



Gobierno
Bolivariano
de Venezuela

Ministerio del Poder Popular
para la **Agricultura y Tierras**

Instituto Nacional de **Investigaciones Agrícolas**

omía
Tropical

Agronomía
Tropical

Agronomía
Tropical

Agronomía
Tropical

**Agronomía
Tropical**

Depósito Legal: pp. 195102AR73
ISSN: 0002 - 192X
AÑO 62 VOL. 63 No. 1-2 2013



Agronomía
Tropical

Agronomía
Tropical

Agronomía
Tropical

Agronomía
Tropical

**Agronomía
Tropical**

ISSN: 002 - 192X

Depósito Legal pp. 195102AR73

AGRONOMÍA TROPICAL es publicada por el INIA de la República Bolivariana de Venezuela para la socialización del conocimiento científico y humanístico, en los diferentes componentes de los sistemas de producción agrícola vegetal que garanticen la producción de alimentos y temas que contribuyan con la sustentabilidad de los sistemas agro productivos.

Miembros Fundadores

Luis Medina (Dir.)
Bruno Mazzani
Wasily Iljin
Rafael Pontis Videla
Jesús Silva Calvo
Gino Malagutti
Guiseppe Ravanello
Luis A. Salas F.
Salomón Horovitz
Pedro Obregón
Dora Micheletti de Zerpa

Comité Editorial

Delis Pérez Editora Jefe
Zulay Melo Seguimiento
Andreina Muñoz Edición gramatical
Carmen Solórzano Diagramación

Editada por la Gerencia de Investigación e Innovación Tecnológica
Coordinación Área de Gestión de la Información.
Impresa en el Taller de Artes Gráficas del INIA.
Tiraje: 300 ejemplares

Unidad de Distribución y Venta de Publicaciones.
INIA. Apdo. postal 2105, Maracay 2101.
Estado Aragua, Venezuela.
Precio Bs. 300,00

Correo electrónico: dypvpublicaciones@inia.gob.ve

La revista Agronomía Tropical está disponible en la red de biblioteca INIA. Se puede acceder a la versión digital por internet a través de nuestro sitio web:
<https://www.inia.gob.ve>
área publicaciones

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas

Margaret Gutiérrez Mulas
Julitt Hernández
Delis Pérez Sánchez

Jonathan Coello
Gino Campos

Presidenta
Gerente General
Gerente de Investigación e Innovación Tecnológica
Gerente de Producción Social
Gerente de Participación y Desarrollo Comunitario

Editores Asociados

Oscar Abarca (ACAV) Recursos de Aguas y Tierras
Aída Ortiz (UCV) Cereales, Malezas y Semillas
Delis Pérez (INIA) Mejoramiento Genético de Plantas
Juan Vergara (INIA) Alimentación y Nutrición de Rumiantes
Marjorie Cásares (UCV) Desarrollo Rural
Lorenzo Velásquez (INIA) Fertilidad y Manejo de Suelos

Consejo Asesor

Carlos Hidalgo INIA Sede Administrativa. Venezuela
Juan Vergara INIA Zulia. Venezuela
Antonio de la Casa UNC. Argentina
Grigna Piña INIA CENIAP. Venezuela
Graciela Vergara UNLPam. Argentina
Ezequiel Alonzo INIA CENIAP. Venezuela
Emma Ramírez INIA Táchira. Venezuela
Pedro Monasterio INIA Yaracuy. Venezuela
Beatriz Graterol INIA Amazonas. Venezuela

Indización

CAB Internacional (Reino Unido)
TROPAG (Holanda)
AGRIS, FAO (Roma)
IICA-CIDIA (Costa Rica)
REVENCYT (Venezuela)
REFERATIVNY ZHURNAL (Rusia)
Base Agrícola (Venezuela)
Venezolana, INIA (México)
Periódica UNAM (Venezuela)
Fundacite Mérida (Reino Unido)
BIOSIS Zoological Record
Centro de Información y Documentación (Cuba)
AGRICOLA, National
Agricultural Library (USA)
LATINDEX (México)
MegaBase AGRI 2000 (Venezuela)
Base de Datos REVIS (CATIE, Costa Rica)
SciELO (Venezuela)

Se acepta el intercambio con otras revistas

Exchange requested Wir bitten um austausch
On demance l' échange Gradiremmo cambio

Deseamos permuta

AGRONOMÍA TROPICAL

Agronomía Trop.

Revista trimestral del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas
Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras
Maracay, Venezuela

TABLA DE CONTENIDO Vol. 63 N° 1 - 2

Artículos científicos:	Pág:
García-Caicedo, M., A. Torres y A. Ochoa. Evaluación de nematodos entomopatógenos para el control del picudo de la piña en el estado Táchira Venezuela.....	5
Osorio, M., A. Schmidt, A. Vegas, A. Díaz e Y. Mujica. Acompañamiento del asentamiento campesino Guacamaya, estado Aragua, en el uso de biotecnologías para el mejoramiento de la productividad en el cultivo de lechosa.....	15
Acevedo, M., R. Álvarez, O. Torres, M. Salazar, I. Pérez-Almeida, E. Reyes y O. Moreno. 'Soberana FL': Cultivar de arroz de riego para Venezuela.....	27
Lares Amaiz, M., E. Pérez Sira, C. Álvarez Fernández, J. Perozo González y S. El Khori. Cambios de las propiedades físico-químicas y perfil de ácidos grasos en cacao de Chuao, durante el beneficio.....	37
Pichardo, E., B. Camacho, A. Quintero, N. Meza, E. Flores y D. Segovia. Detección de los principales virus en brotes de tubérculos y vitroplantas de papa por la técnica DAS-ELISA.....	49
Rodríguez, M. F., A. Cortez, B. Olivares, J. C. Rey, R. Parra y D. Lobo. Análisis espacio temporal de la precipitación del estado Anzoátegui y sus alrededores.....	57
Meza, N., P. Moratinos, B. Daboín, R. Riveros y F. Sequera. Comportamiento de variedades de papa en la localidad de Marajabú, estado Trujillo, Venezuela.....	67
Ormeño D., M., A. Ovalle, N. Terán y J. C. Rey. Evaluación de diferentes abonos orgánicos en el desarrollo de plantas de guayaba y calidad de los suelos en vivero.....	73
Betancourt Yáñez, P. e Y. Mújica. Efecto de la fertilización cálcica y el sistema de siembra en sisal en un sector semiárido del estado Lara.....	85
Nota Técnica:	
Díaz-López, A., L. Angulo Graterol, A. Vegas García, Y. Sandra Rincón, C. Ramis y G. Saldaña Robespierre. Evaluación de dos marcadores tipo SCAR para la determinación del sexo en lechosa, variedad Maradol.....	93
Instrucciones a los autores	

TABLE OF CONTENTS Vol. 63 N° 1 - 2

Scientific Articles	Pág:
García-Caicedo, M., A. Torres y A. Ochoa. Evaluation of entomopathogenic nematodes to control pineapple weevil in state Tachira Venezuela.....	5
Osorio, M., A. Schmidt, A. Vegas, A. Díaz e Y. Mujica. Farmer accompaniment settlement Guacamaya, Aragua state, in the use of biotechnology for improving productivity in the cultivation of papaya.....	15
Acevedo, M., R. Álvarez, O. Torres, M. Salazar, I. Pérez-Almeida, E. Reyes y O. Moreno. 'Soberana FL': Irrigated rice cultivar for Venezuela.....	27
Lares Amaiz, M., E. Pérez Sira, C. Álvarez Fernández, J. Perozo González y S. El Khori. Physicochemical changes and fatty acids profile of cocoa grown in Chuao, throughout post harvest process.....	37
Pichardo, E., B. Camacho, A. Quintero, N. Meza, E. Flores y D. Segovia. Detection of major viruses in potato tubers-sprouts and plantlets by DAS-ELISA technique.....	49
Rodríguez, M. F., A. Cortez, B. Olivares, J. C. Rey, R. Parra y D. Lobo. Time-space analysis of rainfall in state of Anzoátegui and surrounding.....	57
Meza, N., P. Moratinos, B. Daboín, R. Riveros y F. Sequera. Performance of potato varieties in Marajabú state of Trujillo, Venezuela.....	67
Ormeño D., M., A. Ovalle, N. Terán y J. C. Rey. Evaluation of impact of a variety of organic fertilizers on the growth of guava and on the quality of soils in nursery.....	73
Betancourt Yáñez, P. J. e Y. Mujica. Effect of the calcium fertilization and the cropping system of sisal crop in a sector of the semiarid of Lara state.....	85
 Technical Note:	
Díaz-López, A. A., L. R. Angulo Graterol, A. L. Vegas García, Y. C. Sandra Rincón, C. Ramis y G. Saldaña Robespierre. Evaluation of two types of SCAR markers to determine sex in papaya variety Maradol.....	93
Instructions to authors	

Evaluación de nematodos entomopatógenos para el control del picudo de la piña en el estado Táchira Venezuela

Evaluation of entomopathogenic nematodes to control pineapple weevil in Tachira state Venezuela

María García-Caicedo¹, Ángel Torres¹ y Ángel Ochoa¹

¹Investigadores. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA Táchira). Bramón, estado Táchira, Venezuela. Correo electrónico: mcaicedo@inia.gob.ve.

RESUMEN

El cultivo de la piña, *Ananas comosus* (L.) Merrill, se ve afectado por la incidencia de diversos insectos plaga, entre ellos el coleóptero *Metamasius dimidiatipennis* (Jekel), conocido como el picudo de la piña, que ocasiona daños al perforar tallos y hojas. Para su control se evaluaron cepas nativas y foráneas de nemátodos entomopatógenos (NEPs) pertenecientes a los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis* (cepas 044, 037, 075, SCALL y HP88) en condiciones de laboratorio en las instalaciones del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-Táchira). Se utilizaron larvas del insecto en sus últimos dos estadios, colectados en plantaciones de piña, en el municipio Libertad, estado Táchira. Se determinaron tiempos letales (TL50 y TL95), dosis letales (DL50 y DL95) y un modelo de regresión tiempo-mortalidad para cada cepa de NEPs en el estadio juvenil infectivo (JI). Se evaluaron diferentes concentraciones de NEPs: 0, 100, 300, 500, 700 y 1.000 JI/ml, con cuatro repeticiones de cinco larvas de picudo, cada una en placas de Petri y se registró el número de individuos muertos cada 24 h durante 6 días. Las larvas muertas por nemátodos se reconocían por presentar una consistencia suave y olor no fétido. Entre las cepas nativas, 075 obtuvo mejor resultado con un DL50 y TL50 de 500 JI/ml y 2,05 días, respectivamente, seguida de 044 y 037, todas pertenecientes al género *Steinernema*.

Palabras clave: *Ananas comosus* (L.), Curculionidae, Bromeliaceae.

ABSTRACT

The pineapple, *Ananas comosus* L., known as the queen of the fruits, is used for fresh consumption, alcoholic drinks, pharmaceutical use, and fiber production. However, its production is affected by the incidence of various insect pests including *Metamasius dimidiatipennis*, known as the pineapple weevil. This insect infests the crop by perforating stems and leaves. For controlling this insect, native and foreign strains of entomopathogenic nematodes of the genus *Steinernema* and *Heterorhabditis* (Strains 044, 037, 075, SCALL, and HP88) were used under laboratory conditions at the INIA Táchira. Larvae of the insect in its last two stadia were collected from infested plants at Libertad County in Táchira. Lethal times (TL50 and TL95), lethal doses (DL50 and DL95) and a regression model of time Vs mortality were determined for each strain of entomopathogenic nematodes (EPNs) in its infective juvenile stage (IJ) at different concentrations: 0, 100, 300, 500, 700 and 1000 IJ/ml. Four replicates with 5 larvae each were placed in petri dishes along with the suspension of IJ added at each dose. The number of individuals killed was counted every 24 hours for 6 days. The nematode infested dead larvae were recognized for its soft consistency and no stinking smell. The native strain 075 gave the best performance with a DL50 and TL50 of 500 IJ/ml and 2,05 days, respectively, followed by strains 044 and 037, all in the genus *Steinernema*.

Key words: *Ananas comosus* L., Curculionidae, Bromeliaceae.

INTRODUCCIÓN

La piña, *Ananas comosus* (L) Merrill, es una planta perteneciente a la familia de las Bromeliáceas, es la tercera fruta tropical más importante a nivel mundial (FAO, 2011) y es reconocida como “la reina de las frutas” por sus cualidades en cuanto a sabor, aroma, tamaño y apariencia (Panamá, 2003).

En Venezuela, la piña es el quinto rubro vegetal en importancia económica después de la caña de azúcar, arroz, maíz y banano, ocupando el puesto número 13 entre los principales países productores con 360.000 t producidas en 2009 (FAO, 2011).

Las regiones productoras en el país son: andina (Táchira, Mérida, Trujillo), centro-occidental (Lara, Yaracuy), oriental (Sucre, Anzoátegui, Monagas) y sur del Orinoco. La región andina aporta 35% de la producción nacional de piña; teniendo el estado Táchira la ventaja de ofrecer una producción permanente durante todo el año, lo cual permite tener presencia continua en el mercado nacional (MPPAT, 2007).

El cultivo de la piña es una actividad agrícola importante desde el punto de vista económico y social. El área cultivada es 231 ha con una producción aproximada de 8.085 t y un valor estimado de 12.127.500 bolívares. A esta actividad se encuentran vinculadas 112 familias campesinas de pequeños y medianos agricultores, ubicados en el Hato de la Virgen y representa más 60% de la superficie cultivada (MPPAT, 2007).

El estado Táchira es una de las zonas productoras de este rubro, sin embargo su producción ha disminuido por la incidencia de un insecto plaga conocido como “gorgojo o picudo de la piña” *Metamasius dimidiatipennis* Champeon (Coleoptera: Curculionidae), ocasionando pérdidas considerables al productor (García-Caicedo *et al.*, 2012).

Este insecto es atraído por el olor de los tejidos en descomposición o por frutos sobre maduros de piña. En su estado larval el insecto hace galerías y perforaciones en la base de la planta o tallo, provocando una clorosis en las hojas que se tornan amarillentas y el fruto no madura

satisfactoriamente. En el peor de los casos, se provoca el volcamiento de la planta por pérdida de anclaje, debido a los severos ataques (Montilla *et al.*, 1997; Salas *et al.*, 1996).

Los productores de piña del municipio Libertad, estado Táchira, informan que el daño se localiza en el pedúnculo, coronas, hijos y hojas de la planta como resultado del proceso de alimentación del picudo en las etapas de larva y adulto. Además, estos daños son la puerta de entrada a hongos y bacterias que agravan el problema. Para el control de esta plaga, aplican indiscriminadamente productos químicos que perjudican la salud del productor y alteran el ecosistema, por este motivo se requiere impulsar investigaciones sobre alternativas en el control biológico del picudo.

El uso de controladores biológicos como los nematodos entomopatógenos (NEPs), constituyen una medida de control que puede incorporarse al Programa de Manejo Agroecológico de este insecto. Los NEPs pueden asperjarse al suelo durante la época de lluvias, momento en que este insecto plaga prolifera; son resistentes a ciertos productos químicos usados en la agricultura y poseen un efecto sinérgico con otros agentes entomopatógenos.

En muchos casos superan a otros patógenos provocando altos índices de mortalidad, poseen buena capacidad de adaptación a nuevos ambientes, tienen la habilidad de moverse en el suelo en la búsqueda de su hospedero si es necesario y no causan daños a las plantas ni a los mamíferos. No son perjudiciales para las personas y existe menos probabilidad que la plaga desarrolle resistencia (Rosales *et al.*, 1999).

El grupo más importante de nematodo asociados a insectos es el de los entomopatógenos, los cuales se encuentran ubicados en dos familias del orden Rhabditida: Steinernematidae y Heterorhabditidae. Los NEPs presentan una relación simbiótica con bacterias específicas (*Xenorhabdus* y *Photorhabdus*, para las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae, respectivamente) que les confiere las particulares características del complejo nematodo-bacteria.

Dentro del ciclo de vida de los nematodos entomopatógenos se encuentra un estadio

llamado juvenil infectivo (JI), que es la única etapa infectiva y de vida libre de su ciclo. En esta fase pueden sobrevivir varios meses en el suelo sin alimentarse, buscando activamente hospedadores. El tiempo del ciclo de vida desde la infección hasta la salida de los juveniles es 7 a 10 días *Steinernema* y de 12 a 15 días *Heterorhabditis* (Soler *et al.*, 2003).

El desempeño de los nematodos se inicia cuando son atraídos por los gradientes de temperatura y dióxido de carbono que emiten los insectos hospederos. Los juveniles infectivos (JI) penetran en sus hospederos normalmente por los orificios naturales, boca, ano y espiráculos. No obstante, también pueden penetrar a través de las membranas intersegmentales (Bedding *et al.*, 1982; Peters *et al.*, 1994). Una vez que llegan a la hemolinfa del insecto, liberan la bacteria simbiote, que causa la muerte del insecto por septicemia en un periodo de 24 a 48 h.

Es importante destacar que estas bacterias están adaptadas para resistir el sistema inmune del insecto hospedador. La bacteria entomopatógena provee nutrientes para ella y para el nematodo mediante la secreción de una gran variedad de enzimas extracelulares que degradan los tejidos del hospedador, a la vez que se multiplican masivamente y producen condiciones favorables para la alimentación de los nematodos, los cuales, a su vez requieren la presencia de la bacteria simbiótica para reproducirse y completar su ciclo.

Además de estos aportes nutricionales que la bacteria proporciona al nematodo, también produce antibióticos y bactericidas que impiden la entrada de organismos oportunistas al cadáver del insecto.

Los nematodos se desarrollan hasta el estado adulto y se reproducen dentro del cadáver. En el caso de que los nutrientes se acaben, el ciclo termina en el estadio JI, que incorpora las bacterias y emigra del cadáver buscando nuevos insectos hospedadores (Soler *et al.*, 2003).

Los nematodos presentan un amplio número de hospederos, parte de estos insectos que habitan el suelo en algún momento de su ciclo de vida, la mayoría son susceptibles y pertenecen a los órdenes Lepidoptera y Coleoptera (*Melolontha*

spp., *Otiorynchus* spp., *Vesperus xatarti*, *Cosmopolites sordidus*, *Capnodis tenebrionis*, *Rhynchophorus ferrugineus*. Igualmente, son susceptibles algunas especies de los órdenes Thysanoptera (*Frankliniella occidentales*), Diptera (*Ceratitis capitata*) Homoptera (*Bemisia tabaci*, *Trialeurodes vaporariorum* y *Dysmicoccus vaccini*), Heteroptera (*Dysdercus peruvianus*), Isoptera (*Reticulotermes* spp.), Orthoptera (*Locusta migratoria*).

Además, se ha comprobado un importante efecto nematostático contra nemátodos fitopatógenos de los géneros *Meloidogyne* spp., *Tylenchorhynchus* spp., *Globodera* spp. y *Criconemátidos* (Peters, 1996; Soler *et al.*, 2003). En pruebas de laboratorio, *Steinernema carpocapsae*, por ejemplo, infesta a más de 250 especies de insectos pertenecientes a unas 75 familias que se extiende a casi once órdenes de insectos y pueden atacar a los estadios biológicos de larva, pupa y adulto (Salas, 1996).

En el picudo del agave *S. interstitialis* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae) considerado como la principal plaga del agave pulquero *Agave atrovirens* Kart, agave tequilero (*A. tequilaza* Weber) y agave mezcalero (*A. angustifolia* Haw), se encuentran los mayores porcentajes de control en larvas de tercer estadio y adultos manejado con NEPs (Aquino *et al.*, 2006).

Una de las principales plagas que afecta a las palmeras de oriente próximo, oriente medio y del norte de África, es el picudo rojo o curculiónido ferruginoso (*Rhynchophorus ferrugineus* Olivier), que en la actualidad se están realizando controles biológicos a partir del uso de NEPs, concluyendo que este tratamiento biológico es una herramienta eficaz para el control de la plaga, puesto que su persistencia en la palmera es mayor a un producto químico comercial (Dembilio, 2011).

Cabe señalar, que se determinó la susceptibilidad *M. hemipterus sericeus* (L.) a la cepa CIAP-DEY-6 *Heterorhabditis* sp. (Evans *et al.*, 2009), así como, la susceptibilidad de escarabajos (Coleoptera: Scarabaeidae) presentes en la piña y plátano (Pozo *et al.*, 2008).

Este trabajo se realizó con la finalidad de evaluar cepas nativas y foráneas de NEPs en el control

de larvas *M. dimidiatipennis* en condiciones de laboratorio. Asimismo, será útil para futuras investigaciones sobre el manejo alternativo de este insecto en los agroecosistemas de piña.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se realizaron en las instalaciones del Laboratorio de Entomología del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-Táchira), municipio Junín, estado Táchira, a una altitud 1.050 m.s.n.m., temperatura promedio 21,87 °C ± 0,55 °C y humedad relativa promedio 79,27% ± 0,62%. La colecta *M. dimidiatipennis* se efectuó en lotes de piña abandonadas en la aldea Hato de la Virgen, parroquia Cipriano Castro, municipio Libertad, estado Táchira; localidad que se encuentra en una zona de vida con transición de bosque seco premontano hacia un monte espinoso premontano (Giraldo, 1998). Esta aldea está ubicada entre los 1.200 y 1.589 m.s.n.m., con un punto medio cuyas coordenadas son: norte 7°50'42,1" y oeste 72°20'37,4", humedad relativa 72% en promedio y una precipitación promedio anual de 942 mm, distribuidos durante todo el año. El régimen de lluvias es bimodal y se presenta una precipitación máxima de 134 mm en el mes de abril y una mínima de 25 mm en el mes de enero.

Previo a la evaluación de nematodos entomopatógenos en larvas *M. dimidiatipennis*, se seleccionaron las mejores cepas de nematodos nativos pertenecientes al cepario del INIA-Táchira. La selección se hizo tomando en cuenta los registros de mortalidad sobre larvas de último estadio *Galleria mellonella* (Lepidoptera:

Pyrallidae), periodo durante el cual dicha mortalidad ocurre y el número promedio de JI estimado que se colecta en una larva (cadáver) *G. mellonella* en su último estadio. Las cepas de nematodos seleccionadas fueron reproducidas en larvas del último instar *G. mellonella*, a 23 °C, en cajas de Petri y papel filtro. A partir de las larvas muertas se recolectaron los JI, en trampas "White" modificadas durante 3 días para ser utilizados en el experimento. Las cepas evaluadas pertenecen a los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis*, las cuales se detallan en el Cuadro 1.

En el desarrollo de las pruebas en laboratorio, se utilizó larvas de los dos últimos estadios del insecto *M. dimidiatipennis* colectados en sus primeros estadios en tallos de plantas de piña infestadas, en la parroquia Cipriano Castro, municipio Libertad, estado Táchira y, las cuales fueron sometidas a un período de cuarentena para asegurar que no estuvieran parasitadas o enfermas, en sus dos últimos instares y fueron alimentadas diariamente con tallos de plantas de piña.

La evaluación de la agresividad o rapidez de acción de las cepas NEPs sobre la población de larvas *M. dimidiatipennis*, determinaron los tiempos letales que indican el tiempo necesario para producir 50% (TL50) o 95% (TL95) de mortalidad, se efectuó mediante el Probit Analysis Program (Raymond, 1985), el cual consiste en la transformación logarítmica de las concentraciones y tiempos probados. De este modo, la distribución de la tolerancia de los insectos se vuelve normal y puede aplicarse universalmente a datos de susceptibilidad a insecticidas.

Cuadro 1. Cepas utilizadas en las evaluaciones de dosis letales (DL50 y DL95) y tiempos letales (TL50 y TL95) sobre larvas del picudo de la piña *Metamasius dimidiatipennis*.

Cepa	Especie	Origen
044	<i>Steinernema</i> sp.	Municipio Rafael Urdaneta, estado Táchira, Venezuela
037	<i>Heterorhabditis</i> sp.	Municipio Uribante, estado Táchira, Venezuela
075	<i>Steinernema</i> sp.	Municipio Libertad, estado Táchira, Venezuela
SCALL	<i>Steinernema carpocapsae</i>	Laboratorio de NEPs, OSU. Ohio, EE. UU
HP88	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	Laboratorio de NEPs, OSU. Ohio, EE. UU

A partir de los tiempos letales, se calculó la eficacia, cuya relación TL95/TL50, a fin de conocer cuántas veces es necesario incrementar el TL50 para obtener el TL95, esto se manejó como un indicativo de la eficiencia de las cepas sobre el insecto plaga (Rosales, 1998).

Para determinar o comprobar que la muerte de las larvas *M. dimidiatipennis* era causada por NEPs, se utilizaron trampas White modificadas que consistían en placas de Petri previamente identificadas y desinfectadas, que tenían en el fondo un vidrio reloj cubierto con papel filtro, sobre el cual se colocaban las larvas muertas.

Se agregó agua destilada en el fondo de la placa hasta humedecer el papel filtro para la colecta de los JI que emergían de cada larva. Las larvas muertas por nematodos se reconocían por presentar una consistencia blanda y olor no fétido. Si las larvas muertas adquieren una coloración marrón claro, la muerte es causada por especies *Steinernema* (Figura 1); en cambio si la coloración es rojiza, entonces es por especies *Heterorhabditis* (Figura 2), señalados por Aquino *et al.* (2006).



Figura 1. Coloración característica de larvas de *Metamasius dimidiatipennis* infestadas con nematodos entomopatógenos del género *Steinernema*.



Figura 2. Coloración característica de larvas de *Metamasius dimidiatipennis* infestadas con nematodos entomopatógenos del género *Heterorhabditis*.

Se estimaron las dosis letales de las diferentes cepas de NEPs en estudio, indicando las dosis necesaria o concentración de NEPs (JI/ml), para producir 50% (DL50) o 95% (DL95) de mortalidad de larvas *M. dimidiatipennis*. En este proceso se utilizaron cinco concentraciones por cada cepa (100, 300, 500, 700 y 1.000 JI/ml), obteniendo la ecuación de regresión dosis mortalidad, bajo las consideraciones explicadas.

En las pruebas de efectividad NEPs, se empleó un diseño factorial completamente aleatorizado con tres cepas nativas y dos cepas foráneas en cinco concentraciones de JI por cada cepa (100, 300, 500, 700 y 1.000 JI/ml/placa) y cinco repeticiones (cinco larvas por tratamiento y por repetición).

Se utilizaron placas de Petri 50 x 20 mm, con papel filtro en el fondo y se colocaron las larvas *M. dimidiatipennis*. La suspensión de nematodos para cada dosis se agregó uniformemente sobre el papel de filtro, las placas se rotularon y sellaron con cinta plástica, colocadas en un gabinete en oscuridad total y se dejaron a temperatura ambiente (23 °C).

El número de individuos muertos se registró cada 24 h durante 6 días consecutivos para determinar dosis letales (DL50 y DL95), así como para precisar los tiempos letales (TL50, TL95).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del análisis Probit se muestran en el Cuadro 2. La estimación de tiempos letales 50 y 95 (TL50 y TL95, respectivamente), la eficacia y la ecuación de regresión de diferentes cepas de nematodo entomopatógenos en el control de larvas *M. dimidiatipennis* en condiciones de laboratorio para el modelo en el cuadro del Análisis de la Varianza ($P < 0,01$) mostraron una relación estadísticamente significativa entre las variables con 99% de nivel de confianza (Figura 3).

La cepa 075 resultó la más efectiva de las cepas nativas (1,5534) con una dosis de 500 JI/ml, en 2,05 días eliminó 50% y en 3,19 días eliminó 95% de las larvas *M. dimidiatipennis*. La cepa 044 con una dosis 500 JI/ml fue la segunda con una eficacia de 1,9364, un TL50 de 2,77 días y un TL95 de 5,48 días. La cepa 037 con una concentración de 100 JI/ml, tuvo una eficacia de 1,6956 y un TL50 de 5,47 días, esta última cepa, a una concentración de 700 JI/ml, alcanzó un TL50 de 2,46 días y un TL95 de 7,34 días (Figura 4).

Cuadro 2. Tiempos letales 50 y 95 (días) de diferentes concentraciones de JI/ml sobre larvas *Metamasius dimidiatipennis*.

Cepa de NEPs	Concentración JIs/ml	TL 50	TL95	Eficacia	Ecuación de regresión
SCALL	100	1,4441	2,6543	1,8381	$y = -1,96269 + 1,35911x$
SCALL	300	1,4966	2,6364	1,7616	$y = -2,15986 + 1,44317x$
SCALL	500	1,3743	2,1051	1,5317	$y = -3,09361 + 2,25098x$
SCALL	700	1,2497	1,9543	1,5638	$y = -2,91767 + 2,33467x$
SCALL	1.000	1,2108	1,9516	1,6119	$y = -2,68813 + 2,22018x$
HP88	100	2,5893	5,6409	2,1786	$y = -1,39563 + 0,539004x$
HP88	300	1,6764	2,3955	1,429	$y = -3,83453 + 2,28734x$
HP88	500	1,7944	2,9715	1,656	$y = -2,50749 + 1,3974x$
HP88	700	1,7997	2,0342	1,1303	$y = -12,6267 + 7,01589x$
HP88	1.000	1,1046	4,9995	4,5259	$y = -0,466501 + 0,42231x$
037	100	5,4671	9,2701	1,6956	$y = -2,36465 + 0,432521x$
037	300	3,1277	6,0373	1,9303	$y = -1,76812 + 0,565318x$
037	500	4,2533	7,8925	1,8556	$y = -1,9224 + 0,451982x$
037	700	2,4619	7,342	2,9823	$y = -0,82976 + 0,337047x$
037	1.000	3,072	5,8671	1,9099	$y = -1,80775 + 0,588468x$
075	100	3,1094	5,7838	1,8601	$y = -1,91238 + 0,615032x$
075	300	2,9754	5,9157	1,9882	$y = -1,66446 + 0,559416x$
075	500	2,0546	3,1916	1,5534	$y = -2,97201 + 1,44655x$
075	700	2,5014	5,2247	2,0887	$y = -1,51078 + 0,603984x$
075	1.000	2,3139	4,2392	1,8321	$y = -1,97687 + 0,854341x$
044	100	3,306	8,1745	2,4726	$y = -1,11699 + 0,337862x$
044	300	1,8209	6,5248	3,5833	$y = -0,636726 + 0,34968x$
044	500	2,7728	5,3693	1,9364	$y = -1,75662 + 0,633509x$
044	700	2,2931	5,4845	2,3918	$y = -1,18181 + 0,51539x$
044	1.000	2,3544	5,4779	2,3266	$y = -1,23986 + 0,526609x$

x= día; y= mortalidad; eficacia= TL 95/TL 50.

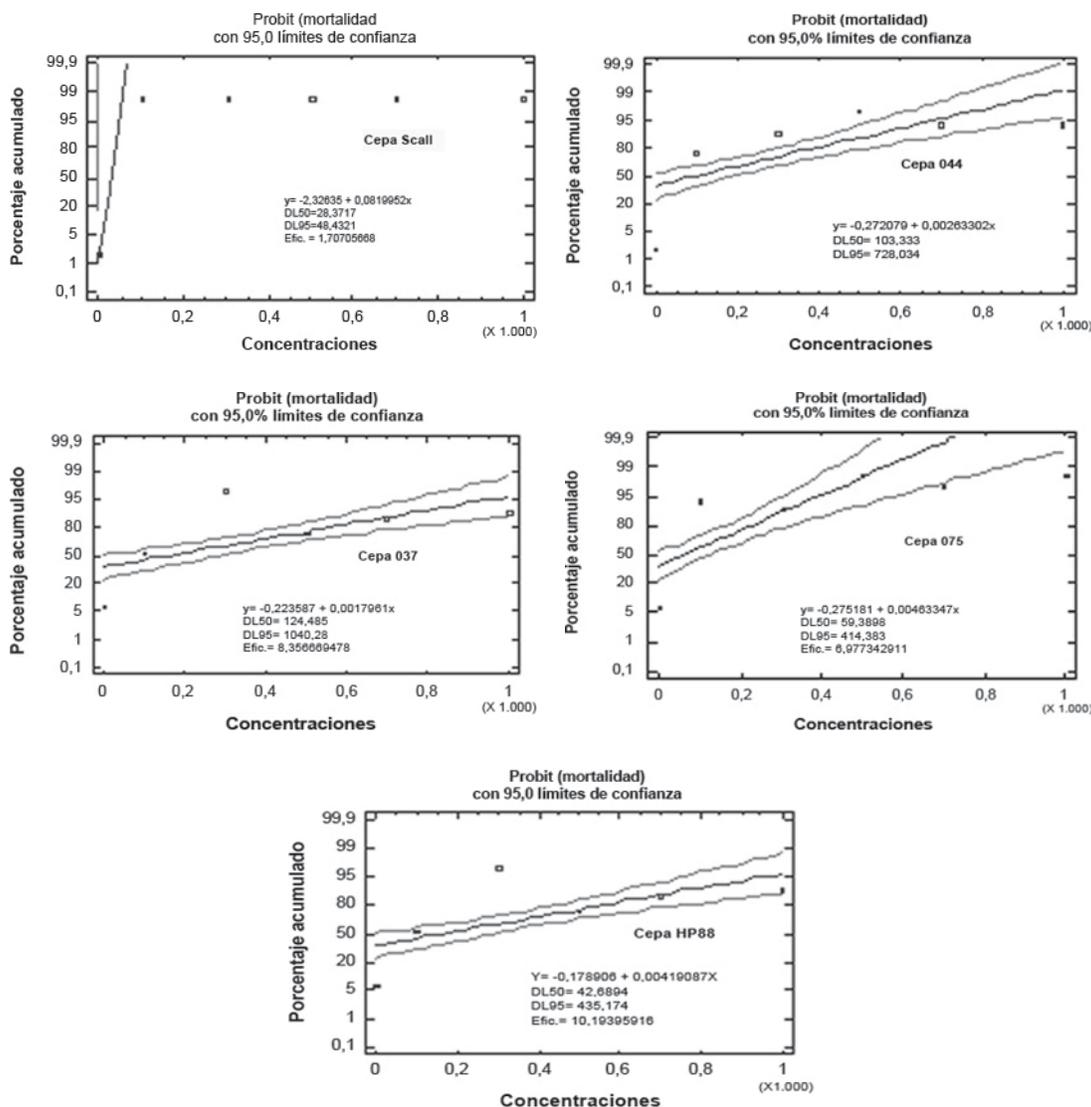


Figura 3. Tiempos letales 50 y 95 de diferentes cepas y concentraciones de JI/ml sobre larvas de *Metamasius dimidiatipennis*.

Por otra parte, de las cepas foráneas estudiadas se encontró que la cepa SCALL mostró mayor efectividad respecto a la cepa HP88. El TL50 para SCALL fue menor de 1,5 días para todas las concentraciones estudiadas y el TL95 fue menor de 2,7 días. La cepa HP88 con una concentración de 700 JI/ml obtuvo un TL50 de 1,80 días y un TL95 de 2,03 días. Sin embargo, la cepa HP88 en dosis mayor a 100 JI/ml tiene un TL50 menor a 1,8 días y un TL95 menor a 5,0 días. En la cepa SCALL, al incrementar la concentración no se

encontraron diferencias significativas en cuanto al TL50.

No obstante, se observó que a una concentración de 700 y 1.000 JI/ml el TL95 disminuye en relación a las otras concentraciones. Para la cepa HP88 se encontró que a mayores concentraciones disminuye el TL50, pero la TL95 aumenta, mientras que en las cepas nativas se encontró que al aumentar las concentraciones disminuye el TL50 y TL95.

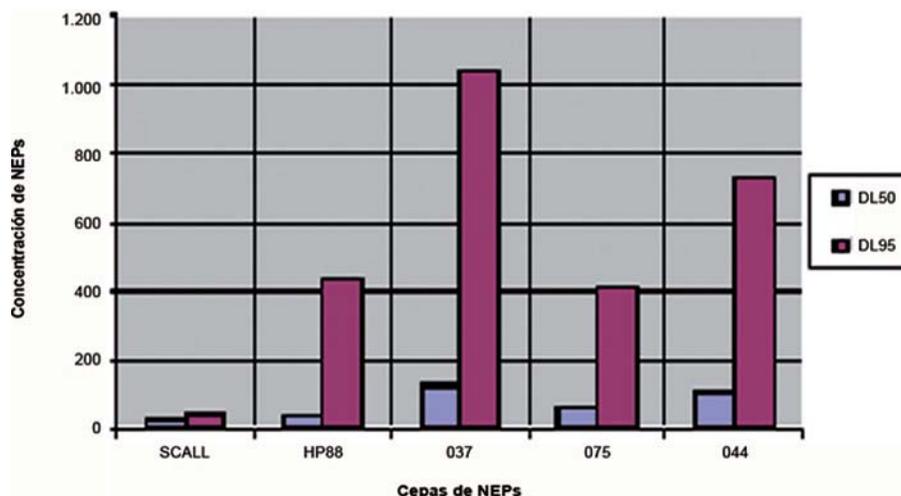


Figura 4. Dosis letales 50 y DL95 de diferentes cepas de NEPs a diferentes concentraciones.

Las dosis letales (DL50 y DL95) obtenidas a partir del análisis Probit, para cada una de las cepas evaluadas a diferentes concentraciones, se muestran en el Cuadro 3. Asimismo, se observa que de las cepas nativas estudiadas, se consiguieron los mejores resultados de DL50 en la cepa 075 con una eficacia de 6,98 seguida por la cepa 044 y luego la cepa 037, todas ellas eliminaron 50% de las larvas con concentraciones menores a 124,5 JI/ml. Sin embargo, para lograr 95% de mortalidad, la cepa 075, requirió una concentración de 414,4 JI/ml, seguida de la cepa 044 con 728,03 JI/ml y finalmente la cepa 037 con 1.040,28 JI/ml.

De las cepas foráneas, SCALL fue la que mostró mayor eficacia con respecto a HP88, además de

presentar un mejor desempeño frente a las cepas nativas, SCALL logró con pequeñas dosis, las menores DL50 y DL95, respectivamente.

Estos resultados son similares a los obtenidos en el estudio de evaluación de algunas cepas foráneas y venezolanas en el control del gorgojo negro del plátano *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae), donde se cita que las cepas que originaron mayor mortalidad fueron *S. carpocapsae*, FRG-15 (*Heterorhabditis* sp.) y HV1 (*Heterorhabditis* sp.) con 80+14,49; 76+21,9 y 64+16,73% de mortalidad, respectivamente, con concentraciones de: 0, 1.000, 2.000, 4.000, 5.000 JI/gorgojo (Rosales *et al.*, 1998).

Cuadro 3. Dosis letales 50 y 95 de diferentes concentraciones de JI/ml sobre larvas *Metamasius dimidiatipennis*.

Cepa	DL50	DL95	Eficacia	Ecuación regresión
SCALL	28,3717	48,4321	1,70705668	$y = -2,32635 + 0,0819952x$
HP88	42,6894	435,174	10,19395916	$y = -0,178906 + 0,00419087x$
037	124,485	1.040,28	8,356669478	$y = -0,223587 + 0,0017961x$
075	59,3898	414,383	6,977342911	$y = -0,275181 + 0,00463347x$
044	103,333	728,034	7,04551305	$y = -0,272079 + 0,00263302x$

y= mortalidad; x= concentración; Eficacia= DL 95 / DL 50.

De esta manera, en evaluaciones realizadas en el estudio de manejo integrado *S. interstitialis* con nematodos y hongos entomopatógenos, en agave mezcalero, se encontró que solo se necesitan de 8 días para eliminar 100% de larvas y 52 a 60 días para eliminar un mínimo 70% y un máximo 100% de poblaciones de picudos adultos negros, con dosis que van desde 4.500 a 9.000 nematodos por insecto (Aquino, 2006). Sin embargo, estos resultados dependen del tipo de cepa a utilizar, así como de sus concentraciones. Cada cepa posee un potencial variable de agresividad, lo que amerita su evaluación previa.

