



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: AR2017000075

ISSN: 2542 - 3363

AÑO 65 VOL. 65 No. 3-4 2015

# **AGRONOMÍA TROPICAL**

**Agronomía Trop.**

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

## Agradecimientos

Los miembros del Comité Editorial de la revista Agronomía Tropical desean expresar públicamente su agradecimiento, a las personas abajo mencionadas, por su valiosa colaboración en la revisión de los artículos científicos que conforman el Volumen 65 del año 2015.

Ada Maureen Medina, UCV-FAGRO. Edo. Aragua

Alan Miyadi. IDEA. Edo. Miranda

Adolfo Cañizares, INIA .Edo. MONAGAS

Andy Diaz, INIA-CENIAP Edo. Aragua

Belkis Camacho, UCLA. Edo Lara

Catalina Ramis, FAGRO-UCV. Edo Aragua.

Carmen Rafaela Carvajal, INIA-CENIAP (Jubilada). Edo Aragua.

Cecilia Gómez, UNELLEZ. Edo. Guárico.

Daunarima Renaud, INIA. Edo Lara.

Efraín Salazar, INIA-CENIAP(+). Edo. Aragua.

Eglee Zent, IVIC. Edo Miranda.

Elena Medina, INIA. Edo. Yaracuy.

Félix Cabeza, INIA. Edo. Vargas.

Francia Fuenmayor, INIA CENIAP (Jubilada). Edo Aragua.

Grigna Piña, INIA-CENIAP. Edo Aragua.

Humberto Moratinos, UCV-FAGRO. Edo. Aragua.

Jesús Salazar, UCV-FAGRO. Edo. Aragua.

Joan Montilla, INIA-CENIAP. Edo. Aragua.

José Albarrán, INIA-CENIAP. Edo. Aragua.

Ligia Carolina Rosales, INIA-CENIAP. Edo. Aragua.

Marco Acevedo, INIA-CENIAP. Edo. Aragua.

María Navas, INIA. Edo. Marina.

María Ormeño, INIA. Edo. Mérida

María Sánchez, UDO. Edo. Monagas.

Onelia Andrade, INIA. Edo. Yaracuy.

Orlando Mora, INIA. Edo. Yaracuy.

Pedro García, INIA. Edo. Portuguesa.

Petra Madriz, UCV-FAGRO. Edo. Aragua.

Quintín Arias. UCV-FAGRO. Edo. Aragua.

Raisa Rumbos, INIA. Edo. Zulia.

Ramón Paz, UCLA. Edo. Lara.

Raúl Jiménez, INIA-CENIAP. Edo. Aragua.

Reinaldo Cardona, INIA. Edo. Portuguesa.

Renny Barrios, INIA. Edo. Monagas.

Rosaima Riera García, INIA. Edo. Mérida. (Jubilada)

Ruben Silva, INIA. INIA-CENIAP. Edo. Aragua.

Sara Roa, INIA. Edo. Táchira.

Sol Medina, INIA. Edo. Guárico

Torres Andrew, UNELLEZ. Edo. Guárico.

Yanely Alfaro, INIA-CENIAP (Jubilada). Edo. Aragua.

Zulay Flores, INIA- CENIAP (Jubilada). Edo. Aragua.

De igual manera agradecemos a los investigadores que enviaron sus artículos y se invita a la comunidad científica, especialista en los diferentes componentes de producción en el área de las ciencias agrícolas, a continuar consignando sus trabajos en nuestra revista. Finalmente, extendemos nuestro reconocimiento a los profesionales Ada Maureen Medina y Felix Carreño por su importante participación en la revisión de los abstract y resumo, respectivamente. Asimismo a los Diseñadores gráficos Sonia Piña y Ofsman Sosa, por su apoyo técnico en la edición de las imágenes publicadas para este volumen.

## TABLA DE CONTENIDO Vol. 65 N° 3-4

### Artículos Científicos

León-Brito O. C., Ramis C., Angulo L., Maselli A., Maureen Medina A. y Alemán L. Comparación de dos métodos para la detección de <i>Xanthomonas phaseoli</i> en semillas de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	125
Mujica-Rivero H., Pérez de Camacaro M. y Sanabria M. E. Efecto de la densidad de siembra y la nutrición potásica sobre los componentes de crecimiento en ajo morado .....	139
Techeira-De Soto N. S., Yépez-Palencia Y. A. y Román-Montilla Y. J. Desarrollo de un alimento funcional tipo ponqué utilizando residuos del proceso de extracción de almidones nativos de yuca y cambur .....	151
Meneses Pérez D., Sánchez García L. M. y Vivas L. Malezas asociadas al cultivo de arroz bajo riego con pivote central en bancos de San Pedro, Calabozo estado Guárico, Venezuela .....	165
Griffin M., Pérez D., Camacaro N., Marín C. y León-Brito O. Caracterización morfológica de semilla de accesiones locales del género <i>Vigna</i> conservadas en el Banco de Germoplasma del INIA-CENIAP.....	175

### NOTA TÉCNICA

García P. M. y Clemente M. J. Efecto de siete periodos de trasplante del patrón 'Taiwanica' sobre variables morfológicas en vivero con malla sombra.....	189
del Busto Concepción A., Santana Baños Y., Guaraco Benavente R., Páez Fernández P. L. y González Breijo F. Evaluación agronómica de tres híbridos de pepino en condiciones de casa de cultivo en Cuba ..	199
Ramírez Poletto E. E. Resistencia varietal en cultivares de caña de azúcar a la inoculación con <i>Xanthomonas albilineans</i> (Ashby) Dowson .....	205
Instrucciones al autor .....	213

## TABLE OF CONTENTS Vol. 65 N° 3-4

### Scientific Articles

León-Brito O. C., Ramis C., Angulo L., Maselli A., Maureen Medina A. and Alemán L. Comparison of two methods for detection of <i>Xanthomonas phaseoli</i> on bean seeds ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	125
Mujica-Rivero H., Pérez de Camacaro M. and Sanabria M. E. Effect of planting density and potassium fertilization on growth components in purple garlic .....	139
Techeira-De Soto N. S., Yépez-Palencia Y. A. and Román-Montilla Y. J. Development of a functional cupcake using an extraction process in wastes of cassava and banana native starches .....	151
Meneses Pérez D., Sánchez García L. M. and Vivas L. Weeds present in rice cultivated under a center pivot irrigation system in Bancos de San Pedro in Calabozo, Guárico state, Venezuela .....	165
Griffin M., Pérez D., Camacaro N., Marín C. and León-Brito O. Morphological characterization of cowpea local accessions seed of <i>Vigna</i> genero conserved at INIA-CENIAP Germplasm Bank .....	175
<b>Technical Note</b>	
García P. M. and Clemente M. J. Effect of seven periods of transplantation of the pattern 'Taiwanica' on morphological variables in nursery with mesh shade.....	189
del Busto Concepción A., Santana Baños Y., Guaraco Benavente R., Páez Fernández P. L. and González Breijo F. Agronomic evaluation of three cucumber hybrids under house of culture in Cuba .....	199
Ramírez Poletto E. E. Varietal resistance to <i>Xanthomonas albilineans</i> (Ashby) Dowson in sugarcane cultivars.....	205
Instructions to the author .....	213

## Comparación de dos métodos para la detección de *Xanthomonas phaseoli* en semillas de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

### Comparison of two methods for detection of *Xanthomonas phaseoli* on bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.)

