pesar de las complejidades para germinar semillas de vainilla *in vitro*, esta opción continúa siendo un desafío por su utilidad, ya que las semillas constituyen una fuente biológica ilimitada para la obtención de nuevas plantas y una alternativa adicional para la propagación masiva en condiciones aséptica debido a su gran abundancia por cápsula.

En el presente trabajo, la metodología de germinación *in vitro* se basó en el uso de semillas inmaduras de *V. planifolia* provenientes de frutos con un tamaño máximo de 10

cm. A diferencia de otros reportes (Menchaca *et al.*, 2011), no se utilizaron semillas de cápsulas de un híbrido, así como tampoco la adición de hormonas al medio de inducción. El cultivo en la oscuridad durante los primeros dos meses contribuyó a evitar el fenómeno de fotooxidación.

En la actualidad, los avances de los trabajos de investigación enfocados al sector agro-industrial, contribuyen al desarrollo de nuevas tecnologías que reducen los costos de producción, el tiempo de manipulación, aumentan la tasa de multiplicación y mejoran la calidad de las plántulas obtenidas (Caamal-Velázquez y Bello-Bello, 2014). La ventaja de implementar la micropropagación es que permite generar a corto plazo grandes volúmenes de plantas y en buen estado fitosanitario (Divakaran y Babu, 2009).

En este trabajo, los dos métodos de propagación *in vitro* aplicados produjeron plántulas vigorosas y aunque el sistema de inmersión temporal logró una elongación significativamente mayor de los explantes, no se encontraron diferencias estadísticas entre el número de brotes obtenidos y la CFB en comparación con el cultivo en medio semisólido.

Estos resultados corroboran por una parte, que los sistemas de inmersión temporal propician un crecimiento más rápido en el mismo tiempo de cultivo y a su vez demuestran que ambas alternativas biotecnológicas son de utilidad y pueden estar influenciadas por las condiciones propias de cada laboratorio, lo que explicaría las diferencias con lo obtenido y reportado por otros autores (Ramírez-Mosqueda e Iglesias-Andreu, 2016) utilizando las mismas metodologías de propagación en vainilla.

## Conclusiones

Los estudios científicos de prospección apoyaron la identificación de áreas potenciales de localización de la especie *Vanilla planifolia* en El Salvador, así como el trazado de una ruta adecuada para la colecta del material utilizado en los estudios de germinación y propagación *in vitro* de germoplasma de vainilla.

Se corroboró la utilidad de emplear semillas inmaduras extraídas de cápsulas con tamaños de 9 a 10 cm para lograr alrededor de un 90% de germinación *in vitro* con la especie *Vanilla planifolia*. Se obtuvieron brotes al cabo de dos meses de cultivo en total oscuridad, utilizando un medio MS sin reguladores de crecimiento.

A pesar de no detectarse diferencias significativas entre la propagación en medio semisólido o en biorreactores de inmersión temporal respecto al número de brotes y la CFB, la inmersión temporal produjo un crecimiento significativamente mayor. No obstante, de manera general, los resultados obtenidos demuestran la utilidad de ambas alternativas para la multiplicación *in vitro* en dicha especie.

## Agradecimientos

Se agradece el apoyo financiero proporcionado por el proyecto SEP-CONACYT de Ciencia Básica No. 166332 que auspició la colaboración científica entre la Universidad Veracruzana y la Universidad Católica de El Salvador (UNICAES).

## Literatura citada

- Azofeifa-Bolaños, J. B.; Paniagua-Vásquez, A. y García-García, J. A. (2014). Importancia y desafíos de la conservación de *Vanilla* spp. (*Orchidaceae*) en Costa Rica. *Agronomía Mesoamericana*. 25(1): 189-202.
- Bory, S.; Grisoni, M.; Duval, M. F. and Besse, P. (2008). Biodiversity and preservation of vanilla: Present state of knowledge. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 55(4): 551-571.
- Caamal-Velázquez, J. H. y Bello-Bello, J. (2014). Manual de micropropagación de caña de azúcar (*Sacharum* spp.). *Fundación Produce Campeche*. México. 1-24 pp.
- Damiano, C.; Gentile, A.; La Starza, S. R.; Frattarelli, A. y Monticelli, S. (2003). Automation in micropropagation through temporary immersion techniques. *Acta Horticulturae*. (616): 359-364.
- Deb, C.R.; Jamir, N.S. y Kikon, Z.P. (2017). Distribution Prediction Model of a Rare Orchid Species (*Vanda bicolor* Griff.) Using Small Sample Size. *American Journal of Plant Sciences*, 8: 1388-1398 pp.
- Debergh, P. C. y Read, P. E. (1991). Micropropagation. En: P. C. Debergh y R. H. Zimmerman (Eds.). *Micropropagation: Technology and Application*. Dordrecht: Springer Netherlands. 1-13 pp.
- Dignum, M. J. W.; Kerler, J. y Verpoorte, R. (2001). Vanilla Production: Technological, Chemical, and Biosynthetic Aspects. *Food Reviews International*. 17(2): 119-120.
- Divakaran, M. y Babu, K.N. (2009). Micropropagation and *in vitro* conservation of vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews). En: *Methods in Molecular Biology*. pp. 129-138.
- Eliith, J.; Phillips, S. J.; Hastie, T.; Dudík, M.; Chee, Y. E. y Yates, C. J. (2011). A statistical explanation of MaxEnt for ecologists. *Diversity and Distributions*. 17(1): 43-57.
- Evans, D. A.; Sharp, W. R. y Bravo, J. E. (1984). Cell culture methods for crop improvement. En: W. R. Sharp; D. A. Evans; P. V. Ammirato y Y. Yamada (Eds.). *Handbook of Plant Cell Culture*. Macmillan: New York. 47-68 pp.
- George, E. F.; Hall, M. A. y Klerk, G. J. (2008). Plant Tissue Culture Procedure. En: E. F. George, M. A. Hall y G. J. De-Klerk. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Springer Netherlands. Dordrecht 1-28 pp.
- Govaerts, R.; Newman, M. y Lock, J. M. (2015). World Checklist of *Orchidaceae*. *Royal Botanic Gardens*. Recuperado a partir de <http://apps.kew.org/wcsp/>. (Consultado el 19 de enero del 2017).
- Herrera-Cabrera, B. E.; Salazar-Rojas, V. M.; Delgado-Alvarado, A.; Campos-Contreras, J. y Cervantes-Vargas, J. (2012). Use and conservation of *Vanilla planifolia* J. in the Totonacapan Region, México. *European Journal of Environmental Sciences*. 2(1): 43-50.
- Hijmans, R. J.; Cameron, S. E.; Parra, J. L.; Jones, P.; Jarvis, A. y Richardson, K. (2008). WorldClim version 1.4. <http://www.worldclim.org>. (Consultado el 10 de diciembre de 2008).
- Hvoslef-Eide, K. A. y Preil, W. (2005). *Liquid Culture Systems for in vitro Plant Propagation*. Springer Netherlands. Dordrecht. 588 pp.
- Jarvis, A.; Upadhyaya, H.; Gowda, C.; Aggarwal, P. K.; Fugisaka, S. y Anderson, B. (2008). *Climate Change and its Effect on Conservation and Use of Plant Genetic Resources for Food and Agriculture and Associated Biodiversity for Food Security*. Thematic study for the SoW Report on PGRFA FAO. Rome, Italy. 26 pp.
- Knudson, L. (1950). Germination of Seeds of Vanilla. *American Journal of Botany*. 37(3): 241.
- Lesik, A. S. (2009). *Applied Statistical Inference with MINITAB®*. New Britain, Connecticut Chapman and Hall/CRC; Har/Cdr edition. U.S.A. 464 pp.
- Lugo, H. L. (1955). The Effect of Nitrogen on the Germination of *Vanilla planifolia*. *American Journal of Botany*. 42(7): 679.
- Menchaca, R.; Ramos, J.; Moreno, D.; Luna, M.; Mata, M.; Vázquez, L. y Lozano, M. (2011). Germinación *in vitro* de híbridos de *Vanilla planifolia* y *V. pompona*. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 13(1): 80-84.
- Murashige, T. y Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*. 15(3): 473-497.
- Pedroso-de-Moraes, C.; de Souza-Leal, T.; Panosso, A. R. y de Souza, M. C. (2012). Effect of chemical scarification and concentration of nitrogen on the germination and *in vitro* development of *Vanilla planifolia* Jack ex Andr. (*Orchidaceae: Vanilloideae*). *Acta Botanica Brasilica*. 26(3): 714-719.