El trabajo realizado sobre el efecto de nematodos entomopatógenos sobre larvas *Phyllophaga menetriesi* y *Anomala inconstans* (Coleoptera: Melolonthidae), demostró que los tratamientos en los que se empleó el género *Steinernema* se observaron los más altos valores de penetración, siendo iguales o superiores a 80%. El tratamiento SNI-7-10 alcanzó 100% de penetración (n=23), seguido de SNI-7-5 (91%, n=23), SNI-13-5 (80%, n=20) y SNI-13-10 (78%, n=18). En contraste, los tratamientos con *Heterorhabditis* presentaron los menores porcentajes de penetración, siendo el más bajo H_C-13-5 con un valor 52,9% (n=17; Molina *et al.*, 2007).

La variación en los resultados puede deberse a que la patogenicidad de una cepa de nematodo varía según la existencia de diferentes niveles de susceptibilidad o resistencia en las distintas poblaciones del insecto. Adicionalmente, sugieren que esta susceptibilidad puede estar modificada por el estrés en el medio ambiente y su respuesta fisiológica ante este. Por lo tanto, es necesario emplear insectos a partir de crías para garantizar una respuesta homogénea y generalizable, controlando factores de variación como los anteriormente mencionados (Sirjusingh *et al.*, 1992).

La efectividad de los nematodos entomopatógenos respecto a la mortalidad de larvas *M. dimidiatipennis*, está en función directa a los niveles de concentración del nematodo y sus variaciones son un reflejo de la interacción existente entre la susceptibilidad del hospedero y la capacidad de invasión del nematodo. Al examinar bajo el estereoscopio el agua con que se lavaron las larvas *M. dimidiatipennis*, luego de haberlas infestado con NEPs, se encontró, al

igual que Forschler y Gardner (1991), una gran cantidad de nematodos vivos sobre la superficie de las larvas.

CONCLUSIONES

En larvas de los dos últimos instares *M. dimidiatipennis*, se encontró que los NEPs ejercieron un excelente control. Se necesitaron menos de 3,5 días para que la cepa nativa 075 lograra 95% de mortalidad, seguida por la cepa 044 pertenecientes al género *Steinernema* y finalmente la cepa 037 del género *Heterorhabditis*. De las cepas extranjeras estudiadas se encontraron mejores resultados con la especie *S. carpocapsae* que con la especie *H. bacteriophora*.

Las cepas de NEPs estudiadas, tanto nativas como extranjeras, ejercieron un control positivo al producir una alta mortalidad de las larvas en poco tiempo, lo cual indica que su uso es una alternativa viable como método de control para larvas *M. dimidiatipennis* en las zonas productoras de piña del estado Táchira. No obstante, es necesario desarrollar pruebas en campo para validar estos resultados y ejercer un efectivo control.

LITERATURA CITADA

- Aquino, B., J. Ruíz y M. Iparraguirre. 2006. Manejo Integrado de *S. interstitialis* con nematodos y hongos entomopatógenos, en agave mezcalero. Revista UDO Agrícola. 6(1):92-101.
- Bedding, R. A. and A. S. Molyneux. 1982. Nematologica (*Heterorhabditis*). Penetration of insect cuticle by infective juveniles of *Heterorhabditis* spp., and *Steinernema kraussei* interspecific and intraspecific differences in infectivity for insects. Experimental Parasitology. 55:249-257.
- Dembilio, O. 2011. Eficacia de los nematodos entomopatógenos para el control de *Rhynchophorus ferrugineus*. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, IVIA. Unidad Asociada de Entomología Agrícola UJI-IVIA. Moncada. Valencia. Memorias del 2° Encuentro Internacional PHYTOMA-España. 134 p.
- Evans, G., R. Valdés, M. Cárdenas, M. Largo, T. Alizar y E. Pozo. 2009. Susceptibilidad de *M. hemipterus sericeus* (L.) (Coleoptera: Curcu-

- lionidae) a una cepa nativa de nematodos entomopatógenos. Sistema Internacional de Información para las Ciencias y la Tecnología Agrícola. AGRIOS. 36(2):65-69.
- FAO. 2011. Production of Pineapple Crops from Venezuela. FAO Statistic Division 2011. Disponible en: <http://faostat.fao.org/site/567/>
- Forschler, B. and W. Gardner. 1991. Concentration-mortality response of *Phyllophaga hirticula* (Coleoptera: Scarabaeidae) to three entomogenous nematodes. Journal of Economic Entomology. 84(3):841-843.
- García-Caicedo, M., H. Vanegas y A. Ochoa. 2012. Ciclo de vida de *Metamasius dimidiatennis* Champeon (Coleoptera: curculionidae) en condiciones de laboratorio en el estado Táchira. Agronomía Trop. 62(1-4):69-75.
- Giraldo-Vanegas, H. 1998. La Mosca de la Piña *Melanoloma viatrix*. In: Curso Manejo Agronómico de la Piña. Hato de la Virgen-Capacho Libertad. Manual Técnico FONAIAP-Dainco. 66.
- Gómez, L., D. Soler y L. Sánchez. 2001. Virulencia y potencial reproductivo de aislamientos cubanos de nematodos entomopatógenos. Revista. Protección Veg. 16(1):50-54.
- Melo-Molina, E., C. Ortega-Ojeda y A. Gaigl. 2007. Efecto de nematodos sobre larvas de *Phyllophaga menetriesi* y *Anomala inconstans* (Coleoptera: Melolonthidae). Revista Colombiana de Entomología. 33(1):21-26.
- Montilla, I., S. Fernández, D. Alacal y M. Gallardo. 1997. El cultivo de la piña en Venezuela. Maracay, Ven., Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Centro de Investigaciones Agropecuarias del estado Lara. IICA/CREA/PROCIANDINO/FRUTHEX. 155 p.
- Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras (MPPAT-UEMPPAT). 2007. Censo Agrícola del estado Táchira, Venezuela.
- Panamá, C. 2003. Seminario sobre Producción y Manejo Post Cosecha de la Piña para la Exportación. Manual Técnico. 62 p.
- Peters, A. 1996. The natural host range of *Steinernema* and *Heterorhabditis* spp and their impact on insect populations. Journals Oxford Ltd. Biocontrol Science and Technology. 6:389-402.
- Peters A. and R-U. Ehlers. 1994. Susceptibility of leatherjackets (*Tipula paludosa* and *Tipula oleracea*, *Tipulidae*, *Nematocera*) to the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*. J. Inver. Pathol. 63:163-171.
- Pozo, E., R. Valdez, M. Cárdenas, H. Grillo y M. Sisne. 2008. Nematodos entomopatógenos en el control de escarabajos plaga de la piña y el plátano. Disponible en: <http://agris.fao.org/aos/records/CU2009100399>.
- Raymond, M. 1985. Presentation d'un programme d'analyse log-probiit pour microordinateur. Cahiers ORSTOM (Ser Entomol Med Parasitol). 22:117-121.
- Rosales, L. y Z. Suárez. 1998. Nematodos entomopatógenos como posibles agentes de control del gorgojo negro del plátano *Cosmopolites sordidus* (Germar 1824) (Coleoptera: Curculionidae). Boletín de Entomología Venezolana. 13(2):123-140.
- Rosales, L., Z. Suárez, R. Navas y V. Tellechea. 1999. Nematodos entomopatógenos: II. Uso en control biológico. FONAIAP Divulga N° 64.
- Salas, J., CW. O'brien y A. Parra. 1996. *M. dimidiatipennis* (Jekel), (Coleóptera: Curculionidae) plaga potencial de la piña en el Edo. Lara. Boletín de Entomología Venezolana. 11(1):63.
- Sirjusingh, C., A. Kermarrec, H. Mauleon, C. Lavis and J. Etienne. 1992. Biological control of weevils and whitegrubs on bananas and sugarcane in the Caribbean. Florida Entomologist. 75(4):548-562.
- Soler, D., L. Gómez y L. Sánchez. 2003. Formulación de nematodos entomopatógenos. Revista. Protección Vegetal. 18(1):7-14.

Acompañamiento del asentamiento campesino Guacamaya, estado Aragua, en el uso de biotecnologías para el mejoramiento de la productividad en el cultivo de lechosa

Farmer accompaniment settlement Guacamaya, Aragua state, in the use of biotechnology for improving productivity in the cultivation of papaya

Martha Osorio¹, Alexandra Schmidt¹, Ariadne Vegas¹, Andy Díaz² e Yris Mujica³

¹Investigadoras, ²Profesional Contratado y ³Técnico Asociado a la Investigación. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Centro Nacional de investigaciones Agropecuarias (INIA CENIAP). Apdo. postal 2101. Maracay, estado Aragua. Venezuela. Correo electrónico: mosorio@inia.gov.ve

RESUMEN

La Escuela Socialista de Agricultura Tropical (ESAT) impulsa el apoyo a las comunidades mediante el acercamiento e intercambio de saberes como estrategia para apuntalar los planes de acompañamiento al sector agrícola propuestos por el Gobierno Nacional. En este sentido, se ejecutaron acciones en el asentamiento campesino "Guacamaya", en función de las necesidades y demandas de los agricultores en el rubro lechosa e incluyeron muestreo de hojas con síntomas virales, análisis de laboratorio por la técnica DAS-ELISA, prueba de germinación de semillas, establecimiento del sistema autotrófico hidropónico (SAH) y siembra en campo. A partir de consultas directas a líderes de la comunidad se caracterizaron las condiciones de producción e insumos agrícolas disponibles en la zona. Los tratamientos para el establecimiento de plántulas con el SAH no mostraron diferencias significativas, por tanto se recomienda el uso de los insumos locales que resultaron más prácticos, accesibles y económicos. Con el tratamiento de pregerminación de semillas se logró 43,33% de germinación. Se detectó el virus de la mancha anillada de la lechosa o papaya ringspot virus (PRSV) en las muestras foliares y se realizaron recomendaciones consensuadas. Se demostró que las estrategias de comunicación empleadas: reuniones, conversatorios, folletos y dípticos, fomentaron la socialización del conocimiento. Se logró sensibilizar a los productores respecto a la importancia del diagnóstico fitosanitario y el manejo agronómico en el proceso de producción.

Palabras clave: DAS-ELISA, PRSV, SAH, *Carica papaya* L., intercambio de saberes.

ABSTRACT

Escuela Socialista de Agricultura Tropical (ESAT) arranged to support of communities through approaches and knowledge exchange as a strategy to shore up the plans in the agricultural sector proposed by the Government. The activities were implemented in the farmer settlement "Guacamaya", according to the needs and demands raised by the farmers of the papaya crop, and included sampling of leaves with viral symptoms and DAS-ELISA technique laboratory analysis, seed germination tests and establishment of vitroplants by the Autotrophic Hydroponic System (AHS) and field planting. Conditions and agricultural inputs available in the area were characterized from direct consultation with community leaders. Tested treatments used plantlet establishment with SAH showed no significant differences; therefore the use of local inputs resulted more convenient, accessible and affordable. Pregermination treatment achieved seed germination 43.33%. Papaya ringspot virus was detected in leaf samples and consensual control measures were performed. It was demonstrated that communication strategies used: meetings, workshops, brochures and leaflets, promoted knowledge socialization and the mutual exchange of information, and it was possible to sensitize producers about the importance of phytosanitary diagnosis and agronomical management during the production to improve rural agricultural systems.

Key words: DAS-ELISA, PRSV, SAH, *Carica papaya* L., exchange of knowledge.

INTRODUCCIÓN

El asentamiento campesino La Guacamaya está ubicado en el sector Guacamaya, municipio Zamora, parroquias Magdaleno y Tocarón, estado Aragua, Venezuela, es una asociación civil sin fines de lucro, con personalidad jurídica y cuya misión es actuar como un proyecto comunitario de autogestión y de organización vecinal dirigido a articular las demandas sociales de la población. Consta de aproximadamente 40 unidades de producción tipo mixto de diferentes dimensiones. Posee un clima tropical lluvioso durante gran parte del año y la temperatura promedio anual oscila entre 18 y 32 °C. Las edificaciones corresponden a casas económicas construidas con su propio peculio, otras provenientes de programas sociales y casas improvisadas ubicadas en las partes altas de los cerros (Durán, 2011).

La mayoría de estas viviendas disponen de gas doméstico, agua potable y energía eléctrica. Los habitantes poseen acceso a educación formal a través de Unidades de educación rural y misiones educativas venezolanas (Robinson, Sucre, Ribas y otros). El 70% de la utilización de la tierra es agrícola, caracterizada por la incorporación de algunas innovaciones tecnológicas.

La producción se destina tanto al autoconsumo como a la venta al público, la mano de obra es básicamente familiar, y el orden de relevancia de los cultivos en la zona son: lechosa, cítricos, piña, maíz, aguacate, mango y guayaba. Del 30% restante, 20% corresponde a aves y ganadería menor (conejos, ovejos) y 10% no tiene ningún uso.

Dentro de las innovaciones tecnológicas se destaca el sistema de producción de humus líquido y sólido a partir de lombrices (*Lombrihumus Guacamaya*), la cual genera productos de calidad reconocida que son comercializados dentro y fuera de la comunidad.

Al igual que en otras comunidades agrícolas del país, en la comunidad de Guacamaya, la lechosa (*Carica papaya* L.) es una de las frutas más populares. Los productores la destinan a la venta directa y procesada en batidos, merengadas, almíbar, entre otros. El fruto es una fuente de vitamina C y también contiene vitaminas A, B1,

B2, minerales como hierro y calcio; es importante por su uso medicinal, industrial y alimenticio (Constantino *et al.*, 2010).

En el país, el cultivo de lechosa ocupó durante el año 2009, una superficie de 7.000 ha, con un rendimiento de 18,870 kg ha⁻¹ y una producción de 130.000 t, la cual es cuatro veces menor que la de países productores (FAO, 2011). Ésto podría deberse a un conjunto de factores como: la utilización de semillas no seleccionadas con baja germinación, las cuales producen plantas heterogéneas no fieles al tipo; baja proporción de hermafroditismo; floración y fructificación tardía; alta esterilidad femenina y carpeloidía (Vegas *et al.*, 2004).

Por otra parte, el cultivo es seriamente afectado por varias enfermedades, destacándose el virus de la mancha anillada de la lechosa o papaya ringspot virus (PRSV), como el factor más limitante para la producción comercial en muchas zonas del mundo (Gonsalves, 1998; Marys *et al.*, 2000), ocasionando pérdidas de rendimiento y calidad de los frutos (Brunt *et al.*, 1990). En Venezuela, también se ha señalado la presencia de otros dos virus, pero este virus ha traído como consecuencia cambios en el manejo del cultivo, tales como: plantaciones sustituidas después de la primera cosecha para mantener la productividad y siembras desplazadas a zonas productoras con baja incidencia (Vegas *et al.*, 1985).

La manera más sencilla, económica y eficaz de identificar el virus PRSV es a través de un ensayo de inmunodiagnóstico ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Existen estuches comerciales de comprobada calidad como el desarrollado por la empresa norteamericana Agdia, Inc., empleados extensamente en el mundo para la detección de virus.

Los rendimientos del cultivo son afectados por el uso de prácticas agronómicas inapropiadas tales como: siembra de plantas infectadas con PRSV; siembras escalonadas en el tiempo en áreas infectadas, en donde las plantas más viejas sirven de inóculo viral y bacteriano; uso indiscriminado de agroquímicos, que desfavorecen el establecimiento de enemigos naturales de los insectos (áfidos) transmisores de la enfermedad, tales como *Lysiphlebus testaceipes* (Hymenoptera), Coccinélidos (Coleoptera), Sífidos (Díptera),

arácnidos, crisopas (Neuroptera), entre otros; presencia de plantas arvenses hospederas de enfermedades y de insectos transmisores; uso de semillas infectadas con bacteriosis o que producen plantas andromonóicas (Vegas *et al.*, 2004; García *et al.*, 1995).

En tal sentido, en este trabajo se planteó como objetivos: 1) el diagnóstico de necesidades en la comunidad, 2) la sensibilización de los productores sobre la importancia del diagnóstico de enfermedades virales y la utilización de plantas sanas en el proceso de producción de lechosa, 3) la socialización de la tecnología del sistema autotrófico hidropónico (SAH) como herramienta biotecnológica práctica, sencilla y económica para mejorar la producción, y 4) incrementar el conocimiento sobre manejo adecuado del cultivo mediante el acompañamiento en las labores agrícolas en parcelas del asentamiento campesino “Guacamaya”.

METODOLOGÍA

Diagnóstico de la comunidad

La experiencia se inició con una visita al asentamiento campesino “Guacamaya”, con el fin de hacer un diagnóstico general de la comunidad, así como de los aspectos relacionados con la producción agrícola, las condiciones de infraestructura y los insumos agrícolas disponibles en las tres parcelas involucradas, a través de recorridos con los líderes de la comunidad y la aplicación de un diagnóstico participativo.

Las unidades de producción involucradas en esta experiencia son: Parcela Rancho Pintos, propiedad de Luis Pinto Reyes, donde se cultivan cítricos, lechosa, aguacates, níspero y parcha granadina; Parcela “La Mansión”, cuyo dueño es Sergio Gardila, la cual colinda con la Unidad Rancho Pintos, es un sistema de producción mixto, con gallinas, ovejitos, lechosas, aguacates, cítricos, guayabas, piñas, entre otros, y la Parcela “La Rivereña”, siendo propietario Héctor Rivero, igualmente, el sistema de producción es mixto, el cual consta principalmente de producción de humus (sólido y líquido), gansos, peces ornamentales y codornices (en receso) e iniciando la producción de lechosa.

Intercambio de saberes con la comunidad “Guacamaya”

El intercambio de saberes surgió debido a la problemática de producción agrícola que persiste en nuestras comunidades rurales y a la necesidad de mitigarla, por ello, la Escuela Socialista de Agricultura Tropical (ESAT) del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), planteó el apoyo a comunidades mediante acercamientos e intercambio de saberes, como estrategia para apuntalar los planes de acompañamiento al sector agrícola propuestos por el Gobierno Nacional.

Se llevó a cabo básicamente en tres fases, según la metodología planteada por Amado *et al.* (2004).

Fase de intercambio, motivación, sensibilización y justificación: Se efectuaron reuniones de motivación y sensibilización que promovieron el intercambio con los líderes de la comunidad sobre la necesidad de identificar los principales problemas que los afectaban, para así iniciar la selección e implementación de estrategias para la solución.

Partiendo de lo anterior, se realizaron las reuniones de discusión empleando la estrategia de lluvia de ideas, de allí surgió la propuesta de acompañamiento en el diagnóstico de enfermedades virales, las estrategias de manejo agronómico en lechosa y los procesos de innovación, con la incorporación de los insumos desarrollados por la comunidad.

Fase diagnóstica de la investigación: Se realizó de forma directa con líderes de la comunidad y se utilizó la lluvia de ideas para plantear y jerarquizar los problemas. Durante el desarrollo de esta fase los actores involucrados, en consenso, manifestaron su necesidad de apoyo técnico y de formular proyectos de índole agrícola que promovieran la producción, empleando la fusión de conocimiento técnico-formal y popular, que además les permitiera tener acceso a un apoyo económico gubernamental.

La dinámica seguida durante el diagnóstico fueron las reuniones, conversatorios e intercambios con los distintos actores (Figura 1). Esta fase se ejecutó de forma paralela a la anterior.



Figura 1. Actividades de intercambio en la Comunidad “Guacamaya”, estado Aragua.

Fase de planificación-acción: En este período se formuló la “situación objetivo” en términos reales, a partir de los resultados obtenidos de la fase diagnóstica, con lo que se diseñó un plan de acción en función de los problemas planteados y de las acciones propuestas. Las ideas fueron revisadas, organizadas y ejecutadas.

Establecimiento del sistema autotrófico hidropónico

Durante el intercambio de saberes en la comunidad, se planteó la necesidad de mejorar la producción del cultivo de lechosa en las unidades involucradas, dándosele énfasis a la obtención de mayor cantidad de semillas a partir de las cuales establecer las plantaciones, ya que manifestaron bajo porcentaje de germinación (5%), por ello, se planteó el uso del sistema autotrófico hidropónico (SAH) como alternativa para contribuir a solventar la problemática planteada.

Para el establecimiento del SAH se utilizaron 100 vitroplantas variedad Maradol, H37 Clon 3, derivadas de callos, de aproximadamente 5 a 7 cm de longitud y con desarrollo de raíces, procedentes de la Unidad de Biotecnología Vegetal del INIA, en el Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP). El empleo de plantas *in vitro* se realizó con el fin de garantizar la sanidad de las plantas. Las vitroplantas fueron lavadas cuidadosamente con agua corriente, con el fin de eliminar el medio adherido a sus raíces y evitar posible contaminación con hongos, posteriormente se colocaron en contenedores plásticos de 2.000 ml con tapa tipo bisagra (195x225x65mm), que contenían sustrato, comercial o local, estéril humedecido con soluciones nutritivas; finalmente se procedió

al sellado con cintas de embalaje para evitar la evaporación excesiva de la solución de riego y controlar el posible ataque de hormigas.

Los contenedores se mantuvieron protegidos con malla de sombra tipo zaran, bajo las siguientes condiciones ambientales: temperatura de 26 ± 2 °C, humedad del 80% y fotoperiodo de 12 horas luz, durante 21 días, tiempo en que se obtienen plantas óptimas para su trasplante a bolsas plásticas.

Para el establecimiento del SAH se siguió un diseño de cuatro tratamientos con las siguientes características:

Tratamiento 1: Vitroplantas en sustrato comercial Sunshine N° 5 marca Pro-Mix, hidratado con humus líquido marca “Lombrihumus Guacamaya”® (elaborado en la parcela “La Rivereña” de la comunidad Guacamaya).

Tratamiento 2: Vitroplantas en sustrato comercial Sunshine N° 5 marca Pro-Mix, hidratado con medio Murashige y Skoog (1962) o convencional al 50%.

Tratamiento 3: Vitroplantas en sustrato sólido “Lombrihumus Guacamaya”®, hidratado con humus líquido “Lombrihumus Guacamaya”.

Tratamiento 4: Vitroplantas en sustrato sólido “Lombrihumus Guacamaya”®, hidratado con Murashige y Skoog convencional al 50%.

Por cada tratamiento se sembraron 25 vitroplantas en 600 g de sustrato (Sunshine o Lombrihumus) regadas con 200 ml de solución de humus líquido o Murashige y Skoog (Figura 2).



Figura 2. Materiales empleados en pruebas del sistema autotrófico hidropónico, a) vitroplantas (VP); b) sustratos y soluciones de riego; c) bandeja con sustrato; d) extracción de VP del medio de cultivo; e) siembra de VP en bandeja con sustrato; f) sellado de bandeja.

Prueba de germinación de semillas de lechosa

Esta prueba se realizó con la finalidad de determinar el procedimiento más adecuado para la obtención de mayor cantidad de semillas germinadas. Esto se debe a que el tiempo de almacenamiento aumenta la latencia y por ello es importante aplicar tratamientos previos a la siembra para aumentar el porcentaje de germinación.

Se utilizaron semillas de la variedad Maradol, las cuales tenían cinco meses de almacenamiento, obtenidas de plantas hermafroditas regeneradas por cultivo de tejidos en la Unidad de Biotecnología Vegetal, INIA-CENIAP. Para las pruebas se tomaron 300 semillas que fueron desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio (cloro comercial), a una concentración aproximada de 0,5% durante 10 min.

Luego se lavaron cuatro veces con agua corriente para eliminar el exceso de cloro de la superficie de las semillas y se dejaron remojando durante 15 días (embebimiento) con renovación diaria del agua, para su posterior siembra en bandejas de germinación.

Se utilizaron 10 bandejas de polipropileno de 25 pozos cada una, las cuales fueron desinfectadas con una solución clorada al 0,5%, enjuagadas con agua destilada estéril y llenadas con sustrato Canadiense Sunshine N° 5 marca Pro-Mix. Una vez colocado el sustrato en los pozos, éste fue humedecido con agua corriente para posteriormente colocar las semillas a razón de dos semillas por pozo.

Las plántulas obtenidas de la prueba de germinación fueron sometidas a un nuevo ensayo donde se probaron dos diferentes tipos de solución de riego. El 45% de las plántulas se sometieron a riego con una solución al 0,1% de Lombrhumus Guacamaya®, 45% de las plántulas se regaron con una solución Murashige y Skoog al 25% y el 10% restante se regó con agua corriente para ser usadas como testigo (Figura 3).

Se incorporó el uso de mallas plásticas alrededor de las plantas como protección contra las iguanas que se convirtieron en plagas y mostraron especial preferencia por los ápices de la planta. Una vez que las plantas se aclimataron a las condiciones de la parcela, la malla fue retirada, y las plantas se sembraron en campo.



Figura 3. Prueba de fertilización de plántulas con diferentes soluciones de riego (Murashige y Skoog 25%, Lombrihumus y agua).

Diagnóstico viral

Descripción de síntomas en campo: Se llevaron a cabo actividades de diagnóstico de enfermedades de origen viral en las fincas: “Rancho Pinto”, “La Rivereña” y “La Mansión” ubicadas en el sector Guacamaya, municipio Zamora, del estado Aragua-Venezuela, que sirvieron de unidades piloto para realizar los ensayos.

La evaluación viral se realizó mediante observación directa y descripción de síntomas de las plantas en el campo.

Detección por inmunoensayo enzimático DAS-ELISA: Una vez identificados y descritos los síntomas virales, se hizo la colecta de muestras para la comprobación, por la técnica inmunoenzimática ELISA, en el Laboratorio de Virología de la Unidad de Protección Vegetal INIA-CENIAP.

Para el diagnóstico por ELISA, se utilizó el estuche comercial (Agdia Inc.) específico para PRSV, diseñado para inmunoensayo directo con doble capa de anticuerpos policlonales, donde el anticuerpo de detección es conjugado con fosfatasa alcalina. Para su aplicación se empleó el método inmunoenzimático de doble sándwich directo (DAS-ELISA), siguiendo las indicaciones del fabricante.

En la prueba se incluyeron controles negativos y positivos suministrados con el estuche. Las lecturas se iniciaron inmediatamente después de la aplicación del sustrato (paranitrofenilfosfato disódico, pnpp-2Na) para luego realizarlas a intervalos de 30 min, hasta completar hora y media. Para ello se utilizó un espectrofotómetro o lector automático de placas de ELISA, marca LAB SYSTEM, modelo MultiSkan EX, usando una longitud de onda de 405 nm para medir absorbancia.

Como referencia del punto de corte se utilizó el doble del valor del promedio de absorbancia del testigo sano.

RESULTADOS Y HALLAZGOS

Intercambio de saberes con la comunidad “Guacamaya”

Fase de intercambio, motivación, sensibilización y justificación

En las parcelas de la comunidad se caracterizaron las condiciones de la producción agrícola, infraestructura e insumos agrícolas disponibles y se definieron las actividades en campo y laboratorio, de acuerdo a los problemas y necesidades identificadas mediante el uso de las estrategias de comunicación.

Los problemas identificados fueron básicamente la presencia de enfermedades virales en el cultivo de la lechosa y su manejo agronómico. Por ello se compartió con los productores conocimientos relacionados con el diagnóstico de virus y el manejo adecuado del cultivo, con el fin de estimular un proceso agrícola exitoso. Además, se motivó a la comunidad a incorporar insumos disponibles en la zona para producir bajo un enfoque agroecológico y el uso del SAH como herramienta biotecnológica práctica, sencilla y económica para mejorar la producción.

Adicionalmente, se estimuló a la comunidad a formular proyectos de índole agrícola, donde se promueva la producción empleando la fusión del conocimiento técnico-formal y conocimiento popular.

La importancia de esta fase de intercambio informativo y de experiencia técnica fue el aporte de herramientas que les permitiría solventar necesidades planteadas por los líderes de la comunidad.

Fase diagnóstica

Con base en el diagnóstico de necesidades en la comunidad, de disponer de plantas de lechosa sanas, se ejecutó la evaluación fitosanitaria, manejo de plagas y la dotación de plantas sanas provenientes de cultivo *in vitro* y semilla, con el fin de estimular un proceso de producción agrícola exitoso, además se generó la visión colectiva de las “metas a alcanzar” y esto a su vez orientó el plan de acción que se ejecutó posteriormente.

Fase de planificación-acción

Durante la ejecución del plan se produjeron cambios en las actividades planificadas, debido a los problemas externos e internos que se presentaron, tales como: fallas en la logística de movilización, obstrucción de las vías de acceso debido al período de lluvias y otros, por lo que se puede afirmar que los planes de acción fueron flexibles y se adaptaron a la dinámica de la realidad “característica que debe estar presente y respetarse en todo plan de acción que se formule bajo un enfoque estratégico” (Amado *et al.*, 2004).

Se logró sensibilizar a los productores respecto a la importancia del diagnóstico fitosanitario y la

producción de plantas sanas a partir de semillas y por técnicas biotecnológicas en el proceso de producción, apoyándose en la socialización e intercambio del conocimiento y saberes sobre manejo adecuado del cultivo en ese sistema rural.

La metodología sugerida por Amado *et al.* (2004), como método participativo que respeta la opinión que tiene la población de sus problemas locales, facilitó evaluar la situación del Asentamiento Campesino Guacamaya, permitiendo determinar sus necesidades y en consenso escoger las estrategias de solución. Esto orientó la selección y jerarquización de los problemas que eran realmente importantes y posibles de ser resueltos, evitando las imposiciones, además facilitó datos e informaciones sobre los problemas seleccionados, para no incurrir en disgregaciones.

Al culminar la fase de planificación-acción, se observó la sensibilización de los productores sobre la importancia del diagnóstico de enfermedades virales, la siembra de plantas sanas y el manejo agronómico en el proceso de producción de lechosa, esto se dedujo de los planteamientos hechos por los miembros de la comunidad durante la reunión de intercambio final, donde manifestaron su iniciativa a implementar y difundir las estrategias compartidas.

Además, se les motivó a incorporar insumos disponibles en la zona para producir bajo un enfoque agroecológico, empleando la fusión de conocimiento técnico-formal con el conocimiento popular. También, se estimuló a la formulación de proyectos de índole agrícola, con el esfuerzo mancomunado ESAT-INIA-Consejo Comunal.

La metodología de Amado *et al.* (2004), permitió realizar el diagnóstico participativo bajo un enfoque estratégico de planificación. Esto facilitó promover alternativas y soluciones a los problemas jerarquizados en la comunidad, mediante la propuesta de acompañamiento en el diagnóstico de enfermedades virales, el manejo agronómico en lechosa y los procesos de innovación socializados durante las actividades de intercambio. Todo ello como medio para motivar la reflexión y sensibilización, estimulante de los procesos de cambio y participación activa de los miembros de la comunidad en la búsqueda de mejorar su bienestar social.

La evaluación del intercambio de saberes se hizo a través de discusiones en donde los miembros de la comunidad involucrados en la experiencia, mediante comunicación directa manifestaron su satisfacción ante las vivencias y su disposición de implementar las técnicas socializadas.

En resumen, con el intercambio de saberes se observó que aunque los agricultores de la comunidad poseen un amplio conocimiento autóctono, el apoyo externo representó una influencia positiva ya que motivó la reflexión crítica, el trabajo en equipo y una visión compartida y comprometida con los planes agrícolas de la nación.

Establecimiento del sistema autotrófico hidropónico

Se estableció el SAH a partir de plantas de lechosa obtenidas *in vitro*, encontrándose que no hubo diferencias en el porcentaje de sobrevivencia, entre las combinaciones de sustrato y soluciones de riego empleadas en los cuatro tratamientos probados (Cuadro 1).

El SAH fue inicialmente establecido en el cultivo de papa y posteriormente se extendió la experiencia a yuca, en ambos cultivos ha mostrado excelentes resultados, obteniéndose plántulas vigorosas, de tallos robustos y de buen sistema radicular

funcional (Benítez y Navarrete, 2002; Pila-Quinga y Benítez, 2007). Sin embargo, en lechosa no se disponía de experiencias previas del uso de esta técnica como sistema de producción, resultando práctica, sencilla y económica para obtener plantas hermafroditas más productivas.

Cabe destacar que este sistema se desarrolló considerando el uso de sustrato comercial y sales Murashige y Skoog, los cuales son costosos y de difícil acceso para los productores. Debido a que se apreciaron similitudes en el aspecto general de las plántulas con los tratamientos empleados, podría sugerirse el establecimiento del SAH con los insumos desarrollados en la comunidad, ya que al igual que en el tratamiento con sustrato comercial y sales Murashige y Skoog, las plántulas obtenidas con SAH, mostraron excelente calidad fitosanitaria.

La incorporación del humus líquido y sólido para el establecimiento del SAH, como estrategia de producción rápida de plántulas de lechosa, generó un valor agregado a los protocolos de trabajo debido a que son insumos ecológicos, de fácil acceso y económicos, convirtiéndose en un aporte de gran utilidad que se obtuvo al conjugar los saberes y haceres de la comunidad con los conocimientos académicos y científicos.

Cuadro 1. Vitroplantas aclimatadas mediante la técnica de sistema autotrófico hidropónico, después de 30 días.

Tratamientos	Nº vitroplantas sembradas	Sobreviviencia %
Sustrato Sunshine N° 5 hidratado con "Lombrihumus Guacamaya"® líquido.	33	100
Sustrato Sunshine N° 5 hidratado con medio Murashige y Skoog convencional al 50%.	41	99
Sustrato sólido "Lombrihumus Guacamaya"® hidratado con "Lobrihumus Guacamaya" líquido.	33	98
Sustrato sólido "Lombrihumus Guacamaya"®, hidratado con Murashige y Skoog convencional al 50%.	23	97
Testigo: vitroplantas sembradas en sustrato Sunshine N° 5, hidratado con agua corriente	16	100
Total	146	-

Pruebas de germinación

Se obtuvieron 130 plántulas de un total de 300 semillas sembradas, es decir, se logró un 43,33% de germinación lo que se considera un valor alto, dado que las semillas tenían cinco meses de almacenamiento, este resultado probablemente esté relacionado con la aplicación de tratamiento de pregerminación por embebimiento durante 15 días, con cambios interdiarios del agua.

Las 130 plantas provenientes de la prueba de germinación y sometidas a los dos tratamientos de riego, mostraron similitudes en vigor y desarrollo del follaje, es decir, no se observaron diferencias entre las soluciones de riego empleadas (0,1% de *Lombrium Guacamaya*[®] y Murashige y Skoog al 25%), con respecto al testigo.

Generalmente los productores y mejoradores seleccionan frutos con características destacadas como color, sabor, olor, consistencia, entre otras, para usar las semillas en siembras posteriores o programas de mejoramiento genético; sin embargo, el tiempo de almacenamiento aumenta la latencia de las semillas, por lo que deben emplearse tratamientos previos a la siembra para aumentar el porcentaje de germinación.

Se han probado alternativas para reducir los tiempos de pregerminación de las semillas de lechosa, entre las que se pueden mencionar condiciones y tiempos de embebimiento, secado al aire libre, uso de reguladores del crecimiento, entre otras (Salvador-Figueroa *et al.*, 2005; Ávila, 2007; Gil y Miranda, 2008; Constantino *et al.*, 2010).

Existe una gran diversidad de posibles tratamientos de pregerminación a la que pueden someterse las semillas de lechosa; en esta experiencia se seleccionó el remojo o embebimiento en agua, debido al bajo costo que representa para el presupuesto del agricultor, tal como lo experimentaron Salvador-Figueroa *et al.* (2005).

Como resultado de la experiencia se observó un porcentaje de germinación de las semillas de lechosa de 43,33%, lo cual es considerablemente alto si se toma en cuenta que las semillas tenían cinco meses de almacenadas, este resultado probablemente esté relacionado con el tiempo

de embebimiento, ya que se piensa que el mismo produce un ablandamiento de la endostea de la semilla, dilución de los compuestos inhibidores de la germinación y ruptura de la latencia de los embriones (Salvador-Figueroa *et al.*, 2005).

La información obtenida de este ensayo fue muy importante debido a que, en la mayoría de los casos, los productores seleccionan los frutos con una o varias características sobresalientes para obtener las semillas que utilizarán en las siembras posteriores, por tanto, al aplicar el tratamiento de pregerminación por embebimiento se aumentará la posibilidad de germinación de las semillas.

Las plantas generadas en estos ensayos fueron distribuidas en cuatro unidades de producción seleccionadas por los productores involucrados en esta experiencia, quienes además se comprometieron a difundir las prácticas agronómicas socializadas e implementadas en sus parcelas.

Diagnóstico de síntomas en campo

La observación directa en campo nos permitió identificar síntomas tales como: mosaicos, amarillamientos, deformación de lámina foliar (hojas filiformes), frutos y pecíolos con manchas de aspecto aceitoso, caída y reducción del tamaño de frutos, que nos permitió inferir presencia de virus fitopatógenos (Figura 4).

Inmunoensayo enzimático ELISA

Los valores obtenidos en esta prueba indicaron la presencia del virus de la mancha anillada de la lechosa (PRSV) en todas las plantas con síntomas virales muestreadas en cada parcela, esto corroboró el diagnóstico visual hecho por observación directa de síntomas en campo (Cuadro 2).

A partir de los resultados obtenidos con el diagnóstico viral por DAS-ELISA, se constató la presencia del PRSV en seis de las siete muestras de plantas colectadas, lo que representó el 85,71% de muestras infectadas, situación que es habitual en condiciones de campo debido a que las plantas están expuestas a vectores naturales del virus, como los áfidos o pulgones, y éstos no son controlados oportunamente.



Figura 4. Plantas con síntomas virales.

Cuadro 2. Reacciones obtenidas en la prueba de ELISA para la detección de papaya ringspot virus (PRSV).

Muestras	Absorbancia promedio PRSV	Punto de Corte PRSV	Condición PRSV
Blanco	0,000		
Testigo sano	0,007	0,014	-
Testigo positivo	0,266		+
Muestra 1	0,020		+
Muestra 2	0,026		+
Muestra 3	0,110		+
Muestra 4	0,075		+
Muestra 5	0,083		+
Muestra 6	0,015		+
Muestra 7	0,005		-

El PRSV es transmitido de modo no persistente por varias especies de áfidos, los cuales, aunque se controlen por métodos de efectividad instantánea (insecticidas de acción por contacto, en creciente desuso por el cambio de paradigma de nuestra agricultura en tránsito a la agricultura agroecológica), podrán transmitir la enfermedad con cortos tiempos de alimentación.

Estos resultados son similares a los obtenidos por Marys *et al.* (2000), quienes emplearon la técnica ELISA para evaluar hojas de lechosa con síntomas sugestivos de infección por virus, colectada en los

principales campos de producción nacional, y en donde el PRSV se detectó con mayor frecuencia en las muestras analizadas e incluso formando infecciones mixtas. Igualmente, Cabrera *et al.* (2008) utilizaron la técnica inmunoenzimática para evaluar muestras del cultivar Maradol roja con síntomas virales, colectados en campos de cultivo de Cuba, donde la totalidad de las muestras analizadas resultaron positivas al PRSV.

Debido al deseo manifiesto de los productores de renovar las plantaciones de lechosa en sus unidades de producción y de acuerdo al resultado

de la presencia de PRSV en más del 10% de la superficie sembrada, se les recomendó la eliminación total de la plantación, por varias razones: 1) el porcentaje de plantas infectadas representaba riesgo de diseminación por los vectores; 2) las plantas infectadas aún no estaban en etapa de producción, ya que de estar en etapa productiva, se recomendaría la erradicación total sólo si el porcentaje de plantas infectadas superaran el 30%; 3) para el establecimiento de las nuevas plantaciones debía eliminarse toda posibilidad de fuente de inóculo y esto a su vez favorecería la implementación de la nueva tecnología.

Asimismo, se indicó como medida de prevención para futuras siembras, considerar el uso de plantas sanas provenientes de semilleros con buenas prácticas de manejo (uso de mallas antiafido y aspersiones periódicas con aceite blanco al 1% más 0,025% de surfactante), ubicar las siembras en parcelas alejadas de otras que posean plantas de lechosa enfermas a más de 1 km de distancia, escoger la época de siembra que correspondan a poblaciones bajas de áfidos (época de lluvia), manteniendo la vigilancia sobre enfermedades bacterianas y fungosas, evitar las siembras asociadas con cultivos de las familias cucurbitáceas y solanáceas, así como utilizar cultivos trampa (sorgo, maíz) y barreras rompe viento (Vegas *et al.*, 2004).

A través de las actividades de intercambio, se compartió con los productores la importancia del diagnóstico, en laboratorio, de las enfermedades virales antes de iniciar el trasplante a campo y del manejo adecuado del cultivo para obtener un proceso de producción exitoso.