Oralys C. León-Brito<sup>1\*</sup>, Catalina Ramis<sup>2</sup>, Luis Angulo<sup>2</sup>, Ana Maselli<sup>1</sup>, Ada Maureen Medina<sup>2</sup> y Luis Alemán<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA-CENIAP); <sup>2</sup>Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía (UCV-FAGRO), Instituto de Genética; <sup>3</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, estado Portuguesa. \*Correo electrónico: oralys927@gmail.com

#### RESUMEN

En búsqueda del método más efectivo, que se ajuste a las condiciones y recursos a nivel de laboratorio, se compararon dos metodologías para la identificación de la bacteria *Xanthomonas phaseoli* en semillas de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.). Las semillas analizadas provenían de plantas de 28 accesiones previamente inoculadas en condiciones de umbráculo. Se utilizó el método convencional de bacteriología, realizándose estudios morfológicos, pruebas fisiológicas y bioquímicas, en colonias puras de bacterias con 24 horas de crecimiento, obtenidas de la siembra directa en agar nutritivo, de las semillas tratadas en dos condiciones: sin desinfectar y desinfectadas. Se empleó la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa como método molecular. Con la utilización del método convencional solo se logró detectar la presencia de la bacteria en dos accesiones, mientras que con el método molecular se identificó en 18, del total de 28 accesiones. El método convencional utilizado fue menos efectivo porque se requiere mayor tiempo para el análisis de una muestra, en comparación con el método molecular, aunque el costo de este último es más elevado.

**Palabras clave:** bacteriosis común, detección enfermedad bacteriana, PCR.

#### ABSTRACT

According to laboratory condition and resources, two methodologies were compared in order to identify the most effective method to detect the presence of common bacterial blight caused by *Xanthomonas phaseoli* in black bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.). The seeds were taken from 28 accessions of plants previously inoculated under greenhouse conditions. Conventional methods, including morphological, physiological and biochemical tests, using 24 hours pure bacteria colonies, obtained directly from seedlings grown on nutrient agar from seeds treated in disinfected and non-disinfected conditions were performed; also the molecular technique of polymerase chain reaction. The conventional method permitted the detection of the bacterial pathogen in two accessions of seeds, whereas 18 were identified with the molecular method. The conventional method was less effective and required longer time for results compared to the molecular method, with higher cost.

**Key words:** bacterial blight, detection bacterial disease, PCR.

## INTRODUCCIÓN

La caraota, *Phaseolus vulgaris* L., es una de las principales leguminosas de grano que se consume en Venezuela. Su importancia radica en su beneficio como fuente de proteína y otros nutrientes, necesarios en la alimentación humana. Según cifras del Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras (MPPAT), en el año 2014, la superficie cosechada de este rubro fue de 7616 ha, con una producción de 6191 t, representando un rendimiento de 813 kg.ha<sup>-1</sup>.

Esta leguminosa se cultiva en casi todos los estados del país, en una multiplicidad de ambientes, comprendidos en zonas desde 150 a 2000 msnm, temperaturas de 15 a 27 °C, precipitaciones de 300 y 500 mm de agua de lluvia por ciclo y suelos franco-arenosos o franco-limosos, profundos, fértiles, con pH entre 5,5 y 7,0 (Pérez *et al.*, 2013 y Morros, 2001).

La caraota se propaga por semilla, siendo necesario tener en cuenta la calidad de la misma para el éxito del cultivo. Pueden ser un medio ideal para el transporte de patógenos de origen fúngico, viral, bacterial e inclusive de nematodos, que afectan la germinación y, como consecuencia, la emergencia y población final de plantas; o bien, causar problemas patológicos en los cultivos una vez establecidos. Igualmente, pueden diseminar enfermedades a regiones donde estaban ausentes (Montoya-Estrada y Castaño-Zapata, 2009).

La incidencia de enfermedades es uno de los factores que limita la producción del cultivo de caraota, por cuanto la ocurrencia e importancia económica de las mismas varían considerablemente en las diferentes zonas climáticas y en los sistemas de producción (Cruz-Izquierdo *et al.*, 2001).

En Venezuela, desde 1980, se ha señalado la presencia de microorganismos patógenos como hongos, virus y bacterias en la mayoría de las clases de semillas de fabáceas estudiadas, incluyendo: certificada, registrada, fundación y experimental o genética (Trujillo, 1989).

Una de las principales enfermedades que afecta a la caraota es la bacteriosis común causada por *Xanthomonas phaseoli*, la cual se propaga por semilla, lo que reduce los rendimientos de

40 a 45% en la producción de grano y disminuye la calidad de la semilla (Cruz-Izquierdo *et al.*, 2001; Lagarde *et al.*, 2010; Mutlu *et al.*, 2008 y Nunes *et al.*, 2008).

Sutton y Wallen (1970), realizando estudios epidemiológicos sobre *X. campestris* pv. *phaseoli*, demostraron que la presencia de una semilla de caraota infestada en un lote de 1000 semillas es suficiente para ocasionar una epidemia. Karavina *et al.* (2008), reportan que *Xanthomonas* ssp. puede sobrevivir hasta quince años en semillas de caraota, lo que ocasiona entre 10 y 50% de pérdidas. Saettler (1991) señala que el primordial medio de sobrevivencia de la bacteria *X. phaseoli* es la semilla contaminada, y puede mantenerse interna o externamente sobre ésta, siendo un medio efectivo de diseminación local y a larga distancia de este patógeno; además constituye la principal fuente de inóculo primario.

Existen diferentes metodologías para la detección de *X. phaseoli* en la semilla, que van desde las más sencillas, como siembra en suelo estéril y observación del crecimiento de las plantas (poco eficiente), hasta las más sofisticadas que incluyen utilización de medios selectivos, técnicas moleculares y serológicas, que son de mayor eficiencia, pero acarrear mayores costos (Roth, 1995 y Trujillo *et al.*, 2005).

En la identificación de bacterias en semillas de caraota, el Laboratorio de Bacteriología de Protección Vegetal del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), en Maracay, estado Aragua, utiliza como metodología la siembra directa de las semillas en agar nutritivo, en dos condiciones: desinfectadas y sin desinfectar. Posteriormente, se efectúa el aislamiento, purificación e identificación de las colonias de bacterias, a las cuales se le realizan las pruebas determinadas por Schaad *et al.* (2001).

La metodología de siembra directa de las semillas sobre medios de crecimiento semisólidos para la obtención de patógenos bacterianos, ha sido cuestionada por diferentes autores, entre ellos Trujillo (1998) y Trujillo *et al.* (2005), quienes señalan que en las semillas existen muchos microorganismos contaminantes que crecen a una velocidad superior al de las bacterias

fitopatógenas, enmascarándolas y haciendo difícil su aislamiento.

Existen herramientas de diagnóstico molecular de microorganismos fitopatógenos, principalmente la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), basada en los genes ribosomales. La técnica de PCR es rápida, económica y permite producir un gran número de copias de moléculas de ADN vía catálisis enzimática, para mostrar diferencias en secuencias de genes del ARN ribosomal (rARN) o ADN mitocondrial (mADN), según Guzmán-Piedrahita *et al.*, 2009.