- Peréz-Molphe-Balch, E.; Ramírez, R.; Núñez, H. G. y Ochoa, N. (1999). *Introducción al cultivo de tejidos*. Universidad Autónoma de Aguascalientes. Aguascalientes, Aguascalientes, México. 179 pp.
- Prina, A. y Alfonso, G. (2002). La importancia actual de las prospecciones florísticas en biología de conservación. Una experiencia en el árido del centro-oeste de Argentina. *Ecosistemas*. 3. 8.
- Pulido, C. M.; Harry, I. S. y Thorpe, T. A. (1992). Optimization of bud induction in cotyledonary explants of *Pinus canariensis*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 29(3): 247-255.
- Purseglove, J. W.; Green, C. L.; Brown, E. G. y Robbins, S. R. J. (1981). *Spices*. Wiley-Blackwell (Vol. 2). Longman, London and New York. 88-736 pp.
- Ramírez-Mosqueda, M. A. e Iglesias-Andreu, L. G. (2016). Evaluation of different temporary immersion systems (BIT®, BIG, and RITA®) in the micropropagation of *Vanilla planifolia* Jacks. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*. 52(2): 154-160.
- SAGARPA (2010). Estudio de oportunidades de mercado internacional para la vainilla mexicana. [http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/Estudios\\_promercado/VAINILLA.pdf](http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/Estudios_promercado/VAINILLA.pdf). (Consultado el 19 de enero de 2017).
- Soto-Arenas, M. A. (2006). La vainilla: retos y perspectivas de su cultivo. *Biodiversitas*. 66: 1-9.
- Soto-Arenas, M. A. y Dressler, R. (2010). A Revision of the Mexican and Central American Species of *Vanilla plumier* Ex Miller with a characterization of their its region of the nuclear Ribosomal DNA. *Lankesteriana*. 9(3): 285-354.
- Squeo, F. A. y Arroyo, M. T. K. (2001). Presentación científica del *Libro Rojo* de la flora nativa y de los sitios prioritarios para su conservación: Región de Coquimbo. En: F. A. Squeo, G. Arancio y J. R. Gutiérrez. *Libro Rojo de la flora nativa y de los sitios prioritarios para su conservación: Región de Coquimbo*. La Serena, Chile. Universidad de la Serena. 3-11.

Recepción: 01 de febrero de 2017

Envío arbitraje: 07 de febrero de 2017

Dictamen: 05 de julio de 2017

Aceptación: 22 de septiembre de 2017



Título: *Retrato agropecuario de Colima*

Dimensiones: 19.5 x 24.5 cm

Técnica: Acuarelas y lápiz sobre papel corrugado

Autora: Marisol Herrera Sosa

# Los organismos públicos vinculados con la sanidad vegetal y forestal en Argentina. Desafíos jurídicos

---

Public agencies linked to plant and forest health in Argentina.  
Legal Challenges

**Clara María Minaverri\***

Instituto de Investigaciones “Ambrosio Gioja”  
Facultad de Derecho, Universidad de Buenos Aires  
Av. Figueroa Alcorta 2263, 1er. piso  
Buenos Aires, Argentina (C1425CKB).

\* Correspondencia: cminaverri@derecho.uba.ar.

## Resumen

El objetivo central de este trabajo fue realizar un relevamiento y un análisis de las fortalezas y debilidades de la principal normativa sobre sanidad vegetal y forestal a nivel provincial en Argentina, y respecto de la existencia de los organismos públicos dedicados a la fiscalización y control en dicho ámbito. De esta forma, se analizó si las herramientas jurídicas disponibles son suficientes para que todos los actores sociales involucrados en la actividad forestal, puedan defender sus derechos favorablemente. Se trató de una investigación de carácter exploratorio, donde se aplicó el método de la hermenéutica jurídica. En primer lugar, se destacó la implementación de un análisis comparativo entre todas las jurisdicciones provinciales de Argentina, excepto de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y al ámbito nacional. En este contexto, fue posible concluir que se detectaron superposiciones de organismos de control (muchas veces, dentro de la misma jurisdicción), y algunos casos de leyes en donde no se cumplió con el plazo estipulado para el dictado de su decreto reglamentario, lo cual dificultó su aplicación en la