CONCLUSIONES

Con el fin de estimular un proceso agrícola exitoso, se logró sensibilizar a los productores sobre la importancia del diagnóstico de enfermedades virales en la producción y manejo adecuado del cultivo de lechosa.

La comunidad se motivó a incorporar insumos disponibles en la zona, para producir bajo un enfoque agroecológico y al uso del SAH como herramienta biotecnológica práctica, sencilla y económica.

Con la incorporación del humus líquido y sólido para el establecimiento del SAH, se generó un valor agregado a los protocolos de trabajo, ya que son insumos producidos en la propia comunidad.

Se estimuló a la comunidad a formular proyectos de índole agrícola, donde se promueva la producción empleando la fusión de conocimiento técnico-formal y conocimiento popular.

Se destacó la importancia del intercambio de saberes técnicos y tradicionales para el mejoramiento de los sistemas agrícolas. Además, se reactivaron las relaciones técnico-laborales para el intercambio de las experiencias entre los (as) productores (as) de la comunidad y el personal del INIA.

Las actividades desarrolladas con la comunidad se apoyaron en experiencias previas y se aprovechó toda la información disponible para el análisis de sus problemas y la revalorización de sus elementos positivos. Además se logró la participación de todas las personas involucradas en la solución de sus problemas con la planificación de acciones a partir del sentir comunitario y el compromiso de sus miembros de alcanzar las metas propuestas.

LITERATURA CITADA

- AGDIA INCORPORATED. 2011. Reagent Set, DAS ELISA, alkaline phosphatase label. County Road USA. Consultado: 2 junio 2011. Disponible en: <http://www.agdia.com>.
- Amado, R., F. Cristalino y E. Hernández. 2004. El diagnóstico participativo como herramienta para la elaboración de proyectos educativos. *Ágora*. 1:91-110.
- Ávila, E. 2007. Efecto de tratamientos pre germinativos en la germinación de semilla de papaya (*Carica papaya*). Tesis Lic. Ing. Agr. Honduras, Instituto Zamorano. 300 p.
- Benítez, J. y J. Navarrete. 2002. Aplicación del sistema autotrófico hidropónico SHA (Técnica argentina) en variedades mejoradas del Ecuador, para la obtención de semilla prebásica de papa. Quito Ecuador. 6 p.

- Brunt, A., K. Crabtree and A. Gibbs. 1990. Viruses of tropical plants. CAB International. Redwood Press Ltd. Melksham. Wiltshire. pp. 707.
- Cabrera, D., M. Cruz, J. González, R. Hernández y O. Portal. 2008. Diagnóstico y caracterización biológica de un aislado del virus de la mancha anular de la papaya (PRSV-P) procedente de Cienfuegos, Cuba. *Centro Agrícola*. 35 (2):91-93.
- Constantino, M., J. D. Gómez-Álvarez, J. Álvarez-Solís, G. Pat-Fernández y G. Espín. 2010. Efecto de la biofertilización y los biorreguladores en la germinación y el crecimiento de *Carica papaya* L. 6 p.
- Durán, Y. 2011. Un poco mas sobre la parroquia Las Guacamayas. Disponible en: <http://lomejordearagua.wordpress.com>.
- FAO. 2011. Disponible en: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>.
- García, E., A. López, D. Teliz and D. Nieto. 1995. Fruit set and yield of papaya (*Carica papaya* L.) under integrated management to reduce ringspot viruses effects. *Acta Horticulturae*. 370:145-150.
- Gil, A. y D. Miranda. 2008. Efecto de la temperatura, inmersión en agua y concentración de fitorreguladores sobre la germinación de semillas de papaya (*Carica papaya* L.) *Revista Colombiana de ciencias hortícolas*. 2(1):9-20.
- Gonsalves, D. 1998. Control of papaya ringspot virus in papaya: a case study. *Annual Review of Phytopathology*. 36:415-437.
- Marys, E., J. Carballo and M. Izaguirre-Mayoral. 2000. Occurrence and relatives incidences of viruses infecting papaya in Venezuela. *Annals Applied Biology*. 136:121-134.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*. 15(3):473-497.
- Pila-Quinga, L. A. y J. Benítez. 2007. Sistema autotrófico hidropónico (SAH): Una alternativa para la producción de plántulas de yuca de calidad. Ecuador.
- Sistemas Ambientales Venezolanos. 1983. Proyecto VEN/79/001. SAV. Región Natural 22. Serranía del Interior. Caracas. II.2.22.
- Salvador-Figueroa, M., M. Adriano-Anaya y C. Becerra-Ortiz. 2005. Efecto del remojo en agua sobre la germinación de semillas de papaya var. Maradol. Universidad Autónoma Chapingo, México. *Revista Chapingo. Serie horticultura*. 11(1):27-30. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=60912502004>.
- Sucre, D. 2003. Delimitación de áreas ecogeográficas del estado Aragua. *Papeles de Fundacite Aragua*. 76 p.
- Vegas A., M. Cermeli y G. Trujillo. 1985. Afidos relacionados con el virus de la mancha anillada de la lechosa (*Carica papaya* L.) en Venezuela. Presencia, transmisión y eficiencia. *Agronomía Trop*. 35: 21-31.
- Vegas A., G. Trujillo, E. Marys, A. González, G. Fermín y M. Cermeli. 2004. El virus de la mancha anillada de la lechosa en Venezuela: Descripción e importancia, medidas de prevención y control. *CENIAP HOY*, N° 6. Disponible en: http://www.ceniap.gob.ve/ceniaphoy/articulos/n6/arti/vegas_a/arti/vegas.htm
- Vegas A., Y. Sandra, A. Díaz, M. Solórzano, Y. Rincón y J. Fernández. 2010. Producción de vitroplantas de lechosa libres de enfermedades. Folleto de la Unidad de Biotecnología Vegetal. Centro Nacional Investigaciones Agropecuarias. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Maracay, Venezuela. 10 p. (en revisión).

‘Soberana FL’: Cultivar de arroz de riego para Venezuela

‘Soberana FL’: Irrigated rice cultivar for Venezuela

Marco Acevedo¹, Rosa Álvarez², Orlando Torres³, Margelys Salazar³,
Iris Pérez-Almeida⁴, Edicta Reyes² y Orlando Moreno²

¹Investigadores. INIA Guárico. Apdo. postal, ²INIA Portuguesa. Apdo. postal 102, ³INIA Barinas. Apdo. Postal 170, ⁴Centro Nacional de Investigaciones Agrícola (INIA CENIAP). Apdo. postal 4653. Venezuela.
Correos electrónicos: macevedo@inia.gob.ve, ralvarez@inia.gob.ve, otorres@inia.gob.ve, iperez@inia.gob.ve

RESUMEN

Se evaluó el comportamiento agronómico del cultivar de arroz (*Oryza sativa* L.) ‘Soberana FL’, en ensayos de validación agronómica de cultivares (EVAC), coordinados por el Servicio Nacional Semilla (SENASA) de Venezuela y en siembras semicomerciales en los estados Guárico, Portuguesa y Barinas. En ensayos experimentales, el material presentó excelente potencial de rendimiento en grano paddy (5,4 t ha⁻¹ en condiciones de riego y 5,7 t ha⁻¹ en el periodo de lluvias), resistencia a plagas (piricularia, helmintosporium, escaldado y manchado del grano), moderada resistencia al virus de la hoja blanca y buena calidad de grano (grano entero superior 56% y amilosa 29%). Se realizó la caracterización molecular del cultivar utilizando RAPD. En virtud de lo anterior, la variedad *Soberana FL* es elegible para la producción y comercialización de semilla certificada en el país.

Palabras clave: variedad, *Oryza sativa* L., ‘Soberana FL’, semilla certificada.

ABSTRACT

In order to evaluate the agronomic performance of the cultivar of rice (*Oryza sativa* L.) ‘Soberana FL’, the cultivar was evaluated the Agricultural Validation Test Cultivar (EVAC), conducted by the National Seed Service (SENASA) of Venezuela. It was also evaluated in commercial plantings in state Guárico, Portuguesa y Barinas; in experimental trials the material has excellent potential for paddy grain yield (5,4 t ha⁻¹ under irrigation and 5,7 t ha⁻¹ in the rainy season), resistant to pests (rice blast, helminthosporium, blanching and grainstained, moderate resistance to virus white sheet), good grain quality (higher whole grain 56% and 29% amylose). Molecular characterization of the cultivar was performed using RAPD. The eligibility of the variety ‘Soberana FL’ was requested for the production and marketing of certified seed in the country.

Key words: variety, *Oryza sativa* L., ‘Soberana FL’, certified seed.

INTRODUCCIÓN

El arroz (*Oryza sativa* L.) es una especie cuya domesticación ha permitido su adaptación a diversas condiciones ambientales. Este cultivo es considerado de gran importancia económica y social en varios países en vía de desarrollo, constituyéndose en el alimento básico de más de 2,5 billones de personas. Adicionalmente, proporciona un balance nutricional de aproximadamente un 20% de energía y 15% de proteína, de acuerdo a los requerimientos diarios en la alimentación humana.

La Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO) de la Organización de las Naciones Unidas (ONU) reporta que la producción mundial de arroz en el 2013 aumentó 1% con respecto al 2012, para ubicarse en 501,3 millones de toneladas de arroz procesado. Se estima que el consumo mundial de arroz en ese año fue alrededor de 409 millones de toneladas, un aumento del 2% respecto al año 2012. El 90% de la producción mundial proviene de países asiáticos (principalmente, China e India), 6% de América Latina, mientras 4% proviene de países africanos (Arroz, 2013).

En Venezuela la producción de arroz se concentra en las regiones de los llanos centrales y occidentales. Según FEDEAGRO en el año 2012, se lograron 845.254 t (14% superior al periodo anterior) con área cosechada de 165.334 ha (9% inferior al del periodo anterior), mientras que el rendimiento de granos se ubicó en 5,0 t ha⁻¹ 22% superior al 2010. Estos valores demuestran que los cultivares 'SD-20A' (Fundación DANAC-SEHIVECA) y 'Venezuela 21' (INIA-FUNDARROZ), utilizados en un 90% de la superficie durante los últimos años, poseen alto potencial de rendimiento en granos con excelente calidad de grano.

La Comisión Nacional del Arroz (CONARROZ), conformada por instituciones públicas y privadas que hacen vida activa en la cadena agroproductiva del cultivo en el país, priorizó las seis principales áreas de desarrollo publicadas por el Ministerio de Poder Popular para la Ciencia, Tecnología e Innovación (MPPTCI), concluyendo que el manejo agronómico y genético del cultivo son las principales limitantes de la producción en el país (CONARROZ, 2012).

El Proyecto Nacional de Mejoramiento Genético de Arroz (PNMGA) que se ha desarrollado bajo el convenio INIA-FUNDARROZ, se inició en 1997 con el objetivo de desarrollar nuevos cultivares de arroz, con alto rendimiento de granos, resistentes y tolerantes a las principales plagas (piricularia, hoja blanca y sogata); además de obtener granos de alta calidad, con el fin de contribuir a la sostenibilidad del cultivo en Venezuela.

El mencionado proyecto cuenta además con la participación activa del Fondo Latinoamericano y del Caribe de Arroz de Riego (FLAR), con sede en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali-Colombia y que se titula "obtención de cultivares de arroz adaptado a las principales zonas de producción del país", ha desarrollado durante 15 años de vigencia, los siguientes materiales: 'Fundarroz PN-1' (2000); Venezuela 21 (2003), 'Centaurus' (2007), y recientemente *Soberana FL* (2012).

El presente trabajo muestra los resultados que permitieron la validación y nominación del nuevo cultivar *Soberana FL*, para la producción comercial de semilla certificada en Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

El cultivar *Soberana FL* se originó siguiendo una metodología fundamentada en la selección de líneas experimentales (F4-F5) en FLAR-CIAT Colombia, a partir de los cruces programados por FLAR para el trópico o de los cruces propios realizados de cada país socio. Posteriormente los materiales seleccionados son introducidos a la nación como viveros "Vioflares" y "Adicionales" para su evaluación en campo, bajo diferentes condiciones agroecológicas, en los estados Guárico, Portuguesa y Barinas. Se evaluaron variables cualitativas y cuantitativas, según el Sistema de Evaluación Estándar del Arroz (IRRI-CIAT, 2002). De acuerdo con el desempeño logrado en cada zona, se identificaron líneas élites que fueron inscritas en los ensayos de validación agronómicas de cultivares (EVAC), coordinados por el Servicio Nacional Semilla (SENASSEM). En el caso *Soberana FL* se consideran los siguientes ciclos, riego 2009-2010; lluvia 2010; riego 2010-2011; lluvia 2011.

Los tratamientos incluidos fueron las líneas experimentales PN04I050 (*Soberana FL*), PN04I051, AP06B041 y los testigos comerciales *Venezuela 21*, *D'Sativa* y *SD20A* por su importancia en el área sembrada del país.

El cultivar *Soberana FL*, proviene del cruzamiento de los progenitores siguientes: cruce simple de las líneas CT8250-21-12-2P-1X y CT6543-28-6I-1I-2I por la línea FL00596-54P-3-2P-M como tercer progenitor. Este cruce fue realizado por el FLAR en el 2000 y en Venezuela se identifica por el pedigrí FL03225-4P-5-1P-3P-M-1V. Las primeras cuatro generaciones de evaluación y selección se condujeron en el FLAR Colombia, utilizando el método genealógico o pedigrí, que es el más común y exitoso en arroz, por permitir una mayor familiaridad con los materiales y con los efectos relativos a la interacción genotipo ambiente en la expresión de los caracteres (Jennings *et al.*, 1981).

En el año 2003, el material fue introducido al país en generación F5, en el "Vivero Adicional". A partir del ciclo de lluvia 2003 y durante seis ciclos consecutivos fue evaluado por PNMGA, en seis localidades de los llanos centrales (estado Guárico) y llanos occidentales (estados Portuguesa y Barinas). En esta segunda etapa, el método masal modificado fue empleado durante cuatro generaciones, para la obtención, mantenimiento y producción de la semilla genética. Para preservar la identidad y pureza genética, se empleó el método descendencia de una panícula "modificado" (Acevedo *et al.*, 1998; Torres *et al.*, 2006).

La evaluación de la reacción a piricularia, sogata, hoja blanca y calidad de grano se realizó en el CIAT- FLAR (Colombia) bajo condiciones controladas. Las estimaciones preliminares en ensayos internos del proyecto permite inscribir el material experimental PN04I050 como *Soberana FL*, a partir del ciclo de riego 2009-2010, en los EVAC para su validación, según el protocolo de manejo de dicho ensayo (SENASA, 2013).

Para estudiar el comportamiento agronómico del cultivar *Soberana FL*, se utilizó el diseño de bloques completos al azar con arreglo en franja.

En las parcelas principales se ubicaron las épocas de aplicación del fertilizante **T1**: todo al momento de la siembra; **T2**: 50% antes de la siembra (AS) y 50% a los 25 días después de la siembra (DDS); **T3**: fraccionado equitativamente en cuatro épocas AS; 25 DDS; 40 DDS y 60 DDS; en las parcelas secundarias se aleatorizaron las dosis de fertilizantes nitrogenado (DN 0, DN 120, DN 160 y DN 200 kg ha⁻¹). La unidad experimental y cosecha fue 15 m², mientras que las variables evaluadas fueron rendimientos y sus componentes. Sin embargo, solo se presentó los resultados del rendimiento de granos paddy kg ha⁻¹.

El material se caracterizó molecularmente en la Unidad de Biotecnología Agrícola del INIA CENIAP donde se realizaron comparaciones con los testigos comerciales *SD-20A*, *Venezuela 21* y Payara, los cuales fueron seleccionados de acuerdo a su importancia en la producción de semilla del año 2012, representadas por 26%, 25% y 9%, respectivamente.

En el aislamiento del ADN se utilizó el método de extracción, señalado por Pérez-Almeida *et al.* (2011a), empleando marcadores para identificar polimorfismos de ADN amplificados al azar (RAPD), series decaméricas de OPERON Technologies: OPM01, OPM02, OPM03, OPM04, OPM05, OPM06, OPM07, OPM08, OPP16, OPC13, OPF13, OPF14, OPJ04, OPP01, OPF11, OPF15, OPE01, OPF16, OPP07, OPE10, OPE20, OPE04, OPE18, OPP03, OPE02 y OPE03, los mismo son utilizados por haber mostrado polimorfismo en trabajos previos con la variedad de arroz *Venezuela 21**.

La mezcla de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) consistió en Tampón PCR 1X, 2,5 mM MgCl₂, 0,17 mM por dNTP, 0,67 mg ml⁻¹ BSA (suero de albúmina bovina), 1,33 uM del iniciador, 0,16 U µl⁻¹, GoTaq[®] polimerasa y 20 ng µl⁻¹ de ADN, en un volumen final de 15 µl. La amplificación se realizó en un termociclador PTC 200 DNA EngineCycler de BIO-RAD, en las siguientes condiciones: desnaturalización inicial 94 °C por 5 min, seguida por 45 ciclos de amplificación a 94 °C por 1 min, hibridación a 36 °C por 30 s y extensión a 72 °C por 2 min, con 72 °C por 7 min el ciclo final de extensión.

*Comunicación personal Iris Pérez-Almeida.

La separación de los productos de RAPD-PCR se realizó en geles de agarosa 1,5%, corridos durante 1 hora y media a 100 V y teñidos con bromuro de etidio 0,00002%. Los geles fueron visualizados en el transiluminador UV y fotografiados con un analizador de imágenes Gel DocTM XR de BIO-RAD.

Para la evaluación de las amplificaciones del ADN en cada uno de los materiales obtenidos en los geles de agarosa, se generó una matriz de presencia ($p=1$) y ausencia ($a=0$) por cada banda detectada en los genotipos estudiados, en cada marcador RAPD utilizado. A la base de datos obtenida con los marcadores RAPD, se le realizó un análisis multivariado de conglomerados jerárquicos, el cual generó un árbol de clasificación jerárquica ascendente, empleando el análisis de agrupamiento UPGMA y la distancia de Jaccard, utilizando los programas computarizados InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2008) y PAST (Hammer *et al.*, 2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización morfológica

En el Cuadro 1 se presentan las principales características morfológicas del cultivar *Soberana FL*, donde destacan el tipo de planta erecta, con buena capacidad de macollamiento (superior a 10 por trasplante y cinco con semilla pregerminada o seca); panícula bien emergida con excursión, escala tres; fertilidad de las espiguillas alta (superior al 80%). El grano es de tipo largo, generalmente sin aristas, cuando están presentes son cortas (menores de 5 mm), en siembras con semilla pregerminada; mientras que en siembra en hileras con densidad de 65 kg ha⁻¹ y riego por aspersión con pivote, presenta aristas de hasta 1,5 cm; el peso de 1.000 granos es de 29 g. El ciclo del cultivo fluctúa entre 110 a 115 días. Presenta tolerancia al acame o volcamiento. El rendimiento de grano entero varía entre 56 a 60%; el yeso más panza blanca entre 3 a 6% y el contenido de amilosa es de 29% (amilosa papa) y 20 a 21% (amilosa arroz).

Cuadro 1. Descripción varietal de '*Soberana FL*'.

Características de la planta

Hábito de crecimiento: erecto

Acame: tolerante

Altura de planta (cm): 100

Floración (días) 50%: 86.

Ciclo (días) a cosecha: 110-115.

Características de la panícula y grano

Tipo de panícula: Semicompacta

Longitud (cm) de la panícula: 27,1

Peso (g) de 1000 granos: 29

Porcentaje grano entero: superior 56

Porcentaje (yeso + panza blanca): 3-6

Amilosa: 29,1 (CIAT/FLAR) y 20-21 (Venezuela Laboratorio Fundación DANAC)

Reacción a plagas

Resistente a piricularia, helmintosporium, escaldado y grano manchado, moderada resistencia al virus de la hoja blanca y susceptible a sogata (evaluaciones en Colombia y Venezuela).

Caracterización molecular

En la Figura 1 se observan las corridas electroforéticas en geles de agarosa al 1,5% de los PCR-RAPD, mostrando el polimorfismo entre los genotipos con algunos de los marcadores utilizados.

Los marcadores discriminaron completamente todos los cultivares evaluados, los mismos se separaron en el análisis de agrupamiento UPGMA, con distancia de Jaccard (Figura 2). La correlación cofenética de 0,9851 demuestra un buen ajuste en los resultados.

Al considerar una distancia genética de 0,42, se observaron tres grupos: grupo 1: *Venezuela 21*, grupo 2: *SD-20A* y grupo 3: conformado por los materiales *Soberana FL* y *Payara*. En este último, se ubican los cultivares de reciente liberación al mercado venezolano, con una estrecha similaridad genética, atribuible al hecho de proceder del mismo programa del FLAR.

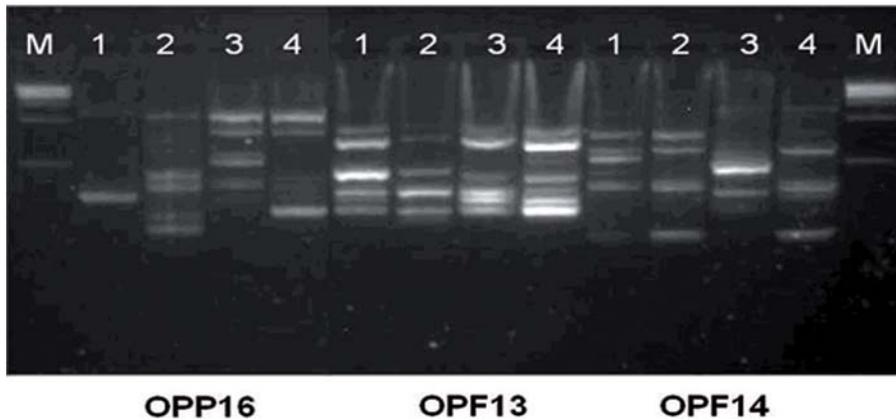


Figura 1. Ampliación por PCR-RAPD con los marcadores OPP16, OPF13 y OPF14. 1: 'Venezuela 21'; 2: 'Soberana FL'; 3: 'SD-20A'; 4: 'Payara' y M: escalera 1 kb Promega.

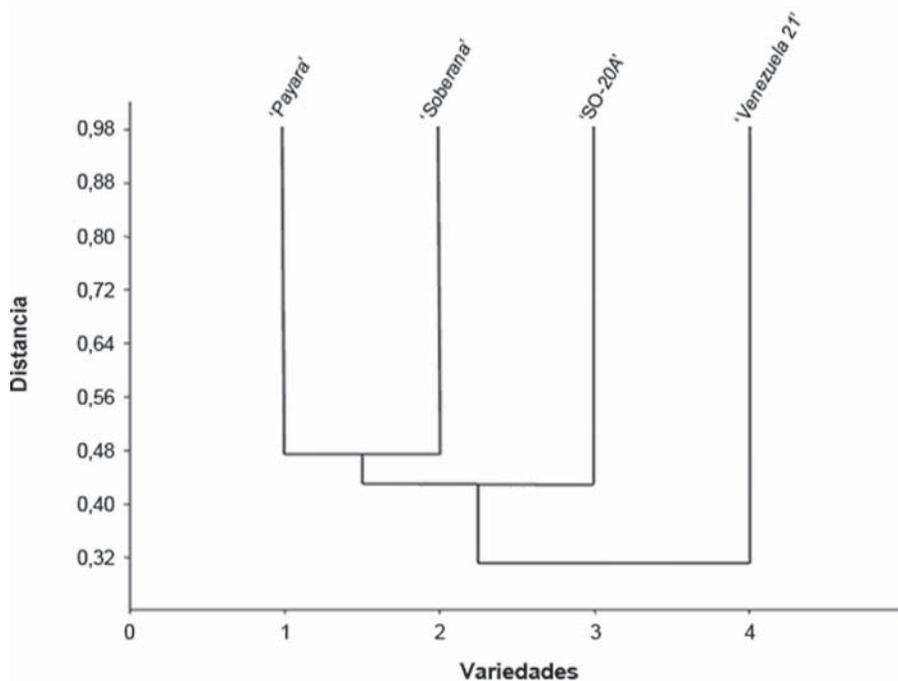


Figura 2. Análisis UPGMA con distancia de Jaccard cultivar 'Soberana FL'.

El cultivar *SD20A*, no presentó alta divergencia genética con *Soberana FL* y *Payara*. Tomando en cuenta que fue desarrollado por método de mejoramiento poblacional y selección recurrente

Sin embargo, *SD20A*, no proviene del referido centro internacional, pese a que no presentó en este análisis, una alta divergencia genética

con el grupo estudiado. Tomando en cuenta que fue desarrollado por método de mejoramiento poblacional y selección recurrente.

Estudios sobre diversidad genética del arroz en América Latina, el Caribe (Cuevas-Pérez *et al.*, 1992) y en Venezuela (Acevedo *et al.*, 2007; Pérez-Almeida *et al.*, 2011b) reflejan la

existencia de una base genética estrecha entre las variedades desarrolladas. Por tal motivo, los resultados del presente trabajo destacan la importancia de realizar esfuerzos para aumentar la variabilidad en el germoplasma de arroz cultivado en Venezuela.

Análisis del rendimiento de grano (t ha⁻¹) por ciclo

En el Cuadro 2 se presentan los análisis de medias Tukey ($P < 0,05$) en el rendimiento de granos expresados en t ha⁻¹, para los materiales evaluados en los EVAC por ciclos, así como, el análisis conjunto de localidades. Adicionalmente, se demuestran las medias de los parámetros estadísticos más importantes.

Los tratamientos (genotipos) resultaron con diferencia altamente significativa ($P < 0,01$) durante todos los ciclos. En este sentido, el cultivar *Soberana FL* superó la media de los experimentos y la media de las líneas experimentales, incluso, la media de producción anual para el año 2012, la cual fue de 5,0 t ha⁻¹, según FEDEAGRO (2012).

Los análisis de media individuales por ciclo demostraron que *Soberana FL* supera estadísticamente a todos los materiales en los ciclos considerados. Asimismo, supera o iguala al mejor testigo *SD-20A* en tres de ellos. El análisis conjunto de las doce localidades reflejan que *Soberana FL* y *SD-20A* conforman el grupo superior.

El comportamiento de los materiales por ciclo demuestra que el mejor material para condiciones de riego fue *Soberana FL* con promedio con promedio de 5,4 t ha⁻¹ seguido de *SD-20A* y *Venezuela 21*, ambas con 5,2 t ha⁻¹ para las condiciones de riego. Para el ciclo de lluvia, donde las condiciones son más predisponentes a enfermedades y, por ende, a bajos rendimientos; el mejor material resultó *SD-20A* seguido de *Soberana FL* con 5,9 y 5,7 t ha⁻¹, respectivamente.

Soberana FL presenta resistencia genética a las principales plagas (piricularia, hoja blanca y manchado de grano). Se puede observar gráficamente, el desempeño y las tendencias de los diferentes materiales para los ciclos considerados (Figura 3).

Cuadro 2. Análisis de media para la variable rendimiento grano t ha⁻¹ en los ensayos de validación agronómicas de cultivares en los ciclos evaluados.

Identificación	Rendimiento t ha ⁻¹				
	Riego 2009/2010	Lluvia 2010	Riego 2010/2011	Lluvia 2011	Conjunto
' <i>Soberana FL</i> '	5,6 a	6,3 a	5,2 a	5,0 ab	5,7 a
PN04I051	5,3 ab	5,5 c	4,2 d	4,0 d	5,1 b
AP06B041	5,0 ab	6,2 ab	4,8 c	4,2 cd	5,3 ab
' <i>Venezuela 21</i> '	5,4 ab	5,5 c	5,0 ab	4,0 d	5,1 b
' <i>D SATIVA</i> '	4,9 b	5,7 bc	5,1 ab	4,8 bc	5,2 b
' <i>SD-20A</i> '	5,0 ab	6,4 a	5,4 a	5,4 a	5,7 a
Media experimento	5,2	6,0	5,0	4,6	5,4
Media materiales experimentales	5,4	5,9	5,1	4,7	5,4
Media testigos	5,1	5,9	5,2	4,8	5,3
CV%	14,1	12,4	10,4	12,9	12,8
Número localidades	4	5	5	3	12

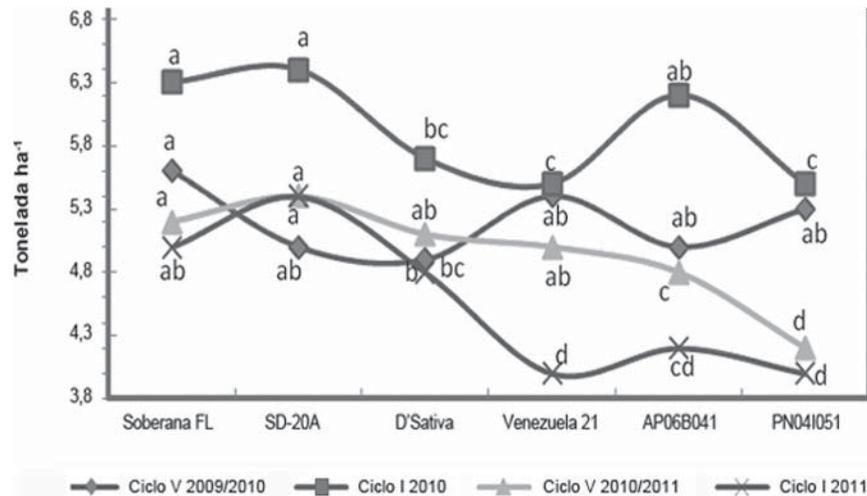


Figura 3. Rendimiento de granos t ha⁻¹ durante los ciclos de evaluación en los ensayos de validación agronómicas de cultivares del cultivar 'Soberana FL'.

El coeficiente de variación resultó ajustado con valores adecuados (inferior al 16% propio para plantas autogamas), indicando buena precisión de los experimentos, tomando en cuenta que la variable considerada es del tipo cuantitativa, ampliamente afectada por la interacción genotipo por ambiente, resultados similares son presentados por Acevedo *et al.* (2010); Ramalho *et al.* (2000).

Análisis de la interacción genotipo por ambiente (GxA)

En el Cuadro 3 se presenta el análisis conjunto de varianza para la variable rendimiento de granos; el mismo, mostró diferencias altamente significativas ($P < 0,01$) para ambientes (localidades) y tratamientos (genotipos) indicando que existe variación significativa de localidades para proporcionar alteraciones en las medias de los materiales, registrando 52,76% de la suma de cuadrados totales. En este sentido, la significancia de tratamiento demostró la diferencia genética entre las líneas evaluadas. Esta fuente de variación representó 4,21% de la suma de cuadrados totales.

Por otro lado, la interacción genotipo ambiente (GxA) resultó altamente significativa ($P < 0,01$), representando 20,11% de la suma de cuadrados totales, sugiriendo que el comportamiento relativo

de los genotipos, está influenciado distintamente por los ambientes considerados, hecho que dificulta la recomendación de un material para todos los ambientes estudiados. De este modo, no es pertinente basar la elegibilidad de nuevos cultivares sobre el análisis de media del desempeño en los materiales, tomando el análisis conjunto de varianza; esto es posible cuando la interacción GxA no existe. Los resultados obtenidos sugieren realizar el análisis de adaptabilidad y estabilidad para soportar la recomendación del nuevo cultivar.

Cuadro 3. Análisis de varianza conjunto para rendimiento de grano t ha⁻¹.

Fuente de variación	Grados de libertad	F
Ambientes (A)	11	34,20**
Bloques (A)	24	1,81*
Genotipos (G)	5	6,01**
G x A	55	2,61**
Error	120	

El análisis multivariado de la interacción GXA para el análisis de adaptabilidad y estabilidad genotípica, utilizando el modelo AMMI (Additive main effects and mutiplicative interactions), en doble representación "biplot" (Acevedo., *et al.* Datos no publicados), para rendimiento de granos paddy ($t\ ha^{-1}$). Sugiere, que *Soberana FL* presenta amplia adaptabilidad principalmente en las localidades "Bancos de San Pedro", "Sabanetica" e "INIA Barinas".

Aunque el material muestra capacidad para aprovechar ventajosamente el estímulo ambiental en localidades favorables, no presentó estabilidad genética, lo cual se traduce en la dificultad de predecir su desempeño relativo. Mientras que la variedad *SD-20A* presenta amplia adaptabilidad y estabilidad genética, Venezuela y D'Sativa muestran baja adaptabilidad genética y alta estabilidad entre los ambientes, esto último atribuible al mayor tiempo de liberación y uso de dichos materiales.

El análisis AMMI de localidades indica que existen algunos ambientes que contribuyen significativamente con la interacción, pero discriminan bien los genotipos, tales como Bancos de San Pedro, Sabanetica e INIA Barinas, en cambio otras contribuyen menos a la interacción,

sin diferenciar efectivamente los genotipos, conociéndose en este caso como ambientes desfavorables, caso de "Algodonal Araure" e "INIA Araure".

Análisis del manejo agronómico

Los resultados experimentales sobre el manejo agronómico del cultivar *Soberana FL*, probando dosis de fertilizante nitrogenado (DN) en $kg\ ha^{-1}$ con distintas épocas de aplicación (T1: todo al momento de la siembra, T2: 50% AS y 50% a los 25 DDS y T3: fraccionado en cuatro épocas), demuestran que el cultivar responde favorablemente a la aplicación creciente de fertilizante nitrogenado ($200\ kg\ ha^{-1}$), tanto en suelos francos (caso Barinas) como en suelos de textura pesada (caso Guárico). Aún cuando, el mejor desempeño en Barinas se observó cuando el fertilizante se aplica en cuatro épocas diferentes (T3); lo contrario ocurrió en Guárico, donde la aplicación de todo en nitrógeno (T1) resultó con el mayor rendimiento de granos, como se muestra en la Figura 4.

Cabe resaltar, que la dosis de fertilizante nitrogenado superior a lo recomendado puede provocar acamamiento o volcamiento de plantas, además de predisponerlas al ataque de plagas en general, cuando hay desbalances con el potasio.

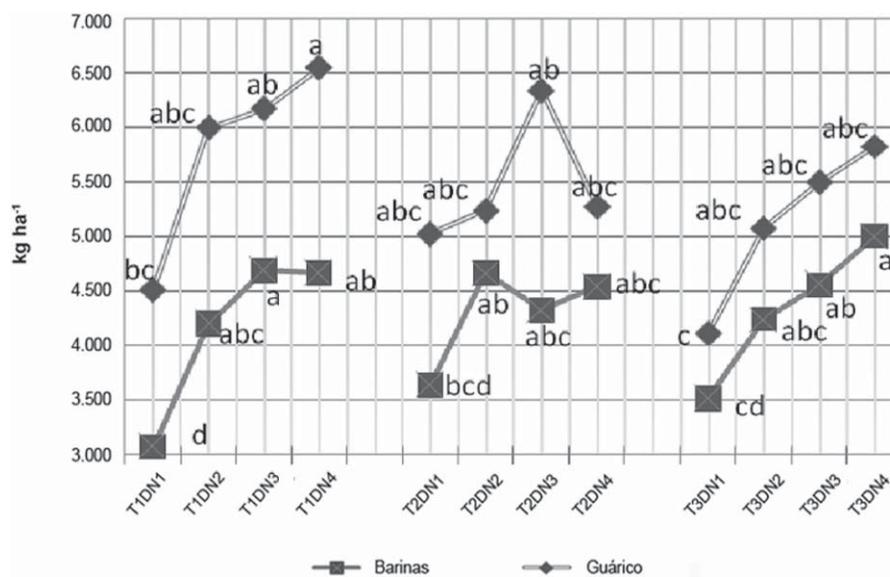


Figura 4. Época de aplicación y dosis de nitrógeno sobre el rendimiento de granos, cultivar '*Soberana FL*'.

Sin embargo, se continuarán con los estudios por considerar que el manejo agronómico sería uno de los principales factores que permiten mantener la brecha del rendimiento entre los ensayos experimentales y la siembra comercial del cultivo.

CONCLUSIONES

La variedad *Soberana FL* fue desarrollada y validada en Venezuela para los sistemas de producción de arroz con riego.

El cultivar *Soberana FL* responde favorablemente a la aplicación máxima de 200 kg ha⁻¹ de fertilizante nitrogenado y varía su comportamiento de acuerdo a la época de aplicación y tipo de suelo.

Los granos *Soberana FL* presentan resistencia a las principales plagas en general y además poseen una buena calidad.

LITERATURA CITADA

- Acevedo, M., E. Reyes, W. Castrillo, O. Torres, C. Marín, R. Álvarez, O. Moreno y Torres E. 2010. Estabilidad fenotípica de arroz de riego en Venezuela utilizando los modelos LIN-BINNS Y AMMI. *Agronomía Trop.* 60(2):131-138.
- Acevedo, M., E. Torres, O. Moreno, R. Álvarez, O. Torres, W. Castrillo, G. Torrealba, E. Reyes, M. Salazar y M. Navas. 2007. Base genética de los cultivares de arroz de riego liberados en Venezuela. *Agronomía Trop.* 57(3):197-204.
- Acevedo, M., J. Parra, G. Rico y H. Agrinzones. 1998. Técnicas de producción de semilla de arroz clase genética en el CIAE-Guárico. *Fonaiap Divulga.* Nro 60. julio-diciembre. Consultado 21 de sept. 2013. Disponible en: http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/Fonaiap_Divulga/fd60/arroz.html.
- Arroz. Com. 2013. Producción mundial de arroz. Consultado el 20 de sept. 2013. Disponible en: <http://www.arroz.com/search/node/produccion%20mundial>.
- CONARROZ. 2012. Taller sobre convocatoria LOCTI. Informe realizado en Acarigua 13 de marzo del 2012. 3 p.
- Cuevas-Pérez, F., E. Guimarães, L. Berrio and D. González. 1992. Genetic base of irrigated rice in Latin America and the Caribbean, 1971 to 1989. *Crop Sci.* 23:944-949.
- Di Rienzo, J., F. Casanoves, M. Balzarini, L. González, M. Tablada y C. Robledo. 2008. InfoStat, versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 336 p.
- FEDEAGRO. 2013. Producción de arroz en Venezuela. Consultado 20 sept. 2013. Disponible en: <http://www.fedeagro.org/produccion/Rubros.asp>.
- Hammer, Ø, D. A. T. Harper and P. D. Ryan. 2001. Past: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica.* 4:1-9.
- IRRI-CIAT. 2002. Sistema de evaluación estándar de arroz. Cali Colombia. 178 p.
- Jennings P., W. Coffman y H. KAUFFMAN. 1981. Mejoramiento de arroz. Cali Colombia. CIAT. 233 p.
- Pérez-Almeida, I., E. Torres, L. Angulo y M. Acevedo. 2011a. Diversidad genética entre cultivares de arroz de Venezuela con base a la estimación del coeficiente de parentesco y análisis con marcadores moleculares microsátélites (SSR). *Interciencia.* 36(7):45-251.
- Pérez-Almeida, I., L. Angulo, G. Osorio, C. Ramis, A. Bedoya, R. Figueroa-Ruiz, S. Molina y D. Infante. 2011b. Método modificado de obtención de ADN genómico en orquídeas (*Cattleya* spp.) para amplificación con marcadores moleculares. *Bioagro.* 23(1):27-34.
- Ramalho, M. A., J. B. Santos e C. A. Pinto. 2000. Genética na agropecuaria. Lavras: Ed. UFLA. 404 p.
- SENASEM. 2013. Protocolo de los ensayos de validación agronómica de cultivares (EVAC). SENASEM. Maracay, estado Aragua. Venezuela. 12 p.
- Torres, O., M. Salazar, M. Navas, R. Álvarez, E. Reyes, O. Moreno, N. Delgado, G. Torrealba, M. Acevedo y W. Castrillo. 2006. Metodología para la obtención, mantenimiento y producción de semilla de arroz clase genética. *INIA-Divulga* 9:14-16.

Cambios de las propiedades físico-químicas y perfil de ácidos grasos en cacao de Chuao, durante el beneficio

Physicochemical changes and fatty acids profile of cocoa grown in Chuao, throughout post harvest process

Mary Lares Amaiz¹, Elevina Pérez Sira², Clímaco Álvarez Fernández³, José Perozo González³ y Sandra El Khori⁴

Profesoras. ¹Universidad Central de Venezuela (UCV). ¹Facultad de Medicina. Escuela de Nutrición y Dietética, ²Facultad de Ciencias. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Apdo. postal 47.097. Caracas. Venezuela.