Audy *et al.* (1994) desarrollaron un procedimiento rápido para la identificación de *X. phaseoli*, basado en la reacción en cadena de la polimerasa, diseñando iniciadores para amplificar regiones específicas del ADN del plásmido de *Xanthomonas*, obteniendo un fragmento de 730 pb. Por su parte, Toth *et al.* (1998), diseñaron iniciadores específicos para una rápida diferenciación de *X. campestris* pv *phaseoli* var *fuscans* con un fragmento de 450 pb, tipo SCAR (secuencias caracterizadas de regiones amplificadas), tal fragmento corresponde a una secuencia de ADN genómico de la bacteria, detectado como una banda específica a través de RAPDs (Birch *et al.*, 1997). Estos últimos utilizados por Sánchez (2012) para la caracterización de aislamientos de *X. albilineans*, obteniendo distintos fragmentos amplificados entre 200 y 1200 pb, según los aislamientos de la bacteria.

La presente investigación tuvo por objetivo comparar la efectividad de dos métodos para la detección de la bacteria *X. phaseoli* en semillas de caraota provenientes de plantas inoculadas en condiciones de umbráculo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en Maracay, estado Aragua en el Laboratorio de Bacteriología ubicado en el área de Protección Vegetal del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias adscrito al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-CENIAP); en conjunto con el Laboratorio de Genética Molecular (LGM) del Centro de Investigaciones en Biotecnología Agrícola (CIBA) perteneciente

al Instituto de Genética, Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela.

### Material vegetal

El material estuvo constituido por semillas de caraota cosechadas (Cuadro 1) de 28 accesiones, provenientes de un ensayo en condiciones de umbráculo, donde las plantas habían sido inoculadas con la bacteria *X. phaseoli*, obtenida del Laboratorio de Bacteriología de Protección Vegetal del INIA-CENIAP e identificada como la cepa Tucutunemo de los Valles de Aragua, siguiendo el procedimiento de Lagarde *et al.* (2010).

### Método convencional de bacteriología

Se utilizó el método de siembra directa. Las semillas fueron tratadas en dos condiciones: un primer grupo, sin desinfectar (SSD) y un segundo grupo desinfectadas (SD). En el caso de las semillas desinfectadas, fueron tratadas con hipoclorito de sodio al 1,5%, durante dos minutos y luego lavadas con agua destilada estéril. Se utilizaron placas de petri de 9 cm de diámetro, con agar nutritivo (AN), donde se colocaron ambos grupos de semillas. El número de semillas por placa no fue superior a 10 y dependió del tamaño de las mismas; todo este proceso se realizó en una cámara de flujo laminar. Las placas de petri con las semillas se colocaron en una incubadora a 28 °C. Se realizaron observaciones de las placas, en un microscopio estereoscópico, a las 24 y 48 horas de incubación. Las bacterias que se observaron a las 24 horas correspondieron a saprófitas y las que se observaron a partir de las 48 horas fueron patogénicas.

Para el aislamiento, purificación e identificación de las colonias de bacterias en crecimiento, posibles *Xanthomonas*, se tomaron aquellas de color amarillo claro y con un anillo de platino se estriaron, en forma de zigzag, en platos de petri conteniendo AN, luego se incubaron a 28 °C. A las 24 horas de incubación, se tomó una muestra de las colonias en crecimiento y se estrió por desgaste, para obtener colonias aisladas. Consecutivamente, a las 24 horas después de incubación se tomaron colonias aisladas de color amarillo claro que correspondió a la obtención de colonias puras o cultivo puro.

Cuadro 1. Accesiones de cultivares de caraota (*P. vulgaris* L.) empleados para detectar la presencia de la bacteria *X. phaseoli* por el método tradicional de bacteriología y método PCR.

Accesión	Accesiones del Banco de Germoplasma	Genealogía	Cultivar
1	Testigo resistente	XAN 154	Testigo
2	Testigo susceptible	Tacarigua	Testigo
3	I-1984	MGM-01-98-007	Var. Local
4	I-1997	MGM-01-98-022	Var. Local
5	I-2019	MGM-02-99-06	Var. Local
6	I-2029	MGM-03-99-07	Var. Local
7	I-2043	MEM-01-00-08	Var. Local
8	I-2133	MGM-05-01-08	Var. Local
9	I-2139	DP-03-01-004	Var. Local
10	I-2152	MEM-03-01-10	Var. Local
11	I-2153	MEM-03-01-11	Var. Local
12	I-2162	CQ-04-01-01	Var. Local
13	I-2164	CQ-05-01-02	Var. Local
14	I-2180	MS-03-01-09	Var. Local
15	I-2208	AB-02-01-017	Var. Local
16	I-2219	MEM-03-02-017	Var. Local
17	I-2222	MEM-03-02-022	Var. Local
18	I-2226	MGM-08-02-001	Var. Local
19	I-2231	MGM-08-02-010	Var. Local
20	I-2232	MGM-08-02-012	Var. Local
21	I-2239	MGM-08-02-026	Var. Local
22	I-2242	MGM-08-02-029	Var. Local
23	I-2245	MGM-08-02-032	Var. Local
24	I-2568	DP-06-06-103	Var. Local
25	I-2662	BAT-68	Línea CIAT
26	UCV-150	INIAL8xMEM0301014 150/M/M/M	Línea avanzada UCV
27	UCV-27	Xan154xMEM0301013/27/M/ M/M/M/M	Línea avanzada UCV
28	UCV-56	Xan154xMEM0301013/56/M/ M/M/M/M	Línea avanzada UCV

Var. Local= Variedad local

Posteriormente, se le realizaron los estudios morfológicos, pruebas fisiológicas y bioquímicas para identificar la bacteria presente en las semillas, siguiendo los procedimientos de rutina del Laboratorio de Bacteriología de Protección Vegetal del INIA-CENIAP, según la metodología de Schaad *et al.* (2001).

### Método de técnicas moleculares

**Extracción de ADN genómico.** Las semillas de cada accesión de caraota provenientes de plantas inoculadas con la bacteria *X. phaseoli*, en condiciones de umbráculo, fueron puestas a germinar en papel absorbente previamente humedecido con agua destilada. A los 3 días del proceso de germinación, a las semillas se les eliminó el tegumento y estas fueron utilizadas para la extracción de ADN siguiendo la metodología de Gepts y Clegg (1989), Gepts *et al.* (1992) y Murray y Thompson (1980), con algunas modificaciones implementadas en el Laboratorio de Genética Molecular en el CIBA-UCV (Castañeda, 2010).

**Determinación de la cuantificación y calidad del ADN obtenido.** La cantidad y calidad del ADN extraído se determinó en gel de electroforesis de agarosa al 1% en comparación con el ADN fago lambda no digerido de concentración conocida. Todas las muestras de extracción fueron incubadas a 37 °C con ARNasa durante 1 hora para mejorar la calidad de las mismas y eliminar el ARN.