## Abstract

The central objective of this work was to realize a survey and analysis about strengths and weaknesses of the main regulation for plant and forest health at a provincial level in Argentina, and regarding the existence of public agencies dedicated to inspection and control in said field. In this way it was analyzed, if the legal tools available are sufficient enough for all social actors involved in activity forestry, can defend their rights favourably. In the first place, we highlight the implementation of a comparative analysis of provincial jurisdictions of Argentina, except from the Autonomous city of Buenos Aires and the national level. In this context it was possible to conclude that the detection of overlapping agencies of control (many times within the same jurisdiction), and in some law cases where the stipulated deadline was not met for the dictation of a regulatory decree, which made it difficult to apply in practice. They glimpsed different levels of normative development in the jurisdictional provinces analyzed, linked with plant and forest health. Also the same ones are not uniform and vary notably according to the

práctica. Se vislumbraron diferentes niveles de desarrollo normativo en las jurisdicciones provinciales analizadas, vinculadas con la sanidad vegetal y forestal. Además, los mismos no son uniformes y varían notablemente de acuerdo a la región del país, y no siempre se vincula con la existencia, o no, de bosques.

### Palabras clave

Derecho ambiental, bosques, administración pública.

region of the country, and it is not always linked to the existence or not of forest.

### Keywords

Environmental law, forests, public agencies.

## Introducción

Argentina, como país analizado, posee un régimen federal que puede ser definido como “una combinación de dos fuerzas: una centrípeta y la otra centrífuga. La primera, que va de la periferia hacia el centro, supone la existencia de una unidad en el Estado nacional argentino, que es soberano; mientras que la segunda, del centro hacia la periferia, implica la descentralización que permite la existencia de una pluralidad de provincias, que son *autónomas*” (Bazan, 2013). A su vez, tal como se destaca a continuación, ambas jurisdicciones tienen la función de complementarse, en especial, en el ámbito ambiental.

Por lo tanto, las provincias detentan la potestad de dictar sus propias normas jurídicas, siempre teniendo en cuenta el límite fundamental establecido por la Constitución Nacional (en adelante, “C. N.”).

En este contexto, el artículo 124 de la C. N. resulta ser clave, ya que en su último párrafo establece que: “corresponde a las provincias el dominio originario de los recursos naturales existentes en su territorio”, lo que claramente incluye a la regulación de la sanidad vegetal y forestal. Estas últimas se ocupan de todo lo relacionado con la protección vegetal ante los daños ocasionados por las plagas y enfermedades, así como el diagnóstico de las mismas, que permite aplicar las medidas de erradicación y de control apropiadas (Loyola-Coronel, s/f).

Nuestro país está conformado por 23 provincias, la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, y el ámbito nacional, constituyendo 25 jurisdicciones. En el presente texto se analizó únicamente el ámbito provincial, exceptuando al de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y al nacional.<sup>1</sup>

El objetivo central de este trabajo fue realizar un relevamiento y un análisis de las fortalezas y debilidades de la principal normativa sobre sanidad vegetal y forestal a nivel provincial en Argentina, y respecto de la existencia de los organismos públicos dedicados

<sup>1</sup> Para consultar por la normativa nacional es posible ingresar a la siguiente liga de SENASA: <http://www.senasa.gov.ar/cadena-vegetal/forestales-embalajes/produccion-primaria/programas-fitosanitarios>.

a la fiscalización y control en dicho ámbito. De esta forma, se analizó si las herramientas jurídicas disponibles son suficientes para que todos los actores sociales involucrados en la actividad forestal, puedan defender sus derechos favorablemente.

## Materiales y métodos

Se trató de una investigación de carácter exploratorio, donde se aplicó el método de la hermenéutica jurídica. La misma, tiene como objeto el estudio y la sistematización de los procesos aplicables para determinar el sentido y alcance de las expresiones del Derecho. Es, pues, “la ciencia de la interpretación jurídica” (Orgaz, 1961).

En primer lugar, se destacó la implementación de un análisis comparativo de 23 jurisdicciones provinciales de Argentina.

En segundo lugar, se excluyó al ámbito nacional y al de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (que no posee normativa específica sobre el tema), porque su análisis implicaría que el presente trabajo tuviera una desmesurada extensión.

Además, se implementó una minuciosa investigación en sitios webs de instituciones públicas y en el Boletín Oficial de la República Argentina (2017); efectuando conjuntamente, consultas específicas a organismos forestales y ambientales pertenecientes al ámbito nacional y provincial, como el sitio web del Organismo Provincial para el Desarrollo Sostenible (2017). Allí se realizó la búsqueda de toda la normativa vigente y de las principales políticas públicas.

El ámbito temporal analizado corresponde al período abarcado entre el año 1954 hasta la actualidad; ya que, en ese momento, fue dictada la pionera ley de sanidad vegetal de la Provincia de Buenos Aires.

## Resultados

Es importante destacar que los mayores problemas, vinculados con la sanidad vegetal y forestal de un país, están representados por aquellos casos de plagas introducidas o plagas exóticas; ya que éstas se establecen en la nueva región, sin contener todos los elementos naturales de control que tienen en su región de origen, y por ello desarrollan altas poblaciones que causan considerables daños (Loyola-Coronel, s/f).

Por tal razón, el Derecho —en este caso— cumple una función clave, al brindar herramientas para evitar daños económicos vinculados con un insuficiente funcionamiento por parte de la Administración Pública. Esto ya ha sido destacado por algunos autores; como, por ejemplo, cuando se producen superposiciones jurisdiccionales y retrasos en la reglamentación de leyes ambientales (Capaldo, 2014).

A continuación, se describe la normativa vinculada con la sanidad vegetal y forestal, en cada jurisdicción provincial argentina, con su correspondiente organismo de control.

## La provincia de Buenos Aires

Dentro del ámbito del organismo de aplicación existe un área denominada “Sanidad Vegetal”;<sup>2</sup> que, a su vez, se divide de la siguiente manera:

- a) Dirección de Sanidad Vegetal y Fiscalización Agrícola
- b) Fiscalización Fitosanitaria y Registro
- c) Plagas urbanas
- d) Protección Vegetal

En a), b) y c) no se destaca ninguna acción específica; pero en d) “Protección vegetal”, se hace referencia a los principales objetivos:

- Propender a la formación y la coordinación de comisiones de lucha contra plagas.
- Realizar inspecciones técnicas de cultivos, mercaderías, materiales de propagación, efectuando determinaciones analíticas de laboratorio.
- Realizar monitoreo de plagas a nivel provincial y regional, ejecutando campañas masivas de control; en coordinación con entidades provinciales, nacionales públicas y/o privadas.
- Generar y operar los sistemas de prevención y alarma de aparición de plagas.