³Investigadores. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA Miranda). Apdo. postal 1246. Estado Miranda

⁴Profesor. Instituto Superior San Isidro. Cuenca, Ecuador.

Correo electrónico: marylares@hotmail.com, sandraelkhori@hotmail.com, perezee@hotmail.com, clalvarez@inia.gob.ve, climacoa@hotmail.com

RESUMEN

El beneficio del cacao *Theobroma cacao*, en Venezuela, cambia de una región a otra y está influenciado por las condiciones ambientales de la región, lo cual trae consigo variaciones en la calidad de los productos finales y poco se ha reportado en relación a esto. Es por ello, que el objetivo del presente trabajo fue caracterizar las propiedades físicoquímicas y el perfil de ácidos grasos de los granos de cacao de la cosecha denominada "San Juanera" en la región de Chuao y en diferentes etapas del beneficio. La tipificación de los granos, composición proximal y perfil de ácidos grasos se determinaron según las metodologías AOACI y COVENIN. Los datos indican una disminución del peso del grano con testa y el porcentaje de testa por efecto de la fermentación, así como diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$) en la composición química, pero no en el perfil de ácidos grasos. La humedad fue drásticamente aumentada por efecto de la fermentación y los otros constituyentes (proteína, grasa y ceniza), disminuyeron ligeramente. El pH disminuyó y la acidez aumentó por efecto del proceso de fermentación, el perfil de ácidos grasos se vio afectado por el proceso de secado y tostado; disminuyendo las concentraciones de ácido palmítico, esteárico y oleico con respecto al cacao fresco.

Palabras clave: *Theobroma cacao* L., postcosecha, fermentación, composición proximal, procesamiento.

ABSTRACT

At Venezuela the cocoa *Theobroma cacao* L., post-harvest treatment is quite variable and it is function of the region and environment, this variability in the post harvest bring high losses of quality in the cocoa derivatives. Despite of this there are few reported studies in literature. Then the objective of the study was to evaluate the physicochemical properties and fatty acids profile in different conditions of the cacao postharvest process of the San Juanera crop from the Chuao region. Grain samples were collected in different postharvest stages. The physical characteristics, chemical composition and fatty acid profile of cocoa grains were determined according to the methodologies described in the AOACI and COVENIN. Data are showing a diminution of weight of the grain with peel and the peel percent by effect of the fermentation. It was also observed statistically significant differences in the chemical composition, but it was not thus for the fatty acid profile. The moisture content was drastically increased as a result of the effect of the fermentation, and the other components (protein, fat and ash) were diminished slightly. pH diminished and the acidity was increasing by the fermentation process, as was expected. Finally, the fatty acids profile was affected by the process of drying and toasting and a diminution was observed of the concentrations of palmític, oleic estearic and with respect to the fresh cacao.

Key words: *Theobroma cacao* L., postharvest, fermentation, proximate composition, process.

INTRODUCCIÓN

Los cacaos *Theobroma cacao* L., “tipo criollo” tradicionales cultivados en Chuao, estado Aragua, Venezuela, gozan de un enorme prestigio en los mercados mundiales debido a la calidad de sus almendras claras, en contraste con el sabor amargo de las semillas color violeta de otras variedades, principalmente las de los cacaos “tipo forastero” (Álvarez *et al.*, 2012).

El cacao de Chuao se recolecta principalmente en dos cosechas: la “*San Juanera*” comprendida entre los meses de junio y agosto y la “*Decembrina*” que se inicia en octubre para terminar en el mes de diciembre. Por tradición de la región, el beneficio de este cacao es totalmente artesanal. Estos dos factores, cosecha y beneficio artesanal, influyen en la variación de la calidad postcosecha de este producto, tan reconocido a nivel internacional; sin embargo, ha sido poco investigado en el país.

El beneficio contempla todo el tratamiento aplicado a las almendras, desde la recolección de los frutos maduros hasta los procesos de fermentación, secado, almacenamiento y tostado; siendo la fermentación, el factor más importante mediante el cual se desarrollan los componentes del aroma y sabor. En el país, este tratamiento postcosecha varía dándole al cacao una calidad ligada a la región de beneficio, en consecuencia es posible suponer que habrá variaciones en su calidad.

La calidad aromática de los productos del cacao, como el chocolate, está relacionada con el origen de las almendras, con la fermentación, secado y con el proceso de tostado (Cross y Jean-Jean, 1997). Este aroma está constituido por una fracción constitutiva (presente en la almendra fresca), una fracción desarrollada durante la fermentación y secado, y por último, una fracción formada durante el tostado (Cross, 2000).

El presente trabajo consistió en evaluar las características fisicoquímicas y el perfil de ácidos grasos de las almendras de cacao frescas, fermentadas y secadas con métodos artesanales en la región de Chuao y sometidas a tostado en condiciones experimentales y controladas de laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Las muestras de los granos de cacao, en diferentes etapas del beneficio, se recolectaron aleatoriamente en la época *San Juanera* de la hacienda de Chuao, en la región centro norte costera del estado Aragua.

Granos frescos (Gf)

Se tomó una muestra al azar de 9 kg aproximadamente, de granos de cacao fresco en el primer día de cosecha (día 0), al momento del desgrane de los frutos maduros y sanos de cacao.

Los lotes de granos frescos (masa fermentante) fueron depositados inmediatamente en los dos fermentadores localizados en el cuarto de beneficio de Chuao. Se tomó un total de 20 muestras por mes (mayo, junio y julio) de 450 g cada una, de la parte superior e inferior, extremos y centro de los fermentadores, según diseño aleatorio descrito por el Código de Regulaciones Federales Proctor y Meullnet (1998) y AOACI (2011). De estas 20 muestras por mes se obtuvo un lote que fue congelado para su posterior análisis.

Granos fermentados (GF)

Las muestras correspondientes a granos fermentados a 45 ± 2 °C, se tomaron el último día del proceso de fermentación (5 días) en la región de Chuao, bajo el mismo protocolo señalado anteriormente.

Granos fermentados y secados al sol (GFS)

El secado se efectuó durante 5 días con remociones de dos veces al día y recogiendo en cesta para protegerlo de la humedad nocturna. Las muestras del cacao fermentado y secado al sol (9 kg aproximadamente) se tomaron siguiendo el mismo procedimiento anterior, pero en el patio de cemento (plaza de Chuao) el día de secado.

Granos fermentados, secados al sol y tostados (GFST)

Del lote de 9 kg de GFS, se tomaron 4,5 kg para el tostado experimental en condiciones controladas

de laboratorio. El tostado se realizó según las consideraciones de Hashim y Chaveron (1994) y Mermet *et al.* (1995), en relación con la intensidad de temperatura y tiempo óptimo de tostado (135 °C x 30 min).

Preparación de las muestras para análisis

Las muestras codificadas como Gf y GF fueron tratadas, previas a su análisis, eliminándose la pulpa o mucílago con aserrín, para luego caracterizar los granos enteros.

Propiedades físicas

Las muestras Gf y GF (sin pulpa); como GFS y GFST con testa fueron caracterizadas en sus dimensiones promedio de largo, ancho y espesor, según las metodologías descritas por Stevenson *et al.* (1993). Las correspondientes a granos con testa fueron pesadas antes y después de descascaradas con la finalidad de establecer el peso y porcentaje de la testa (PT). Posteriormente, fueron descascaradas manualmente para la determinación de las dimensiones promedio del grano sin testa. Las muestras de granos sin testa fueron pulverizadas hasta una granulometría de 60 mesh para los respectivos análisis físicos y químicos.

Características químicas, físicas y fisico-químicas

La composición química para todas las muestras de granos Gf, GF, GFS GFST sin testa, se basó en las determinaciones del contenido de humedad, cenizas, proteína cruda (%N x 6,25) y grasa cruda, pH y acidez titulable (expresado como ácido acético) y se determinaron de acuerdo a los métodos descritos por el AOACI (2011).

Perfil de ácidos grasos de la manteca

La composición de ácidos grasos de los lípidos totales de la manteca de cacao, fue determinada según el método de Folch *et al.* (1958) y su cuantificación en un cromatógrafo de gases marca Hewlett Packard, modelo 5880-A, previa extracción de los lípidos totales y preparación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos, utilizando el procedimiento descrito por la Norma COVENIN N° 2281 (1985).

Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados se realizó con los valores promedio de tres réplicas (n=3), en base seca, y se aplicó un análisis de varianza (ANAVAR) de una vía según statistical package for the social sciences (SPSS) categories 13.0 (2004), a un nivel de probabilidad de $P \leq 0,05$ para establecer las diferencias estadísticamente significativas entre los promedios de los parámetros obtenidos en cada uno de los procesos evaluados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades físicas

Se observan diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,05$) en los valores del peso con testa y porcentaje de testa por efecto de los procesos de fermentación, secado, y tostado. En el Cuadro 1, se observa que los valores promedio para el peso del grano y el porcentaje de testa en el cacao fresco son 2,14 g y 19,16%. El peso del grano y el contenido de testa disminuyen con la fermentación a valores promedio de 1,87 y 17,11%; lo cual puede ser atribuido a las reacciones químicas y microbiológicas responsables de la descomposición del mucílago que envuelve a las almendras, el cual es drenado. Cuando se somete el cacao fermentado al proceso de secado al sol, tanto el peso del grano como el porcentaje de testa disminuyen de 1,29 a 15,50%, respectivamente, debido a que ocurre evaporación de agua, componentes volátiles y de la acidez.

Varios investigadores señalan que conjuntamente con la pérdida de agua que se produce durante el secado, ocurre una merma de la acidez, específicamente de los ácidos volátiles y libres (Días y Ávila, 1993). Esta disminución de la acidez es favorecida cuando el secado ocurre lentamente, según los autores anteriores, y se establece un balance entre las velocidades de evaporación del líquido en la testa y de la difusión de los líquidos del cotiledón (Jipan y Thien, 1994).

El promedio de peso de semillas (1,26 g) y la proporción de cascarilla o testa (14,3%) coinciden con los reportados por Reyes (1978); Pérez *et al.* (2002, 2006); Lares (2006), para la misma época *San Juanera* y las mismas condiciones de secado y tostado.

Cuadro 1. Características físicas de los granos de cacao de Chuao en diferentes etapas del beneficio.

Parámetros	Peso CT (g)	Peso ST (g)	Largo (CT) (cm)	Ancho (CT) (cm)	Espesor (CT) (cm)	Testa (%)
Gf	2,14±0,93 a	1,73±0,71 a	1,87±0,62 a	2,59±1,32 a	0,72±0,53 a	19,16 a
GF	1,87±0,52 b	1,55±0,82 a	1,91±0,50 a	2,30±0,78 a	0,72±0,53 a	17,11 b
GFS	1,29±0,46 b	1,09±0,30 a	1,68±0,68 a	1,92±1,47 b	0,55±0,20 b	15,50 c
GFST	1,26±0,32 b	1,08±0,29 a	1,71±0,87 a	1,87±1,23 b	0,42 ±0,31 b	14,29 d

CT = Con Testa; ST = Sin Testa; Gf = Granos frescos; GF = Granos fermentados; GFS = Granos fermentados y secados al sol; GFST = Granos fermentados, secados al sol y tostados.

Los resultados expresan como el promedio \pm la desviación estándar (n=300).

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$).

En cuanto al largo (cm) de los granos con testa, este no se vio afectado significativamente ($P \leq 0,05$) por los procesos de secado y tostado. Sin embargo, se observó una ligera disminución estadísticamente significativa ($P \leq 0,05$) en el ancho (cm) y espesor (cm) del grano con testa.

Los criterios de calidad más importantes exigidos por las empresas procesadoras de los granos de cacao son el tamaño promedio del grano, el porcentaje de cáscara o testa, el contenido de humedad, la pureza y la dureza de la manteca de cacao (Powell, 1981; Manual de Productos Básicos, 1991).

Para los fabricantes o pequeños procesadores artesanales, el tamaño del grano es importante porque afecta los porcentajes de testa o cáscara, y por ende el contenido graso de las almendras, determinando de esta manera variaciones en el tiempo de tostado.

El lote debe ser homogéneo en cuanto a tamaño de grano para óptima calidad, ya que la heterogeneidad en el tamaño de los granos induce a quemado de los granos o tostado incompleto. De allí la importancia de tener tamaños de granos uniformes que disminuyan los riesgos durante el proceso de tostado. Generalmente, los usuarios prefieren comprar granos con sus cáscaras, ya que los protege de la contaminación de microorganismos y porque ofrecen, al mismo tiempo, un mayor rendimiento en el contenido de manteca.

La cantidad de testa o cutícula es un índice del rendimiento de la materia prima disponible para el procesamiento; a mayor peso de testa o cutícula, menor cantidad de materia prima aprovechable. Asimismo, el contenido de humedad que retenga la testa incidirá en los costos por peso del producto.

De Witt (1953), citado por Hardy (1961) también reportó una relación aproximada entre el peso del grano y el contenido de testa; con un rango de porcentaje de testa comprendidos entre 10 a 12% para los granos grandes; y de 12 a 16% para granos de menor y mediano tamaño, respectivamente.

En el presente estudio se observó un rango entre 14,29 a 15,50%, para el porcentaje de testa en las muestras secadas, fermentadas y tostadas; similares a los reportados por Lares *et al.* (2012).

En las muestras tomadas en las diferentes etapas del beneficio de secado y tostado se encontraron promedios de peso que varían de 1,26 a 1,29 g. Estos valores son relativamente altos y coinciden con las recomendaciones del Manual de productos básicos (1991); el cual expresa que los valores promedios del peso de grano deben ser mayores a 1 g; ya que si son inferiores, rendirán altos porcentajes de cascarilla con bajos niveles en el contenido graso, lo cual no es rentable para el procesador del cacao.

Composición química, pH y acidez total titulable de los granos de cacao en diferentes etapas del beneficio

En el Cuadro 2, se observan diferencias con respecto al contenido de humedad, donde los valores de esta variable, están en un rango amplio comprendido entre 2,96 a 46,32%. La humedad en los granos de cacao fresco es de 32,50% y aumenta a 46,32% por efecto de la fermentación, lo cual se atribuye a las reacciones inherentes a la biomasa y al hinchamiento del grano. Durante este proceso, se produce agua en la biomasa, con el subsecuente aumento de la humedad (Fondo Nacional del Cacao 1998; Hashim *et al.*, 1999; Reyes y De Reyes, 2000).

Cuando se somete el cacao fermentado al proceso de secado al sol, la humedad disminuye dramáticamente hasta un nivel de 6,68%. Este nivel de humedad es seguro para almacenamiento, ya que tiene como fin completar el proceso de beneficio (deteniendo el proceso fermentativo) y eliminar la humedad del grano, que al final de la fermentación se estima entre 45 a 60% y luego descender a valores comprendidos entre 7 a 8% por efecto del secado. Este rango fue establecido por COVENIN (1995) como parámetro de calidad

y es requerido por los mercados internacionales para la comercialización del cacao.

Debido a que durante el secado continúan sucediendo los procesos bioquímicos de carácter enzimático, necesarios para la aparición de las sustancias precursoras del sabor y aroma deseables en el cacao de buena calidad, el mismo debe realizarse lentamente, pues un mal secado la deteriora. Si las almendras se secan muy rápido, la cutícula exterior lo hace primero, quedando internamente húmedas, presentando una apariencia “engrinchada”, con mayor nivel de acidez, perdiendo valor comercial (Jipan y Thien, 1994).

El proceso de tostado se realizó a 150 °C sobre el producto fermentado y seco; se obtuvo un valor promedio de 2,96% de humedad, el cual es mucho más bajo que el obtenido con el proceso de secado al sol, lo cual es más seguro para almacenamiento y transformación.

Ortiz de Bertorelli *et al.* (2009) reportaron valores de humedad de 39,69% para el grano fresco, de 44,58% para el fermentado y de 4,55% para el seco; valores que difieren a los que se presentan en este estudio, debido posiblemente al tipo de cacao usado y a la aplicación de metodologías distintas en el beneficio.

Cuadro 2. Composición química (g/100 g, expresado en base seca), pH y la acidez titulable de los granos de cacao de Chuao en diferentes etapas del beneficio.

Parámetros	Humedad (%)	Proteína cruda (%)	Grasa cruda (%)	Cenizas (%)	Acidez (meq. de NaOH /g de muestra)	pH
Gf	32,50±0,42 b	14,42±0,50 a	45,45±0,38 c	4,30±0,04 a	1,72±0,07 b	6,48±0,09 a
GF	46,32±0,28 a	13,03±0,12 b	50,56±0,18 b	3,46±0,17 b	1,83±0,06 a	5,30±0,09 b
GFS	6,68±0,13 c	12,89±0,14 b	52,85±0,21 a	3,02±0,07 b	1,55±0,04 c	5,04±0,02 b
GFST	2,96±0,01 d	12,53±0,01 b	51,40±0,05 b	3,68±0,01 b	1,30±0,01 c	5,18±0,01 b

Gf= Granos frescos; GF= Granos fermentados; GFS= Granos fermentados y secados al sol; GFST= Granos fermentados, secados al sol y tostados.

Los resultados expresan el promedio ± la desviación estándar (n=3).

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas (P≤0,05).

Se observó variabilidad para el contenido de las proteínas y cenizas en todas las muestras analizadas, con un rango de 12,53 a 14,42% y de 3,02 a 4,30%, respectivamente. La variación en la disminución del contenido de proteínas y cenizas del cacao fresco con respecto al cacao fermentado, y al fermentado y secado al sol, es debida a la gran actividad microbiológica que se desarrolla en el proceso de fermentación y del requerimiento de sustratos (proteínas y minerales) para realizarlo; así como también, al efecto de arrastre de estos constituyentes por el drenado que se produce durante la fermentación.

Estudios recientes han demostrado alteraciones o cambios en los componentes a nivel estructural dentro de los cotiledones durante el transcurso de la fermentación, acompañados a su vez de numerosos cambios subcelulares de importancia en las reacciones químicas ocurridas también en el proceso de secado y tostado (De Brito *et al.*, 2000). Álvarez (1998), señaló que las proteínas de los granos de cacao curados durante el tostado ocasionan productos de bajo peso molecular como aminoácidos libres, amonio, aminos, sulfuro de hidrógeno, mercaptanos metílicos, dimetilsulfuros, entre otros; los cuales participan en la formación de compuestos aromáticos característicos del cacao tostado.

El contenido de grasa cruda de los granos, osciló entre 45,45 a 52,85%, en las diferentes condiciones y procesos. Pérez *et al.* (2002) y Lares (2007) reportaron resultados semejantes al límite superior del rango en cacaos de la región de Chuao en la cosecha *San Juanera*. Diversos estudios han reportado que los granos descascarados de diferentes orígenes tienen un rendimiento promedio entre el 53 y 56% de grasa cruda, dependiendo de la variedad (Manual de productos básicos, 1991).

Se observó aumento en el contenido de grasa después del proceso de fermentación, lo cual podría estar asociado a la actividad microbiana, que haría que esta quede más expuesta, o que por rearrreglos internos de la estructura de las células sea de más fácil extracción; sin embargo deben realizarse estudios a nivel de ultra estructura. Cuando se realizó el proceso de secado, también se evidenció un aumento del contenido relativo de la grasa, por facilitarse el proceso de extracción de agua.

Los valores de pH y acidez en los procesos evaluados estuvieron entre 5,30 a 6,48 y $1,30 \pm 0,06$ meq de NaOH /g de muestra, respectivamente. El pH en el cacao fresco fue de 6,48, disminuyendo significativamente ($P \leq 0,05$) por efecto de la fermentación a $5,30 \pm 0,09$. Las reacciones fermentativas, producto de la acción microbiológica sobre los azúcares presentes en el mucílago genera altos niveles de ácido acético (Quesnel, 1967 y 1965 citado por Voigt *et al.*, 1993), el cual constituye el ácido predominante de las almendras y el causante de su acidificación. Asimismo, se producen procesos proteolíticos que ocurren en el interior de los cotiledones durante el proceso de fermentación (Biehl *et al.*, 1985). Con respecto a la acidez, hubo un aumento significativo al comparar el cacao crudo con el fermentado ($1,72$ a $1,83$ meq. de NaOH /g de muestra).

Al comparar la acidez del cacao fresco ($1,72$ meq de NaOH /g de muestra), con la del cacao secado al sol ($1,55$ meq de NaOH /g de muestra) se observó una disminución significativa ($P \leq 0,05$) de la misma, atribuida a una merma de los componentes volátiles por efecto del secado; principalmente de los ácidos orgánicos volátiles y a la formación de compuestos no volátiles precursores del "flavor". Hashim *et al.* (1999), señalaron que el proceso de secado tiene como fin completar el proceso oxidativo iniciado durante la fermentación y que juega un rol importante en la reducción de la astringencia, amargor y la acidez de las almendras.

Además, se observó una disminución significativa de la acidez por efecto del tostado a 150°C pasando de $1,55$ meq de NaOH /g de muestra en el cacao secado al sol a $1,30 \pm 0,01$ meq de NaOH /g de muestra, en los granos tostados; coincidiendo con lo reportado por Pérez *et al.* (2002) y Lares (2007).

Jinap y Dimick (1990), plantearon que las concentraciones significativas de los ácidos residuales encontrados en los productos derivados de los granos, podrían ser el resultado de las altas concentraciones iniciales encontradas en las almendras tratadas. La formación de ácidos grasos volátiles de cadena corta está relacionada con el grado de aireación de la masa en fermentación y su contribución al sabor y aroma del chocolate es dependiente de la concentración de los mismos (López y Quesnel, 1973; Jinap y Thien, 1994).

De igual forma, Jinap y Dimick (1990) evaluaron el efecto del tostado sobre el pH y la acidez de granos curados comerciales provenientes de 13 países, encontrando que un efecto prolongado en el tostado produce una disminución de la fracción de los ácidos volátiles, con ligero incremento en el pH, lo cual concuerda con nuestros resultados al comparar el proceso de secado y tostado por separado. Los citados autores, clasificaron los granos curados procedentes de Chuao como ligeramente ácidos y con valores de pH intermedio.

Composición de ácidos grasos de la manteca extraída de los granos de cacao en diferentes etapas del beneficio

Como se observa en el Cuadro 3, el porcentaje de ácidos grasos insaturados y saturados en el cacao fresco (34,96 y 54,42%, respectivamente), son ligeramente mayores que en el cacao fermentado (34,22 y 53,44%, respectivamente); también, mayores que en el cacao fermentado y secados al sol (34,04 y 51,37%, respectivamente). Esta disminución se puede relacionar al efecto de la fermentación, ya que los microorganismos en general presentes consumen los nutrientes para su reproducción.

Del mismo modo, se ha reportado que las bacterias fermentativas son capaces de oxidar y transformar ciertos compuestos, causando la muerte del embrión, produciendo gran cantidad de CO₂ y de agua (Forsyth, 1952 y Hardy, 1960; citados por Hansen *et al.*, 1998).

Los valores encontrados de ácidos grasos saturados de los granos del cacao fermentado, secado al sol y tostado fue 52,43% y para el cacao fermentado y secados 51,37%, observándose que el ligero aumento podría ser atribuido al proceso de tostado o a factores tales como rearrreglo en el grado de saturación de los ácidos grasos, por lo que se recomendaría un estudio estructural por resonancia magnética nuclear (RMN) de estos ácidos grasos.

Los niveles de los ácidos grasos insaturados fueron menores que los saturados, lo cual es característico de estas grasas (Sotelo *et al.*, 1990; Bruni *et al.*, 2000). El porcentaje de ácidos grasos insaturados de los granos del cacao fermentado y secados al sol fue de 34,04%; menor que los del

cacao fermentado secado y tostado. El contenido de ácidos grasos insaturados de estos últimos, es mayor, aunque no significativo ($P \leq 0,05$), al compararse con el secado al sol (Cuadro 3), se puede inferir que en el tostado se produce un rearrreglo en el grado de saturación de los ácidos grasos induciendo a un aumento de los ácidos grasos insaturados.

El grado de saturación de las grasas incide en su punto de fusión, es decir a menor grado de insaturación, disminuye el punto de fusión (Chaiseri *et al.*, 1989).

La temperatura del punto de fusión de la manteca de cacao es un factor de suma importancia para la industria chocolatera, especialmente en confitería y en la fabricación de barras (Cook y Meursing, 1982; Martin, 1987) dado que a temperatura ambiente y de almacenamiento la manteca es firme pero tiende a fluir a temperatura corporal.

El punto de fusión proporciona los indicios más importantes sobre las cualidades funcionales de la manteca de cacao que es el componente que determina su dureza y produce en la boca la sensación a chocolate (Lehrían y Kenney, 1980). De allí la importancia de la determinación de la composición y la relación de ácidos grasos saturados e insaturados.

Cabe señalar que la combinación de ácidos grasos saturados e insaturados en el cacao le confiere unas características particulares, ya que los triglicéridos de su manteca son una combinación de ácidos grasos saturados (palmitico y esteárico) y ácidos grasos insaturados (oleico y linoleico) en niveles significativos y bajo la forma de triglicéridos monoinsaturados, tales como POP, POS y SOS; donde P, S y O corresponden a las abreviaciones de los residuos de los ácidos grasos palmítico, esteárico y oleico, respectivamente; sin considerar su posición en la molécula de triglicéridos (Chaiseri *et al.*, 1989) y en correlación con el grado de dureza de la manteca de cacao (Lehrían y Keeney, 1980).

Las características de dureza de la manteca de cacao están relacionadas con los altos niveles de ácidos grasos saturados razón por la cual estas mantecas son más duras o firmes (Chaiseri *et al.*, 1989).

Cuadro 3. Composición de ácidos grasos de la manteca extraída de los granos de cacao de Chuao en diferentes etapas del beneficio.

Parámetros	C16:0* (ácido palmítico)	C16:1* (ácido palmitoleico)	C18:0* (ácido estearico)	C18:1* (ácido oleico)	C18:2* (ácido linoleico)	% ácidos grasos saturados	% ácidos grasos insaturados
Gf	31,32±0,01 a	0,61±0,02 d	23,10±0,01 b	26,72±0,03 a	7,631±0,01 b	54,42±0,01 a	34,96±0,01 b
GF	30,43± 0,01 a	0,71±0,01 c	23,01±0,01 b	26,43±0,02 a	7,09±0,03 b	53,44±0,04 b	34,22±0,02 b
GFS	27,99±0,01 b	0,80±0,01 b	23,38±0,02 b	25,66±0,01 b	7,58±0,04 b	51,37±0,01 d	34,04±0,01 b
GFST	27,42±0,01 b	1,11±0,02 a	25,02±0,00 a	25,53±0,01 b	8,55± 0,01 a	52,43±0,01 c	35,19±0,01 b

Gf =Granos frescos; GF=Granos fermentados; GFS=Granos fermentados y secados al sol; GFST=Granos fermentados, secados al sol y tostados.

*Los resultados expresan el promedio ± la desviación estándar. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$).

En el Cuadro 3, se observa el perfil de ácidos grasos de la manteca extraída de Gf, GF, GFS y GFST. Los ácidos palmíticos, oleicos y esteáricos son los ácidos grasos más representativos y en menor concentración se observa el ácido linoleico y palmitoleico. La disminución que se observa en la concentración del ácido palmítico es por efecto del proceso de secado al sol. El proceso de fermentación transforma ciertos compuestos; como por ejemplo las enzimas que actúan sobre los polifenoles y las proteínas, atribuyendo que en los ácidos grasos podrían estar ocurriendo reacciones similares.

El ácido linoleico muestra concentraciones semejantes, al comparar el cacao crudo con el cacao fermentado y el cacao fermentado y secado al sol, a diferencia del cacao fermentado, secado al sol y tostado, donde se aprecia un aumento. En el caso del ácido palmitoleico se observó un aumento significativo ($P \leq 0,05$) en los tres procesos.

Existen versiones divergentes sobre las ventajas de las grasas del chocolate. Pero se ha demostrado que la manteca de cacao no afecta las concentraciones de colesterol total, ni de lipoproteínas de baja densidad (LDL), posiblemente por el efecto del ácido esteárico o a la composición única de sus ácidos grasos, que sumado a sus componentes fenólicos, le confieren propiedades metabólicas especiales (Decker, 1996).

Al comparar el porcentaje de ácido palmítico y oleico en los GFS y GFST, no se observaron diferencias, mientras que en el ácido esteárico si se observó un aumento. Los ácidos linoleico y palmitoleico tendieron a aumentar significativamente ($P \leq 0,05$) por efecto del tostado; asociándose estos resultados con reacciones entre los ácidos grasos insaturados de oxidación o rearrreglos en la estructuras de los ácidos grasos saturados.

CONCLUSIONES

Se observó disminución en el porcentaje de la testa por efecto de la fermentación y tostado, lo cual es de interés para la industria; ya que éste se relaciona con el contenido de grasa. Igualmente, diferencias estadísticamente significativas en la composición proximal y en el contenido de ácidos grasos saturados por efecto del beneficio los cuales disminuyen.

El contenido de los ácidos grasos insaturados se mantiene constante hasta experimentar un aumento no significativo durante la etapa del tostado.

La evaluación del perfil de ácidos grasos es importante en las diferentes etapas del beneficio, ya que la calidad de un chocolate está en función de la cantidad y tipo de ácidos grasos.

Con los datos obtenidos en esta investigación se puede establecer los índices de calidad del producto final de esta región.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen el financiamiento al Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología FONACIT a través de los Proyecto No. 2002000378 y 2000000199 y al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) a través del Proyecto individual PI 09-00-7035-2007.

LITERATURA CITADA

- Alvarez, C., E. Pérez, E. Cros, M. Lares, F. Davrieux and S. Assemat. 2012. The use of near infrared spectroscopy to determine the fat, caffeine, theobromine, and (-) epicatechin, contents in unfermented and sun-dried *Criollo* cocoa. *Journal of NIRs*. 20(2):307-315.
- Álvarez, C. 1998. Caracterización, física, química y físico-química de granos tostados de cacao (*Theobroma cacao* L.) cosechados en tres zonas del estado Aragua: Chuao, Cuyagua y Cumboto. Tesis de Maestría. Curso Interfacultades de Postgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias.
- Association of Official Analytical Chemists International (AOACI). 2011. Official Methods of Analysis of the A.O.A.C.I. Ed. K. Helrich, USA, Washington.
- Biehl B., B. Meyer, G. Crone and L. Pollmann. 1985. Chemical and physical changes in the pulp during ripening and post harvest storage cocoa pods. *J. Sci. Food Agric*. 48:189-208.

- Bruni, R., E. Bianchini, L. Betarello and G. Sacchetti. 2000. Lipid Composition of Wild Ecuadorian *Theobroma subincanum* Mart. seeds and comparison with two varieties of *Theobroma cacao* L. J. Agric. Food Chem. 48:691-694.
- Chaiseri, S., D. H. Arruda, G. A. Dimick and G. A. Enrique. 1989. Thermal Characteristics and Composition of fats from *Theobroma* species. Turrialba. 39(4):468-472.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). 1995. Norma venezolana N° 50. Clasificación de lotes de granos de cacao de acuerdo a las proporciones de granos defectuosos. Ministerio de Fomento. Caracas. Venezuela.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) N° 2281-85. 1985. Aceites y grasas vegetales. Determinación de ácidos grasos por cromatografía de gases. Norma Venezolana. Fondo Norma. Ministerio de Fomento. Caracas. Venezuela.
- Cook, L. R. and E. H. Meursing. 1982. Chocolate production and use. Harcourt, Brace Jovanovich Inc., New York.
- Cross, E. 2000. Factores condicionantes de la calidad del cacao. In: Memorias del I Congreso del Cacao y su Industria, Maracay, estado Aragua. pp. 16-32.
- Cross, E. et N. Jean-Jean. 1997. Formation de L'arome cacao. In: Cacao et Chocolat production, utilization caractéristiques. Lavoisier (Paris), á paraitre. Memorias del I Congreso del Cacao y su Industria, Maracay, estado Aragua.
- De Brito, S., E. P. García, N. Gallo, M. Cortelazzo and L. Angelo. 2000. Structural and chemical changes in cocoa (*Theobroma cacao* L.) during fermentation, drying and roasting. J. of the Sci. of Food Agric. 81:281-288.
- Decker, E. A. 1996. The role of stereospecific saturated fatty acid positions on lipid nutrition. Nutr Rev. 54(4Pt1):108-110.
- Dias, J. and M. Ávila. 1993. Influencia do sistema de secagem na acidez das amendoas do cacau (*Theobroma cacao* L.). Agrotrópica. 5(1):19-24.
- Folch, J., M. Lees and G. Sloane. 1958. A simple method for isolation and purification of total lipids from tissues. J. Biol. Chem. 266:497-509.
- Fondo Nacional del Cacao (FONCACAO). 1998. Manual técnico del cultivo del cacao en Venezuela (versión actualizada). Ministerio de Agricultura y Cría. Fondo de Investigaciones Agropecuarias. Estación Experimental de Miranda. Venezuela. 133 p.
- Hansen, C., M. Del Olmo and C. Burri, 1998. Enzyme activities in cocoa beans during fermentation. Journal of the Science of Food Agriculture. 77:273-281.
- Hashim, L. and H. Chaveron. 1994. Extraction and determination of methylpyrazines in cocoa beans using coupled steam distillation-microdistillator. Food Research International 27:537-544.
- Hashim, P., S. Jinap, M. Sharifah and A. Asbi. 1999. Effect of drying time, bean depth and temperature on free amino acid, peptide-N, sugar and pyrazine concentrations of Malaysian cocoa beans. J Sci. Food Agric. 79:987-994.
- Hardy, F. 1961. Manual del cacao. IICA-Turrialba, Costa Rica. 436 p.
- Jinap, S. and P. Dimick. 1990. Acidic characteristics of fermented and dried cocoa beans from different countries of origin. J. Food Sci. 55(2):547-550.
- Jipan, S. and J. Thien. 1994. Effect of drying on acidity and volatile fatty acids content of cocoa beans. J. Sci. Food Agric. 65:67-75.
- Lares, A. 2006. Evaluación del perfil de ácidos grasos en la manteca de cacao de Chuao en diferentes etapas del beneficio. Trabajo de ascenso al escalafón de asistente. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias. pp. 110-322.
- Lares, M. 2007. Diferenciación, caracterización y composición lipídica de la manteca extraída del cacao en dos de los procesos poscosecha. Tesis Doctoral. Postgrado Interfacultades en

- Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias. pp. 38-52.
- Lares, M., R. Gutiérrez, E Pérez y C. Álvarez. 2012. Efecto del tostado sobre las propiedades físicas, composición proximal y perfil de ácidos grasos de la manteca de cacao proveniente de la zona de Barlovento, estado Miranda. UDO AGRÍCOLA. 12(2):439-446.
- Lehrian, D. W. and P. G. Kenney. 1980. Changes in lipid components of seeds during growth and ripening of cocoa fruit. J. Am. Oils Chem. Soc. 2:61-65.
- Lopez, A. S. and V. C. Quesnel. 1973. Volatile fatty acid production in cocoa fermentation and the effect on chocolate flavour. J. Sci. Food Agric. 24:39-326.
- Manual de Productos Básicos. 1991. Cacao Fino de Aroma. Estudio de la producción y el comercio mundial. Centro de Comercio Interno UNCTAD/GATT, Ginebra. 60 p.
- Martin Jr., R. A. 1987. Chocolate. Adv. Food Sci. 31:211-342.
- Mermet, G., E. Cros et G. Georges. 1995. Étude préliminaire de l'optimisation des paramètres de torréfaction du cacao. Consommation des précurseurs d'arome, développement des pyrazines, qualité organoleptique. Café, cacao y té. 36(4):285-290.
- Ortiz de Bertorelli, L., L. Graziani de Fariñas y R. L. Gervaise. 2009. Influencia de varios factores sobre las características del grano de cacao fermentado y secado al sol. Agronomía Trop. 59 (2):119-127.
- Pérez, E., C. Álvarez y M. Lares. 2002. Características físico y químicas de los granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) fermentados, secos y tostados de la región de Chuao. Agronomía Trop. 52(2):161-172.
- Pérez, E., M. Lares y C. Álvarez. 2006. Primer Informe N° S1-2002000378, del Proyecto de FONACIT titulado: Estudio del perfil de calidad y de las características físicas y químicas en almendras de cacao fino aromático (*Theobroma cacao* L.) de la región de Chuao según la época de mayor cosecha y comercialización.
- Powell, B. D. 1981. Calidad de las almendras de cacao. Necesidades del fabricante. El Cacacero Colombiano. 20:24-31.
- Proctor, A. and J. F. Meullnet. 1998. Sampling and sample preparation. In S.S Nielsen (Ed) Food Analysis Second Edition Aspen Publishers, Gaithersburg, Maryland. pp. 71-82.
- Reyes, H. y C. L de Reyes. 2000. El cacao en Venezuela. Moderna Tecnología para su cultivo. Edit. Chocolates El Rey. Caracas, Venezuela. 270 p.
- Sotelo, A., B. Lucas, L. Garza and F. Giral. 1990. Characteristics and fatty acid content of the fat of seeds of nine wild Mexican plants. J. Agric. Food Chem. 38:1.503-1.505.
- Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) Categories 13.0. 2004. JJ. Meulman and WJ. Heiser SPSS, Inc. Web site at. Disponible en: <http://www.spss.com> or contact, SPSS Inc.Chicago, IL USA.
- Stvenson, C., J. Corven y G. Villanueva. 1993. Manual para el análisis de cacao en el laboratorio. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. Red Regional de generación y Transferencia de Tecnología en Cacao. San José de Costa Rica. 66 p.
- Voigt, J., B. Biehl and S. Wazir. 1993. The major seed proteins of *Theobroma cacao* L. Food Chem. (47):145-151.

Detección de los principales virus en brotes de tubérculos y vitroplantas de papa por la técnica DAS-ELISA

Detection of major viruses in potato tubers-sprouts and plantlets by DAS-ELISA technique

Eglys Pichardo¹, Belkis Camacho², Amparo Quintero³, Norkys Meza², Emmy Flores³ y Daxi Segovia³

¹Profesor. Universidad de los Andes. Núcleo Universitario Rafael Rangel. La Concepción, estado Trujillo.

²y ³Investigadores. Instituto de Investigaciones Agrícolas (INIA). INIA Lara e INIA Trujillo, respectivamente. Correos electrónicos: eglyspichardo@ula.ve, 43.jose@gmail.com

RESUMEN

Las enfermedades virales disminuyen el vigor y el rendimiento de las plantas y reducen las posibilidades de usar tubérculos como semilla. El objetivo de este trabajo fue detectar mediante la técnica DAS-ELISA, los virus asociados a clones y variedades de papa, en el control de calidad en semilla básica. El experimento se realizó en el laboratorio fitosanitario del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, donde se analizaron 65 muestras, de vitroplantas y tubérculos, utilizando un kit procedente del Centro Internacional de la Papa (CIP). En las muestras de vitroplantas de las variedades Costanera, María Bonita, INIAFRI, Kennebec, Andinita, Tibisay, Granola y de los clones 392634-21 y 392639-1, se detectaron los virus PVY, PVM, PLRV y PVS. En la variedad Granola se detectaron tres virus (PVY, PLRV y PVS) en María Bonita dos (PVM y PVY), en el resto de los materiales uno. Para el caso de tubérculos de Diacol Capiro, Granola y de los clones 392639-1; 393194-27 y 386328-7, se detectaron los virus PVY, PVM, PLRV y PVS; así se observó infección doble en clones 393194-27 con virus PVY y PVS y 386328-7 con PLRV y PVS. También se obtuvo porcentajes de infección de los virus que fluctúan entre 0 y 20% para tubérculos y de 0 a 33,6% para vitroplantas. Se concluye que al menos unos de estos virus: PVY, PVM, PLRV y PVS se detectaron en los diferentes materiales de propagación, a excepción de las variedades y clones: Esperanza, Atlantic, 392636-31, 392636-4 y 393193-16 que no presentaron resultados positivos.

Palabras clave: *Solanum tuberosum*, serología, clon, variedad.