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Se utilizó la técnica de PCR específica, utilizando los iniciadores desarrollados por Audy *et al.* (1994) y Toth *et al.* (1998), cuyas secuencias se presentan en Cuadro 2. La prueba permite detectar la presencia de la bacteria a través de la amplificación de un fragmento de 730pb o 450pb, respectivamente; la no amplificación indica la ausencia del ADN de la bacteria en la muestra.

Se utilizaron cuatro muestras de ADN de la bacteria *X. albilineans* como control positivo para la PCR (Sánchez, 2012). Las muestras de ADN de las accesiones de caraota y de

Cuadro 2. Secuencia y tamaño de iniciadores utilizados para la amplificación por PCR para detectar la presencia de *X. phaseoli* en semillas de caraota.

Fuente	Iniciador	Secuencia	Tamaño (pb)
Audy <i>et al.</i> (1994)	X4-c	GGCAACACCCGATCCCTAACAGG	730
	X4-e	CGCCCGGAAGCACGATCCTCGAAG	
Toth <i>et al.</i> (1998)	Xf2	ATGGCTCAAGGAAAACTTTCAGG	450
	Xf1	ACGCAAGACCCATCGTCATTC	

Cuadro 3. Componentes empleados para la reacción PCR.

Reactivo	Concentración inicial	Concentración final
Tampóns	5X	1X
MgCl <sub>2</sub>	25mM	3mM
dNTP's	20mM	0,2mM
Cebador directo e indirecto	50µM	1 µM
Albumina bovina (BSA)	5mg.mL <sup>-1</sup>	0,1 mg.mL <sup>-1</sup>
GoTaq® Flexi ADN	1U.µL <sup>-1</sup>	0,2 U.µL <sup>-1</sup>
ADN	5ng. µL <sup>-1</sup>	1ng. µL <sup>-1</sup>
Volumen Final	25 µL	

los controles positivos para la bacteria, fueron preparadas a una concentración de  $5\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ . Las condiciones de la mezcla de reacción para la PCR se presentan en el Cuadro 3.

La amplificación por PCR fue realizada en un termociclador Cyler® BIO-RAD Thermal Cyler, en las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 5 min, seguida de 34 ciclos de amplificación a  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 1 min, hibridación a  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 30 segundos y extensión a  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 2 min, seguida por un ciclo de extensión a  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 10 min y un ciclo final a  $14\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 10 min.

**Visualización de los productos de amplificación por PCR.** La separación de los productos de amplificación por PCR se realizó a través de la técnica de electroforesis en gel de agarosa 1,5%, teñido con bromuro de etidio 0,00002%, durante 2 horas y media a 80 v y 25mA. El gel fue visualizado en el transiluminador UV y fotografiado con analizador de imágenes del Gel Doc (BIO-Rad).

**Técnica convencional vs metodología molecular.** La comparación de la técnica convencional y metodología molecular utilizada para detectar la presencia de la bacteria *X. phaseoli* en las semillas de caraota se realizó considerando la efectividad y eficiencia de cada metodología.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Detección de *X. phaseoli* a través de métodos convencionales de bacteriología

De acuerdo con el estudio morfológico de las bacterias de 24 horas de crecimiento, las colonias puras fueron de color amarillo claro, lisas, redondas con bordes enteros y apariencia mucoide. Estas se identificaron en 6 de las 28 accesiones estudiadas, registradas como 7, 22, 24, 26, 27 y 28. Las colonias de bacterias que presentaron las características señaladas, se obtuvieron de las semillas desinfectadas (SD) de cada cultivar, indicando la presencia de la bacteria en el interior de las semillas.

Este resultado confirma lo expuesto por Trujillo (1989) sobre la diseminación de bacterias fitopatógenas a través de la semilla. A fin de confirmar la presencia de *X. phaseoli*, se

realizaron las pruebas químicas y fisiológicas correspondientes. En el resto de las accesiones analizadas, no se observaron colonias con características típicas de la bacteria en estudio.

En el Cuadro 4 se resumen los resultados hallados para las pruebas químicas y fisiológicas de aquellas bacterias obtenidas de las semillas de las 6 accesiones mencionadas anteriormente, así como los resultados de la pruebas que se esperarían para *X. phaseoli* según Schaad *et al.* (2001). Las muestras de las accesiones 7 y 22 presentaron las características típicas de *X. phaseoli*, pudiéndose concluir que tales semillas estaban infectadas con *X. phaseoli*, demostrando la translocación de la bacteria desde el punto de inoculación en las hojas cotiledonares hasta las semillas.

En el caso de la accesión 24, la bacteria presentó resultado positivo de la prueba de respiración tanto en anaerobiosis como aerobiosis, resultado no esperado para *X. phaseoli*, por cuanto ésta solo debe crecer en condiciones aeróbicas; esto explica una de las desventajas del método convencional por no tener la sensibilidad para la identificación precisa de algunos aislados bacterianos. Para las muestras de las accesiones 26, 27 y 28, las pruebas no son concluyentes. La prueba de catalasa resultó negativa para la accesión 27 y en la prueba en medio diferencial SX resultó negativa en las accesiones 26 y 28; sin embargo, estas pruebas no son determinantes para la caracterización final, se recomienda realizar pruebas adicionales que permitan la identificación precisa.

*X. phaseoli* se caracteriza por ser un bacilo Gram negativo, aeróbico, móvil mediante un flagelo polar. A nivel bioquímico, presenta reacción de la oxidasa negativa o débil, catalasa positiva, no produce indol e hidroliza el Tween 80, produce ácido a partir de arabinosa, celobiosa, galactosa, glucosa, manosa y trehalosa, también produce  $\text{H}_2\text{S}$ , proteólisis de la leche e hidrólisis del almidón.

Las colonias jóvenes en placas de agar suelen ser lisas, redondas con bordes enteros y apariencia mucoide. La pigmentación amarilla debido a la xantomonadina (pigmentos amarillos no solubles en agua) constituye una de sus principales características, pero no es

Cuadro 4. Resultados de las pruebas en las semillas de accesiones donde se observó la presencia de colonias bacterianas de *X. phaseoli* y su comparación con las características reportadas por Schaad *et al.* (2001).

N° de accesión	Condición y N° de semillas analizadas	Identificación	Tinción de Gram			Medio diferencial SX	Respiración (OF)			Crecimiento a 35 °C en un medio YDC
			Positiva (+)	Oxidasa	Catalasa		● CG	○ SG		
		Schaad <i>et al.</i> (2001)	■BC (-)	-	+	+	-	+	+	
7	SD (4)	Var. Local	■BC (-)	-	+	+	-	+	+	
22	SD (1)	Var. Local	■BC (-)	-	+	+	-	+	+	
24	SD (4)	Var. Local	■BC (-)	-	+	+	+	+	+	
26	SD (10)	UCV-150	■BC (-)	-	+	-	-	+	+	
27	SD (6)	UCV-27	■BC (-)	-	+	+	-	+	+	
28	SD (5)	UCV-56	■BC (-)	-	+	-	-	+	+	

Semillas desinfectadas (SD), ■Bastones Cortos (BC), ●Con Glicerina, ○ Sin Glicerina, Var. Local=Variedad local.

determinante en la identificación ya que existen cepas no pigmentadas y ocasionalmente mutantes no coloreados (Bradbury, 1984; Noval, 1991; Schaad *et al.*, 2001 y Saettler, 1991).