Los mismos, podría ser aplicados en todas las jurisdicciones provinciales, a pesar de que, en algunos, se han desarrollado con mayor intensidad.

En esta jurisdicción no se detectaron superposiciones de organismos vinculados con la sanidad vegetal y forestal; lo cual se describió en el siguiente cuadro:

Cuadro 1  
Provincia de Buenos Aires

Normativa	Organismo
Ley 5.770. Ley de sanidad vegetal	Dirección de Sanidad Vegetal del Ministerio de Asuntos Agrarios de la Provincia
Decreto 4.328. Reglamentario de la ley 5.770 de sanidad vegetal	Dirección de Sanidad Vegetal del Ministerio de Asuntos Agrarios de la Provincia
Decreto 51/04. Guía forestal, transporte de productos forestales	Ministerio de Asuntos Agrarios

Fuente: Elaboración propia, con base en la consulta del sitio web del Organismo Provincial para el Desarrollo Sostenible (2017).

<sup>2</sup> Para más información se puede consultar el sitio de la Subsecretaría de Agricultura y Ganadería de la Provincia de Buenos Aires ([http://www.maa.gba.gov.ar/agricultura/sanidad\\_vegetal.php](http://www.maa.gba.gov.ar/agricultura/sanidad_vegetal.php)).

### La provincia de Catamarca

Luego del relevamiento realizado, se detectó que no existen superposiciones de organismos públicos que aplican la legislación vigente, ni normativa relevante sobre sanidad vegetal, ni forestal.

Un sitio de referencia, para este caso, fue el de la Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Provincia de Catamarca (2017).

### La provincia de Chubut

Esta jurisdicción provincial posee un desarrollo normativo similar al nacional, ya que se han regulado todos los aspectos fundamentales sobre la sanidad vegetal, y se crearon programas de monitoreo y control de plagas forestales.

Esto habilita que, a través del dictado de normativa adicional, se puedan regular más detalladamente cuestiones específicas sobre sanidad de los bosques, teniendo en cuenta las realidades y características de la región.

La ley XVII-No. 2 (ex-Ley 124): Determinó la creación de la Dirección General de Bosques y Parques, y la adhesión a la ley nacional No. 13.273,<sup>3</sup> y hace referencia a que se deberán tomar todas las medidas vinculadas con la sanidad forestal, más allá de que la misma regule sobre incendios forestales.

Se ha detectado una posible superposición de organismos de control y/o aplicación de las siguientes normas, vinculadas en un caso con la sanidad vegetal; y, en otro, con programas de monitoreo de plagas forestales específicas; lo que se describirá en el cuadro a continuación:

#### Cuadro 2

#### Provincia de Chubut

Normativa	Organismo
Ley I- No. 282 (antes ley 5229). Adhesión a las normas nacionales de defensa sanitaria de vegetales y sus productos	Dirección General de Agricultura y Ganadería de la Provincia
Ley XVII-No. 75 (ex-Ley No. 5.192). Creación del programa de monitoreo y control de la avispa barrenadora de pinos	Dirección General de Bosques y Parques
Ley XVII-No. 2 (ex-Ley No. 124)	El Poder Ejecutivo por intermedio de la Administración Nacional de Bosques

Fuente: Elaboración propia, con base en la consulta del sitio web de la Honorable Legislatura de la Provincia de Chubut (2017).

<sup>3</sup> Esta ley regula el régimen jurídico de la defensa de la riqueza forestal y data del año 1948. En su artículo 1, declara de interés público la defensa, mejoramiento y ampliación de los bosques.

### *La provincia de Córdoba*

La ley de sanidad vegetal 4967 y su decreto reglamentario 6373/79 incluyeron a diversas plagas forestales. La autoridad de aplicación de los mismos es la Secretaría de Estado de Agricultura y Ganadería, a través de su Departamento de Sanidad Vegetal.

No se han dictado normas jurídicas autónomas ni programas de monitoreo específicos para combatir las mismas, ni tampoco se ha detectado falta de reglamentación sobre normativa relevante, ni superposiciones en las funciones de los organismos de control. La consulta del sitio web del Ministerio de Ambiente, Agua y Energía de la Provincia (2017) permitió acceder a esta información.

### *La provincia de Corrientes*

Existe un vacío legal en la regulación sobre la sanidad vegetal y sobre plagas forestales, y programas de sanidad, advertido a través de la consulta en el sitio web de la Honorable Cámara de Diputados de la Provincia de Corrientes (2017).

Sin embargo, en el ámbito de esta provincia se desarrolló una “Guía de buenas prácticas forestales”, del año 2014, que constituye una excelente herramienta para la promoción e implementación de una gestión forestal responsable. Se trata de una guía que, en el capítulo 12, hace referencia al control de plagas; en particular, a las hormigas, a la chinche del eucalipto y a la avispa barrenadora de los pinos, y donde también se menciona a su control biológico. Este documento es únicamente aplicable a la jurisdicción provincial y no puede implementarse en otras.

Se trata de un documento consensuado y adaptado a las condiciones específicas de la provincia, elaborado en un proceso donde participaron múltiples organizaciones del sector público y privado que recogieron el conocimiento técnico-científico, la experiencia local, y que fue sometido a la consulta pública en talleres específicos. Se encuentra armonizado con los principios de planificación y de gestión forestal.

No existen superposiciones de organismos de control, y la normativa más importante que ha sido relevada es la ley 1648, que aprueba el decreto 2353/51; que se refiere a un convenio firmado entre la Nación y la Provincia sobre cooperación de la acción oficial en materia de sanidad vegetal.

### *La provincia de Entre Ríos*

No se han detectado normas jurídicas específicas y relevantes sobre sanidad vegetal ni sobre plagas forestales, ni de programas de sanidad forestal, a diferencia de lo que ocurre en el ámbito nacional. Tampoco se han detectado superposiciones de organismos de control. La información se obtuvo de la Cámara de Diputados de la Provincia de Entre Ríos (2017).