ABSTRACT

Viral diseases decrease vigor and yield of the plants and reduce the possibilities to use as seed tubers. The aim of this work was to detect by DAS-ELISA, the virus associated to clones and varieties of potato in quality control of basic seed. The experiment was conducted in the plant laboratory of the Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), where 65 samples of tissue culture plants and tubers were analyzed using a kit from the Centro Internacional de la Papa (CIP). In samples of plantlets of Costanera, Maria Bonita, INIAFRI, Kennebec, Andinita Tibisay, Granola and clones 392634-21 and 392639-1 varieties, PVY, PVM, PVS and PLRV viruses were detected. Variety Granola three viruses (PVY, PLRV and PVS) at Maria Bonita two (PVM and PVY) was detected in one other materials. In the case of tubers of Diacol Capiro Granola and clone 392639-1; 393194-27 and 386328-7, the virus PVY, PVM, PVS and PLRV were detected; and dual infection was observed in clones 393194-27 with PVS and PVY virus and PLRV 386328-7 and PVS. Also infection rates of viruses ranging between 0 and 20% for tubers and 0 to 33.6% for plantlets were obtained. We conclude that at least some of these viruses: PVY, PVM, PVS and PLRV were detected in the different propagation materials, except for the varieties and clones: Hope, Atlantic, 392636-31, 393193-16 and 392636-4 that they did not show positive results.

Key words: *Solanum tuberosum*, serologiat, kloon, variety.

INTRODUCCIÓN

En los Andes venezolanos se cultiva papa (*Solanum tuberosum* L.) desde épocas prehispánicas pero su importancia comercial ha ido aumentando en las últimas décadas, siendo en la actualidad el principal cultivo de los valles altoandinos. En Venezuela, las áreas más importantes de producción de papa se encuentran situadas principalmente en los estados Lara, Mérida y Trujillo (Romero y Monasterios, 2008). La producción nacional para el 2011 alcanzó aproximadamente 512.544 t métricas (MAT, 2012).

El insumo más importante en la explotación del cultivo papa, es la semilla, requiriéndose que sea de alta calidad. Sin embargo, debido a su forma de propagación asexual, está sometida a un alto riesgo de contaminación por virus, hongos, bacterias e insectos, durante el desarrollo del cultivo y almacenamiento de los tubérculos-semilla (Rodríguez *et al.*, 1995).

Las enfermedades virales de la papa, a pesar de que en muy pocos casos son de carácter letal, generalmente reducen el vigor de las plantas y las posibilidades de usar los tubérculos como semilla (Hooker, 1980).

García *et al.* (2005) y Salazar (1986), indican que entre los virus que causan mayores efectos negativos en el rendimiento de la papa, se encuentran el Virus Y (potato virus Y, PVY; Potyvirus) y el Virus X (potato virus X, PVX; Potexvirus) y el Virus del enrollamiento de las hojas (potato leaf roll virus, PLRV; Polerovirus).

En la región andina de Venezuela, el cultivo de papa es afectado por una serie de virus entre los cuales se mencionan: PLRV, PVY, PVX, Virus S (potato virus S, PVS), Virus A, (potato virus A, PVA) y Virus del Moteado Andino (potato virus M, PVM), señalado por García *et al.* (2005).

Las pérdidas causadas por los virus son cuantitativas (reducción del rendimiento) y cualitativas (reducción del valor comercial). El tipo y severidad de las pérdidas dependen de la planta, de las condiciones ambientales y del virus. Por ejemplo, los virus PVS, PVX PVM pueden reducir el rendimiento de 5 a 40%; otros como el PLRV o infecciones combinadas de PVX y PVY causan pérdidas hasta de 90%.

En la práctica, las plantas infectadas con virus no pueden ser curadas. Generalmente, la severidad de la enfermedad y su diseminación aumentan de una campaña a otra, a menos que el ciclo de la contaminación sea interrumpido. Una forma efectiva de impedir el ciclo del contagio, es excluir de la multiplicación de semillas, las plantas infectadas de virus. Para este proceso se requiere de la detección de infecciones virales (Salazar, 1986).

El diagnóstico de los virus es complejo, y puede ameritar pruebas específicas como las serológicas y moleculares. La técnica ELISA (ELISA es un acrónimo formado de "Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay") es una prueba serológica de alta sensibilidad que permite probar un gran número de muestras en corto tiempo (Rangel *et al.*, 2006; García *et al.*, 2005).

El objetivo de este trabajo fue detectar mediante la técnica DAS-ELISA, los virus asociados a clones, variedades de papa en etapa de caracterización y tubérculo-semilla para el control de calidad de semilla categoría básica.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se realizó en las instalaciones del laboratorio de fitopatología del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-Trujillo), Venezuela. Se analizaron 65 muestras, de las cuales 45 fueron vitroplantas (quince materiales, tres repeticiones cada uno) y 20 de tubérculos (cinco materiales, cuatro repeticiones cada uno). Se utilizó un kit procedente del Centro Internacional de la Papa (CIP) para la detección individual de los virus PLRV, PVY, PVX, PVS, PVA y PVM en papa, por DAS-ELISA (se dispuso una placa de microtitulación para la detección de cada virus) y se siguió la metodología descrita en el manual de instrucciones de este estuche.

El muestreo se realizó de forma aleatoria en materiales asintomáticos: a) en el caso semilla tubérculo, se colectaron brotes y una pequeña sección de tejido entre la unión del estolón y el tubérculo; b) para el caso de vitroplantas, se consideró cada frasco contentivo de 10 vitroplantas, como una unidad experimental. De cada muestra de semilla tubérculo o unidad experimental se pesó 1 g y se maceró con el buffer de extracción.

Con el extracto se realizó la prueba mediante el uso de anticuerpos específicos para los virus PLRV, PVY, PVX, PVS, PVA y PVM. Las muestras infectadas (reacción positiva) son aquellas que muestran color amarillo, cuya intensidad varía dependiendo de la concentración de virus en la muestra.

Las lecturas de absorbancia se realizaron en un lector de ELISA Multiskan, de 30 a 60 min después de agregar la solución de sustrato, como lo indica el manual de instrucciones. Se incluyó testigo negativo absoluto (cuatro celdas en cada placa de microtitulación). Luego se procedió a aplicar el punto de corte para determinar las muestras positivas; $X = xh + 0,05$. Donde X: muestras del CIP; las muestras positivas fueron aquellas cuya absorbancia fue superior en 0,05 al promedio de las lecturas de los testigos

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las muestras constituidas de vitroplantas de las variedades Costanera, María Bonita, INIAFRI, Kennebec, Andinita, Tibisay, Granola y de los clones 392634-21 y 392639-1, se detectaron al menos uno de los virus PVY, PVM, PLRV y PVS; en este sentido, se observó tres tipos de virus (PVY, PLRV y PVS) en la variedad Granola, dos (PVM y PVY) en María Bonita y en el resto un solo virus.

Asimismo, se presentaron muestras que resultaron negativas, es decir, no se detectó la presencia de virus, tal es el caso de la variedad Esperanza, Atlantic y los clones 392636-4, 392636- 31 y el 393193-16 (Cuadro 1).

Cuadro 1. Virus detectados en vitroplantas de variedades y clones de papa.

Vitroplantas (variedades y clones)*	Muestras analizadas	PVY	PVM	PLRV	PVS	PVX
Costanera	3	3/3	0/3	0/3	0/3	0/3
María Bonita	3	3/3	3/3	0/3	0/3	0/3
Esperanza	3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
INIAFRI	3	0/3	0/3	3/3	0/3	0/3
Atlantic	3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Kennebec	3	0/3	1/3	0/3	0/3	0/3
Andinita	3	0/3	1/3	0/3	0/3	0/3
Tibisay	3	0/3	0/3	0/3	3/3	0/3
Granola	3	2/3	0/3	1/3	2/3	0/3
392636-4	3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
392634-21	3	0/3	0/3	0/3	1/3	0/3
392636-31	3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
393193-16	3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
392639-1	3	0/3	0/3	2/3	0/3	0/3

Estudios anteriores mostraron la presencia del virus PVS en brotes apicales y laterales, en las distintas clases de semilla de Granola (Rodríguez *et al.*, 1995).

Para el caso de las muestras de tubérculos de las variedades Diacol Capiro, Granola y de los clones 392639-1, 393194-27 y 386328-7, se pudo apreciar resultados similares al de las vitroplantas, donde se presentan los mismos cuatro virus. Además, el clon 393194-27 presentó los virus PVY y PVS, y en el clon 386328-7 se detectó PLRV y PVS; este evento se conoce como infección doble (Cuadro 2).

El porcentaje de infección de virus en las muestras de tubérculos fluctúa entre 0 y 20%, donde el virus de mayor frecuencia es el PVS con un 20, seguido de PVY con 15, PLRV y PVM con 5 y PVX con 0. (Figura 1.) Asimismo, se observa para vitroplantas que la infección de los virus oscila entre 0 a 33,6 %, encontrándose con mayor frecuencia a PVY con un 33,6, seguido de PLRV y PVS ambos con 14,29 y PVM con 11,9 (Figura 2).

Los resultados obtenidos en la prueba permiten concluir que al menos unos de estos virus: PVY, PVM, PLRV y PVS, se detectaron en los diferentes materiales de propagación, a excepción de las variedades y los clones: Esperanza, Atlantic, 392636-31, 392636-4 y 393193-16, que no presentaron resultados positivos.

Se detectaron los virus PVY, PVM, PLRV y PVS para las vitroplantas y tubérculos, observándose que el virus PVS presentó mayor porcentaje de

infección a nivel los tubérculos, igualmente, en la variedad Granola se evidencia la infección de tres virus (PVY, PLRV y PVS).

Debe señalarse que la presencia conjunta de dos o más virus en la misma planta, incrementa la manifestación de los síntomas y las pérdidas; esto se observa con mezclas de PVX + PVY y PVY + PLRV pudiendo disminuir la producción de las cosechas hasta en un 80% (Agrios, 2005).

Sin embargo, el PVS aunque causa síntomas suaves, es considerado un virus latente, se estima que puede ocasionar pérdidas en los cultivos de papa que oscilan entre 10 y 20% (Dolby y Jones 1987). Adicionalmente, el PVS presenta una reacción sinérgica con otros virus como el PVX, que conduce a que ocasione síntomas más severos, aumente su tasa replicativa, y por ende, cause un mayor efecto detrimental sobre el número total de tubérculos producidos por las plantas (Nyalugwe *et al.*, 2012).

Aparte de las pérdidas económicas causadas por enfermedades virales que originan la reducción en el número y tamaño de los tubérculos (reducción del rendimiento), están las pérdidas ocasionadas por la disminución de la calidad sanitaria de los tubérculos semilla (reducción del valor comercial de la semilla), por lo que los programas de producción y certificación de semilla, tienen como objetivo la obtención de tubérculos semilla dentro de los límites de tolerancia de infección viral establecidos por el Reglamento de Certificación de Semillas, bajo sistemas estrictos de generaciones limitadas (García *et al.*, 2005).

Cuadro 2. Virus detectados en tubérculos de variedades y clones de papa.

Tubérculos (variedades y clones)*	Muestras infectadas y sanas			
	PVY	PVM	PLRV	PVS
Diacol Capiro	1	0	0	0
Granola	0	1	0	0
386328-7	0	0	1	2
393194-27	2	0	0	2
392639-1	0	0	0	1

*Cuatro tubérculos por muestras

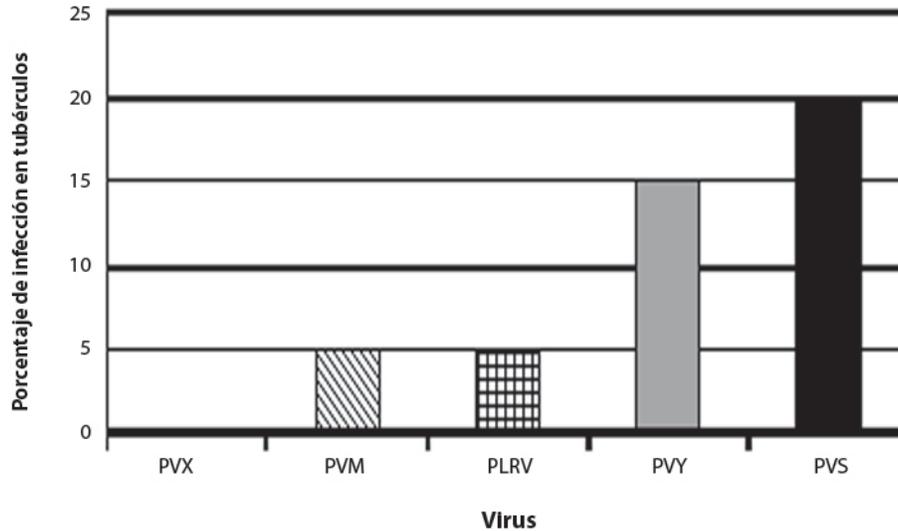


Figura 1. Porcentaje de infección de virus en muestra de tubérculos.

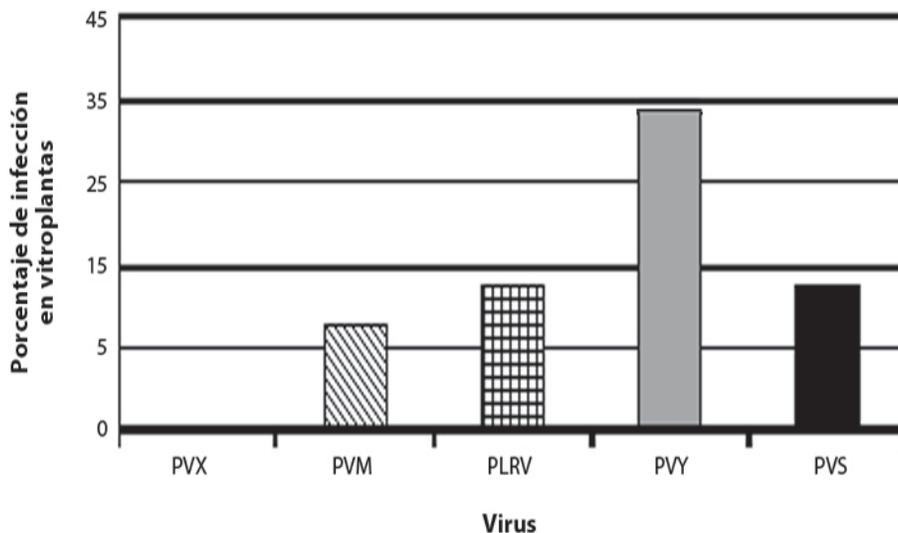


Figura 2. Porcentaje de infección de virus en muestra de vitroplantas.

Al mismo tiempo, se debe contar con material de propagación libre de enfermedades, cuando se realicen pruebas regionales, a fin de garantizar la sanidad de las áreas y campos dedicados a este tipo de ensayos; obteniendo de esta forma, sucesivas multiplicaciones de semilla de alta calidad.

Entre el conjunto de pruebas o técnicas aplicadas para la detección de virus, está la técnica inmunoenzimática de DAS-ELISA. En el presente trabajo,

se evidenció la rapidez y efectividad de esta técnica, como herramienta en la detección de los virus a objeto de estudio.

En aquellos materiales de propagación donde son detectados, y a fin de obtener plantas libres de virus, especialmente cuando se hallan varios virus, se someten a tratamiento con calor y posteriormente al cultivo de meristemos. No obstante, Valenzuela-Herrera *et al.* (2003), indican que la combinación del cultivo de meristemos con

la termoterapia y quimioterapia es efectiva en la erradicación del PVM y PVS, pero en menor grado con PVY; esto conlleva a que luego de los tratamientos antes indicados, nuevamente será necesario aplicar la técnica DAS-ELISA, para verificar que el virus sea eliminado.

En este sentido, la incorporación progresiva del uso de la técnica de ELISA en Venezuela, para la detección de patógenos en plantas, es una necesidad a la que no se ha dado la importancia que tiene, en función de su utilidad para mejorar el control de calidad fitosanitaria de semilla y material de propagación vegetativa.

Los bajos índices de utilización de esta técnica, se explican por la simple aplicación de la ley de oferta y demanda, en la cual, la baja demanda de control de calidad con instrumentos tecnológicos del país en el sector vegetal (ya sea de particulares o agencias del gobierno), limita la ampliación de la oferta tecnológica, a pesar de contar con instituciones con competencias legales y capacidades técnicas para ello. Un medio para corregir esta desviación negativa del mercado, podría considerar la inclusión de una norma de obligatorio cumplimiento y cuya aplicación sea factible técnica y económicamente (Rangel *et al.*, 2006).

CONCLUSIÓN

La detección de los virus a nivel de la producción de semilla reviste gran importancia, ya que se debe garantizar que estas estén libres de patógeno que pueda comprometer la producción a nivel de las diferentes etapas de certificación de las mismas, es por esto que la detección de los virus en diferentes materiales estudiados, nos permiten saber las condiciones fitosanitarias de las mismas, hallando a la técnica de DAS-ELISA como una de las herramientas utilizadas para la detección de los virus. Es importante la detección a tiempo a nivel de vitroplantas, así como a tubérculos, donde una vez detectado el virus se procede a realizar otras técnicas para limpiar el material vegetal que se encuentra infectado.

LITERATURA CITADA

Agrios, G. 2005. Plant pathology. 5th ed. Elsevier, Academic Press, New York, NY.

Dolby, C. A. and R.A.C. Jones. 1987. Occurrence of the Andean strain of *Potato virus S* in imported potato material and its effects on potato cultivars. *Plant Pathol.* 36:381-388.

Converse, R. H. and R. R. Martin. 1990. ELISA methods for plant viruses. **In:** Hampton, R., Ball, E. and De Boer, S. (Eds). *Serological methods for detection and identification of viral and bacterial pathogens.* APS, St Paul, Minnesota, USA. pp. 179-196.

García, R., A. García y J. Garnica. 2001. Detección de virus en sistemas de producción de papa del estado Mérida Sociedad Venezolana de Fitopatología. Vol. 14 N° 2. julio-diciembre. (Resumen).

García, R., L. Niño y A. Vargas. 2005. Problemas sanitarios relacionados con la producción de tubérculos- semilla de papa. **In:** Producción de semilla de papa en Venezuela. Serie Manual de cultivo INIA N° 5. pp. 55-115.

Hooker, W. J. 1982. Compendio de enfermedades de la papa. Lima Perú. Centro Internacional de la Papa. 166 p.

Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras (MPPPAT). 2012. Memoria y cuenta 2012. Tomo I. Caracas. 1.170 p.

Nyalugwe, E. P., C. R. Wilson, B. A. Coutts and R.A.C. Jones. 2012. Biological properties of *Potato virus X* in potato: Effects of mixed infection with *Potato virus S* and resistance phenotypes in cultivars from three continents. *Plant Dis.* 96:43-54.

Rangel, E., A. Schmidt y F. Centeno. 2006. Implementación de la técnica de ELISA para la detección de virus y otros patógenos en plantas en Venezuela. *Revista Digital CENIAP HOY* Número 10, 2006. Maracay, Aragua, Venezuela. ISSN 1690-4117, Depósito legal 200302AR1449. Disponible en: URL: www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n10/arti/rangel_e/arti/rangel_e.htm

Rodríguez, Y., E. Ortega y G. Trujillo. 1995. Detección de los virus PLRV, PVY, PVX y PVS en brotes de tubérculos de papa por la técnica serológica de ELISA. *Revista Latinoamericana de la Papa.* 7(8):94-101.

- Rodríguez, Y., E. Rangel, F. Centeno, O. Mendoza y A. Parra. 2004. Detección de enfermedades virales afectando al pimentón en los municipios Jiménez, Iribarren y Torres del estado Lara, Venezuela, utilizando la técnica ELISA. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 21:105-115.
- Romero, L. y M. Monasterio. 2008. Papas negras, papas del páramo. Un pasivo socioambiental de la modernización agrícola en Los Andes de Venezuela. *Boletín Antropológico*. 64:107-138.
- Salazar, L. F. 1995. Los virus de la papa y su control. Lima, PE, CIP (Centro Internacional de la Papa). 226 p.
- Salazar, L. F. 1986. Detección de virus en la producción de semilla de papa. Montevideo, Hemisferio Sur y Centro Internacional de la Papa. 14 p. (*Boletín de Información Técnica* 18).
- Valenzuela-Herrera, V., E. Redondo-Juárez y R. Bujanos-Muñiz. 2003. Detección de virus por serología y plantas indicadoras en el tubérculo-semilla y plantas de cultivo de meristemas en papa (*Solanum tuberosum* L.) Var. Alfa. *Revista Mejicana de Fitopatología*, Vol. 21 Número 002. Ciudad Obregón, México. pp. 176-180.

Análisis espacio temporal de la precipitación del estado Anzoátegui y sus alrededores

Time-space analysis of rainfall in state of Anzoategui and surrounding

María F. Rodríguez¹, Adriana Cortez¹, Barlin Olivares², Juan C. Rey¹, Raquel Parra³ y Deyanira Lobo³

¹y²Investigadores. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP) e INIA Anzoátegui, respectivamente. ³Profesoras. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Apdo. 4579. Maracay 2101A, estado Aragua. Venezuela. Correo electrónico: mfrdriguez@inia.gob.ve

RESUMEN

En el estado Anzoátegui, la variabilidad en los totales de precipitación ha generado cambios en la actividad agrícola de secano, provocando alteraciones en los rendimientos de los principales cultivos de la zona. Con la finalidad de analizar la variación espacio-temporal de la precipitación del estado Anzoátegui, entre los años 1970 al 2000, se utilizaron los registros de precipitación de 64 estaciones del área de influencia del estado. Los datos fueron sometidos a un análisis exploratorio y geoestadístico para el entendimiento básico de la distribución de las series y así generar mapas de la variación espacial de la precipitación en las décadas de 1970 a 1980, 1980 a 1990 y 1990 a 2000. Los resultados indicaron que el estado Anzoátegui presentó precipitaciones anuales que se incrementaron y se concentraron hacia la zona sur del estado, observándose una variación temporal en los totales anuales de precipitación a lo largo de las tres décadas, reflejada en una disminución de la precipitación anual (100 a 350 mm) en más del 60% del área (zona sur-oeste del estado) y un incremento en más del 35% del estado (zona nor-este). Así mismo, se apreciaron cambios en la estacionalidad interanual, en las décadas del 70 y 80 existía una mayor distribución de las lluvias en el período lluvioso (mayo a octubre), mientras que en la década de los 90 las precipitaciones se concentraron más entre los meses de junio a septiembre.

Palabras clave: precipitación, variación espacio-temporal, estacionalidad interanual, geoestadística.

ABSTRACT

In the state of Anzoategui, variability in the rainfall records has led to changes in the activity of rainfed farming, causing alterations in yields of major crops of the area. To analyze space - temporary variation of rainfall in Anzoategui state, between the years 1970 to 2000, rainfall records of 64 stations of the area of influence of the state were used. Data were subjected to exploratory and geostatistical analysis methods, to understand distribution of the series and make maps of spatial variation of the rainfall in the decades of 1970 - 1980, 1980 - 1990 and 1990 - 2000. Results indicated that state of Anzoátegui had annual rainfall that will increase toward the southern region of the state, a temporal variation was observed in the records of precipitation over the three decades, reflected in a decreasing of annual rainfall (100 - 350 mm) in more than 60% of the area (south - west of the state) and an increase in more than 35% of the state (north - east). Likewise, changes were observed in the inter-annual seasonal, in the 70s and 80s there was a greater distribution of rainfall in the rainy season (May - October), while that in the decade of 90s, the rainfall is concentrated between the months of June - September.

Key words: precipitation, variation space-temporary, seasonal inter-annual, geostatistics.

INTRODUCCIÓN

Las variables climáticas conforman una parte fundamental del ecosistema agrícola. El conocimiento de su comportamiento, cambios temporales, asociaciones e interrelaciones con otros componentes del sistema como cultivo, plagas, enfermedades, entre otros; facilita la planificación agropecuaria, permitiendo una mejor utilización de los recursos (Rodríguez y Messina, 1998).

El conocimiento de la distribución espacial de las lluvias representa un aspecto fundamental para comprender de manera descriptiva los regímenes de precipitación; así como también, la obtención de la clasificación de áreas de acuerdo a la similitud entre estaciones pluviométricas vecinas. En general, las precipitaciones anuales han experimentado un incremento importante en diversas regiones del mundo (Lobo *et al.*, 2010). El análisis de los cambios en la precipitación a distintas escalas espaciales y temporales, es un tema de suma importancia para Venezuela y para el mundo (Guenni *et al.*, 2008).

En el estado Anzoátegui, el incremento de la cantidad de precipitación y la variabilidad ha generado cambios en la actividad agrícola de secano, provocando alteraciones en los rendimientos de los principales cultivos de la zona. El análisis espacio-temporal de variables climáticas es de suma importancia para poder comprender el comportamiento de fenómenos naturales que varían en el tiempo y el espacio, influenciadas por el medio físico que las rodea, es una herramienta de gran utilidad para variadas disciplinas y sirve para la toma de decisiones que pueden afectar las actividades humanas (Olivare *et al.*, 2013).

El presente estudio tiene como objetivo analizar la variación espacio-temporal de la precipitación en el estado Anzoátegui, para el período 1970 al 2000.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estado Anzoátegui está ubicado en la región de los llanos venezolanos, caracterizada por extensas planicies aluviales de topografía plana, entre la desembocadura del río Orinoco en el

oriente, y la cordillera andina en el occidente de Venezuela. Abarca una superficie de unos 250.000 km² distribuidos entre los estados Apure, Barinas, Guárico, Portuguesa, Cojedes y Anzoátegui.

Esta unidad fisiográfica posee un clima tropical lluvioso (Aw), con vegetación típica de sabana en el sur de Anzoátegui, y en el noroeste del estado se presenta una estrecha franja semiárida clasificada como bosque seco (BS; Holdridge, 1957). Para analizar la variación temporal de la precipitación en esta región, se contó con 64 estaciones meteorológicas y pluviométricas (Figura 1). Cada una con valores promedios anuales y decadales a partir de datos diarios, registrados por las estaciones de Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), la Fuerza Aérea Bolivariana de Venezuela (FABoV), el Ministerio del Poder Popular para el Ambiente (MPPA) y la Universidad Central de Venezuela (UCV), para el período 1970 al 2000.

A los datos climáticos se les realizó un control de calidad siguiendo la metodología utilizada por Parra y Cortez (2005), lo que permitió disponer de una adecuada longitud de registros y valores, dentro de rangos aceptables que permitan garantizar resultados confiables.

Se utilizó el software ArcView 3.2 (ESRI, 1996) para georeferenciar cada una de las estaciones con su información atributiva que aporta datos del organismo responsable, nombre de la estación, estado donde está ubicada la estación, código de la estación, tipo de estación, coordenadas geográficas y altitud (Metadata).

El promedio de precipitación mensual y anual, fue sometido a un análisis exploratorio de datos (AED), para el cual se utilizó el programa estadístico Infostat (Infostat, 2011) obteniendo los estadísticos básicos (media, varianza, desviación estándar, coeficiente de variación, curtosis, asimetría, valores máximos y mínimos y cuartiles) y la presencia de valores atípicos.

De acuerdo a los resultados del AED, este estudio se inclinó por la utilización de un estadístico de posición como el Percentil 75 (P75) que indica el valor por debajo del cual se encuentran el 75% de las láminas de precipitación.

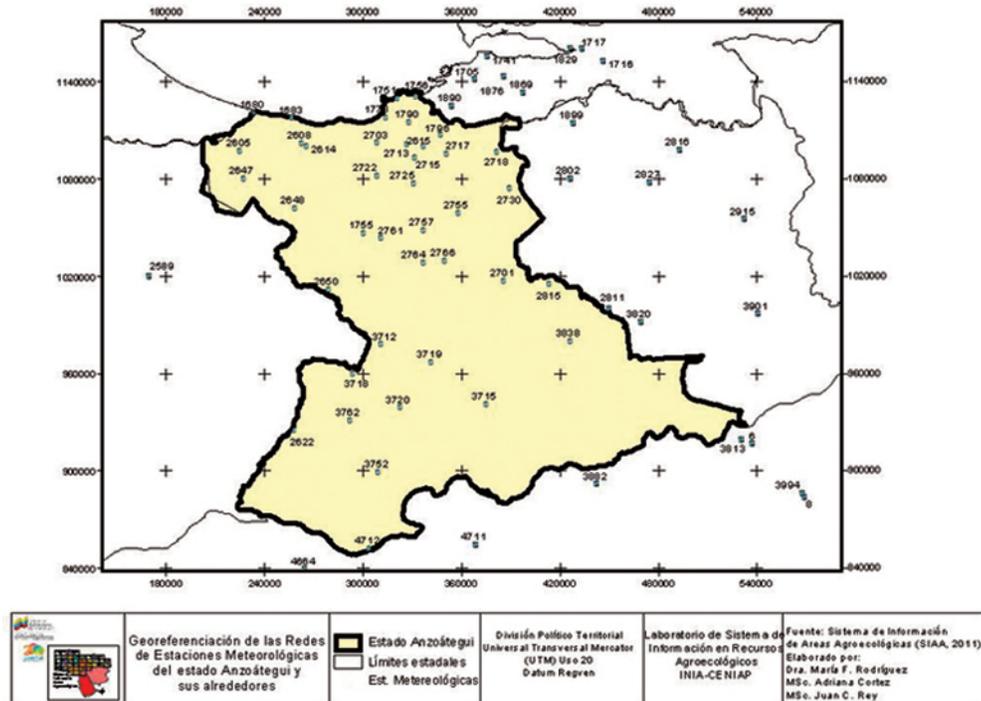


Figura 1. Redes de estaciones meteorológicas del estado Anzoátegui y sus alrededores.

Para el análisis temporal de precipitación se dividieron los datos de P 75% por décadas (1970-1980; 1980-1990; 1990-2000); en las cuales se georeferenció los datos utilizando geoestadística. En este sentido, se construyeron los semivariogramas experimentales, y se ajustaron a modelos teóricos, como base para la interpolación y generación de mapas de isólinas de precipitación del estado Anzoátegui y sus zonas aledañas, mediante el método de Kriging Ordinario (KO) (Minasny *et al.*, 2005). Finalmente se generaron y editaron en los mapas del P75% por década, lo que permitió examinar la variación espacio-temporal de la precipitación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del AED indican que la precipitación media anual en el período 1970 a 2000 varió de un año a otro, fluctuando entre 600 mm durante el año 1997 y 1300 mm en el año 1970 (Figura 2). Por tal motivo, se agruparon los datos de precipitación por década 1970 a 1980, 1980 a 1990 y 1990 a 2000 para facilitar el análisis de la variación espacio-temporal de la precipitación en el estado Anzoátegui.

En el Cuadro 1, se presentan los resultados del AED de la precipitación media anual por década. Los valores de asimetría y curtosis para las tres décadas, evidencian que la precipitación total anual tiene una distribución asimétrica positiva, debido a la presencia de valores extremos superiores a la media y un coeficiente de apuntalamiento (o Curtosis) que indican una distribución más elevada que la normal; sin embargo, el coeficiente de variación refleja una baja variabilidad (<40%).

En presencia de una variable con distribución asimétrica, no es recomendable la caracterización a través del promedio o media aritmética, porque ésta es muy sensible a los valores extremos de la variable; puesto que todas las consideraciones intervienen en el cálculo de la media, la aparición de una observación extrema, hará que la media se desplace en esa dirección corriendo el riesgo de obtener una medida no representativa de la realidad. Por tal motivo, se utilizó un estadístico de posición como el Percentil 75 (P75), que indica el monto por debajo del cual se encuentran el 75% de las láminas de precipitación.

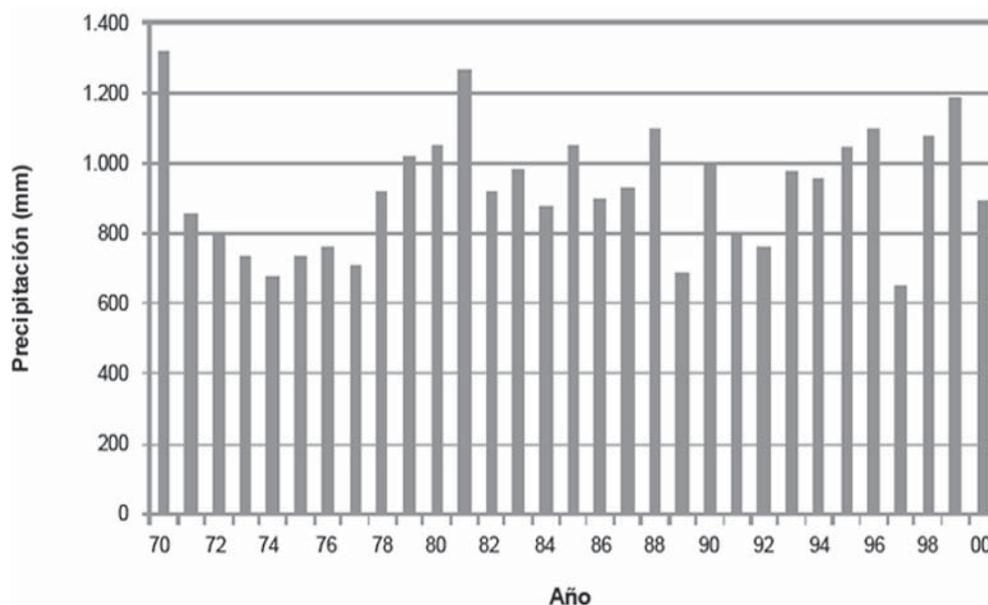


Figura 2. Promedio anual de la precipitación del estado Anzoátegui periodo 1970 al 2000.

Cuadro 1. Estadísticos de la precipitación promedio anual de las décadas 1970-1980, 1980-1990 y 1990-2000 del estado Anzoátegui.

Década	n	Media	D.E.	Var.	CV	Mín	Máx	Mediana	Q1	Q3	Asim	Kurt
1970-1980	64	964,28	321,43	103.320	33,33	327	2,330	932	776	1,082	1,55	4,81
1980-1990	64	1.084,62	337,74	114.070	31,14	392	2,659	1049	906	1,235	1,69	6,77
1990-2000	64	1.026,61	395,89	156.728	38,56	421	2,617	980,5	749	1,227	1,24	3,45

DE: Desviación estándar; Var: Varianza; CV: % coeficiente de variación; Mín: Mínimo; Máx: Máximo; Q1: 1er cuartil (percentil 25); Q3: tercer cuartil (percentil 75); asim: Asimetría; Kurt: Curtosis

En cuanto a la estacionalidad, se presenta un periodo lluvioso bien definido el cual va desde mayo a octubre, y uno seco de noviembre hasta abril, donde el patrón de precipitación para el estado presenta un solo máximo, definiendo el mes de agosto como el mes más lluvioso con $198,4 \pm 14,09$ mm y un mínimo para el mes de febrero con un P75% de $12,5 \pm 2,78$ mm. Sin embargo, al realizar el análisis temporal interanual, se aprecia que en las décadas del 70 y 80 existía una mayor distribución de las lluvias en el período lluvioso entre los meses de mayo a octubre, mientras que en la década de los 90 las precipitaciones se concentraron más entre los meses de junio a septiembre (Figura 3).

Los datos de P75 de precipitación fueron sometidos a análisis geoestadístico, obteniéndose los semivariogramas experimentales y teóricos, en los cuales se apreció un efecto transitivo y anidado, caracterizado por un incremento de la semivarianza con las distancia hasta estabilizarse, y un nuevo incremento de la semivarianza por efecto de la escala de variación (Figura 4).

Los parámetros de los semivariogramas se muestran en el Cuadro 2. Los rangos de dependencia espacial fluctuaron entre 69,76 y 93,75 km y una varianza aleatoria entre 46,82 y 69,14%, indicando una moderada dependencia espacial.

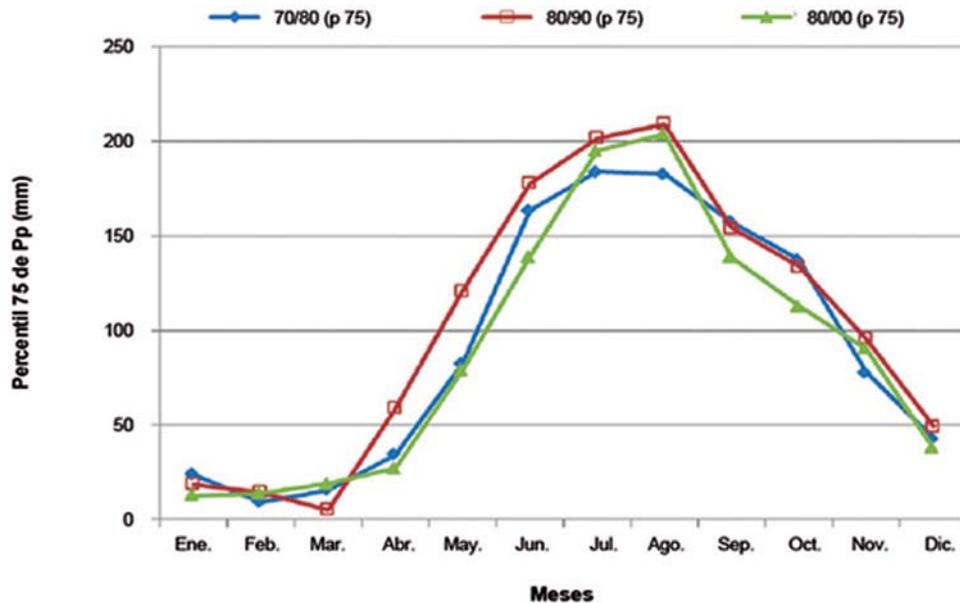


Figura 3. Precipitación media del P75 del estado Anzoátegui, durante las décadas (70-80, 80-90 y 90-00).

A partir de los parámetros de los semivariogramas ajustados, se realizó la interpolación por kriging de la P75 en la precipitación anual para las tres décadas bajo análisis.

En la Figura 5 se observan los mapas de distribución de las precipitaciones promedio anual del P75 para las décadas 70-80, 80-90 y 90-2000, respectivamente. El patrón de distribución espacial muestra una serie de menor a mayor que va en sentido norte a sur del estado y donde los valores oscilan entre 614 ± 265 mm a $1.588 \pm 415,5$ mm.

Por otra parte, se puede observar que los patrones de distribución se incrementan en la década de los 80-90, donde se observan zonas hacia el sur este del estado, con precipitaciones que pasaron de $1.099,7 \pm 376,47$ mm a $1.300,1 \pm 382,87$ mm y de menores precipitaciones de $614,6 \pm 265$ mm a $855,7 \pm 293,25$ mm en la zona norte.

En la década del 90 al 2000 se mantiene la zona sur este-oeste como la de mayor precipitación y aparece una pequeña zona hacia el noreste con un incremento que va desde $1.170 \pm 558,15$ mm a $1.514,7 \pm 561,89$ mm; y las zonas de menores registros cambia significativamente de una distribución espacial de centro este a centro oeste.

En la Figura 6, se observan los mapas de diferencias entre décadas, donde se destaca gráficamente la distribución espacial de la disminución y aumento de la precipitación en el tiempo. En este sentido, en la década de los 80 se aprecia un aumento de la precipitación, con respecto a la de los 70, con valores hasta de 280 mm (95%) en casi todo el estado; solamente en la zona central y en una pequeña parte del suroeste hubo una disminución de los registros de precipitación (-60 mm), abarcando un 5% del área.

Con respecto a la década de los 90 a 80 ocurrió todo lo contrario, gran parte del estado (99,7%) resultó con un registro menor de precipitación de hasta menos 300 mm y solo en una pequeña parte (0,3%) al noreste del estado (límite con Sucre y Monagas) se evidenció un incremento de hasta 100 mm.

Cuando se observa la diferencia entre las década de 90 a 70, la situación cambia, apreciándose claramente que la zona centro oeste resultó más seca, donde alrededor de 34% del área presentó reducciones de -100 mm y una disminución hasta de -300 mm en un 28% del estado. La zona norte y este, resultó más húmeda (150 mm) para el periodo evaluado, abarcando alrededor de 37% del área de estudio.