### Identificación de *X. Phaseoli* por técnicas moleculares

Una vez realizada la extracción de ADN de las semillas de las 28 accesiones de caraota para identificar la presencia de *X. phaseoli*, se verificó la cantidad y calidad del ADN obtenido, obteniéndose entre 5 y 100 ng.μL<sup>-1</sup>. En tales muestras estaría presente el ADN de la planta y posiblemente de la bacteria.

Los ADN de las accesiones de caraota a una concentración de 5 ng.μL<sup>-1</sup> más los ADN de la bacteria *X. albilineans*, utilizados como control positivo, a igual concentración, fueron empleados para obtener las muestras amplificadas mediante la (PCR) para las regiones específicas determinadas por Audy *et al.* (1994) y Toth *et al.* (1998).

En el caso de la prueba diseñada por Audy *et al.* (1994), en la Figura 1 se presentan los productos de amplificación para cada accesión, observándose la amplificación superior de un fragmento de 750pb en la mayoría de las muestras analizadas (64,3%) provenientes de semillas de caraota. Este resultado demuestra que la bacteria no se diseminó de manera similar en las accesiones evaluadas. En el caso de *X. albilineans* se observa amplificación de bandas de otras tallas similares a las observadas por Sánchez (2012).

En la Figura 2 se presentan los productos de amplificación obtenidos para los iniciadores Xf1-Xf2 (Toth *et al.*, 1998) visualizados en gel de agarosa 1,5% en presencia de bromuro de etidio. En la misma, se observa en general la amplificación de fragmentos entre 200 y 1200pb en todas las muestras evaluadas, similares a las obtenidas por Sánchez (2012); sin embargo, no propias a la banda esperada de 450pb para *X. phaseoli* var. *Fuscans*, según lo reportado por Toth *et al.* (1998); lo que indica que las muestras no corresponden a ese tipo del patógeno. Esta prueba debería tomarse como un complemento de la anterior, ya que permite la identificación de la presencia de *X. phaseoli*.

Del total de las 28 muestras analizadas por la técnica molecular, 18 revelaron evidencias de la presencia de la bacteria en las semillas de las plantas inoculadas, demostrando así la translocación de la bacteria desde el punto de inoculación hasta las semillas.

La presencia del ADN de la bacteria fue detectado tanto en cultivares locales, líneas avanzadas, el testigo resistente (XAN154) y el susceptible ('Tacarigua'), tal resultado indica que la reacción de resistencia o susceptibilidad no se relaciona con la presencia o no de la bacteria en el tejido vegetal. Los resultados obtenidos por Cafati y Saettler (1980) y Contreras *et al.* (2001) señalan al respecto, la cantidad de células bacterianas que logran sobrevivir y causar los síntomas. De esta manera, a fin de distinguir genotipos susceptibles y resistentes sería necesaria una prueba molecular de tipo cuantitativa.



Figura 1. Visualización de los productos de amplificación PCR iniciadores X4-e-X4-c (Audy *et al.*, 1994) en gel de agarosa 1,5%. Marcador de 50pb (pozo 1); controles positivos de *X. albilineans* (pozos 2-5); ADN extraído de 28 muestras de semillas provenientes de plantas inoculadas con *X. phaseoli* de 28 accesiones de caraota (pozos 6 al 33).



Figura 2. Visualización de los productos de amplificación PCR iniciadores SCAR Xf1-Xf2 en gel de agarosa 1,5%. Marcador de 50pb (pozo 1); controles positivos de *X. albilineans* (pозos 2-5); ADN extraído de 28 muestras de semillas provenientes de plantas inoculadas con *X. phaseoli* de 28 accesiones de caraota.

### Método convencional vs. Molecular

La comparación de ambas metodologías se realizó considerando la eficacia, al detectar la presencia de la bacteria y su eficiencia medida en tiempo y recursos necesarios para la obtención de resultados. En cuanto al primer aspecto, en el Cuadro 5 se presentan los resultados de identificación de la presencia de la bacteria *X. phaseoli* con el uso de las metodologías convencionales y moleculares de 28 muestras de semillas de caraota obtenidas de plantas inoculadas con *X. phaseoli*.

En el mismo, se destaca la baja efectividad del método convencional utilizado para detectar la presencia de la bacteria en cuanto al número de muestras (2), en comparación al método molecular con 18 muestras; al respecto Audy *et al.* (1994) encontraron que la técnica de PCR por ellos desarrollada era capaz de detectar la presencia de cantidades muy pequeñas del ADN de la bacteria, correspondiente a 10cfu, haciéndola mucho más sensible.

Para las muestras 26, 27 y 28 las distintas pruebas bioquímicas no coincidieron en su totalidad con lo esperado para *X. phaseoli* (Cuadro 5), por lo que se indica que no fueron concluyentes en cuanto a la presencia de la bacteria en las semillas de tales genotipos. En el caso particular de la accesión 27, se detectó la presencia de la bacteria mediante la prueba molecular. Estos 3 genotipos de caraota son producto de un programa de mejoramiento genético para resistencia a la bacteriosis

común, con la introducción de un simple gen de resistencia procedente de la accesión XAN154 (Ramis *et al.*, 2008), por lo que manifiestan menores síntomas tanto en campo como bajo inoculación dirigida (Castañeda, 2010).

Estudios anteriores han demostrado que en genotipos resistentes, *X. phaseoli* puede sobrevivir en los tejidos de plantas infectadas sin que se presenten síntomas (Cafati y Saettler, 1980). Por otra parte, Contreras *et al.* (2001) comparando genotipos de caraota resistentes, moderadamente resistentes y susceptibles a *X. phaseoli* observaron la presencia de la bacteria en menor cantidad en relación a la mayor resistencia. Siendo así, una prueba sensible como la PCR es capaz de detectar la presencia de bajas cantidades del ADN de la bacteria que las pruebas convencionales no pudieran demostrar. Estos resultados han sido señalados por Trujillo *et al.* (2005) quienes indican que es indispensable la prueba de reinoculación en plantas a fin corroborar la identificación del agente causal. Esto requiere de un mayor tiempo y recursos.

Por su parte, en el Cuadro 6 se presenta la comparación de las metodologías, convencional y molecular, para la detección de la presencia de *X. phaseoli* en semillas de caraota en cuanto al tiempo y costo requerido para el análisis de una muestra. En el mismo, se evidencia que aunque el costo del análisis molecular es mayor, el tiempo para obtener resultados es mucho menor. Toth *et al.* (1998) indican que la técnica

Cuadro 5. Presencia (+) o ausencia (-) de *X. phaseoli* identificada con el uso de metodologías convencionales y moleculares, en muestras de semillas de caraota obtenidas de plantas inoculadas con la bacteria.