### La provincia de Formosa

Existe un vacío legal en la regulación sobre sanidad vegetal y sobre plagas forestales, y no existen superposiciones de organismos de control. Se ha consultado a la página web de la Honorable Legislatura de la Provincia de Formosa (2017).

### La provincia de Jujuy

La ley de sanidad vegetal y su decreto reglamentario provinciales no incluyeron listados de plagas forestales, ni tampoco se han dictado normas jurídicas autónomas ni programas de monitoreo específicos para combatir las mismas.

La ley 4975 de sanidad vegetal fue dictada el 25 de junio de 1997; pero recién fue reglamentada (en el año 2013), por lo que todo este tiempo se dificultó su aplicación en la práctica. En este caso, convergió la autoridad de varios organismos de control, y en la ley provincial se creó una Comisión Especial dedicada exclusivamente al asesoramiento; lo cual implicó una herramienta adicional y muy favorable para el accionar de los productores forestales y también de los organismos de control (cuadro 3).

Cuadro 3

#### Provincia de Jujuy

Normativa	Organismo
Ley 4975 de sanidad vegetal	Crea la “Comisión Provincial Honoraria de Sanidad Vegetal”, que tendrá por finalidad asesorar a la Secretaría de Economía en los aspectos normativos y ejecutivos.
Decreto 3.214. Reglamentario de la ley 4975	1) El Ministerio de Producción, a través de la Dirección Provincial de Control Agropecuario, Industrial y Comercial, en todo lo relativo al control, fiscalización, inspección, verificación, y aplicación de sanciones por incumplimiento. 2) La Dirección Provincial de Desarrollo Agrícola y Forestal, en todo lo que no esté expresamente atribuido a otro organismo.

Fuente: Elaboración propia, con base en la consulta del sitio web del Poder Judicial, Provincia de Jujuy (2017).

### Provincia de La Pampa

La ley de sanidad vegetal fue dictada a nivel provincial, pero no incluyó ningún listado de plagas forestales. El sondeo en el sitio de la Cámara de Diputados de la Provincia de La Pampa (2017) permitió diagnosticar que no existen normas jurídicas autónomas ni programas de monitoreo específicos para combatir las mismas (existe un vacío legal).

No hay superposición de organismos de control, ya que el único involucrado es el Ministerio de Obras Públicas y Asuntos Agrarios.

### *La provincia de La Rioja*

El análisis del sitio web del Boletín Oficial de la Provincia (2017) comprobó que existe un vacío legal en la regulación sobre sanidad vegetal y sobre plagas forestales.

No hay superposición de organismos de control en la presente jurisdicción, ya que la ley 6405 —que regula programas de sanidad animal y vegetal— tiene como organismo de aplicación al Ministerio de Desarrollo de la Producción y Turismo.

### *La provincia de Mendoza*

La ley de sanidad vegetal 6333 y su decreto reglamentario 1508 no incluyen ningún listado de plagas forestales, ni tampoco se han relevado normas jurídicas autónomas, ni programas de monitoreo específicos para combatir las mismas, mediante la exploración de la página web de la Honorable Cámara de Diputados de la Provincia de Mendoza (2017); por lo que podría determinarse que también existe un vacío legal.

No se relevó el decreto reglamentario sobre la ley de adhesión provincial a la ley nacional 25.080 (de inversiones para bosques cultivados), por no encontrarse con acceso público. Esto constituyó la falta de posibilidad de gozar de un derecho fundamental para todos los ciudadanos; lo cual, eventualmente, podría dificultar su aplicación en la práctica.

No se detectó una superposición de organismos de control, ya que la normativa mencionada más arriba es aplicada por el Instituto de Sanidad y Calidad Agropecuaria de Mendoza.

### *La provincia de Neuquén*

La única norma provincial relevante es la ley 2.272 sobre protección a la producción vegetal.

La misma, establece que quien sea propietario, arrendatario, usufructuario y ocupante de un predio, cualquiera que sea su título o tenedor de vegetales, o productos vegetales (o cualquier tipo de objetos relacionados con ellos), que contengan plagas —mencionadas en el artículo 5°— tiene la obligación de dar aviso del hecho a la autoridad de aplicación.

Además, que las personas a que se refiere el artículo anterior están obligadas a efectuar —dentro de los inmuebles y/o medios de transporte que posean u ocupen— las acciones que la autoridad de aplicación determine, para controlar las plagas, con personas y elementos suficientes proporcionados a la extensión del establecimiento y a la intensidad de la infestación o infección.

Dicha ley tiene como objeto: “consagrar el principio de protección de la producción vegetal, la no contaminación y la protección del medio ambiente, haciendo responsable del daño que ocasione a quien difunda plagas o cree condiciones para su proliferación” (artículo 2).

Esta norma no incluyó ningún listado de plagas forestales, ni tampoco se relevaron otras normas jurídicas autónomas ni programas de monitoreo específicos para combatir las mismas; por lo que podría determinarse que existe un vacío legal.

La misma, creó una cuenta especial denominada “Fondo provincial de fiscalización y sanidad vegetal”, que es administrada por la autoridad de aplicación; en la cual se acreditan los fondos recaudados por contribuciones, aranceles, tasas, multas, donaciones, legados y aportes provinciales, nacionales y/o del sector privado.

No se ha detectado una superposición de organismos de control. El sitio web consultado para poder efectuar este análisis fue el de la Legislatura de la Provincia de Neuquén (2017).

### *La provincia de Río Negro*

La ley de defensa sanitaria de la producción de vegetales y de los recursos naturales y su decreto reglamentario han sido dictados a nivel provincial. Sin embargo, en este último, se incluyó un listado de plagas forestales y data del año 1999. Podría existir superposición de organismos de control en esta jurisdicción (cuadro 4):

**Cuadro 4**  
**Provincia de Río Negro**

Normativa	Organismo
Ley E 3106. Defensa sanitaria de la producción de vegetales y de los recursos naturales. Fondo de fiscalización y sanidad vegetal	Ministerio de Producción, a través de la Secretaría de Fruticultura
Ley E 3983- E - Plan provincial de manejo de plagas forestales	Ministerio de Producción
Decreto E 693. Reglamentario de la ley 3106	Ministerio de Hacienda, Obras y Servicios Públicos

Fuente: Elaboración propia, con base en la consulta del sitio web de la Legislatura de la Provincia de Río Negro (2017).