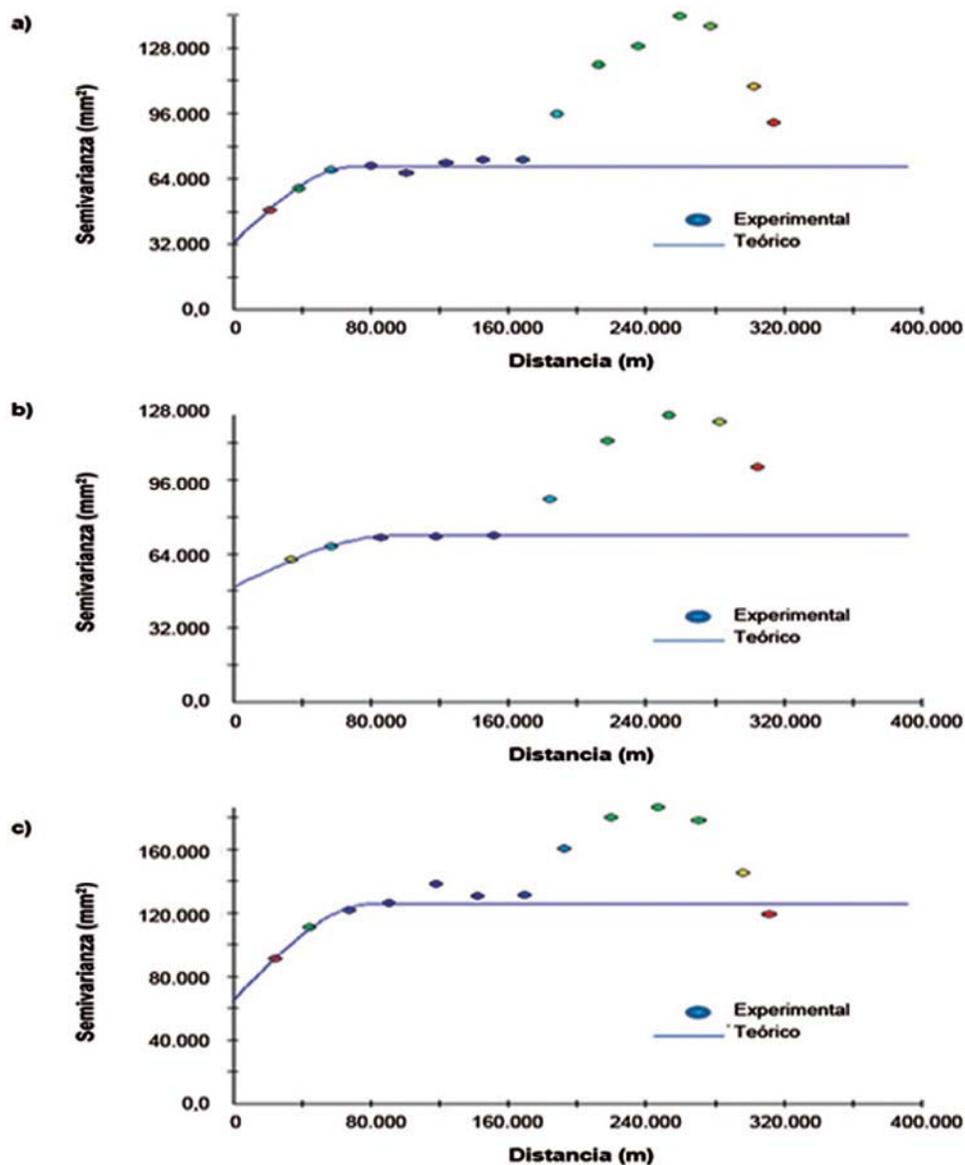


Figura 4. Semivariogramas experimentales y teóricos para los P75% de precipitación anual de las décadas 1970-80 (a), 1980-90 (b) y 1990-2000 (c) del estado Anzoátegui.

Cuadro 2. Características morfológicas y agronómicas de interés para la selección.

Década	Modelo	A (km)	Co+C1	%Co
1970-1980	Esférico	69,76	69.910	46,82
1980-1990	Esférico	93,75	71.867	69,14
1990-2000	Esférico	80,96	125.565	51,41

A: rango; Co: Varianza Aleatoria; C1: Varianza estructural; Co+C1: umbral o sill.

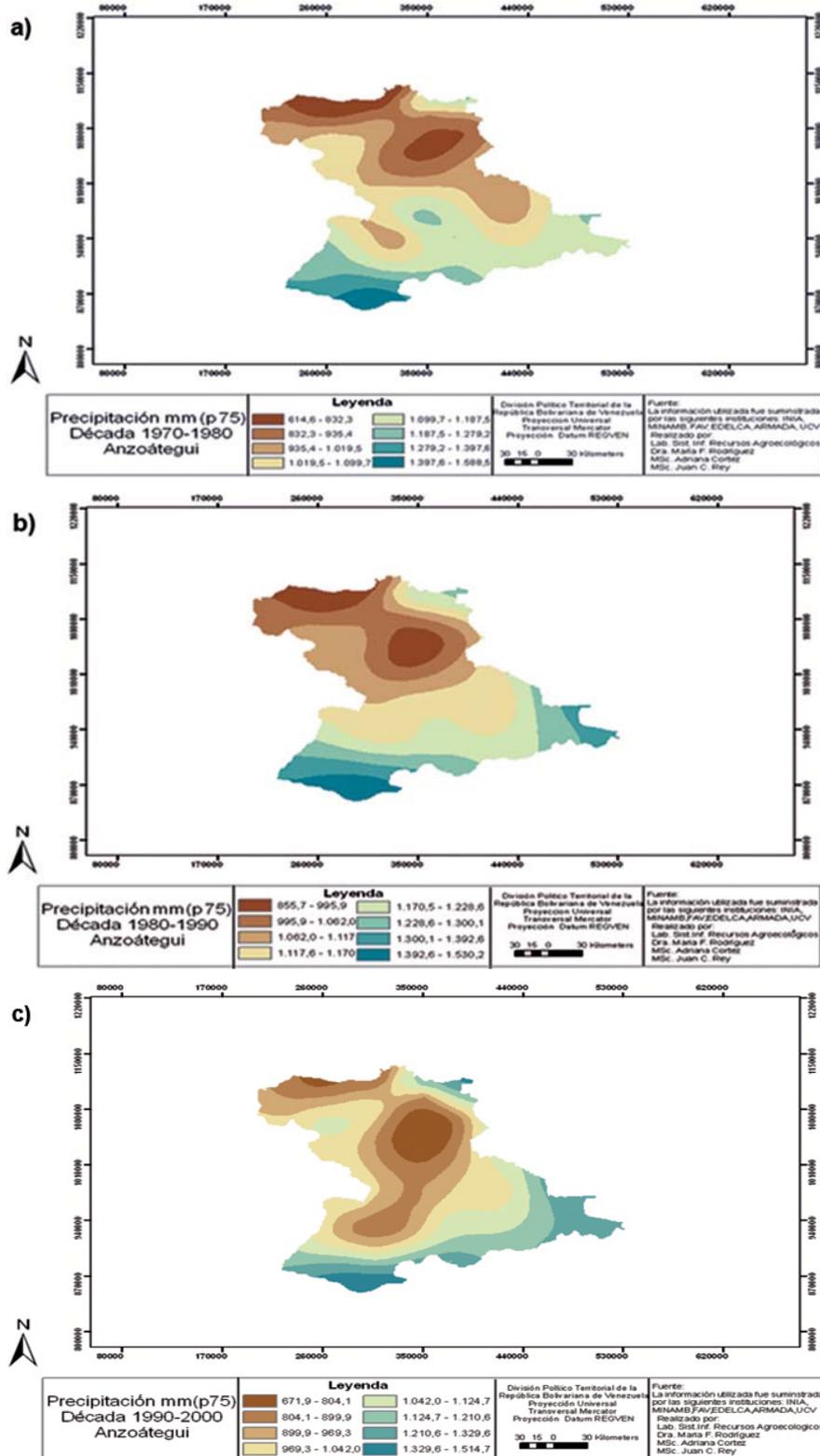


Figura 5. Mapa de distribución de la precipitación (P75%) para las décadas 1970-1980 (a), 1980-1990 (b) y 1990-2000 del estado Anzoátegui.

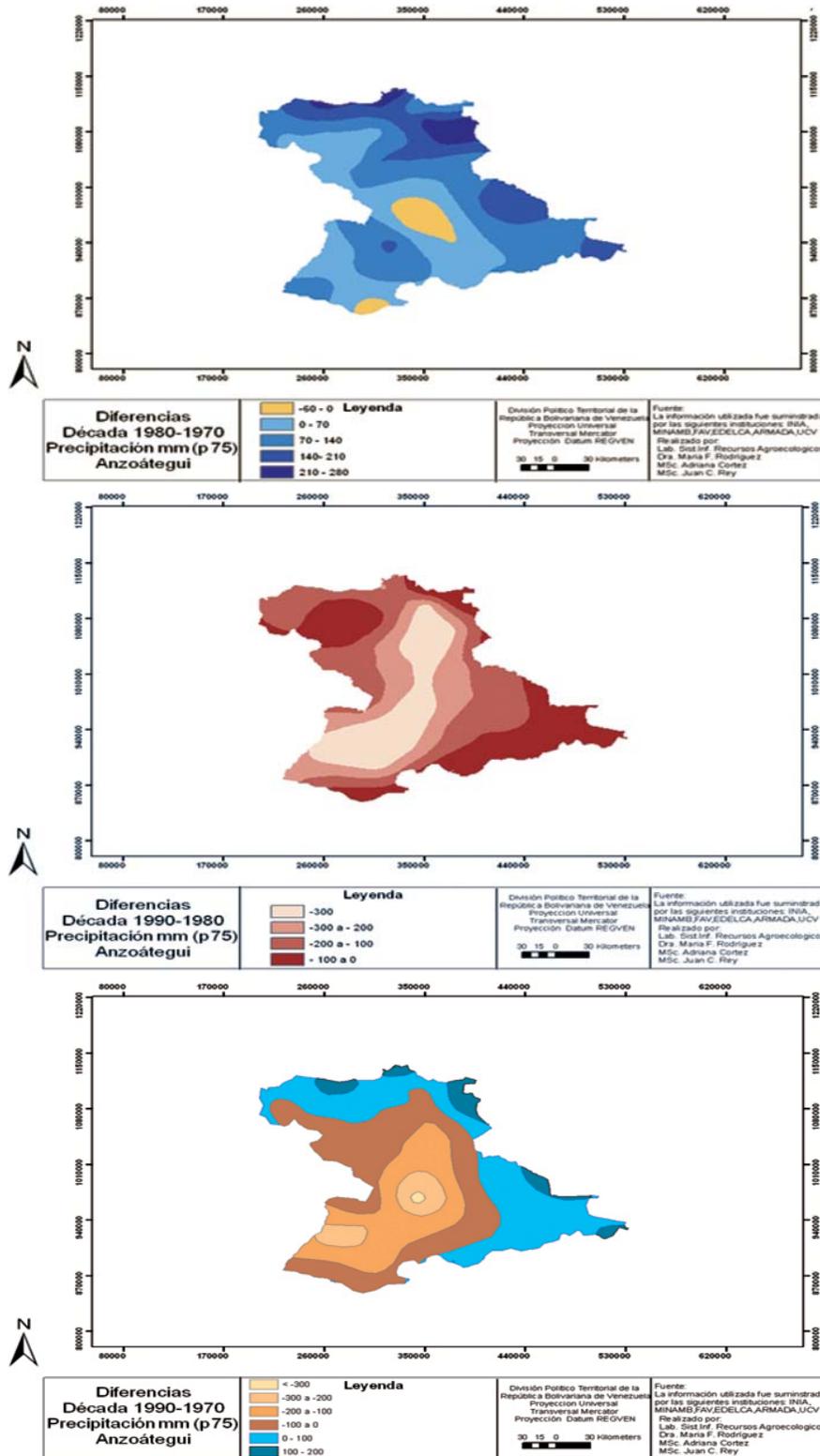


Figura 6. Mapa de distribución espacial de las diferencia del P75 de la precipitación entre las décadas 1980-1970 (a), 2000-1990 (b), y 2000-1970 (c) del estado Anzoátegui.

CONCLUSIONES

El estado Anzoátegui presentó una variación espacio temporal de la precipitación significativa en el período entre 1970 y 2000. Con precipitaciones anuales que se incrementan y localizan hacia la zona sur de la región.

Se observó una variación temporal en los montos de precipitación a lo largo de las tres décadas, reflejada en una disminución importante de la precipitación anual (100 a 350 mm) en más del 60% del área (zona sur-oeste del estado) y un incremento en más del 35% del estado (zona nor-este).

Asimismo, se apreciaron cambios importantes en la estacionalidad interanual, en las décadas del 70 y 80, debido a que existía una mayor distribución de las lluvias en el período lluvioso (mayo a octubre), mientras que en la década de los 90 las precipitaciones se concentraron más entre los meses de junio-septiembre; pasando de 6 meses a 4 meses en la década de los 90.

LITERATURA CITADA

- Esri. 1996. ArcView GIS The Geographic Information System for Everyone. Versión 3.2. Producto ID: 825921104087.
- Guenni, L., E. Degryze y K. Alvarado. 2008. Análisis de la tendencia y la estacionalidad de la precipitación mensual en Venezuela. *Revista Colombiana de Estadística*. 31(1):41-65.
- Holdridge, L. R. 1957. Determination of world plant formation from simple climatic data. *Science* 105 (2727):367-368.
- INFOSTAT. 2011. Grupo Infostat, Versión 2011p. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.
- Lobo, D., A. Cortez, M. Rodríguez, F. Ovalles, J. C. Rey, D. Grabiels y R. Parra. 2010. Análisis de la agresividad climática y concentración de la precipitación en la región de los llanos de Venezuela. *Bioagro*. 22(3):169-176.
- Minasny, B., A. McBratney y B. Whelan. 2005. Vesper version 1.62. Australian centre for precision agriculture, Mcmillan building A05, The University of Sydney, Nsw 2006. Disponible en: <http://www.usyd.edu.au/su/agric/acpa>) Consulta 04 febrero 2011.
- Olivares Barlin, J. Torrealba y L. Caraballo. 2013. Variabilidad del régimen de precipitación en el periodo 1990-2009 en la localidad de El Tigre estado Anzoátegui, Venezuela. *Revista Facultad Agronomía (LUZ)*. 30:19-32.
- Parra, R. y A. Cortez. 2005. Control de calidad de series de precipitación de las estaciones del INIA Venezuela en el periodo 1970-2000. *Rev. Arg. de Agrometeorología*. (5-6): 63-73.
- Rodríguez, G. y C. Messina. 1998. Impacto del Fenómeno "El Niño" en la producción de cultivos en la región Pampeana. Argentina. *INTA*. 16 p.

Comportamiento de variedades de papa en la localidad de Marajabú, estado Trujillo, Venezuela

Performance of potato varieties in Marajabú, state Trujillo, Venezuela

Norkys Meza¹, Pedro Moratinos², Beatriz Daboín², Raiza Riveros² y Fernando Sequera²

¹y²Investigadores. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. INIA Lara e INIA Trujillo, respectivamente. Venezuela. Correo electrónico: nmeza@inia.gob.ve

RESUMEN

El cultivo de papa, *Solanum tuberosum* L., es uno de los rubros más importantes en la zona andina venezolana. La escasez de variedades en el país, impulsa el estudio de la adaptabilidad de las nuevas variedades que ha liberado el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). En este estudio se evaluó el comportamiento de siete variedades de papa Cartayita, Dorinia, Cristalinia, Mukasinia, Montanita, Sin nombre y Granola. Se utilizó un diseño experimental de bloques al azar. Las variables evaluadas sugeridas por el Centro Internacional de la Papa (CIP) fueron: porcentaje de emergencia, altura de la planta (CM), número de tallos aéreos y de tubérculos por planta y el rendimiento en kg ha⁻¹. Las estimaciones del porcentaje de emergencia fue significativamente mayor en las variedades Cartayita y Dorinia 71,25 y 65,63%; en Mukasinia y Cristalinia 56,25 y 55,88%; mientras que Montanita y Sin nombre 48,13 y 24,38%. Las plantas alcanzaron alturas entre 33,38 y 14,30 cm, destacándose Dorinia, Montañita y Cartayita. Las condiciones imperantes en la zona durante el ensayo fueron desfavorables para Granola, como testigo. El número de tallos aéreos por planta fue similar para todos los materiales evaluados. Las variedades Mukasinia y Sin nombre se destacaron con rendimientos de 49.662,36 y 41.696,51 kg ha⁻¹, seguidos de Dorinia, Cartayita, Montañita, Cristalinia y Granola, quienes rindieron 36.733,15; 33.118,27; 30.387,17; 19.119,61; 6.071,50 kg ha⁻¹, respectivamente. Mukasinia y Sin nombre representan un alto potencial para ser sembradas, por demostrar buena adaptabilidad en la zona bajo estudio.

Palabras clave: *Solanum tuberosum* L., desarrollo, rendimiento, tubérculo.

ABSTRACT

The potato *Solanum tuberosum* L., is the most important crop in the Venezuelan Andes. The shortage of existing varieties in the country drive us to study the adaptability of new varieties that the Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) has released. The performance of seven varieties of potatoes Cartayita, Dorinia, Cristalinia, Mukasinia, Montanita, Unnamed and Granola were evaluated. The design was randomized blocks. Evaluated variables suggested by the International Potato Center (CIP) were: emergency percentage, plant height (cm), number of aerial stems and tubers per plant and the yield (kg ha⁻¹). Percentage of emergency was significantly higher ($P < 0.05$) in Cartayita and Dorinia estimated at 71.25 and 65.63%; in Mukasinia and Cristalinia varieties reached 56.25 and 55.88%, while in Montanita and Unnamed was 48.13 and 24.38%, respectively. The plants reached heights between 33.38 and 14.30 cm highlighting the Dorinia, Montanita and Cartayita varieties. Conditions in the area during the trial were very unfavorable for the variety Granola as a witness. The number of aerial stems per plant was similar for all materials evaluated. The Mukasinia and Unnamed varieties obtained higher yields of 49.662.36 and 41.696.51 (kg ha⁻¹), followed by Dorinia, Cartayita, Montanita, Cristalinia and Granola with 36.733.15; 33.118.27; 30.387.17; 6.071.50 19.119.61 kg ha⁻¹, respectively. The Mukasinia and Unnamed varieties have a high potential to be cultivated, due to its good adaptability to the area under study.

Key words: *Solanum tuberosum* L., development, performance, tuber.

INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es uno de los cultivos alimenticios más importantes del mundo y es el principal rubro en el que se sustenta la economía rural en los estados andinos Mérida y Trujillo, y Lara; ocupando el 95,60% de la superficie bajo cultivo (Meza y Valera, 2007).

En Venezuela se consume principalmente la papa fresca, con preferencia por aquellas variedades de coloración externa blanca o amarilla. De allí la importancia de realizar estudios en las variedades establecidas y cultivadas por los productores para diferentes fines; sean para tubérculo-consumo, semilla o en programas de fitomejoramiento para seleccionar materiales genéticos con características deseables según el propósito (Caldiz *et al.*, 1986).

Los productores de papa del país son quienes en el campo están ejerciendo la práctica de reproducción, distribución y almacenamiento (Romero y Monasterio, 2005). Al respecto, la información generada por los actores de la cadena agroproductiva, contribuye directamente en la búsqueda de alternativas de nuevos materiales promisorios de papa que permitan favorecer la producción sostenible de este rubro.

Este trabajo se realizó con la finalidad de evaluar las características agronómicas de siete variedades de papa: cuatro comerciales, dos variedades locales y la variedad Granola como testigo, con el objetivo de determinar el potencial genético para la zona.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en una parcela comercial cultivada en la localidad de Marajabú, parroquia Santiago, municipio Urdaneta del estado Trujillo, Venezuela, a una altitud de 2.600 m.s.n.m., latitud 9°13'39" norte y longitud 70°29'45" oeste; temperatura de 18 °C y humedad relativa de 70%. Las variedades evaluadas fueron: Cartayita, Dorinia, Cristalnia, Mukasinia (variedades comerciales), Montañita y Sin nombre (variedades locales) y como testigo la variedad Granola.

La evaluación de los materiales se realizó siguiendo la metodología propuesta por el Centro Internacional de la Papa (CIP). La fenología del

crecimiento y desarrollo de estos materiales se evidenció a través del porcentaje de emergencia, altura de la planta (cm), número de tallos por planta, número de tubérculos por planta y el rendimiento kg ha⁻¹.

El ensayo se condujo bajo un diseño experimental en bloques al azar con cuatro repeticiones, siete tratamientos correspondientes a cada uno de los materiales; cuatro hilos por parcela de 3 m de longitud y 10 plantas por hilo, la distancia entre hilos fue 0,80 m, cada tubérculo a una distancia de 0,30 m, lo que equivale a 40 tubérculos por tratamiento.

La preparación del terreno se efectuó con arado de bueyes, el aporque a los 45 días después de la emergencia (DDE) junto con la aplicación de fertilizante 12-12-17 y las actividades destinadas al control de malezas, plagas y enfermedades, se realizaron de acuerdo a recomendaciones mínimas de productos químicos indicados en el paquete tecnológico de la zona, valorando las plantas en las hileras centrales en cada tratamiento.

Una vez cosechados los tubérculos se evaluaron las características físicas en cuanto a forma, tipo y color de piel, profundidad de los ojos, color de la pulpa y tamaño. Los análisis estadísticos se realizaron mediante el programa Infostac.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se resumen las características morfológicas y el rendimiento de los materiales evaluados. Para el porcentaje de emergencia, se destacaron las variedades Cartayita y Dorinia quienes mostraron los valores más elevados con 71,25 y 65,63%, respectivamente. Se observaron diferencias significativas en la altura de las plantas para todas las variedades, la mayor altura la alcanzó Dorinia, seguido de Cartayita y Montañita.

El número de tallos por planta fue similar en los materiales evaluados a excepción de Granola y Sin nombre; resultados similares demostrados por Ojeda *et al.* (2010) al evaluar 16 diferentes materiales de papa, entre ellas, la variedad Dorinia.

Cuadro 1. Porcentaje de emergencia, altura, número de tallos/planta, números de tubérculos/planta y rendimiento, en diferentes materiales de papa en Marajabú, estado Trujillo, Venezuela.

Tratamientos	Porcentaje de emergencia	Altura (cm)	Número de tallos/planta	Números de tubérculos/planta	Rendimiento kg ha ⁻¹
Cartayita	71,25 a	27,18 b	1,78 a	12,68 a	33.188,27 ab
Dorinia	65,63 a	33,38 a	2,13 a	11,55 a	36.733,15 ab
Mukasinia	56,25 ab	16,18 c	2,25 a	13,53 a	49.662,36 a
Cristalinia	55,88 ab	24,43 b	1,75 a	11,13 a	19.119,61 bc
Montañita	48,13 ab	27,78 ab	1,90 a	12,78 a	30.387,17 abc
Sin nombre	24,38 bc	14,30 c	1,08 b	10,15 a	41.696,51 ab
Granola	3,13 c	1,67 d	0,13 c	1,27 b	6.071,50 c
Significancia	*	*	*	*	*

*P<0,05; Pruebas de medias: rangos múltiples de Duncan.

En el cultivo de papa se argumenta la alta correlación entre el número de tallos y el rendimiento (Lemage y Caesar, 1990; Lynch *et al.*, 2001); sin embargo, los resultados arrojados en esta investigación sugieren que la expresión final del rendimiento de los materiales evaluados, se debió a su adaptación a las condiciones agroecológicas del sitio experimental, que a la variable número de tallos. El rendimiento fue significativamente mayor en la variedad Mukasinia, seguido de la variedad Sin nombre y Dorinia.

Los resultados de esta investigación son similares a los obtenidos por Quintero *et al.* (2009), quienes al evaluar los clones 392639-1 (Mukasinia) y 393194-1 (Dorinia) a una altura de 2.100 y 2.827 m.s.n.m. No obstante, Rodríguez *et al.* (2008) indican que al evaluar los clones 392639-1 (Mukasinia) y 393194-1 (Dorinia), a una altura de 1.400 m.s.n.m., encuentran resultados inferiores a los generados en este estudio. Estos resultados confirman una mejor respuesta de estos materiales genéticos a pisos altitudinales superiores.

En el Cuadro 2 se presentan los porcentajes de semilla por categorías diferenciadas como: consumo, semilla y pasilla o descarte. Los tubérculos para consumo son aquellos cuyo peso es mayor a 100 g, para semilla son los que presentan entre 99 a 20 g y para el descarte las menores a 20 g. Mukasinia y Dorinia desarrollaron tubérculos más grandes, seguidos de Cartayita

y Sin nombre, es decir, más semilla para el consumo. Granola y Cristalinia produjeron el mayor porcentaje de tamaño para semillas, así como el mayor porcentaje de semilla para el descarte.

En cuanto a la forma de los tubérculos las variedades Cartayita, Montañita, Sin nombre y Granola, presentaron forma redondeada, mientras que Cristalinia y Mukasinia oval redondeada. Los tubérculos con forma redonda ovalada son deseables para el procesamiento de papa en hojuelas, mientras que para papas a la francesa se prefiere la forma oval alargada (Bonierbale *et al.*, 2000). El tipo de piel en todas las variedades fue lisa y de color amarilla, sin embargo, la profundidad de los ojos varió en Cartayita, Dorinia y Cristalinia, las cuales mostraron ojos semi profundos; en Mukasinia, Montañita y Granola, se evidenciaron ojos superficiales (Cuadro 3).

Las condiciones ambientales adversas (fuertes vientos, altas precipitaciones y nubosidad) que imperaron durante el período experimental, fueron determinantes para la obtención de bajos valores en algunos de los indicadores estudiados, tales como el porcentaje de emergencia, el número de tallos por plantas y el rendimiento, determinándose que la variedad Granola demostró ser poco resistente a estos factores abióticos, al comparar sus resultados generales con respecto a las demás variedades evaluadas.

Cuadro 2. Porcentaje de tubérculos por categorías (consumo, semilla y descarte), obtenidos en las diferentes variedades de papa en Marajabú, estado Trujillo, Venezuela.

Tratamientos	Tubérculos para consumo (%)	Tubérculos para semilla (%)	Tubérculos para descarte (%)
Cartayita	53,79 abc	35,59 bc	7,52 c
Dorinia	61,44 ab	28,83 bc	7,43 c
Mukasinia	68,00 a	23,28 c	5,75 c
Cristalinia	36,39 c	43,24 b	15,72 b
Montañita	47,43 bc	39,98 bc	10,83 bc
Sin nombre	53,21 abc	29,91 bc	13,87 b
Granola	9,37 d	68,40 a	22,22 a
Significancia	*	*	*

*P<0,05; Pruebas de medias: rangos múltiples de Duncan.

Cuadro 3. Características físicas de siete variedades de papa, evaluadas en la localidad de Marajabú, estado Trujillo, Venezuela.

Tratamientos	Forma	Tipo de piel	Color de piel	Profundidad de los ojos
Cartayita	Redondeada	Lisa	Amarilla	Semi-profundos
Dorinia	Ovalada	Lisa	Amarilla	Semi-profundos
Mukasinia	Oval-redondeada	Lisa	Amarilla	Superficiales
Cristalinia	Oval-redondeada	Lisa	Amarilla	Semi-profundos
Montañita	Redondeada	Lisa	Amarilla	Superficiales
Sin nombre	Redondeada	Lisa	Crema	Profundos
Granola	Redondeada	Lisa	Amarilla	Superficiales

CONCLUSIONES

Como resultado del análisis de las variables morfológicas de las variedades evaluadas, se puede concluir que Mukasinia, Sin nombre y Dorinia manifestaron los mejores rendimientos y las características ideales para el consumo fresco, por lo tanto, se pueden considerar como una alternativa para ser sembrada en la zona en la que se realizó el estudio. La variedad Granola, a pesar de ser la favorita de los agricultores fue la que obtuvo los menores rendimientos.

LITERATURA CITADA

- Bonierbale, M., W. Amorós y J. Espinoza. 2000. Estrategias y desafíos para el mejoramiento de papa para procesamiento. Simposio Internacional Avances en la Agroindustria de la papa. Nov 28 a Dic 01. 12 p.
- Caldiz, D., J. Alaniz y F. Claver. 1986. Relaciones entre la edad fenológica y el contenido de azúcares totales y reductores en tubérculos de papa destinada a nueva plantación. Turrialba. 36:315-320.

- Lemage, B. and K. Caesar. 1990. Relationship between number of main stems and yield components of potato (*Solanum tuberosum* L. cv. Erntestolz) as influenced by different day lengths. *Potato Research*. 33:257-267.
- Lynch, D., G. Kozub and L. Kawchuk. 2001. The relationship between yield, main stem number, and tuber number in five main crop and two early-maturing cultivars. *Am. J. Potato Res.* 78:83-90.
- Meza, N. y A. Valera. 2007. Determinación preliminar de algunos parámetros de calidad en tubérculos de cuatro clones promisorios de papa (*Solanum tuberosum* L.) y Granola en el estado Trujillo, Venezuela. *Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort.* 51:230-232.
- Ojeda, M., M. Pérez de Camacaro, D. Rodríguez, M. Gallardo y R. Valera. 2010. Evaluación hortícola, producción y calidad postcosecha de clones avanzados de papa en la localidad de Duaca, estado Lara, Venezuela. *Bioagro*. 22(1):17-28.
- Quintero, I., F. Montero, J. Zambrano, N. Meza, M. Maffei, A. Valera y R. Álvarez. 2009. Evaluación de once clones promisorios de papa (*Solanum tuberosum* L.) en el estado Trujillo. I Crecimiento, desarrollo y rendimiento. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 26(3):362-381.
- Rodríguez, D., D. Alcalá de M. y F. Escalona. 2008. Selección inicial de clones de papa por resistencia a la candelilla tardía y rendimiento. *Bioagro*. 20(1):29-35.
- Romero, L. y M. Monasterio. 2005. Semillas actores e incertidumbre en la producción papera de los Andes de Mérida. Realidades y escenarios bajo el contexto político vigente. Cayapa. *Revista Venezolana de Economía Social* Año 5, N° 9. pp. 35-58.

Evaluación de diferentes abonos orgánicos en el desarrollo de plantas de guayaba y calidad de los suelos en vivero

Evaluation of impact of a variety of organic fertilizers on the growth of guava and on the quality of soils in nursery

María Ormeño D.¹, Adrián Ovalle¹, Noris Terán² y Juan C. Rey³

¹Investigadores. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA Mérida) e ³Investigador. INIA CENIAP. Venezuela.

²Investigadora. Fundación CIARA, Mérida.

Correo electrónico: mormeno@inia.gov.ve; ovalleadrian@gmail.com. jcreyb@hotmail.com.

RESUMEN

La guayaba, *Psidium guajava* L., es un cultivo de gran importancia nutricional, sin embargo en Venezuela, no se siembra de forma tecnificada ni a gran escala y se limita actualmente a la zona sur del lago de Maracaibo. Tuvo un auge muy importante en la década de los 90 del siglo 20 pero el cultivo sufrió ataques de plagas y enfermedades que mermaron la producción y obligaron a reubicar las plantaciones en las zonas donde actualmente se encuentran. Otro factor que afectó la producción de este cultivo fue la presencia de nemátodos los cuales pasaron de los viveros a los campos. En este trabajo se presenta una alternativa agroecológica para el establecimiento de viveros de guayaba, evaluando el uso de diferentes abonos orgánicos para conocer el desarrollo de las plantas y su efecto en la calidad química y biológica de los suelos. Para ello se utilizó un testigo T1 (sin ningún abono) y 7 tratamientos (T2 Té de estiércol (20%), T3 vermicompost de lombriz líquido (10%), T4 Azotobacter, T5 Té de estiércol (20%) + Azotobacter, T6 Azotobacter + Solubilizador de Fósforo, T7 Té de estiércol (20%) + vermicompost de lombriz líquido (10%), T8 extracto de raquis de plátano (10%), 4 repeticiones en bloques al azar. El mejor tratamiento fue el T7 para el desarrollo de toda la planta (parte aérea y radicular) seguido por el T3 para el desarrollo de la raíz. Todos los tratamientos mantuvieron o mejoraron la calidad química del sustrato preparado.

Palabras clave: *Psidium guajava* L., municipio Tulio Febres Cordero, Comuna 12 de Octubre.

ABSTRACT

Guava crop, *Psidium guajava* L., has a very high nutritional value, however, its farming in Venezuela is neither extensive nor modern and it is limited to the area south of Lake Maracaibo. It was an important crop in the 90's, but it suffered plagues and diseases that led to a decline in the production of guava and forced its farmers to locate its cultivation to the aforementioned area where it is currently grown. Another factor that negatively impacted the production of guava was the presence of nematodes, which passed from the nurseries to the fields. This study offers an alternative agro-ecological management of nurseries of guava by evaluating the use of different organic fertilizers in order to determine their impact on the growth process of the plants as well as on the chemical and biological quality of the soils. Control group T1 (with no fertilizer) and 7 types of treatments were used: T2 manure tea (20%), T3 worm humus or liquid Vermicompost (10%), T4 Azotobacter, T5 manure tea (20%) + Azotobacter, T6 Azotobacter + phosphorus solubilizer, T7 manure tea (20%) + worm humus or liquid Vermicompost (10%), T8 extract of plantain rachis (10%); 4 random repetitions in blocs were carried out. The best result obtained in plant growth was from treatment T7 (both on the aerial and root parts of the plant) followed by treatment T3 in the development of the root. All the treatments applied maintained or improved the chemical quality of the substrate.

Key words: *Psidium guajava* L., Municipality Tulio Febres Cordero, Comuna 12 October.

INTRODUCCIÓN

La guayaba, *Psidium guajava* L., es un frutal perteneciente a la familia de las Myrtaceae, está ampliamente distribuida en los trópicos y subtropicos, creciendo de forma silvestre especialmente en América y Australia. Se considera originaria de América Tropical continental, cuyo centro de distribución no está bien definido, algunos autores indican que pudiera ser Brasil, otros que pudiera estar ubicado entre México y Perú (Avilán *et al.*, 1992).

En Venezuela se desarrolla preferentemente en zonas cálidas y soleadas del norte del país, desde el nivel del mar hasta los 1.800 m de altitud. Las plantaciones comerciales se desarrollan mejor debajo de los 1.000 m.s.n.m., con temperaturas entre los 18 a 28 °C y precipitación anual entre los 1.000 a 1.300 mm. Precipitaciones excesivas durante la fructificación hacen que los frutos de agrieten y se pierdan. Prospera en una gran variedad de suelos, desde los arcillosos, compactos y húmedos hasta los fértiles, sin embargo, en suelos francos las cosechas serán más abundantes. De acuerdo con Avilán *et al.* (1992) y Hoyos (1994) el pH debe estar entre cinco y seis, sin embargo Singh (2005) indica que debe estar entre cinco y siete.

Según Leal y Avilán (1986) una de las zonas con mayor potencial para la producción de guayaba se encuentra entre la costa oriental del lago de Maracaibo y el pie de monte andino, la cual incluye zonas de los estados Zulia, Trujillo y Mérida (eje panamericano) donde se desarrolló el ensayo. En la década de los 80, el 80% de la guayaba comercial se produjo en el noroeste del lago de Maracaibo. No obstante, la presencia del nematodo *Meloidogyne incognita* y la llegada de la mota (*Capulinia sp.*) causaron la pérdida de 2.000 ha. Las plantaciones fueron reubicadas en el sur y este del Lago de Maracaibo, constituyendo hoy en día las principales áreas de producción del país (Fermín, 2010).

Para el Ministerio del Poder Popular para Agricultura y Tierras (MPPAT, 2013), la superficie cosechada en Mérida fue de 322 ha con 18.828 kg/ha durante el año 2012 y se encuentra distribuida en cuatro municipios: Alberto Adriani, Obispo Ramos de Lora, Caracciolo, Parra y Olmedo y Tulio Febres

Cordero. A nivel mundial los países con mayor producción de guayaba son India, Brasil y Méjico y los mayores importadores son EE. UU., Japón y Europa, los cuales los consumen de forma procesada (Singh, 2005).

El consumo de guayaba no es tan popular en el país, comparado con frutas producidas a mayores escalas y con manejo tecnificado; pese a ser un cultivo de importancia por su valor nutritivo ya sea, de forma fresca o procesada. Es la segunda fuente de vitamina C en el país después de los cítricos (Machado-Allison, 2007), contiene dos a cinco veces más contenido de vitamina C que las naranjas y 10 veces más que los tomates, moderado contenido de calcio, fósforo y buen contenido de hierro (Singh, 2005). También tiene uso medicinal como antidiarreico, anti-inflamatorio, alto contenido de antioxidantes, entre otros.

La guayaba al igual que la lechosa son producidas a pequeñas escalas, su producción está caracterizada por: 1) bajo uso de tecnología; 2) falta de aplicación de manejo fitosanitario; 3) poco conocimiento y falta de mejoramiento genético de los materiales utilizados; 4) poco apoyo (privado o gubernamental) para mejorar las condiciones para exportación; 5) falta casi absoluta de información estadística sobre áreas cosechadas, producción, rendimientos, variedades o tipos utilizados en Venezuela FEDEAGRO (2013) y FAO (2011) no muestran la producción de guayaba como frutal independiente, lo incluyen en el grupo de otros frutales; y 7) la alta variabilidad fenotípica (Fermín, 2010). El mismo autor realiza una revisión bibliográfica sobre los diferentes aspectos relacionados con el cultivo de la guayaba, encontrando que la mayor cantidad de estudios se han realizado sobre las plagas y enfermedades que afectan al cultivo, densidad de siembra y sistemas de producción, poscosecha, y más recientemente sobre genética con marcadores moleculares.

Sin embargo, pese a haber pocos estudios nacionales sobre la fertilización del cultivo, éstos se refieren principalmente a plantaciones adultas y en producción, haciendo énfasis en el uso de fertilizantes químicos. Estudios sobre fertilización orgánica no existen y a nivel de vivero sólo se encuentra el estudio del uso de

micorrizas arbusculares (Chacón y Cuenca, 1998) y la aplicación de abono de chivo en plantas sembradas en bolsas de 5 y 10 kg de suelo (Sánchez-Urdaneta *et al.*, 2010).

Por otro lado, los viveros comerciales que venden plantas de guayaba en el eje panamericano (estados Zulia, Mérida y Trujillo) no cuentan con ningún control sanitario, por lo que la calidad de las plantas vendidas no está regulada ni mucho menos certificada lo cual causó la contaminación de 250 ha de suelos con nematodos en la Comuna 12 de Octubre del municipio Tulio Febres Cordero, Mérida. Es por ello que se planteó como objetivo la necesidad de formar a los productores para que establecieran sus propios viveros, utilizando sustratos y semillas sanas introduciendo un manejo agroecológico en los mismos, con el uso de abonos orgánicos y control biológicos de plagas y enfermedades. Los resultados de este trabajo constituyen un aporte como alternativa de uso para la producción local de viveros sanos de guayaba.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en la parcela del Consejo Comunal de Campesinos Unidos, perteneciente a la Comuna 12 de Octubre (ex Fundo Zamorano Rafael Urdaneta), ubicado en el sector Santa Ana A, parroquia Independencia, municipio Tulio Febres Cordero del estado Mérida. El mismo se encuentra a 57 m.s.n.m y en las coordenadas UTM 0264173 y 1.005.965.

Para la preparación del sustrato se mezcló una parte de arena lavada, dos partes de tierra negra y una parte de estiércol de bovino descompuesta (seca). La mezcla fue cernida. Se desinfectó por el método de solarización (se mojó el sustrato preparado con agua caliente, se extendió de

forma uniforme sobre un plástico transparente y se tapó de forma envolvente y hermética). Este procedimiento se realizó en un sitio despejado del patio para que recibiera la mayor cantidad de sol durante todo el día. Al cabo de seis semanas se abrió, se removió el sustrato para que se ventilara y se procedió al llenado de las bolsas de polietileno para vivero de 1 kg. Se tomó una muestra de sustrato adaptando el método para suelos (Ormeño *et al.*, 2008) para realizar los análisis de fertilidad (Cuadro 1) y fitosanitarios. Se agregó el hongo benéfico *Trichoderma harzarium* producido por INIA, 50 cc por bolsa. La preparación del trichoderma consistió en diluir medio sobre (75 g) en 20 litros de agua.