Muestra	Nomenclatura	Métodos	
		Convencional	Molecular
1	XAN 154	-	+
2	Tacarigua	-	-
3	MGM-01-98-007	-	+
4	MGM-01-98-022	-	-
5	MGM-02-99-06	-	+
6	MGM-03-99-07	-	+
7	MEM-01-00-08	+	+
8	MEM-01-00-08	-	+
9	DP-03-01-004	-	+
10	MEM-03-01-10	-	-
11	MEM-03-01-11	-	+
12	CQ-04-01-01	-	-
13	CQ-05-01-02	-	-
14	MS-03-01-09	-	-
15	AB-02-01-017	-	+
16	MEM-03-02-017	-	+
17	MEM-03-02-022	-	+
18	MGM-08-02-001	-	+
19	MGM-08-02-010	-	+
20	MGM-08-02-012	-	+
21	MGM-08-02-026	-	-
22	MGM-08-02-029	+	+
23	MGM-08-02-032	-	-
24	DP-06-06-103	-	+
25	BAT-68	-	+
26	UCV 150	no concluyente	-
27	UCV 27	no concluyente	+
28	UCV 56	no concluyente	-
Número de muestras con presencia de <i>X. phaseoli</i> detectada.		2	18

Cuadro 6. Comparación de las metodologías convencional y molecular para la detección de la presencia de *X. phaseoli* en semillas de caraota en cuanto al tiempo y costo requerido para el análisis de una muestra.

Métodos	Tiempo (días)	Costo (Bs/muestra) Año 2015
Convencional	De 7 a 15	239,68*
Molecular	3	2.500**

\*Laboratorio de Bacteriología de Protección Vegetal del INIA-CENIAP. \*\*Laboratorio de Genética Molecular del CIBA, adscrito al Instituto de Genética de la Facultad de Agronomía, UCV.

de PCR reduce significativamente el tiempo requerido para detectar *X. c. pv. phaseoli* y *X. c. pv. Phaseoli* var. *Fuscans*; este método permite una detección más sensible, rápida y específica.

La sensibilidad del método depende, en gran medida, de la detección de la bacteria. Los estudios morfológicos conjuntamente con las pruebas fisiológicas y bioquímicas, pueden determinar ciertas características en respuesta a los procesos funcionales de la célula bacteriana.

Sin embargo, el estudio del ADN mediante pruebas moleculares es mucho más preciso, ya que tiene mayor sensibilidad para caracterizar a la bacteria mediante la molécula de ADN. También la patogenicidad de la cepa está condicionada a la incidencia que pueda tener la bacteriosis en ese momento, en las semillas del germoplasma, por lo cual no permita ser detectada por las técnicas convencionales de identificación de bacterias fitopatógenas.

## CONCLUSIONES

Se evaluaron 28 accesiones de semilla de caraota para detectar *X. phaseoli* a través de dos metodologías: convencional y molecular. La metodología convencional señala que dos accesiones presentaron la bacteria y con el método molecular se identificaron 18 muestras con la presencia de *X. phaseoli*.

El método convencional, que presenta menor costo, fue menos efectivo que el método molecular para detectar la presencia de *X. phaseoli* en semillas de caraota, el cual tiene mayor costo y rápido tiempo de respuesta.

Los resultados demostraron la presencia de la bacteria *X. phaseoli* en semillas de plantas

inoculadas, siendo ésta la principal forma de diseminación de la enfermedad; por lo que se considera de vital importancia contar con una técnica de detección confiable para los programas de multiplicación de semilla y para los programas de mejoramiento genético.

## LITERATURA CITADA

- Audy, P., A. Laroche, G. Saindon, H. C. Huang and R. L. Gilbertson. 1994. Detection of the bean common blight bacteria, *Xanthomonas campestris* pv. *Phaseoli* and *X. c. phaseoli* var. *fuscans*, using the polymerase chain reaction. *Phytopathology*. 84:1185-1192.
- Bradbury, J. 1984. Genus II. *Xanthomonas* Dowson. In: Krieg (ed). *Bergeys Manual of Systematic Bacteriology* Vol I. Baltimore, USA. William and Wilkins. pp. 199-210.
- Cafati, C. R. and A.W. Saettler. 1980. Effect of host on multiplication and distribution of bean common blight bacteria. *Phytopathology*. 70:675-679.
- Castañeda H., R. 2010. Evaluación molecular de la resistencia a la bacteriosis común (*Xanthomonas phaseoli*) y del rendimiento, en familias F<sub>2,4</sub> de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis de Maestría. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Maracay, Venezuela. 70 p.
- Contreras, N., G. Trujillo, O. Borges y F. Centeno. 2001. Análisis ultraestructural de la interacción de *Xanthomonas axonopodis* pv. *Phaseoli* con genotipos resistentes, moderadamente resistentes y susceptibles de *Phaseolus vulgaris* L. *Interciencia*. 26(11):554-557.

- Cruz-Izquierdo, S., P. Ramírez-Vallejo, B. Tlapal-Bolaños, I. Ramírez-Ramírez, R. García-Espinoza, J. Sandoval-Islas, y F. Castillo-González. 2001. Producción masiva de *Xanthomonas axonodopis* pv. *phaseoli* (Smith) Dye. *Agrociencia*. 35:575-581.
- Gepts, P. and M. T. Clegg. 1989. Genetic diversity in Pearl Millet (*Pennisetum glaucum* [L.] R. Br.) at the DNA sequence level. *The Journal of Heredity*. 80(3):203-208.
- Gepts, P., V. Llaca, R. O. Nodar and L. Panella. 1992. Analysis of seed proteins, isozymes and RFLPs for genetic and evolutionary studies in *Phaseolus*. In: Linskens H-F, Jackson JF (eds.), *Modern methods of plant analysis (New Series)*. Seedanalysis. Springer, Berlin. pp. 63-93.
- Guzmán-Piedrahita, Ó. A., J. Castaño-Zapata y B. Villegas-Estrada. 2009. Diagnóstico de enfermedades de plantas de origen biótico. *Agronomía*. 17(2):7-24.
- Karavina, C., J. Chihya and T. A. Tigere. 2008. Detection and characterization of *Xanthomonas phaseoli* (E. F. Smith) in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds collected in Zimbabwe. In: *Journal of Sustainable Development in Africa*. 10(1):105-119.
- Lagarde, P., A. Medina, C. Ramis y A. Maselli. 2010. Evaluación de la resistencia a la bacteriosis común causada por *Xanthomonas phaseoli* en plantas F<sub>3</sub> de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.). *Fitopatología Venezolana*. 23(2):35-39.
- Montoya-Estrada, C. N. y J. Castaño-Zapata. 2009. Microorganismos asociados con granos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), variedad Cargamanto Blanco. *Agronomía*. 17(2):25-35.
- Morros, M. E. 2001. Cultivo de la caraota con énfasis en el estado Lara. Maracay, Venezuela. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Centro de Investigaciones Agrícolas del estado Lara. (Serie D N° 2). 74 p.
- MPPAT (Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras). 2015. Base de datos de la Dirección de Estadística. Caracas-Venezuela.
- Mutlu, N., K. Vidaver, D. P. Coyne, J. R. Steadman P. A. Lambrecht and J. Reiser. 2008. Differential Pathogenicity of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* and *X. fuscans* subsp. *fuscans* Strains on Bean Plant Disease. 92(4):546-554.
- Murray, M. G. and W. F. Thompson. 1980. Rapid isolation of high molecular weight DNA. *Nucleic Acids Res*. 8:4321-4325.
- Noval, C. 1991. Género *Xanthomonas*. In: Andres, M.; Arias, M y Bello, A. (eds). *Manual de laboratorio, diagnóstico de hongos, bacterias y nematodos fitopatógenos*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid, España. pp. 285-312.
- Nunes, W., M., Corazza, S. Dias de Souza, S. Mui Tsai and E. Kuramae. 2008. Characterization of *Xanthomonas axonodopis* pv. *phaseoli* isolates. Botucatu, Brazil. *Summa Phytopathol*. 34(3):228-231.
- Pérez, D., N. Camacaro, M. E. Morros y A. Higuera. 2013. Leguminosas de grano comestible en Venezuela. Caraota, frijol y quinchoncho. *Agricultura en Venezuela* N° 1. José Luis Berroterán (Editor). Ediciones ONCTI, Caracas. 157 p.
- Ramis, C, O. Movil, M. Maselli, A. Medina y D. Pérez. 2008. Estudio de la herencia de la resistencia a *Xanthomonas phaseoli* en una población F<sub>2</sub> de caraota (*Phaseolis vulgaris* L.). III Congreso Venezolano de Mejoramiento Genético y Biotecnología Agrícola (III CONVEME). Barquisimeto, Venezuela. 25 al 27 de junio 2008.
- Roth, D. A. 1995. Review of extraction and isolation methods in Saettler *et al.* 1995. Detection of bacteria and other planting material. APS Press. St. Paul, Minnesota. pp. 3-16.
- Saettler, A. 1991. Diseases caused by bacteria. In: Hall, R. (ed). *Compendium of bean diseases*. The American Phytopathological Society Press. USA. pp. 29-31.