### *La provincia de San Juan*

La consulta de la página web de la Cámara de Diputados de la Provincia de San Juan (2017), acreditó que existe un vacío legal en la regulación sobre sanidad vegetal y sobre plagas forestales; asimismo, no se detectaron superposiciones de organismos de control, atento a que no se han detectado normas específicas.

### *La provincia de Salta*

Aquí también existe un vacío legal en la regulación sobre sanidad vegetal y sobre plagas forestales, a diferencia de lo que ocurre en el ámbito nacional, corroborado a través del análisis del Boletín Oficial de la Provincia de Salta (2017).

No se detectaron superposiciones de organismos de control, ya que la Resolución 2049/08 que crea la Comisión Provincial de Sanidad (CO.PRO.SA.VE), la ubicó dentro del ámbito de la Secretaría de Asuntos Agrarios.

### *La provincia de Santa Cruz*

Existe un vacío legal en la regulación sobre plagas forestales, y no se detectaron superposiciones de organismos de control; ya que la ley 2484 sobre sanidad y calidad vegetal tiene como organismo de aplicación al Consejo Agrario Provincial. La fuente consultada fue el portal oficial de la Provincia de Santa Cruz (2017).

### *La provincia de Santa Fe*

Existe un vacío legal en la regulación sobre plagas forestales, y no se detectaron superposiciones de organismos de control; ya que la ley 12.923 de preservación vegetal tiene como organismo de aplicación al Ministerio de la Producción a través de la Dirección General de Sanidad Vegetal. Se tomó de referencia el sitio web del Gobierno de la Provincia de Santa Fe (2017).

### *La provincia de San Luis*

El acceso a la página web de la Cámara de Diputados de la Provincia de San Luis (2017) posibilitó sentar la posibilidad de que existe un vacío legal en la regulación sobre sanidad vegetal y de plagas forestales, y no se detectaron superposiciones de organismos de control; ya que la ley IX-0751 sobre protección fitozoosanitaria tiene como organismo de aplicación al Ministerio del Campo.

### *La provincia de Misiones*

No se detectaron vacíos legales, ya que se han dictado normas jurídicas provinciales sobre sanidad vegetal y sobre plagas forestales. Se detectó una posible superposición de organismos de control, con relación a los aspectos vinculados con la sanidad vegetal y forestal que se detallan a continuación (cuadro 5):

## Cuadro 5

## Provincia de Misiones

Normativa	Organismo
Ley XVI-2. Defensa sanitaria vegetal	Ministerio del Agro y la Producción
Ley provincial VIII-28. Actividades tendientes a evitar la introducción y difusión de <i>Sirex noctilio</i> “avispa taladradora de la madera”	Ministerio de Ecología, Recursos Naturales Renovables y Turismo
Ley provincial VIII-30. Declara “plaga forestal” a la avispa de la madera	Ministerio de Ecología, Recursos Naturales Renovables y Turismo
Ley Provincial VIII-43. Requisitos para el otorgamiento de guías forestales	Ministerio de Ecología, Recursos Naturales Renovables y Turismo
Resolución N° 768. Aprueba el sistema de guías y remitos forestales	Ministerio de Ecología, Recursos Naturales Renovables y Turismo

Fuente: Elaboración propia, con base en la consulta del sitio web de la Cámara de Representantes, Provincia de Misiones (2017).

*Provincia de Santiago del Estero*

Existe un vacío legal en la regulación sobre sanidad vegetal y sobre plagas forestales, reconocido a través del análisis del Boletín Oficial de la Provincia (2017). La única norma jurídica que se vincula con la sanidad forestal es la que se menciona más abajo; únicamente regula aspectos de carácter administrativo, y tiene una finalidad recaudatoria.

En la misma, se exige abonar las tasas correspondientes por el contralor de extracción de productos y subproductos forestales de los bosques y por la expedición de guías de productos forestales. La Resolución 1/2009 hace referencia a las tasas por la extracción de productos y subproductos forestales y tiene como organismo de aplicación a la Dirección General de Protección de Recursos Naturales. No se detectaron superposiciones de organismos de control.

*La provincia de Tierra del Fuego*

Existe un vacío legal en la regulación sobre sanidad vegetal y sobre plagas forestales, y no se detectaron superposiciones de organismos de control. Se consultó el sitio web del Poder Legislativo de la Provincia de Tierra del Fuego (2017).

*La provincia de Tucumán*

El examen del Registro Oficial de Leyes y Decretos de la Provincia de Tucumán (2017) confirmó que existe un vacío legal en la regulación sobre plagas forestales. No se detectaron superposiciones de organismos de control; ya que ambas normas sobre sanidad vegetal

(ley 6109 y decreto reglamentario 1626) son relevadas por la Secretaría de Desarrollo Productivo, a través de la Subsecretaría de asuntos agrarios y alimentos.

### *La provincia del Chaco*

Existe un vacío legal en la regulación sobre sanidad vegetal y sobre plagas forestales, y no se han detectado superposiciones de organismos de control, al observar el sitio web del Poder Legislativo de la Provincia de Chaco (2017).

## Discusión

Luego de haber analizado la diversidad y relevante cantidad de organismos de control y aplicación normativa, se puede destacar que los mismos cumplen un rol fundamental. En muchos casos son los responsables de que una determinada norma jurídica sea efectiva, o no, en su aplicación práctica; y por eso se les deben brindar todas las herramientas (económicas y vinculadas con los recursos humanos), que sean necesarias para implementar una tarea exitosa.

Además, debe sistematizarse y realizarse un seguimiento adecuado del nivel de aplicación de la normativa vigente y de lo requerido en los expedientes administrativos y/o judiciales, para evitar que sus resoluciones provoquen únicamente un efecto meramente declarativo.

A su vez, a través de sus funcionarios, deben interactuar con todos los actores sociales presentes en los bosques o plantaciones forestales, y así tomar decisiones acordes con las necesidades locales; y, por supuesto, controlar la aplicación de la normativa vigente. Esta misma, debe propender a incentivar la protección y la defensa forestal; y, además, debe ser correctamente comprendida por parte de los productores que la aplicarán en la práctica.

Es recomendable que en el futuro se presenten para su tratamiento por parte de ambas Cámaras del Congreso Nacional, proyectos de ley vinculados con la sanidad forestal (para cubrir los vacíos legales destacados a lo largo de todo el trabajo). Del relevamiento realizado respecto de los que poseen estado parlamentario (o sea, que se han presentado en los últimos dos años), actualmente ninguno se encuentra vinculado con la sanidad forestal y/o vegetal.