La semilla fue recolectada por los productores, considerando la productividad del árbol seleccionado (cantidad, tamaño y calidad de frutos). Se limpió la semilla separándola de la pulpa; se secó por un lapso de 15 días. La misma fue pregerminada, colocándola en agua por 5 días. Se desinfectó sumergiéndola 15 min con *Trichoderma harzarium*. Luego se sembraron en bandejas previamente acondicionadas con el sustrato, una semilla por hoyo. Se aplicó el hongo trichoderma (75 g en 20 litros de agua). Se evaluó la germinación cada 8 días desde el momento de la siembra hasta la séptima semana (48 días).

Los productores del Consejo Campesinos Unidos prepararon los abonos té de estiércol y vermicompost de lombriz líquido siguiendo los procedimientos descritos en Ormeño y Ovalle (2007). El extracto de raquis de plátano (consiste en remojar por dos meses en un tanque de agua de 2.000 litros, todos los tallos y desperdicios que sobran una vez que se separan los dedos de los plátanos) fue elaborado por productores del municipio Obispo Ramos de Lora siguiendo la guía de Fundación CIARA (2012) y así ver su efecto en el cultivo de guayaba.

Cuadro 1. Resultados de análisis de fertilidad del sustrato.

	pH 1:2,5	MO (%)	Ca (mg kg ⁻¹)	Mg (mg kg ⁻¹)	K (mg kg ⁻¹)	P (mg kg ⁻¹)	CE (dS m ⁻¹)
Sustrato	7,0	2,31	1.776	642	62	216	0,61

Se utilizaron los biológicos azotobacter y solubilizador de fósforo producidos por Instituto Nacional de Sanidad Agrícola Integral (INSAI) Mérida con el fin de validar su efecto en vivero de guayaba.

Se usó un control (testigo) y siete tratamientos, cuatro repeticiones, 20 plantas por repetición para un total de 80 plantas por tratamiento y 640 plantas en total.

Tratamientos

1. Sustrato + agua (testigo)
2. Sustrato + té de estiércol (20%)
3. Sustrato + vermicompost de lombriz (10%)
4. Sustrato + Azotobacter
5. Sustrato + Azotobacter + té de estiércol (20%)
6. Sustrato + Azotobacter + solubilizador de fósforo
7. Sustrato + té de estiércol (20%) + vermicompost de lombriz (10%).
8. Sustrato + raquis de plátano (10%)

A cada tratamiento se aplicó mensualmente 60 cc/planta, iniciando con la aplicación de los abonos, cuando las plántulas formaron dos hojas verdaderas totalmente extendidas y un segundo brote de hojas. Se realizaron sólo dos aplicaciones de los abonos, porque las plántulas se desarrollaron mucho y las raíces ya estaban sobresaliendo de la bolsa. Se repitió la aplicación de *Trichoderma* en el momento del trasplante y al mes.

En la evaluación del crecimiento de las plántulas de guayaba se extrajeron cuidadosamente las plántulas de las bolsas de cada tratamiento y se realizaron las mediciones finales, considerándose: la altura de la planta al último verticilo (ALT), número total de hojas extendidas (NH), diámetro del tallo tomado a los 5 cm. desde el cuello de la planta (DT), diámetro de la raíz principal a los 5 cm. del cuello del tallo (DR), la longitud de la raíz principal (LR) y el número de raíces secundarias (NR). Para las longitudes se utilizaron reglas graduadas con el sistema métrico universal y para los diámetros se utilizaron dos vernieres digitales. Se midieron las 80 plantas de cada tratamiento.

El análisis estadístico consistió en un análisis univariado para conocer el comportamiento de las variables y eliminar los datos anómalos.

Seguidamente se realizó una prueba de normalidad de Shapiro – Wilks apoyada por los gráficos de distribución empírica de cada variable. Finalmente, se comprobó el efecto de los tratamientos por un Análisis de Varianza y una Prueba de Medias de Tukey con una $\alpha = 0,05$ (Tukey, 1977).

Para conocer el contenido nutricional y características físico-químicas del sustrato después de haber aplicado los abonos, se tomaron muestras compuestas por cada tratamiento, para un total de ocho muestras, las cuales fueron analizadas en el laboratorio de fertilidad del suelo de INIA Mérida. Se determinó el contenido de carbono orgánico (Walkley y Black), fósforo y potasio (Olsen, pH 8,5), calcio y magnesio (Morgan modificado, pH 4,2), pH (suspensión 1:2,5), textura (Bouycoucos), conductividad eléctrica (conductímetro relación 1:5; UCV, 1993).

Se analizaron los contenidos de microelementos hierro (Fe), manganeso (Mn), cobre (Cu) y zinc (Zn) por el método de Mehlich 3 (1984). Además, se realizó un análisis fitosanitario del sustrato en el Laboratorio de Protección Vegetal del INIA Mérida, para el descarte de patógenos y presencia de microorganismos benéficos, utilizando métodos cualitativos, siembra en plato agar, siembra por dilución para detección de bacterias fitopatógenas en medios diferenciales Kelman (+) y Kelman (-), método de tinción de Gram y de flagelo.

El laboratorio de INSAI Mérida estudió la presencia o no de bacterias utilizadas como biofertilizantes, para conocer si permanecían viables después de la aplicación en vivero en las condiciones de alta humedad y temperatura presentes en el eje panamericano (Mérida).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Porcentaje de germinación

Al realizar los análisis de los porcentajes de germinación, los resultados fueron: a la tercera semana 15,78%, a la cuarta semana del 48%, a la quinta semana de 60,08%, a la sexta el 67,91% y a la séptima del 72%. Lo que indica que a pesar de que la semilla se pregerminó, las mismas

presentan mayor porcentaje de germinación al mes y medio.

Características químicas de los abonos utilizados

Los resultados de los análisis de las características químicas de los diferentes abonos orgánicos utilizados en este ensayo se muestran en el Cuadro 2. Se observa que el pH presenta valores desde ligeramente a moderadamente alcalino, más elevados que el suelo utilizado como sustrato (testigo T1; cuadro 1).

El vermicompost de lombriz líquido utilizado fue el preparado por los productores cuyo valor de pH es de 7,9, lo que indica que el humus no estaba completamente maduro; éste debió tener valores cercanos a la neutralidad (Nagavallema *et al.*, 2004), sin embargo, al utilizar abonos producidos por los mismos productores se debe considerar que éstos no mantienen un patrón de calidad, pues por lo general, los productores artesanales no siguen una metodología estándar para la preparación de los mismos, lo que debe ser considerado como variable.

En tal sentido se hace necesario estandarizar los métodos de elaboración de los abonos orgánicos. Asimismo, se observa el contenido de macroelementos expresados en mg kg⁻¹ de los abonos líquidos utilizados.

Cabe destacar que las características químicas del té de estiércol no presentan variaciones considerables dependiendo del tipo de pasto que consuman los bovinos (pastos nativos, pastos mejorados o mezclas), ni de la raza de los

animales (puras o mestizas), ni del piso altitudinal en el cual fue elaborado. Sin embargo, si determina sus características químicas el material parental que dio origen a los suelos donde crecen los pastos que consumen los bovinos o si éstos fueron alimentados con complementos proteicos provenientes de un banco de proteínas (por ejemplo leucaena; Ormeño, 2010).

Aportes de nutrientes y usos de algunos tipos de abonos orgánicos en guayaba

En la mayoría de los países latinoamericanos productores de guayaba (El Salvador, Honduras, Méjico, incluido Venezuela) los productores utilizan estiércol de ganado vacuno como sustituto o complemento de los fertilizantes químicos, en dosis de 20 kg de estiércol de vaca por planta (en producción) por año (CENTA, 2010; INIFAP, 2004; FDA, 1992).

En la India, utilizan de 30 a 40 kg de estiércol de vacuno bien descompuesto mezclado con suelo extraído en hoyos de 75 x 75 x 75 cm. más 1 kg de superfosfato. La IFA (1992) recomienda 10 kg planta⁻¹ de estiércol más 200 g de roca fosfórica en el fondo del hoyo de 60 cm³ en el trasplante de plantas de guayaba.

Brasil Sobrinho *et al.* (1962), citado por Avilán *et al.* (1992) indican que una producción de 10 kg de frutos extrae del suelo 20 g de nitrógeno, 2,3 g de fósforo y 31, 3 g de potasio, siendo el nitrógeno y el potasio los elementos que deben suplirse para una buena producción de frutas. Todos los cultivos extraen nutrientes del suelo por lo que es necesario reponerlos para mantener o mejorar la producción.

Cuadro 2. Características químicas de los abonos orgánicos utilizados.

Abono	pH 1:2,5	Ca (mg kg ⁻¹)	Mg (mg kg ⁻¹)	K (mg kg ⁻¹)	P (mg kg ⁻¹)	CE (ds m ⁻¹)
Té estiércol	8,1	172	152	46.100	894	3,4
Vermicompost	7,9	174	152	44.560	703	2,35
Raquis	8,4	64	13	22.820	70	1,93

Los suelos en donde se produce guayaba en el estado Mérida son ácidos (pH entre valores 3,7 a 6,6) y pobres en nutrientes (bajos en fósforo, calcio, magnesio y materia orgánica), con un sistema de producción basado en el monocultivo a plena exposición solar que no aporta mayor cantidad de nutrientes al sistema. La aplicación de abonos orgánicos como elementos externos al sistema puede mejorar la disponibilidad de nutrientes a las plantas y la calidad de esos suelos (Meléndez y Soto, 2003) que a futuro servirá para tener una mayor producción de guayaba.

El té de estiércol y el vermicompost de lombriz aportan al suelo macronutrientes, especialmente fósforo, potasio, magnesio y calcio, los cuales están más disponibles para suplir los requerimientos de las plantas (Ormeño, 2011). El vermicompost también aporta micronutrientes (Nagavallema *et al.*, 2004).

En cuanto a las plántulas del estudio, estas no presentaron ningún síntoma de deficiencia de nutrientes (nitrógeno, magnesio, azufre, fósforo, calcio ni zinc) descritas por Accorsi *et al.* (1960, citado por Avilán *et al.* 1992).

El uso de vermicompost de lombriz aporta macro y micronutrientes, sustancias promotoras del crecimiento (hormonas), humus, microorganismos formadores de humus y hace más disponible el nitrógeno (Bano *et al.*, 1987, citado por Athani *et al.*, 2005; Nagavallema *et al.*, 2004).

Experimentos realizados en plantas de guayaba de 6 años de edad en la India donde se utilizaron tratamientos con vermicompost de lombriz, lombrices de tierra y combinaciones con fertilizantes químicos, demostraron que el uso de abonos orgánicos contribuyeron a aumentar los rendimientos y calidad de las frutas cosechadas, así como el mayor contenido de nutrientes en las hojas y mayor crecimiento de parámetros vegetativos (Athani *et al.*, 2005).

Naik *et al.* (2005) aplicaron abonos orgánicos en plantas de guayaba de 6 años de edad resultando como mejores tratamientos el uso de vermicompost (10 kg planta⁻¹) y en segundo lugar las excretas de pollo (20 kg árbol⁻¹) para el crecimiento vegetativo de las plantas, la floración, fructificación, rendimientos y calidad de la fruta.

Crecimiento de las plántulas de guayaba con el uso de abonos orgánicos

Los resultados del ANOVA y prueba de medias indicaron que las plántulas de guayaba del tratamiento T7 presentaron mayores valores en las variables de crecimiento vegetativo: mayor altura de las plantas (19,7 cm.), diámetro de tallo (2,8 cm; Figura 1), longitud de la raíz principal (27,8 cm), diámetro de la raíz principal (2,5 cm) y mayor número de raíces secundarias (56; Figura 2). El tratamiento T3 (vermicompost de lombriz líquido al 10%) presentó los segundos valores en las variables relacionadas con las raíces de las plantas de guayaba. La prueba de comparación de medias indica que solo para las variables NR y DR el T7 es significativamente superior a los otros tratamientos; sin embargo, para el resto de las variables (ALT, NH, DT y LR) el T7 se encuentra siempre con los valores más altos, igualado con otros tratamientos (T6, T8, T3 y T4), por lo que se considera T7 como el tratamiento más favorable según los objetivos establecidos.

El fósforo estimula el desarrollo radicular de las plantas por lo que es importante aplicarlo desde la fase de siembra. También es útil para reponer las raíces después de un ataque de nemátodos o gallina ciega (García, 2010), por eso el tratamiento (T7) té de estiércol (20%) más el vermicompost de lombriz líquido (10%) estimuló la producción de raíces secundarias (Cuadro 3). El T8 (extracto de raquis) fue el mejor tratamiento para ser usado como abono foliar porque estimuló la formación de hojas

Los tratamientos con abonos orgánicos proporcionan un vigor integral a las plantas de guayaba, lo cual se manifiesta mediante la correlación positiva que existe entre la altura de la planta (ALT) y diámetro del tallo (DT; 0,55) y entre el DT y diámetro de la raíz (DR; 0,57).

Características químicas de los sustratos después de aplicar los abonos

Por otra parte, se puede observar que la aplicación de todos los abonos orgánicos utilizados mantiene la buena calidad del sustrato elaborado, cuyos valores de nutrientes se encuentra en el cuadro 1, y se mantienen más o menos constantes con la aplicación de todos los tratamientos (Cuadro 4).

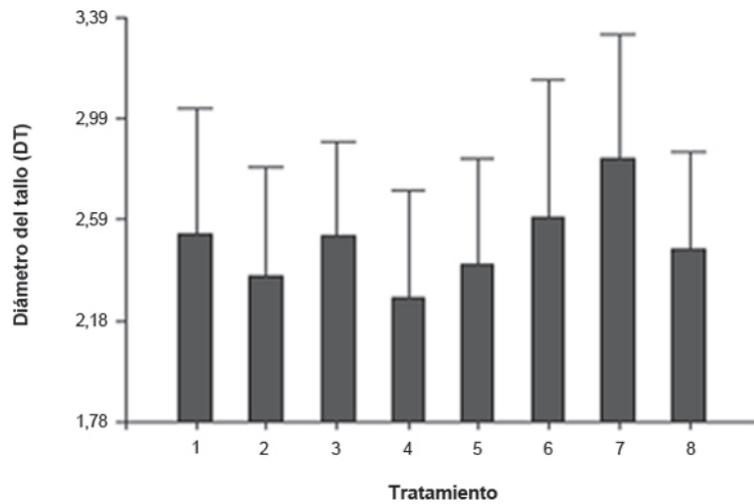


Figura 1. Diferencias en el variable diámetro de tallo en cada tratamiento.

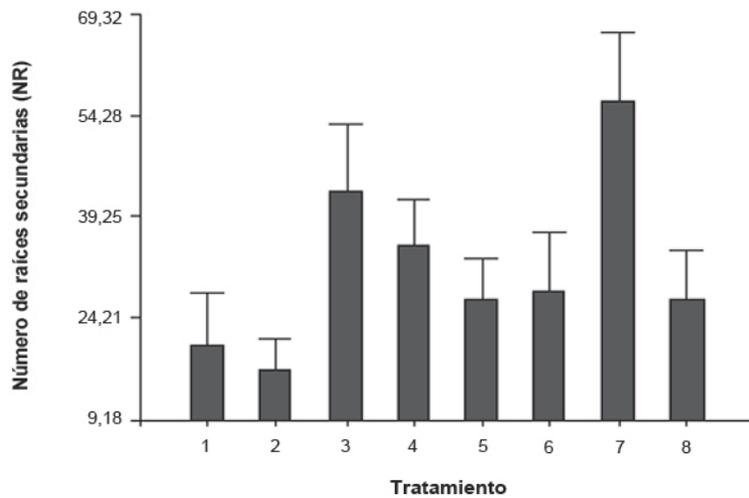


Figura 2. Diferencia en el variable número de raíces cada tratamiento.

Sin embargo, se puede observar que en los tratamientos T6 y T7 los suelos presentan menores valores con respecto al testigo, de los nutrientes magnesio, potasio y fósforo, lo que puede inferir que estuvieron más disponibles para las plantas y disminuyó su cantidad en el suelo.

Por otro lado, las plantas de guayaba abonadas con esos tratamientos también tuvieron los valores más altos en las variables vegetativas medidas, lo que indica por un lado que las

plantas tomaron los nutrientes necesarios para su desarrollo y crecimiento, y por otro que las plantas son capaces de utilizar más rápido los nutrientes aportados por los abonos té de estiércol y vermicompost (T7).

Los valores de pH se mantienen constantes lo cual coincide con lo reportado por Naik *et al.* (2005) que indica que la aplicación de abonos orgánicos ayuda a mantener el pH en valores cercanos a la neutralidad.

Cuadro 3. Resultado de análisis estadístico (comparación de medias) por tratamiento en el desarrollo de plántulas de guayaba.

Tratamiento	ALT (cm)	NH	DT (cm)	LR (cm)	NR	DR (cm)
T1 (testigo)	18,08 abc	16,42 d	2,53 bc	19,74 a	20,28 b	2,18 c
T2	17,13 ab	14,63 ab	2,36 ab	22,92 b	16,49 a	1,79 ab
T3	18,14 abc	14,82 abc	2,52 bc	28,01 d	42,89 e	2,21 c
T4	16,82 a	13,92 a	2,28 a	27,38 cd	35,12 d	1,74 a
T5	17,98 abc	14,81 ab	2,41 abc	25,19 bc	27,28 c	1,86 ab
T6	18,82 cd	15,27 bc	2,60 c	27,00 cd	28,35 c	2,04 bc
T7	19,75 d	15,78 cd	2,83 d	27,88 d	56,14 f	2,51 d
T8	18,43 bcd	16,31 d	2,47 abc	24,04 b	26,90 c	1,87 ab
DMS	1,5575	0,958	0,2154	2,6074	3,7846	0,2652

Prueba de Tukey Alfa (comparación de medias); $P \leq 0,05$; letras diferentes indican diferencias significativas.

ALT: altura total de planta; NH: número de hojas; DT: diámetro del tallo; LR: longitud raíz principal; NR: número de raíces secundarias; DR: diámetro raíz principal.

Cuadro 4. Características químicas de los suelos después de aplicar los abonos orgánicos (T1 al T8).

Tratamiento	pH 1:2,5	Ca (mg kg ⁻¹)	Mg (mg kg ⁻¹)	K (mg kg ⁻¹)	P (mg kg ⁻¹)	MO (%)	CE (dS*m ⁻¹)
T1 (Testigo)	7,3	2.048	524	473	230	2,90	0,25
T2	7,3	2.070	544	487	219	3,11	0,22
T3	7,3	2.270	558	638	255	2,50	0,27
T4	7,4	2.226	494	615	257	3,53	0,26
T5	7,5	2.164	448	672	254	2,96	0,32
T6	7,2	2.060	344	394	195	3,24	0,19
T7	7,2	2.034	310	343	163	3,14	0,15
T8	7,2	2.190	452	451	225	3,24	0,22

Los valores de materia orgánica son superiores al testigo en todos los tratamientos a excepción de T3, Naik *et al.* (2005) mencionan que el aumento del contenido de carbono orgánico, por ende de la materia orgánica, es uno de los factores que más aportan las excretas animales a los suelos.

En un estudio similar realizado por Ormeño y Ovalle (2011) con plántulas de cacao (híbrido San Juan), el aumento de los valores de todos los nutrientes en el suelo fue mucho mayor con respecto al testigo utilizado (tierra local sola, de textura franco arenosa, valores de elevada acidez, bajo contenido de materia orgánica y de todos los nutrientes), incluso elevó los valores de pH.

Por esta razón, se considera que si los productores cuentan con suelos de texturas livianas a medias, pueden usar éste directamente, en vez de preparar un sustrato en el que se invierte tiempo y dinero en insumos (cal, materia orgánica, aserrín, entre otros). Estudios realizados por Ormeño y Zambrano (2011) en plantaciones de cacao en establecimiento en campo, el aumento de los valores de nutrientes, pH y materia orgánica se alcanzó a los 2 años, con la aplicación de

abonos y otras prácticas agroecológicas (cultivos asociados).

En cuanto a los valores de microelementos presentes en el suelo después de haber aplicado los abonos orgánicos, se puede observar en el Cuadro 5, que no fueron alterados en gran medida por los tratamientos, encontrándose en rangos medios el cobre (Cu) y manganeso (Mn) y con valores altos el hierro (Fe) y zinc (Zn).

En cuanto al componente biológico de los suelos, en ninguno de los tratamientos utilizados, hubo presencia de bacterias (fijadoras de nitrógeno ni solubilizadora de fósforo), lo que infiere que las cepas de los biofertilizantes utilizados (elaborados por INSAI Mérida) no resisten a esas condiciones ambientales (altas temperaturas) o las dosis utilizadas (recomendadas en la etiqueta del producto) son muy diluidas para este cultivo. Otra explicación pudiese ser el que existe antagonismo entre los microorganismos presentes en los abonos utilizados (té de estiércol, vermicompost de lombriz líquido y extracto de raquis) con las bacterias, lo cual sería tema de mayor detalle de estudio.

Cuadro 5. Contenido de microelementos en los suelos después de aplicar abonos orgánicos.

Tratamiento	Fe (mg kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)	Mn (mg kg ⁻¹)
T1 (testigo)	142	1	19	29
T2	152	1	13	30
T3	161	2	12	30
T4	158	2	13	3
T5	148	1	10	24
T6	150	1	10	22
T7	142	1	10	204
T8	154	1	8	3

Por otro lado, al evaluar la presencia de microorganismos patógenos se pudo verificar que en ninguno de los tratamientos hubo presencia de los mismos. Se encontró presencia de colonias de microorganismos benéficos (Cuadro 6). Un elevado número de microorganismos indica buena salud del suelo (Barea *et al.*, 1976, citado por Ram *et al.*, 2005) y mejora la disponibilidad de nutrientes para las plantas y los frutos.

La aplicación de fertilizantes orgánicos pudiera ser la mejor propuesta para mejorar los atributos biológicos de los suelos, lo cual en el tiempo pudiera mejorar la calidad en la producción potencial de varios cultivos (Allen *et al.*, 2002,

citado por Ram *et al.*, 2005). Nagavallema *et al.* (2004) señala que el vermicompost es rico en actividad microbiana y en reguladores de crecimiento de las plantas.

Con respecto a la presencia de *Trichoderma* sp. solo dos de los ocho tratamientos (T5 y T6) presentan presencia del hongo benéfico, lo que pudiera inferir que la cepa utilizada de este hongo benéfico no persiste en el suelo bajo las condiciones climáticas de la zona (elevadas temperaturas y humedad relativa) o que pudiese existir antagonismo entre los demás microorganismos presentes en los abonos orgánicos utilizados, lo cual también representaría un tema de estudio.

Cuadro 6. Presencia de microorganismos en el suelo después de haber aplicado los diferentes tratamientos con abonos orgánicos.

Tratamiento	Hongos benéficos	Bacterias	Insectos/plagas
1 (testigo)	<i>Penicillium</i> sp. Esporas de Micorrizas	Bacterias no patogénicas Gam +	
2	<i>Penicillium</i> sp. Esporas de Micorrizas	Bacterias no patogénicas Gam +	Ácaros
3	Esporas de Micorrizas	Bacterias no patogénicas Gam +	
4	<i>Penicillium</i> sp. <i>Rhizopus</i> sp.	Bacterias no patogénicas Gam +	Larvas de insectos
5	<i>Trichoderma</i> sp. Esporas de Micorrizas	Bacterias no patogénicas Gam +	
6	<i>Trichoderma</i> sp. Esporas de Micorrizas	Bacterias no patogénicas Gam +	
7	<i>Rhizopus</i> sp. <i>Penicillium</i> sp.		
8	Esporas de Micorrizas	Bacterias no patogénicas Gam +	

CONCLUSIONES

La aplicación de abonos orgánicos es una forma de aplicar nutrientes para las plantas y mejorar la calidad química y biológica de los suelos.

Todos los tratamientos mantuvieron o mejoraron las características químicas y biológicas evaluadas

de los suelos, así como el desarrollo de las plántulas de guayaba, siendo el mejor tratamiento el T7 (té de estiércol al 20% más vermicompost de humus líquido al 10%), por presentar mejor desarrollo, mayor altura y mayor número de raíces secundarias que le dará mejores condiciones a las plantas para el trasplante en campo.

El segundo mejor tratamiento fue el T6 (Azotobacter más solubilizador de fósforo).

El T8 resultó ser el mejor tratamiento para el desarrollo de las hojas, por lo cual puede usarse como abono foliar.

AGRADECIMIENTO

A la Fundación CIARA por haber apoyado el desarrollo de esta investigación y a la participación activa de las productoras y productores del Consejo Comunal Campesinos Unidos de la Comuna 12 de Octubre, municipio Tulio Febres Cordero, estado Mérida.

LITERATURA CITADA

- Athani, S. I., H. S. Prabhuraj, A. I. Ustad, G. S. K. Swamy, P. B. Patil and Y. K. Kotikal. 2005. Effect of organic and inorganic fertilizers on growth, leaf, major nutrient and chlorophyll content and yield of guava cv. Sardar. Proceeding of the 1st International Guava Symposium. Lucknow (India). Editors G. Singh, R. Kishun and E. Chandra. Acta Hort. 735, ISHS 2007. pp. 351-356.
- Avilán, L., F. Leal y D. Bautista. 1992. Manual de fruticultura. Tomo II. Editorial América, 2da ed. pp. 807-839.
- Chacón, A. y G. Cuenca. 1998. Efecto de las micorrizas arbusculares y de la fertilización con fósforo, sobre el crecimiento de la guayaba en condiciones de vivero. *Agronomía Trop.* 48:425-444.
- Confederación de Asociaciones de Productores Agropecuarios (FEDEAGRO). 2013. Estadísticas agropecuarias Consultado: 26/07/2013. Disponible en: <http://www.fedeagro.org/produccion/Rubros.asp>.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2011. FAO statistical databases (en línea). Acceso 30/05/2013. Disponible en: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>.
- Fermín, G. 2010. On the cultivation of guava in Venezuela. Proc. IInd IS on guava and other *Myrtaceae*. Eds: W. Rohde and G. Fermín. Acta Hort. 849, ISHS 2010. pp. 77-85.
- Fundación CIARA, Terrandina. 2012. Preparación de extracto de raquis de plátano. Proyecto conservación de la biodiversidad en paisajes productivos de los andes venezolanos. Tríptico.
- García, M. A. 2010. Guía técnica del cultivo de la guayaba. Programa MAG-CENTA-FRUTALES. El Salvador. pp. 11-16.
- Hoyos F., J. 1994. Frutales en Venezuela, nativos y exóticos. Sociedad de Ciencias Naturales La Salle, Monografía N° 36. 2da ed. Caracas (VE). pp. 186-188.
- IFA (International Fertilizer Industry Association, FR). 1992. IFA World fertilizer use manual. Paris, FR. 383 p.
- Leal, F. y L. Avilán. 1986. Áreas potenciales para el desarrollo de diferentes especies frutícolas. La guayaba. *Rev. Fac. Agron. (Maracay)*. 14(3-4):157-167.
- Machado-Allison, C. 2007. Consumo de alimentos en Venezuela. Ediciones IESA, Caracas. 272 p.
- Mehlich, A. 1984. Mehlich-3 soil test extractant: a modification of Mehlich-2 extractant. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 15(12):1.409-1.416.
- Meléndez, G. y G. Soto. 2003. Indicadores químicos de la calidad de abonos orgánicos. **In:** Abonos orgánicos: principios, aplicaciones e impacto en la agricultura. San José, CR. pp. 50-63.
- Ministerio del Poder Popular para Agricultura y Tierras (MPPAT). 2013. Estadísticas sobre producción de guayaba. Comunicación personal 30/05/13. Dirección de estadística. Mérida.
- Nagavallema, K. P., S. P. Wani, S. Lacroix, V. V. Padmaja, C. Vineela, M. Babu Rao and K. L. Sahrawat. 2004. Vermicomposting: Recycling wastes into valuable organic fertilizer. Global Theme on Agroecosystems report n° 8. Patancheru 502 324, Andra Pradesh, India. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT). 20 p.

- Naik, M. H. and R. Sri Hari Babu. 2005. Feasibility of organic farming in guava (*Psidium guajava* L.). Proceeding of the 1st International Guava Symposium. Lucknow (India). Editors G. Singh, R. Kishun and E. Chandra. Acta Hort. 735, ISHS 2007. pp. 365-372.
- Ormeño D., M. A. y A. Ovalle. 2007. Producción y aplicación de abonos orgánicos. Maracay, estado Aragua (Venezuela). Revista INIA Divulga, N° 10: 29-35.
- Ormeño D., M. A., C. Garnica y R. Varela. 2008. Recomendaciones para la toma de muestras de suelo con fines de diagnóstico de fertilidad y sanitario. Maracay. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. 16 p. (Serie D, N° 9).
- Ormeño D., M. A. 2011. Evaluación de diferentes abonos orgánicos en el crecimiento y desarrollo de plantas de cacao (*Theobroma cacao* L.). Journal of InterAmerican Society for Tropical Horticulture. 54:103-105.
- Ormeño D., M. A. y A. Ovalle. 2011. Efectos de la aplicación de abonos orgánicos en la calidad química de los suelos cacaoteros y el crecimiento de las plántulas en vivero. In: XIX Congreso Venezolano de Ciencia del Suelo. Memoria. Calabozo, estado Guárico. (VE). 6 p.
- Ormeño D., M. A. y A. Zambrano. 2011. Los cultivos asociados al cacao (*Theobroma cacao* L.) como parte de un agroecosistema son una alternativa para el mejoramiento de la calidad de los suelos. Journal of InterAmerican Society for Tropical Horticulture. 53:31-33.
- Ram, R. A., S. R. Bharguvanshi, N. Garg and R. K. Pathak. 2005. Studies on organic production of guava (*Psidium guajava* L.) cv. Allahabad Safeda. Proceeding of the 1st International Guava Symposium. Lucknow (India). Editors G. Singh, R. Kishun and E. Chandra. Acta Hort. 735, ISHS 2007. pp. 373-379.
- Singh, G. 2005. Recent development in production of guava. Proceeding of the 1st International Guava Symposium. Lucknow (India). Editors G. Singh, R. Kishun and E. Chandra. Acta Hort. 735, ISHS 2007. pp. 161-176.
- Tukey, J. 1977. Exploratory data analysis. Addison-Wesley Publishing Co., Reading, MA, 668 p.
- Universidad Central de Venezuela (UCV). 1993. Métodos de análisis de suelos y plantas utilizados en el laboratorio general del Instituto de Edafología. Instituto de Edafología. Cuadernos Agronomía, año 1, N° 6, noviembre 1993. Maracay (Venezuela). 89 p.

Efecto de la fertilización cálcica y el sistema de siembra en sisal en un sector semiárido del estado Lara

Effect of the calcium fertilization and the cropping system of sisal crop in a sector of the semiarid of Lara state

Pedro Betancourt Yáñez y Yoiber Mujica

Investigadores. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA Lara). Apdo. postal 592. Barquisimeto, estado Lara. Venezuela.

Correo electrónico: pbetancourt@inia.gob.ve

RESUMEN

El Sisal ofrece una alternativa productiva para el clima semiárido del estado Lara. Esta investigación se realizó para evaluar la respuesta de una variedad de sisal (*Agave sisalana*) y el híbrido H11648, a la fertilización cálcica y dos sistemas de siembra. En ocho parcelas de 9 x 12 m, cuatro para la variedad y cuatro para el híbrido se aplicaron cuatro dosis de cal dolomítica (0, 150, 250 y 350 g planta⁻¹). Se midieron altura de planta, número, ancho y largo de hojas cada 30 días durante 12 meses. El diseño fue de bloques al azar con cuatro repeticiones. Se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en los valores de ancho de hoja de acuerdo al tipo de sisal, dosis de cal aplicada y sistema de siembra. Además, hubo un efecto significativo ($P < 0,05$) en la cantidad de hojas por planta de acuerdo al tipo de sisal, pero no en relación a la dosis de cal aplicada ni al sistema de siembra. Para altura de plantas y largo de hoja, se observó un efecto significativo ($P < 0,05$) entre tipos de agave, pero no entre dosis de cal y sistema de siembra. La dosis de cal más adecuada está entre 250 a 350 g planta⁻¹. La variedad de sisal mostró superioridad sobre el híbrido 11648 en cuanto a altura de planta con un valor de 99,6 cm, ancho con valor de 13,66 cm y largo de la hoja con valor de 85,4 cm, pero es menos productora de hojas por planta.

Palabras clave: *Agave sisalana*, híbrido H11648, dosis de cal, rendimiento en hojas.

ABSTRACT

Sisal production offers an alternative under conditions of semi-arid climate of Lara state. This research was conducted in order to evaluate the response of a variety of sisal (*Agave sisalana*) and hybrid H11648, to calcium fertilization and two planting systems. Eight plots of 9 x 12 m, four for the variety and four for the hybrid were established. Four doses of dolomitic lime (0, 150, 250 and 350 g / plant) were applied. Five plants of the three central rows per plot, every 30 days, were measurements of plant height, number, length and width of leaves during 12 months. The design was a randomized block with four replications. Significant differences ($P < 0.05$) were observed in the values of leaf width according to the type of sisal, dose of lime applied and planting system. In addition, there was a significant difference ($P < 0.05$) in the values of leaves per plant according to the type of sisal, but not in relation to the dose of lime applied and the planting system. For plant height and leaf length, a significant difference ($P < 0.05$) between the types of agave, but not at the dose of lime and seeding system was observed. It is concluded that 250 to 350 g / plant is the most suitable lime dose. The variety of sisal, showed superiority over the hybrid 11648 regarding plant height with 99.6 cm, width and length of the blade with values of 13.66 13.66 and 85.4 cm, but is less production of leaves per plant.

Key words: *Agave sisalana*, H11648 hybrid, calcium doses, production of leaves.

INTRODUCCIÓN

El sisal (*Agave sisalana*) por ser una planta xerófila puede cultivarse sin necesidad de sistema de riego en zonas semiáridas, donde las condiciones climáticas limitan el crecimiento de la mayoría de los cultivos (Santiago *et al.*, 2002). Es una planta que crece bien en suelos pobres de Brasil, China y Tailandia, entre otros (Punnapayah *et al.*, 1999).

En Venezuela, el estado Lara, concentra la mayor producción de sisal, específicamente en la zona semiárida de los municipios Urdaneta, Crespo e Iribarren, donde los agricultores disponen de pocas alternativas productivas, por lo que este cultivo es el sustento de aproximadamente 4.000 familias. No obstante, la demanda industrial de fibra de sisal para fabricar sacos y cuerdas, establece una fuerte competencia con las fibras sintéticas de polipropileno, por lo tanto, los agricultores que se dedican a este cultivo reciben pocos beneficios económicos.

El cultivo de sisal se había dejado de estudiar en el país, razón por la cual, la información disponible no está actualizada, sin embargo este rubro está presentando un repunte debido al interés de un nutrido grupo de agricultores, apoyados en las políticas del estado. Generalmente, se siembra la variedad *A. sisalana*, pero en la actualidad se está introduciendo de forma masiva el híbrido 11348, traído de la República Popular de China, como parte del plan de reactivación de la zona sisalera del estado Lara (Fudeco, 2008). El sisal híbrido H11648 requiere suelos sueltos y ricos en calcio, clima seco, con precipitaciones promedios de 800 a 1.200 mm anuales (Fudeco, 2008).

Se siembra mayoritariamente en hileras sencillas mientras que el China la mayoría de las plantaciones están sembradas a doble hilera. En este sentido, se hace necesario generar información sobre el desarrollo vegetativo de este cultivo y la adaptabilidad del híbrido a las condiciones locales.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la fertilización cálcica y dos sistemas de siembra en el desarrollo de la variedad de sisal *A. sisalana* y el híbrido H11648 en un sector del semiárido del estado Lara.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en los terrenos del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas del estado Lara, ubicada en la población de El Cují municipio Iribarren del estado Lara, Venezuela; localizada geográficamente entre las coordenadas 10° 09" Norte y 63° 18" oeste, a una altura de 580 m.s.n.m, llevándose un registro diario de precipitación, evaporación y temperatura (Figura 2).

Se establecieron ocho parcelas de 9 x 12 m, cuatro para la variedad y cuatro para el sisal híbrido. De las cuatro parcelas, dos se sembraron a doble hilera, lo cual se identificó como sistema de siembra 1 (SS1) y dos a hileras sencillas, identificándose como sistema de siembra 2 (SS2). En SS1 se sembró a 1 m entre plantas y entre hileras y 3,5 m entre doble hilera. En SS2 se sembró a 1 m entre plantas y 3,5 m entre hileras.

Antes de la siembra se aplicó humus sólido de lombriz a razón de 1 kg planta⁻¹ y al momento de la siembra se aplicó fosfato diamónico en dosis de 80 g planta⁻¹. Posteriormente se aplicaron las siguientes dosis de cal dolomítica: 0, 150, 250 y 350 g planta⁻¹ siendo denominados: T1, T2, T3 y T4, respectivamente.

Las mediciones se realizaron por parcela en cinco plantas de cada una de las tres hileras centrales, durante 12 meses a un intervalo de 30 días. Las variables a medir fueron: altura de planta, desde la base en el suelo hasta las puntas de la hojas apicales; número de hojas, contándose desde la base del tallo hasta la última hoja expuesta; ancho de la hoja, midiéndose en la parte media; y largo de la hoja, desde la base hasta el ápice.

El diseño fue de bloques al azar con cuatro repeticiones (Figura 1) y la unidad experimental de una planta, para un total de 64 unidades experimentales. Para el análisis de datos se empleó el procedimiento ANOVA del programa estadístico SAS (Jonhson, 2000) y la comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey (Martínez y Martínez, 1996).

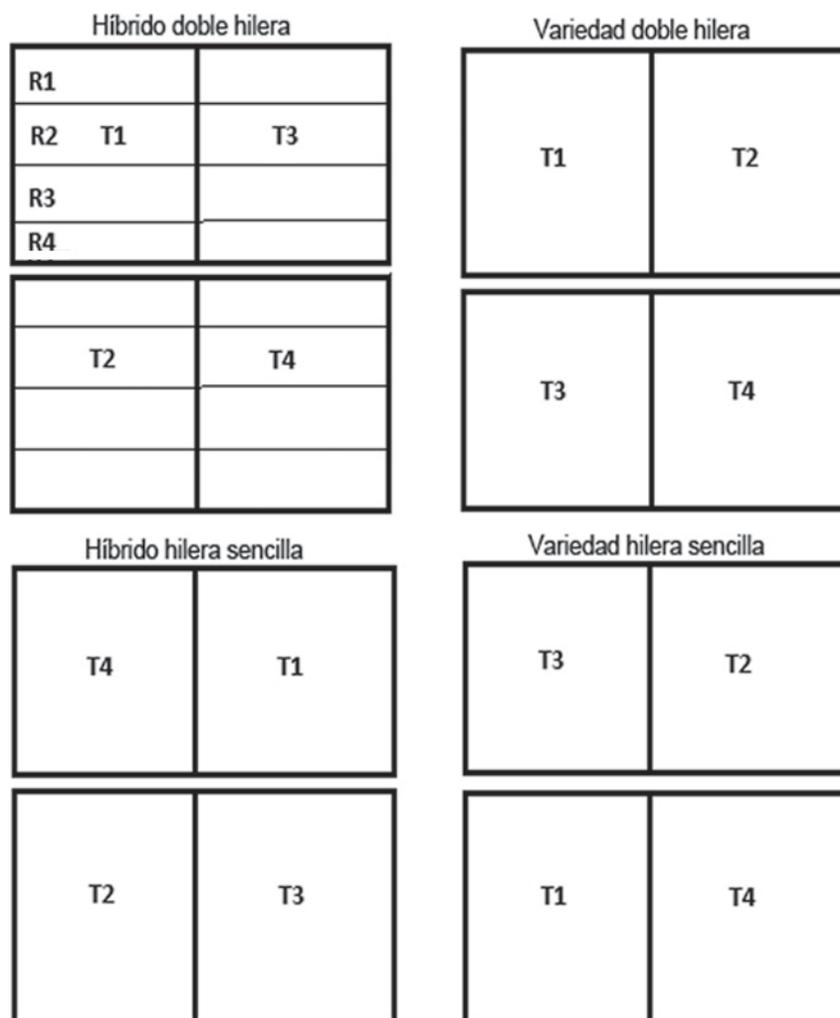


Figura 1. Distribución de los tratamientos en campo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Condiciones edafoclimáticas

En el área de la investigación se presentaron dos picos de lluvias: mayo a julio y octubre a noviembre, condición típica en el semiárido, con un total de 468,5 mm. La zona presentó para el año 2012 una evaporación total de 2.132,8 mm. En cuanto a la temperatura, la máxima promedio fue de 30,2 °C y la mínima promedio estuvo por el orden de 13,1 °C (Figura 2).