- Sánchez, G., T. M. 2012. Diagnóstico y caracterización molecular de *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson en variedades comerciales de caña de azúcar *Saccharum* sp., en Venezuela. Tesis. Doctorado en Ciencias Agrícolas. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. 111 p.
- Schaad, N. W., J. B. Jones and W. Chun. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3<sup>era</sup> Ed. The American Phytopathological Society. St Paul, Minnesota. USA. 371 p.
- Sutton, M. D. and V. R. Wallen. 1970. Epidemiological and ecological relations of *Xanthomonas phaseoli* and *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans* on bean in Southwestern Ontario. Canadian. pp. 1329-1334.
- Trujillo, G., Y. Hernández y L. Gómez. 2005. Metodología fácil para la extracción y detección de bacterias fitopatógenas de semillas de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) y frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). Notas Técnicas. Fitopatología Venezolana. 18(2):37-39.
- Trujillo, G. 1998. Fundamentos de Bacterias Fitopatógenas. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Rev. Alcance 56. 187 p.
- Trujillo, G. 1989. La problemática de las semillas de leguminosas comestibles en relación con los patógenos de planta. Caso: Venezuela. Agronomía al Día. 2:30-32.
- Toth, I. K., L. J. Hyman, R. Taylor and P. R. J. Birch. 1998. PCR-based detection of *Xanthomonas campestris* pv. *Phaseoli* var. *fuscans* in plant material and its differentiation from *X. c.* pv. *phaseoli*. Journal of Applied Microbiology. 85:327-336.



## Efecto de la densidad de siembra y la nutrición potásica sobre los componentes de crecimiento en ajo morado

### Effect of planting density and potassium fertilization on growth components in purple garlic

Henry Mujica-Rivero\*, María Pérez de Camacaro y María Elena Sanabria

Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA), Barquisimeto, Venezuela. \*Correo electrónico: hmujicar@yahoo.com

#### RESUMEN

En Venezuela, el ajo (*Allium sativum* L.) es un cultivo rentable, aunque presenta algunos problemas en el manejo de la densidad de plantación y la nutrición mineral. El propósito de esta investigación fue evaluar el efecto de la densidad de siembra y las dosis de  $\text{KNO}_3$  sobre algunos parámetros de crecimiento en ajo criollo morado. Se utilizó un diseño en bloques al azar con arreglo de tratamientos en parcelas divididas, con 3 densidades de siembra: 100, 50 y 33 plantas. $\text{m}^{-2}$ ; y 3 dosis de  $\text{KNO}_3$ : 25, 50 y 100  $\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ . Las variables evaluadas fueron: número de hojas, índice relativo de clorofila, índice de área foliar, radiación fotosintéticamente activa y masa fresca del follaje. Las determinaciones se realizaron a los 30, 60 y 90 días después de la siembra. La interacción entre la densidad y las dosis de  $\text{KNO}_3$  tuvo un efecto bien marcado sobre el índice de área foliar, pero no sobre las otras variables evaluadas. Se observó un efecto individual de los factores sobre el crecimiento vegetativo de ajo morado; las plantas crecidas en las parcelas menos densas y fertilizadas con las mayores dosis, produjeron el mayor número de hojas, índice relativo de clorofila, radiación fotosintéticamente activa y masa fresca del follaje.

**Palabras clave:** *Allium sativum* L., manejo agronómico, fertilización, caracteres morfológicos y fisiológicos.

#### ABSTRACT

Garlic (*Allium sativum* L.) is a profitable crop in Venezuela although it presents some problems in the management of the population density and mineral nutrition. The purpose of this research was to evaluate the effect of planting density and  $\text{KNO}_3$  doses on some growth parameters in purple garlic. A randomized block design under split plot treatments with three planting densities: 100, 50 and 33 plants. $\text{m}^{-2}$  and 3 doses of  $\text{KNO}_3$ : 25, 50 and 100  $\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  was used. The variables number of leaves, relative chlorophyll index, leaf area index, photosynthetically active radiation and fresh mass of foliage were evaluated at 30, 60 and 90 days after planting. The interaction between planting density and  $\text{KNO}_3$  doses had a great effect on leaf area index, but not on the other variables. Since the highest values in number of leaves, relative chlorophyll index, photosynthetically active radiation and fresh mass of foliage were obtained in plants developed in the lowest planting densities and the highest dose of fertilization, an individual effect on vegetative growth factors in purple garlic was observed.

**Key words:** *Allium sativum* L., agronomic practices, fertilization, morphological and physiological characters.

## INTRODUCCIÓN

El crecimiento demográfico de la población venezolana demanda el aumento de la producción hortícola. Sin embargo, la oferta de productos se ve afectada debido a la firme reducción y degradación de los recursos suelo y agua, siendo imperante cultivar la tierra de forma sustentable, optimizar el uso del agua, mejorar la nutrición de los cultivos y ejecutar otras labores agronómicas de forma más eficiente y efectiva.

En Venezuela la producción de ajo está asociada a la aplicación de fertilizaciones poco eficientes y el uso de bajas densidades de siembra que se traducen en altos costos, pocos rendimientos y baja calidad. El manejo inadecuado de estas prácticas ha contribuido a la pérdida de competitividad en el mercado nacional, disminuyendo la superficie de siembra en las zonas rurales donde la calidad y el precio, más que el volumen/área, representan la única estrategia competitiva para comercializar el producto.

Por lo tanto, el cultivo de ajo requiere diferentes estrategias para el mejor aprovechamiento de los recursos suelo y agua, de manera que la planta alcance un mayor desarrollo, incremente la acumulación de biomasa en el bulbo y por consiguiente elevar el rendimiento y la calidad.