Se sugiere que, para su eventual y futura elaboración, participen equipos interdisciplinarios; quienes podrían asesorar a los legisladores en cada etapa antes de su dictado, para que el cuerpo normativo pueda ser adecuado a la práctica y para que su aplicación sea efectiva. En este sentido, coincidimos con que “la generación de conocimiento interdisciplinario proporciona un soporte sólido para el desarrollo de políticas sostenibles, de marcos apropiados aplicables a la Responsabilidad Social y Ambiental, y de la conciencia social orientada a la sostenibilidad” (Capaldo, 2014).

Algunos de los aspectos que deberían ser regulados (cuya tendencia es remarcada desde el ámbito internacional y que muchas veces forman parte del texto de normas o de guías voluntarias) son: el manejo integrado de plagas en la actividad forestal y las buenas prácticas de la sanidad vegetal y forestal.

También es recomendable que se elaboren códigos; ya que, en este caso, podría recopilarse la normativa forestal y no presentarse de forma tan dispersa, y establecer un apartado especial conteniendo todo lo relativo con la sanidad forestal y vegetal. Esto facilitaría el acceso y el manejo para que todos los interesados (en especial, los productores), conozcan la normativa vigente y que la misma se encuentre sistematizada.

No se debe olvidar que toda persona tiene derecho a buscar, recibir y difundir información que se encuentra en poder de las personas físicas y jurídicas pertenecientes al ámbito público y/o privado (Minaverry, 2014).

Además, la herramienta del ordenamiento territorial es fundamental y forma parte de la política de Estado sobre el desarrollo sustentable. Su procedimiento requiere la toma de decisiones por parte de diferentes actores políticos, sociales, económicos y científicos (Lattera *et al.*, 2011).

Es necesario que, por parte de la Administración pública, se realice una armonización de la normativa nacional y provincial, para detectar posibles inconsistencias y/o superposiciones, y así poder realizarse una tarea de derogación y/o modificación de los textos normativos.

Igualmente, es indispensable que la normativa (en este caso, sobre sanidad forestal y vegetal) sea acompañada de políticas públicas tendientes a lograr la protección del ambiente y de los recursos naturales y de su calidad (Capaldo y Minaverry, 2016).

## Conclusiones

A lo largo del presente trabajo, se detectaron superposiciones de organismos de control dentro de la misma jurisdicción; y algunos casos de leyes en donde no se cumplió con el plazo estipulado para el dictado de su decreto reglamentario, lo cual dificulta su aplicación en la práctica.

Se vislumbraron diferentes niveles de desarrollo normativo en las jurisdicciones provinciales analizadas, vinculadas con la sanidad vegetal y forestal. Los mismos, no son uniformes y varían notablemente de acuerdo a la región del país; lo cual no siempre se vincula con la existencia y/o cantidad, o no, de bosques.

También se detectó que en la mayoría de los casos no se regula jurídicamente a la “sanidad forestal o de los bosques” de manera autónoma, sino que ésta se encuentra incluida dentro de la “sanidad vegetal” en las normas vigentes. Lo mismo ocurre en algunos casos respecto de las plagas forestales.

Se encontraron algunos vacíos legales en diversos aspectos vinculados con la sanidad vegetal y, más específicamente, con la forestal; ya que no existen normas provinciales que regulen este último, y la existente a nivel nacional se encuentra desactualizada.

Los aspectos regulados que se detectaron en la normativa provincial vigente son los siguientes:

- Descripción de la sanidad vegetal y determinación de plagas (incluidas las forestales); en la mayoría de los casos, con una estructura de anexo, donde se agrega el listado de las mismas y que al poco tiempo se encuentra desactualizada. La

misma norma debería prever un mecanismo que permita su continua actualización, pero esto no se implementa en la práctica.

- El transporte de productos forestales es implementado a través de la regulación de “guías forestales”.

También se han creado algunos organismos públicos adicionales que regulan específicamente a la temática de la sanidad forestal o vegetal, y que brindan funciones de asesoramiento, de control, y/o de seguimiento de estos aspectos hacia los actores sociales involucrados.

En el caso de la Provincia de Jujuy, la ley 4975 creó una “Comisión provincial honoraria de sanidad vegetal”, cuya finalidad principal es la de asesorar a la Secretaría de Economía en los aspectos normativos y ejecutivos.

Finalmente, desde el punto de vista jurídico, cabe destacar que la ley 25.831 es una ley nacional de presupuestos mínimos ambientales que hace referencia al libre acceso a la información ambiental; y que, a pesar de su vigencia, no se pudo aplicar adecuadamente en todos los casos.

Se estima que las lagunas legales existentes en algunas provincias —como es el caso de Formosa— generan que se produzca un impacto económico y social; sin embargo, no hemos relevado datos sobre esto y podría considerarse para futuros trabajos de investigación.

## Literatura citada

- Bazan, V. (2013). El federalismo argentino: situación actual, cuestiones conflictivas y perspectivas. *Revista Estudios constitucionales* 11(1): 37-88.
- Boletín Oficial de la Provincia de La Rioja. (2017). *Boletinoflarioja.com.ar*. Recuperado de: <http://www.boletinoflarioja.com.ar> (Consultado el 17 de febrero de 2017).
- Boletín Oficial de la Provincia de Salta. (2017). *Boletinoficialsalta.gob.ar*. Recuperado de: <http://boletinoficialsalta.gob.ar> (Consultado el 10 de febrero de 2017).
- Boletín Oficial, Provincia de Santiago del Estero. (2017). *Constitución de la Provincia de Santiago del Estero*. Recuperado de: <http://www.boletinsde.gov.ar/leyesycondigos.html> (Consultado el 20 de febrero de 2017).
- Boletín Oficial de la República Argentina. (2017). Versión electrónica del *Boletín Oficial*. Recuperado de: [www.boletinoficial.gob.ar](http://www.boletinoficial.gob.ar) (Consultado el 11 de febrero de 2017).
- Cámara de Diputados, Provincia de Entre Ríos. (2017). Recuperado de: <http://www.hcder.gov.ar/> (Consultado el 10 de febrero de 2017).
- Cámara de Diputados, Provincia de La Pampa. (2017). *Legislatura.lapampa.gov.ar*. Recuperado de: <http://www.legislatura.lapampa.gov.ar/> (Consultado el 10 de febrero de 2017).
- Cámara de Diputados, Provincia de San Juan. (2017). *Digestosanjuan.gob.ar*. Recuperado de: <http://www.digestosanjuan.gob.ar/#/> (Consultado el 20 de febrero de 2017).
- Cámara de Diputados de la Provincia de San Luis. (2017). *Diputadosanluis.gov.ar*. Recuperado de: <http://www.diputadosanluis.gov.ar/diputadosasp/paginas/normas.asp> (Consultado el 17 de febrero de 2017).
- Cámara de Representantes, Provincia de Misiones. (2017). *Diputadosmisiones.gov.ar*. Recuperado de: [http://www.diputadosmisiones.gov.ar/digesto\\_juridico/content.php?id\\_category=214](http://www.diputadosmisiones.gov.ar/digesto_juridico/content.php?id_category=214) (Consultado el 20 de febrero de 2017).
- Capaldo, G. (2014). La interdisciplina y la transdisciplina como estrategias para la erradicación de conductas anómicas y la enseñanza del Derecho en torno a la gestión del agua. *Academia. Revista sobre enseñanza del Derecho* 12 (23): 15-34.
- Capaldo, G. y Minaverry, C. (2016). El aporte fundamental de la trilogía del derecho-jurisprudencia-política ambiental. Protección de los servicios ecosistémicos en Argentina. *Observatorio Medioambiental* 19: 213-230.