Según EMBRAPA (2006), el sisal se desarrolla en zonas semiáridas de Brasil con temperatura media diaria de 24 °C, precipitación entre 650 y

1.250 mm con humedad relativa entre 66 y 70%. La FAO (2000) reporta que el híbrido H11648 crece en zonas con temperatura anual media preferiblemente entre 22 y 24 °C y un nivel anual de precipitaciones entre 1.000 y 1.500 mm. Con estos datos podemos indicar que los niveles de precipitación de la zona de estudio están por debajo de los reportados para el híbrido, sin embargo esta zona es parte de uno de los municipios principales productores de Sisal del país. En el aspecto químico el suelo es franco arcilloso y con altos contenidos de nutrientes, ligeramente alcalino y bajo en conductividad eléctrica (Cuadro 1). Fudeco (2008), indica que el Sisal híbrido H11648 requiere suelos sueltos y ricos en calcio.

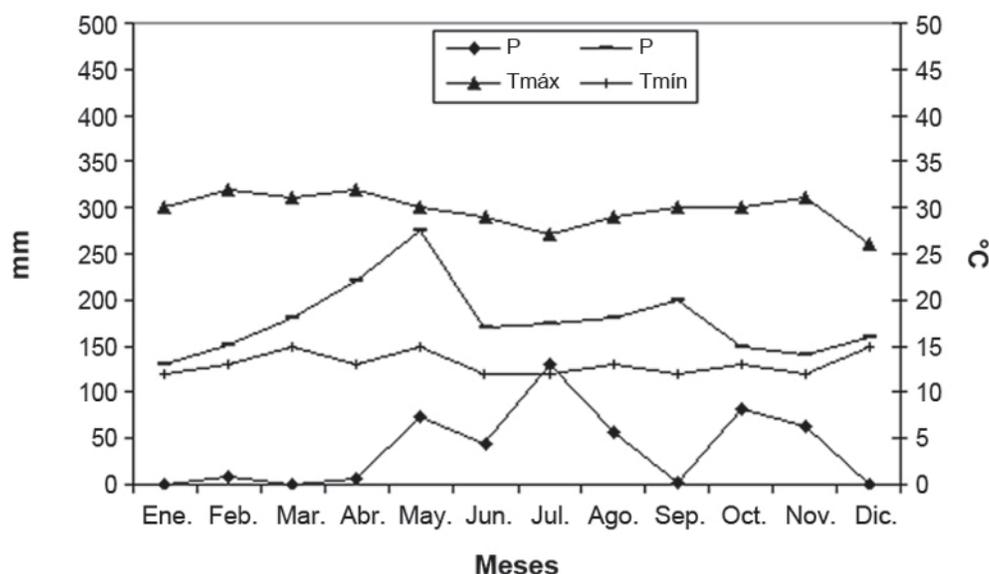


Figura 2. Valores mensuales de precipitación y evaporación.

Cuadro 1. Resultados del análisis de suelo del sitio experimental.

Determinación	Método	Valor
Arena (%)		38,40
Limo (%)		22,80
Arcilla (%)		38,80
Textura	Bouyoucos	FA
Fósforo (mg kg ⁻¹)	Olsen	28,00
Potasio (mg kg ⁻¹)	Olsen	377,00
Calcio (mg kg ⁻¹)	Morgan modificado	>2.000
Materia orgánica (%)	Walkley y Black	2,46
pH	Suelo-agua 1:2,5	7,70
Conductividad eléctrica	Suelo-agua 1:5	0,14

Altura de planta

Para esta variable se observó, según el análisis de varianza un efecto estadístico significativo ($P < 0,05$) del tipo de agave, sin embargo no se observaron diferencias significativas ($P > 0,05$) según la dosis de cal y el sistema de siembra. En cuanto a la dosis de cal aplicada al cultivo, no se

presentaron diferencias estadísticas significativas ($P > 0,05$) pero se pudo apreciar una tendencia numérica de las dosis de 250 y 350 g de cal sobre las dosis 150 g ha⁻¹ de cal y el testigo (Cuadro 2).

No se observó diferencias significativas ($P > 0,05$) por efecto del sistema de siembra de los agaves, sin embargo se pudo apreciar los mayores valores en el Sisal sembrado en SS2 (Cuadro 3).

Cuadro 2. Valores de las variables según los tratamientos de cal aplicados.

Tratamiento	Altura de planta (cm)	Nº de hojas	Ancho de hojas (cm)	Largo de hojas (cm)
T4	94,28 a	56 a	12,64 a	71,48 a
T3	95,00 a	54 a	12,12 ab	70,55 a
T2	91,21 a	54 a	11,59 bc	69,80 a
T1	89,52 a	55 a	11,02 c	68,02 a

Valores con la misma letra en la misma columna son estadísticamente no significativos ($P>0,05$).

Cuadro 3. Valores promedio de las variables medidas en sisal, según el sistema de siembra.

Sistema de siembra	Altura de planta (cm)	Nº de hojas	Ancho de hojas (cm)	Largo de hojas (cm)
SS2	93,33 a	55 a	12,48 a	69,31 a
SS1	91,68 a	53 a	11,20 b	70,61 a

Valores con la misma letra en la misma columna son estadísticamente no significativos ($P>0,05$).

La altura de planta estuvo afectada significativamente ($P<0,05$) por el tipo de agave al presentarse diferencias significativas en los valores, producto de una superioridad del *Agave sisalana* sobre el híbrido en 14,2 cm (Cuadro 3). En este aspecto, Ferreira Da Silva *et al.* (1999), observaron una superioridad del híbrido H11648 en cuanto a altura de plantas, siendo los valores promedios para el híbrido de 177,7 cm y para la variedad de 158,1 cm.

Número de hojas

En cuanto a la dosis de cal aplicada no se observaron diferencias estadísticas significativas ($P>0,05$), pero numéricamente la dosis de 350 g planta⁻¹ resultó con una tendencia a la superioridad con un total de 56 hojas por planta (Cuadro 2).

Tampoco se observó diferencias significativas ($P>0,05$) en el sistema de siembra en cuanto al número de hojas por planta, pero se determinó un valor superior en SS2 comparado con

SS1, con un valor diferencial de dos hojas por planta (Cuadro 3). En cuanto al tipo de agave se presentaron, para esta variable, diferencias estadísticas significativas ($P<0,05$) entre el *A. sisalana* y el *A. híbrido*, siendo este último superior en 24,19 % (Cuadro 4).

En investigación realizada por Azzini *et al.* (1998) señalan que *A. sisalana* produce menos hojas por plantas que los híbridos, en valores de hasta 26%. Al respecto, Kimaro *et al.* (1994) indican que el híbrido H11648 no solo produce más hojas que *A. sisalana*, sino que su tasa de producción es mayor al presentar 648 hojas por ciclo y el *A. sisalana* 205 y una producción de 5,99 hojas por mes contra 2,8 hojas por mes para la variedad. Asimismo, Ferreira Da Silva *et al.* (1999) observaron que el híbrido H11648 fue significativamente superior a la especie *A. sisalana* en relación a la proyección horizontal y al número de hojas por planta en la primera cosecha. Fudeco (2007) menciona que el híbrido H11648 puede producir de 50 a 70 hojas al año y de 6 a 8 por mes para un total de 600 a 650 hojas en su ciclo de vida.

Ancho de hojas

De manera general, se observan diferencias significativas ($P < 0,05$) en los valores de esta variable de acuerdo al tipo de sisal, a la dosis de cal aplicada y al sistema de siembra.

En lo que respecta a las diferentes dosis de cal aplicadas al sisal, tenemos que 350 g planta⁻¹ fue estadísticamente diferente al testigo e igual a la de 250 g y ésta a su vez igual a la de 150 g. Se pudo apreciar valores superiores de 0,54; 1,05 y 1,62 cm al comparar la dosis de 350 g, con las dosis de 250, 150 y 0 g, respectivamente (Cuadro 2).

Estos resultados permiten afirmar que existe efecto de la aplicación de cal sobre el ancho de la hoja de sisal. Kimaro *et al.* (1994), indican que el sisal reduce la fertilidad de los suelos y que presenta altos requerimientos de calcio, el cual remueve en grandes cantidades del suelo.

En cuanto al sistema de siembra, se encontró en este trabajo diferencias significativas ($P < 0,05$) de los valores de ancho de hoja entre el sistema de siembra en SS2 y SS1, siendo el primero estadísticamente superior (Cuadro 3). Asimismo, se puede indicar que existen diferencias estadísticas significativas ($P < 0,05$) y superiores del *A. sisalana* comparado con el híbrido H11648, con una diferencia de 3,64 cm en el ancho de la hoja (Cuadro 4).

Por su parte, Azzini *et al.* (1998), al comparar el ancho de hoja de *A. sisalana* con varios híbridos

observaron que los valores de éstos estuvieron entre 7,6-14,3 cm comparados con el de *A. sisalana* que fue de 10,3 cm. Fudeco (2007), indica que las hojas del Sisal híbrido H11648 miden en promedio 10 cm de ancho pero las más anchas pueden llegar a medir 13 cm.

Largo de hojas

Las diferentes dosis de cal aplicadas no presentaron efectos estadísticos significativos ($P > 0,05$), sin embargo la dosis de 350 g planta⁻¹ presentó los mejores resultados numéricos, al ser superior en 0,98; 1,68 y 3,46 cm comparados con las dosis de 250, 150 y 0 g planta⁻¹, respectivamente (Cuadro 2).

También se pudo observar, que el sistema de siembra no mostró diferencias estadísticas significativas ($P > 0,05$), siendo los valores numéricos muy similares (Cuadro 3).

De igual manera, se evidenció que esta variable fue afectada por el tipo de agave, encontrándose diferencias estadísticas significativas entre ellas ($P < 0,05$), siendo el *A. sisalana* quien mostró la mayor longitud en las hojas. (Cuadro 4).

Azzini *et al.* (1998) indican que el híbrido H11648 produce hojas hasta de 139 cm de largo mientras el máximo valor para la variedad *A. sisalana* fue de 106 cm. Fudeco (2007) indica que las hojas del Sisal híbrido H11648 miden en promedio 118 cm de largo pero pueden llegar a medir hasta 150 cm.

Cuadro 4. Valores promedios de las variables medidas por tipo de sisal.

Cultivo	Altura de planta (cm)	Nº de hojas	Ancho de hojas (cm)	Largo de hojas (cm)
<i>Agave sisalana</i>	99,60 a	47 b	13,66 a	72,93 a
H11648	85,40 b	62 a	10,02 b	67,00 b

Valores con la misma letra en la misma columna son estadísticamente no significativos ($P > 0,05$).

CONCLUSIONES

Los resultados de esta investigación evidencian que, bajo las condiciones edafoclimáticas descritas, la dosis de cal más adecuada para el desarrollo del sisal está entre 250 a 350 g planta⁻¹, siendo la dosis de 250 g planta⁻¹ recomendada económicamente, y con mayor efecto sobre el ancho de la hoja. En lo que se refiere al sistema de siembra, las hileras sencillas generan mejores resultados que las hileras dobles en lo que a altura de plantas, número y ancho de hojas se refiere.

A. sisalana, mostró superioridad cuantitativa sobre el híbrido H11648 con respecto a altura de plantas, ancho y largo de la hoja, pero es menos productora de hojas por planta.

LITERATURA CITADA

- Azzini, A., R. Araujo, N. Erismann, A. Costa e R. Junior. 1998. Caracterizacáo tecnologica de híbrido de agave. Revista Bragantia V. 57 N° 1. Campinas.
- EMBRAPA (Empresa Brasileira de Investigación Agropecuaria). 2006. Cultivo de sisal na regioa semiárida do Nordeste Brasileiro. Sistemas de Produção. 05. 42 p.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura). 2000. Producción y comercialización de sisal en China: Cuadro retrospectivo y perspectivas futuras. Esc. Consultas fibras. N° 5. Roma.
- Ferreira-Da Silva, O., O. Carvalho, J. Dos Santos e R. Vieira. 1999. Estudo comparativo de algumas características da *Agave sisalana* Perrine e do híbrido 11648, na primeira colheita. Rev. Ol. Fibras. v.3. (2): 65-70.
- Fudeco (Fundación para el Desarrollo de la Región Centro Occidental de Venezuela). 2007. Sisal H.11648. Establecimiento y plantación. Plan de desarrollo endógeno de la zona sisalera.
- Fudeco (Fundación para el Desarrollo de la Región Centro Occidental de Venezuela). 2008. Programa de extensión rural para la zona sisalera del estado Lara. Barquisimeto. 34 p.
- Johnson, D. 2000. Métodos multivariados aplicados al análisis de datos. Internacional Thomson editores. México. 566 p.
- Kimaro, D., B. Msanya and Y. Takamura. 1994. Review of sisal production and research in Tanzania. African Study Monographs. 15(4):227-242.
- Martínez, A. y D. Martínez. 1996. Diseño de experimentos con fertilizantes. Publicación especial 5, Sociedad Mexicana de la ciencia del suelo. Colegio de postgraduados. México. 155 p.
- Santiago, D., N. Rodríguez y G. Mogollón. 2002. Potencial papelero de la fibra de sisal (*Agave sisalana*). Rev. Forest. Venez. 46 (2):19-27.
- Punnapayak, H., M. Kahirun and P. Thanonkeo. 1999. Cellulolytic fungi and bioconversion of fiber from *Agave sisalana*. Science Asia. 25:133-136.

NOTA TÉCNICA

Evaluación de dos marcadores tipo SCAR para la determinación del sexo en lechosa, variedad Maradol

Evaluation of two types of SCAR markers to determine sex in papaya variety Maradol

Andy Díaz-López¹, Luis Angulo Graterol²; Ariadne Vegas García¹, Yanet Sandra Rincón¹, Catalina Ramis² y Gustavo Saldaña Robespierre¹

¹Investigadores. Instituto de Investigaciones Agrícolas. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA-CENIAP). Unidad de Biotecnología Agrícola Vegetal. Apdo. 4653. Maracay 2105, estado Aragua. Venezuela.

²Profesores. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Centro de Investigaciones en Biotecnología Agrícola (CIBA). Apdo. 4579. Maracay 2105, estado Aragua. Venezuela.
Correo electrónico: andiaz26@gmail.com

RESUMEN

La lechosa, *Carica papaya* L., presenta plantas femeninas, masculinas y hermafroditas, según el sexo de las flores que producen; siendo esta última idónea para los productores por generar frutos alargados, de cavidad interna pequeña, así como una morfología que permite una mayor resistencia a los daños ocasionados durante la postcosecha y el transporte. El sexo en las plantas de lechosa se puede determinar al inicio de la etapa de floración, que ocurre de 3 a 4 meses, posterior al trasplante a campo, porque para tener una plantación con mayoría de plantas hermafroditas se requiere la siembra de tres a cuatro semillas por hoyo para posteriormente descartar aquellas con flores ginoicas y androicas. El uso de marcadores moleculares para la determinación del sexo, representa una alternativa que contribuye al mejoramiento genético del cultivo, además de reducir los costos de producción. En este trabajo se planteó la evaluación de una PCR múltiple con dos iniciadores SCAR (T1 y W11) para la identificación del sexo en plantas de lechosa cultivar Maradol. El ADN fue extraído de hojas jóvenes de plantas en campo, escogidas de acuerdo al sexo, en la Unidad de Biotecnología Agrícola Vegetal del CENIAP, estado Aragua, Venezuela. En la presente metodología, se amplificaron dos fragmentos de 1300 y 800 pb para las plantas hermafroditas y un solo fragmento de 1300 pb para las femeninas. De esta manera, se validaron estos marcadores para el cultivar en nuestras condiciones de laboratorio con un 100% de correspondencia con la morfología floral.

Palabras clave: *Carica papaya* L., marcadores moleculares, primers, propagación, selección, sexaje.

ABSTRACT

Papaya, *Carica papaya* L., presents female, male and hermaphrodite plants, according to sex of the flowers they produce, the latter being the most suitable for generating elongated and small internal cavity fruits, morphology that confers greater damage resistance during post-harvest and transport. The sex of Papaya plants can be determined at the beginning of the flowering stage, which occurs 3-4 months after field transplant, because to have a plantation with a majority of hermaphrodite plants require 3 to 4 plants by hole later and discard those with gynoica and androic flowers. The use of molecular markers for sex determination, is an alternative that contributes to crop breeding, but also reduce production costs. In this paper the evaluation of a multiplex PCR was made with two SCAR primers (T1 and W11) for sex identification in Maradol papaya plants. DNA was extracted from young leaves of plants in the field, chosen according to sex, in the Unidad de Biotecnología Vegetal of CENIAP, Aragua, Venezuela. In this methodology, two fragments of 1300 and 800 bp for hermaphrodite plants and one 1300 bp fragment was amplified for female. Thus, these markers for Papaya Maradol in our laboratory conditions with a 100% correspondence with the floral morphology were validated.

Key words: *Carica papaya* L., molecular markers, primers, propagation, selection, sexing.

INTRODUCCIÓN

La lechosa (*Carica papaya* L.) es una especie dicotiledónea, diploide ($2n=18$) que pertenece a la familia Caricaceae, género *Carica*, cuyo origen se ubica en las tierras bajas de América Tropical, en la región, específicamente desde el sureste de México hasta Costa Rica. Este fruto fue descrito por primera vez en el año 1526 por el historiador Fernández de Oviedo (Jiménez, 2002).

La importancia económica del cultivo de la lechosa radica en la producción de fruta fresca para el consumo, preparación de jugos, dulces y en la obtención de la papaína, que es una enzima proteolítica presente en el látex lechoso de los frutos y el tallo, la cual es utilizada en la industria de alimentos y perfumería; además, en la industria textil se usa como suavizante de lana y seda (Urasaki *et al.*, 2002).

Cabe destacar, que el sexo de las plantas de lechosa solo se puede determinar a través de sus flores y éstas se forman, dependiendo del cultivar, a partir de los 3 meses de ser trasplantadas en el campo. Por lo tanto, para asegurar plantas productivas con frutos comerciales, es necesaria la siembra de tres a cuatro plantas por punto, seguido del descarte de plantas con flores femeninas y masculinas, luego de la floración; ya que no existen diferencias embriológicas, ni morfológicas entre los tres tipos sexuales en etapas tempranas antes de la prefloración (Rojas *et al.*, 1985).

La práctica del descarte en el campo, trae como consecuencia un aumento en los costos de producción y requiere mayor cantidad de semillas y plantas por superficie; así como de insumos para el mantenimiento de las plantas hasta el momento de ser eliminadas. Además, el costo de la mano de obra especializada en el reconocimiento de la morfología floral para distinguir los tipos sexuales existentes en la especie. Por tanto, determinar el sexo en etapas tempranas del desarrollo, permite reducir los costos, al facilitar la siembra de plantas únicamente hermafroditas (Parasnis *et al.*, 1999; Mora y Bogantes, 2005; Urasaki *et al.*, 2002; Saalau-Rojas *et al.*, 2009).

El cultivar Maradol fue desarrollado en Cuba, y como otros cultivares mejorados, no presenta plantas androicas con flores de sexo masculino

(Ramos y Ramos, 2002), a diferencia de las poblaciones criollas o silvestres (Pares-Martínez *et al.*, 2004). Debido a esta razón y a otras características morfológicas y agronómicas como: uniformidad de plantas de bajo porte, mayor productividad y calidad de los frutos; estos cultivares e híbridos importados del grupo Maradol sustituyan las poblaciones criollas (Aular y Casares, 2011).

Existen propuestas para que el sexo en esta especie sea determinado por un gen simple con tres alelos, que son: M (masculino), m (femenino) y M^h (hermafrodita), descritos por Liu *et al.* (2004). Las plantas femeninas son homocigotas recesivas para este gen (mm), mientras que las masculinas (Mm) y hermafroditas (M^hm) son heterocigotas, con 25% de semillas no viables en sus frutos, porque cada combinación de alelos dominantes (MM, MM^h , M^hM^h) es letal, por tanto no se forma el embrión (Storey, 1953).

Se realizaron diversos estudios para el establecimiento de un sistema que permita la determinación del sexo en lechosa, incluyendo, análisis morfológico de las flores, citológico, isoenzimático, contenido de fenoles y análisis de ARN (Datta, 1971; Jindal y Singh, 1976; Castro *et al.*, 2002; Rangel y Castro, 2010). Estos métodos no resultaron satisfactorios en la identificación de plantas andromonoicas en la etapa vegetativa, y solo permitió distinguir plantas con flores femeninas de plantas con flores masculinas; además, fue poco eficiente en el análisis de un mayor número de muestras.

De igual manera, se ha generado el interés en desarrollar e implementar métodos sencillos y precisos que permitan identificar el sexo en plantas de lechosa antes de su trasplante definitivo a campo, utilizando técnicas moleculares basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Esto hizo posible el desarrollo de algunos marcadores moleculares que han demostrado resultados positivos, basados en fragmentos de ADN, amplificados mediante el uso de RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), SCAR (Sequence Characterized Amplified Region) y microsatélites (Parasnis *et al.*, 1999; Deputy *et al.*, 2002; Urasaki *et al.*, 2002; Niroshini *et al.*, 2008; Chaves-Bedoya *et al.*, 2009; Saalau-Rojas *et al.*, 2009).

En la técnica RAPD se usan iniciadores arbitrarios, y en las otras metodologías, iniciadores específicos al ADN blanco.

En la actualidad, la disponibilidad de los marcadores moleculares para la determinación del sexo, es incipiente y dependiente del cultivar, por lo que algunos de los iniciadores desarrollados no son de utilidad para la identificación temprana de plantas comerciales, como es el caso de los iniciadores OT-7 y CPSM-64 (Rangel y Castro, 2010).

El objetivo de este trabajo fue evaluar dos iniciadores SCAR descritos en la metodología de Deputy *et al.* (2002), para identificar el sexo en plantas de lechosa, cultivar Maradol, mediante el empleo de una PCR múltiple.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se recolectaron hojas jóvenes de cuatro plantas ginoicas y cuatro plantas andromonóicas de lechosa cultivar Maradol establecidas en campo en la Unidad de Biotecnología Vegetal del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-CENIAP), provenientes de una planta seleccionada en una población sembrada en el sector La Molinera, San Francisco de Asís, estado Aragua, Venezuela. Las plantas seleccionadas se encontraban en fase de floración para corroborar

la eficiencia de la metodología (Figura 1). Este cultivar mejorado no presenta plantas androicas, razón por la que no fueron incluidas en el trabajo.

Las características consideradas de interés para la selección de la planta madre se presentan en el Cuadro.

La extracción del ADN se realizó en el Laboratorio de Biología Molecular de la Unidad de Biotecnología Vegetal, INIA-CENIAP y los análisis moleculares se llevaron a cabo en el Centro de Investigaciones en Biotecnología Agrícola (CIBA) de la Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, Núcleo Maracay.

Extracción de ADN genómico

Para la extracción del ADN se siguió la metodología descrita por Risterucci *et al.* (2000); Pérez-Almeida *et al.* (2011), con las siguientes modificaciones:

A) La incubación de las muestras se realizó a 70 °C por 60 min en un baño térmico marca Precisión Modelo 184 y la centrifugación a 8500 rpm en una centrífuga Sigma 2K15 refrigerada por 20 min a 16 °C.

B) Luego del tratamiento con cloroformo: alcohol isoamílico (24:1), se agregó al sobrenadante 700 µl de isopropanol frío para la precipitación del ADN y 70 µl de acetato de sodio 3 M.



Figura 1. A: Detalle de planta andromonoica de lechosa cultivar Maradol seleccionada en el sector La Molinera, San Francisco de Asís, estado Aragua. B: Plantas ginoicas y andromonoicas muestreadas en la Unidad de Biotecnología Vegetal del INIA-CENIAP en fase de floración.

Cuadro. Características morfológicas y agronómicas de interés para la selección.

Características de la planta madre	Descriptor
Tallo	Simple, de color gris-marrón en parte media y verde en el área no suberizada.
Longitud media del entrenudo (cm)	2,2
Número de nudos a la primera flor	36
Altura a la primera cosecha (m)	1,54
Longitud del pecíolo de la hoja madura (cm)	65
Ancho de la hoja (cm)	69,4
Número de lóbulos por hoja	12
Inflorescencias	Con un máximo de 4 flores hermafroditas y estériles femeninas de color blanco crema.
Frutos	Cantidad mínima de 55, con un peso promedio de 2 kg, forma alargada, pulpa de color anaranjado y 1,72 g por 100 semillas.

Amplificación de ADN

Las muestras de ADN de cada planta fueron amplificadas con los iniciadores W11-F (CTGATGGCGTGTGGCTCTA), W11-R (CTGATGCGTGATCATCTACT), T1-F (TGCTCTTGATATGCTCTCTG), T1-R (TACCTTCGCTCACCTCTGCA) tomados de Deputy *et al.* (2002) y siguiendo la metodología de Saalau-Rojas *et al.* (2009). Para dicha amplificación, se realizó una PCR utilizando cada cebador por separado y una PCR múltiple en un termociclador BIORAD PTC-100. Los productos de este proceso fueron observados con luz UV, utilizando un transiluminador Fisher Biotech FBTIV-614. Finalmente, la determinación del tamaño de los fragmentos de ADN amplificados se realizó con un equipo Chemidoc XRS y el programa QuantityOne versión 4.2.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al realizar la PCR simple, se originaron dos fragmentos de ADN de 1300 pb y 800 pb para la combinación T1-F/T1-R y W11-F/W11-R, respectivamente. De esta manera, se verificó la

amplificación de cada uno de los iniciadores por separado. El fragmento de 1300 pb se observó, tanto en las muestras provenientes de plantas femeninas como hermafroditas, mientras que el fragmento de 800 pb amplificó solo en las plantas hermafroditas, coincidiendo con los resultados de Sánchez-Betancourt y Núñez (2008) cuando realizan una PCR simple con ambos cebadores (Figura 2).

Cuando los iniciadores se utilizaron combinados, se observaron dos fragmentos de amplificación en las muestras de plantas hermafroditas, uno de 1300 pb correspondiente al SCAR T1 y otro fragmento de 800 pb correspondiente al SCAR W11. Por otro lado, el SCAR W11 no produjo ningún fragmento en las muestras de plantas femeninas, por lo que este iniciador puede ser utilizado para discriminar entre ambos tipos sexuales. Lo anterior, fue descrito por Saalau-Rojas *et al.* (2009), al utilizar los mismos iniciadores en la lechosa híbrido Pococí.

Se demostró una coincidencia del 100% entre la aplicación de la técnica de PCR y la morfología floral de las plantas seleccionadas para el estudio (Figura 3).

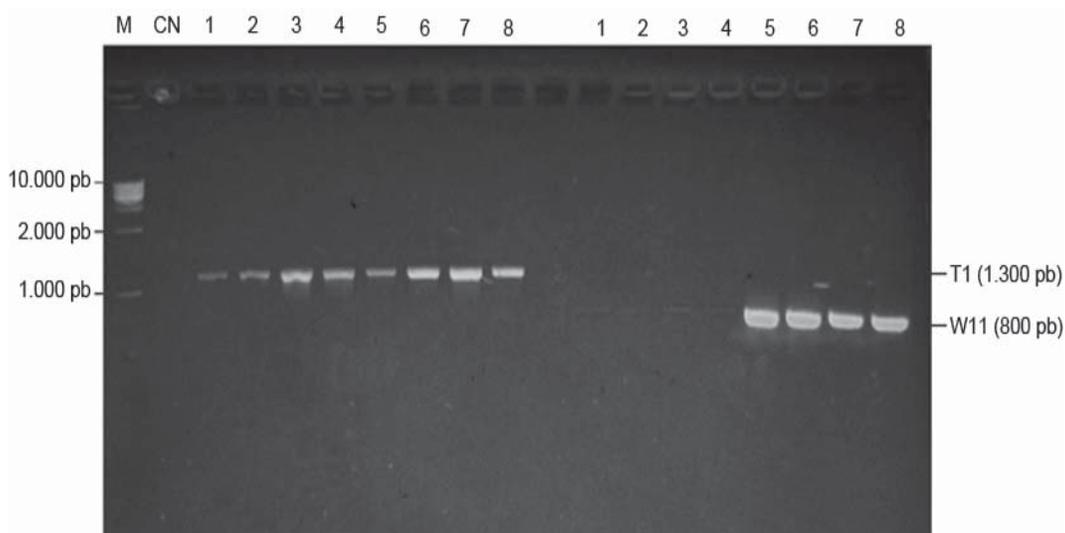


Figura 2. Perfil generado por los cebadores T1 y W11 usados por separado en el cultivar Maradol. M: marcador de peso molecular de 1 kb; CN: control negativo sin ADN; Carriles 1-4: plantas femeninas; Carriles 5-8: plantas hermafroditas.

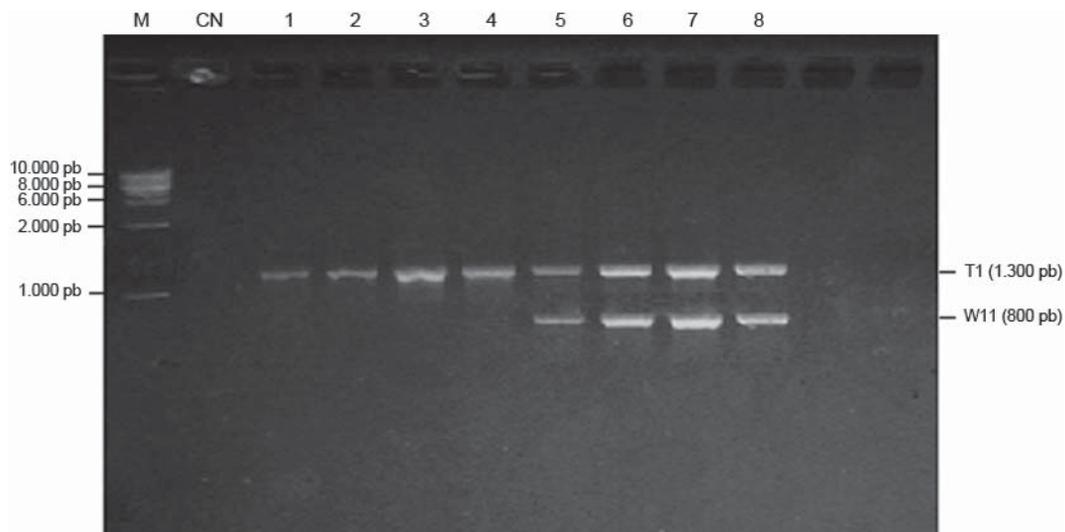


Figura 3. Perfil generado por los cebadores T1 y W11 en combinación con el cultivar Maradol. M: marcador de peso molecular de 1 kb, CN: control negativo sin ADN Carriles 1-4: plantas femeninas con fragmentos amplificados de 1300 pb con el cebador T1; Carriles 5-8: plantas hermafroditas con fragmentos de ADN amplificados de 1300 y 800 pb.

Este resultado coincide con lo esperado, considerando que Deputy *et al.* (2002) reportan 99,2% de fiabilidad de la técnica, mientras que Magdalita y Mercado (2003) señalan 100%

en los cultivares Cariflora, Cavite Special y el híbrido Sinta. También, Saalau-Rojas *et al.* (2009) mencionan 96-98% de similitud en el híbrido Pococí.

Es importante destacar que el iniciador T1, fue considerado por Deputy *et al.* (2002) como un control positivo para asegurar que las condiciones de las reacciones sean las necesarias para la amplificación del ADN; puesto que es mencionado anteriormente, este iniciador amplifica tanto para las plantas hermafroditas como para las femeninas y se encuentra a 7 cM del gen *Sex1* responsable de la determinación del sexo en el cultivo.

Por su parte, el iniciador W11 se encuentra a 0,3 cM del gen *Sex1* en el cromosoma Y, por esta razón se selecciona en el estudio de Deputy *et al.* (2002).

Según Liu *et al.* (2004), las plantas masculinas y hermafroditas poseen el cromosoma Y en el que se encuentra este gen, lo que pudiera explicar la amplificación del fragmento de 800 pb en ambos tipos sexuales, que no permite la diferenciación entre ellos.

Un aspecto significativo es que la precisión de los iniciadores utilizados para la identificación del sexo en la lechosa, está en dependencia del cultivar. Tal es el caso del iniciador W11, el cual fue desarrollado utilizando cultivares de tipo Hawaiano y que al ser probado en cultivares del grupo Formosa, se observa la presencia de falsos positivos y falsos negativos (De Oliveira *et al.*, 2007). No obstante, el iniciador W11 fue capaz de identificar, inequívocamente, plantas hermafroditas en el cultivar Maradol, logrando discriminar éstas de las plantas femeninas, por lo que es muy útil, en vista de que permite diferenciar en forma precisa estos dos tipos sexuales.

Finalmente, los resultados obtenidos en este estudio validó su uso en el cultivar Maradol, utilizando los iniciadores T1 y W11 en una PCR múltiple, permitiendo la discriminación de plantas hermafroditas y femeninas, lo que demuestra en cada una de ellas, un patrón de fragmentos característico, haciendo posible la identificación rápida y eficiente del sexo de plantas en fase de vivero.

Asimismo, esta metodología será de gran utilidad en los programas de mejoramiento genético del cultivo, para seleccionar plantas hermafroditas

que presenten características agronómicas deseables y con resistencia a enfermedades y plagas.

La implementación de la técnica de PCR múltiple para la identificación del sexo en la lechosa, dependerá de la relación costo/beneficio que tenga el productor como consecuencia del establecimiento del cultivo con plantas hermafroditas y la reducción de los costos por inversión de recursos y mantenimiento de plantas femeninas no deseadas.

CONCLUSIONES

Los iniciadores SCAR T1 y W11 permitieron corroborar el sexo de plantas de lechosa ginóicas y andromonoicas del cultivar Maradol, mediante una PCR múltiple y con la utilización de muestras de hojas jóvenes para la extracción del ADN de plantas establecidas en campo, obteniéndose una correlación completa entre los resultados moleculares y el sexo de las plantas muestreadas.

El hecho de que el cultivar no produce plantas androicas, al igual que en otros cultivares comerciales, es una ventaja para el uso de la técnica, ya que se logra diferenciar los sexos. Por tal razón, se recomienda realizar un análisis de costos para la implementación de la técnica a nivel práctico.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Plan Nacional de Semillas (PNS) del INIA por el financiamiento de este trabajo de investigación a través de la acción: Desarrollo de cultivares y producción de semilla genética de lechosa en el estado Aragua (Cod.: 7-28-02-06-01).

LITERATURA CITADA

- Aular, J. y M. Casares. 2011. Consideraciones sobre la producción de frutas en Venezuela. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 33:187-198.
- Castro, L., O. Ruíz, M. Vielma y A. Briceño. 2002. Determinación sexual en *Carica papaya* L. *Pittieria*. N° 31:25-32.

- Chaves-Bedoya, G., M. Pulido, E. Sánchez-Betancourt y V. Núñez. 2009. Marcadores RAPD para la identificación del sexo en papaya (*Carica papaya* L.) en Colombia. *Agronomía Colombiana*. 27(2):145-149.
- Datta, P. 1971. Chromosomal biotypes of *Carica papaya* Linn. *Cytologia*. 36:555-562.
- De Oliveira, E., J. Loyola, M. Da Silva, D. Souza, H. De Souza e T. Nunes. 2007. Marcadores moleculares na predição do sexo em plantas de mamoeiro. *Pesq. Agropec. Bras.* 42(12):1.747-1.754.
- Deputy, J., R. Ming, H. Ma, Z. Liu, M. Fitch, M. Wang, R. Manshardt y J. Stiles. 2002. Molecular markers for sex determination in papaya (*Carica papaya* L.). *Theor. Appl. Genet.* 106:107-111.
- Jiménez, J. 2002. Manual práctico para el cultivo de la papaya hawaiana. 1^oed. Editorial Earth. Guácimo. Costa Rica. 108 p.
- Jindal, K. and R. Singh. 1976. Sex determination in vegetative seedlings of *Carica papaya* by phenolic tests. *Scientia Horticulturae* 4(1):33-39.
- Liu, Z., P. H. Moore, H. Ma, C. M. Ackerman, M. Ragiba, Q. Yu, H. M. Pearl, M. S. Kim, J. W. Charlton, J. I. Stiles, F. T. Zee, A. H. Paterson and R. Ming. 2004. A primitive Y chromosome in papaya marks incipient sex chromosome evolution. *Nature*. 427:348-352.
- Magdalita, P. and C. Mercado. 2003. Determining the sex of papaya for improved production. Food Fertilizer Technology Center for the Asian and Pacific Region. Los Baños College, Laguna, Philippines. pp. 1-6. Disponible en: <http://www.agnet.org/library/article7eb534html>. [04 de mayo de 2012].
- Mora, E. y A. Bogantes. 2005. Estudio de una mutación en papaya (*Carica papaya* L.) que produce la letalidad de plantas femeninas. *Agronomía Mesoamericana*. 16:89-94.
- Niroshini, E., J. Everard, E. Karunanayake and T. Tirimanne. 2008. Detection of sequence characterized amplified region (SCAR) markers linked to sex expression in *Carica papaya* L. *J. Nat. Sci. Foundation Sri Lanka* 36:145-150.
- Parasnis, A., W. Ramakrishna, K. Chowdari, V. Gupta and P. Ranjekar. 1999. Microsatellite (GATA)_n reversal sex-specific differences in papaya. *Theor. Appl. Genet.* 99:1.047-1.052.
- Pares-Martínez, J., R. Linarez, M. Arizaleta y L. Melendez. 2004. Aspectos de la biología floral en lechosa (*Carica papaya* L.) cv. Cartagena roja, en el estado Lara, Venezuela. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 21:116-125.
- Pérez-Almeida, I., L. Angulo, G. Osorio, C. Ramis, A. Bedoya, R. Figueroa-Ruíz, S. Molina y D. Infante. 2011. Método modificado de obtención de ADN genómico en orquídeas (*Cattleya* sp.) para amplificación con marcadores moleculares. *Bioagro*. 23(1):27-34.
- Ramos, R. y J. Ramos. 2002. Instrucciones técnicas para el cultivo de la papaya Maradol Roja. Manual Técnico. Ed. Empresa de Semillas. Cuba. 39 p.
- Rangel, S. y T. Castro. 2010. Estudio de la secuencia ot-7 en la determinación del sexo en lechosa (*Carica papaya* L.). Universidad Nacional Experimental del Sur del Lago. *Producción Agropecuaria*. 3(1):3-6.
- Risterucci, A., L. Grivet, J. N'Goran, I. Pieretti, M. Flament and L. Lanaud. 2000. A high-density linkage map of *Theobroma cacao* L. *Theor. Appl. Genet.* 101:948-955.
- Rojas, T., R. Ramos y R. Salazar. 1985. Posible relación del sexo con algunas características morfológicas y agronómicas de la papaya, *Carica papaya*. *Acta Agronómica*. 35:20-33.
- Saalau-Rojas, E., W. Barrantes-Santamaría, C. Loría-Quirós, A. Brenes-Angulo y L. Gómez-Alpizar. 2009. Identificación mediante PCR del sexo de la papaya (*Carica papaya* L.) híbrido "Pococi". *Agronomía Mesoamericana*. 20(2):311-317.
- Sánchez-Betancourt, E; Núñez, V. 2008. Evaluación de marcadores moleculares tipo SCAR para determinar sexo en plantas de

- papaya (*Carica papaya* L.). Revista Corpoica-Ciencia y Tecnología Agropecuaria. 9(2):31-36.
- Storey, W. 1953. Genetics of papaya. J. Hered. 44:70-78.
- Urasaki, N., M. Tokumoto, K. Tarora, Y. Ban, T. Kayano, H. Tanaska, H. Oku, I. Chinen and R. Terauchi. 2002. A male and hermaphrodite specific RAPD marker for papaya (*Carica papaya* L.). Theor. Appl. Genet. 104:281-285.