- Gobierno de la Provincia de Santa Fe. (2017). *Gobierno de Santa Fe-Portal*. Santafe.gov.ar. Recuperado de: <http://www.santafe.gov.ar> (Consultado el 10 de febrero de 2017).
- Honorable Cámara de Diputados, Provincia de Corrientes. (2017). Página Web Oficial de la Honorable Cámara de Diputados-Hcdcorrientes.gov.ar. Recuperado de: <http://www.hcdcorrientes.gov.ar> (Consultado el 10 de febrero de 2017).
- Honorable Cámara de Diputados de la Provincia de Mendoza. (2017). Recuperado de: <http://www.hcdmza.gob.ar/web/> (Consultado el 10 de febrero de 2017).
- Honorable Legislatura de la Provincia de Chubut. (2017). *Legischubut2.gov.ar*. Recuperado de: <http://www.legischubut2.gov.ar/> (Consultado el 17 de febrero de 2017).
- Honorable Legislatura de la Provincia de Formosa. (2017). *Legislaturaformosa.gob.ar*. Recuperado de: <http://www.legislaturaformosa.gob.ar/> (Consultado el 10 de febrero de 2017).
- Lattera, P.; Jobbágy, E. y Paruelo, J. (2011). *Valoración de servicios ecosistémicos. Conceptos, herramientas y aplicaciones para el ordenamiento territorial*. Ediciones INTA, Buenos Aires. 740 pp.
- Legislatura, Provincia de Neuquén. (2017). *Legislaturaneuquen.gob.ar*. Recuperado de: <https://www.legislaturaneuquen.gob.ar/inicio.aspx> (Consultado el 17 de febrero de 2017).
- Legislatura de Río Negro. (2017). Legislatura del pueblo de la Provincia de Río Negro. Recuperado de: <http://www.legisrn.gov.ar/lrn> (Consultado el 10 de febrero de 2017).
- Loyola-Coronel, D. (s/f). *Sanidad vegetal*. [http://isfdlaslomas.for.infed.edu.ar/sitio/upload/Sanidad\\_Vegetal.pdf](http://isfdlaslomas.for.infed.edu.ar/sitio/upload/Sanidad_Vegetal.pdf) (Consultado el 11 de febrero de 2017).
- Ministerio de Ambiente, Agua y Energía, Provincia de Córdoba. (2017). *Secretariadeambiente.cba.gov.ar*. Recuperado de: [http://www.secretariadeambiente.cba.gov.ar/home\\_nuevo.html](http://www.secretariadeambiente.cba.gov.ar/home_nuevo.html) (Consultado el 10 de febrero de 2017).
- Minaverry, C. (2014). La importancia del derecho de acceso a la información ambiental en el servicio del agua. Situación legal en Buenos Aires, Argentina. *Revista Lex Social* 4 (1): 57-79.
- Organismo Provincial para el Desarrollo Sostenible, Gobierno de la Provincia de Buenos Aires. (2017). *Opds.gba.gov.ar*. Recuperado de: <http://www.opds.gba.gov.ar> (Consultado el 20 de febrero de 2017).
- Orgaz, A. (1961). *Diccionario de Derecho y Ciencias Sociales*, Editorial Assandri. Córdoba. Argentina, 181 pp.
- Poder Judicial de Jujuy. (2017). *Justiciajujuy.gov.ar*. Recuperado de: <http://www.justiciajujuy.gov.ar> (Consultado el 17 de febrero de 2017).
- Poder Legislativo de la Provincia de Chaco. (2017). *Legislaturachaco.gov.ar*. Recuperado de: <http://www.legislaturachaco.gov.ar/sitio> (Consultado el 20 de febrero de 2017).
- Poder Legislativo de Tierra del Fuego-Antártida e Islas del Atlántico Sur. (2017). *Legistdf.gov.ar*. Recuperado de: <http://www.legistdf.gov.ar> (Consultado el 17 de febrero de 2017).
- Portal Oficial, Provincia de Santa Cruz. (2017). *Portal Santa Cruz, Sitio Oficial de la Provincia*. Recuperado de: <http://www.santacruz.gov.ar/portal/> (Consultado el 17 de febrero de 2017).
- Registro Oficial de Leyes y Decretos-Gobierno de Tucumán. (2017). *Rig.tucuman.gov.ar*. Recuperado de: <http://rig.tucuman.gov.ar/leyes/> Consultado el (17 de febrero de 2017).
- Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable. (2017). *Ambiente.catamarca.gov.ar*. Recuperado de: <http://www.ambiente.catamarca.gov.ar> (20 de febrero de 2017).

Recibido: 17 de febrero de 2017  
Envío arbitraje: 03 de marzo de 2017  
Dictamen: 06 de septiembre de 2017  
Aceptado: 12 de septiembre de 2017



Título: *Legislación Argentina Agroforestal*

Dimensiones: 21.7 cm x 21 cm

Técnica: Acuarela sobre papel

Autora: Marisol Herrera Sosa