En este contexto, el cultivo de ajo pudiera alcanzar un crecimiento ideal si se establece con una óptima densidad de plantación que minimice la competencia entre plantas por luz, agua y nutrientes. Asimismo, la aplicación de una oportuna y racional fertilización para mantener el nivel de fertilidad del suelo que pueda compensar la limitada capacidad de extracción de nutrientes que posee la planta (Brewster, 2011).

La cantidad de plantas por área está directamente relacionada con el rendimiento y la calidad del cultivo. La mayor densidad puede producir una proporción superior de bulbos de menor biomasa, pero eso es compensado con un número más alto de bulbos/área, en comparación con una baja densidad (Singh, 2015). Esos incrementos en la producción están asociados al mayor índice de área foliar, traducido en mejor eficiencia para la intercepción y absorción de radiación

fotosintéticamente activa, la cual es convertida en biomasa (Brewster, 2011).

El manejo de la densidad de plantación es una alternativa para controlar el crecimiento de la planta, así como el rendimiento y la calidad del bulbo. La competencia entre plantas depende de varias características: morfología de la planta, capacidad para extraer agua y nutrientes del suelo, respuesta a la temperatura y exigencia de fotoperíodo; los cuales en conjunto o de forma individual afectan los rendimientos (Abdollah, 2009).

La relación entre la densidad y la producción ha sido estudiada por muchos investigadores (Castellanos *et al.*, 2004; Shock *et al.*, 2004; Dale y Schumann, 2005; Ngouajio, 2008), reportándose incrementos del rendimiento con el aumento de la densidad; aunque esto también reduce la calidad del bulbo (Saleem, 2004).

Por otra parte, la nutrición mineral juega un papel importante para el manejo de la plantación, ya que permite aumentar el rendimiento de los cultivos. La fertilización constituye una inversión clave en la tecnología hortícola moderna, por lo que debe realizarse de forma eficiente y oportuna dentro del ciclo del cultivo.

Actualmente, el uso racional de los nutrientes minerales, junto al manejo integrado de la producción y los costos, han jugado un papel fundamental en el desarrollo sustentable de la agricultura. Aunque el manejo integrado es la manera más rápida para elevar la producción, el excesivo incremento de la demanda en el país, aunado a su alto costo y otras variables (malas formulaciones, baja suplencia y poca disponibilidad de información durante el ciclo del cultivo), frecuentemente desaniman a los productores para utilizarlos en las dosis recomendadas y en la proporción balanceada (Gaviola y Lipinski, 2008).

El crecimiento de las plantas requiere la incorporación de elementos esenciales. El potasio en su forma soluble, ya sea libre o unido de manera estructural a otros compuestos nutritivos, contribuye en la reducción de los potenciales osmóticos y por consiguiente a desarrollar la presión de turgencia necesaria para mantener la velocidad de crecimiento de la planta (Mengel y Kirkby, 2001).

De acuerdo con Marschner (2002), cuando el potasio está deficiente en el suelo o no es suplido en las cantidades adecuadas el crecimiento y la producción de la planta son reducidos. En ajo se ha demostrado su rol crucial en la activación enzimática, relaciones energéticas, translocación de asimilados y síntesis de proteínas (Rosen y Tong, 2001). Otra función importante es la regulación de la apertura y cierre estomático, el cual es fundamental para la entrada de  $\text{CO}_2$  necesario para la fotosíntesis (Blanke, 2009).

En la planta de ajo, una vez emergidas las raíces, los nutrientes son aportados por éstas a partir de la solución del suelo, trasladándose rápidamente hacia las hojas en crecimiento activo, lo que provoca la expansión de las mismas con el consiguiente incremento en la biomasa.

Los elementos requeridos en mayor cantidad son nitrógeno y potasio. Evidencias experimentales han demostrado que sus contenidos en hojas y bulbos presentan las mismas tendencias de incrementos en sus respectivas materias secas (Juškevičienė *et al.*, 2016). Sobre la base de estas consideraciones, se realizó el presente trabajo cuyo propósito fue evaluar el efecto de la densidad de siembra y las dosis de  $\text{KNO}_3$  sobre algunos parámetros de crecimiento en ajo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en la Finca San Isidro, situada en la localidad de Monte Carmelo, estado Lara, a una altitud de 1700 m.s.n.m. La fertilización estuvo basada en  $90 \text{ kg.ha}^{-1}$  de urea a los 10 días después de la siembra (DDS),  $70 \text{ kg.ha}^{-1}$  de fórmula completa (12-24-12) al inicio de la bulbificación y  $70 \text{ kg.ha}^{-1}$  de 12-12-17 en plena bulbificación (75 DDS). Se utilizó riego por aspersión, aplicado en intervalos de 3 días. El control de malezas se realizó con Fluazifop-p-butil ( $1 \text{ L.ha}^{-1}$ ) a los 15 y 45 DDS. Para el caso de los trips se empleó Metamidofos ( $1 \text{ L.ha}^{-1}$ ).

Se utilizó un diseño de experimento en bloques al azar (5 bloques) con arreglo de tratamientos en parcelas divididas; en las parcelas principales se emplearon 3 densidades de siembra:  $D_1 = 33 \text{ plantas.m}^{-2}$  (15 cm entre plantas y 20 cm entre hileras),  $D_2 = 50 \text{ plantas.m}^{-2}$  (10 cm entre plantas

y 20 cm entre hileras) y  $D_3 = 100 \text{ plantas.m}^{-2}$  (5 cm entre plantas y 20 cm entre hileras); mientras que en las sub-parcelas se aplicaron 3 dosis de potasio (K):  $K_1 = 25 \text{ kg.ha}^{-1}$ ,  $K_2 = 50 \text{ kg.ha}^{-1}$  y  $K_3 = 100 \text{ kg.ha}^{-1}$ , empleando como fuente el nitrato de potasio ( $\text{KNO}_3$ ). La suplencia adicional y distribución de las dosis de  $\text{KNO}_3$  fue 25% en la siembra, 25% al inicio del crecimiento vegetativo y 50% al inicio de la formación del bulbo.

Al comienzo del ensayo se marcaron 135 plantas (3 plantas/subparcela/5 repeticiones/9 tratamientos) con la finalidad de evaluar cada 30 días las siguientes variables:

### Número de Hojas (NH)

Se contó la cantidad de hojas de cada una de las 3 plantas marcadas en la subparcela, registrándose como número de hojas por planta.

### Índice Relativo de Clorofila (IRC)

Se midió directamente con un Spad 502 (marca Minolta). Se tomaron lecturas en 3 hojas adultas de cada una de las 3 plantas marcadas en la subparcela, registrando el promedio por planta y expresado en Unidades Spad (US).

### Índice de Área Foliar (IAF)

Se utilizó un ceptómetro digital marca AccuPAR, modelo LP-80, previamente calibrado. Se midió directamente en la base de las 3 plantas marcadas, en ambos lados de la hilera central de cada subparcela, registrando el promedio.

### Radiación Fotosintéticamente Activa (RFA)

Se midió en la hilera central de cada subparcela utilizando un ceptómetro digital, marca AccuPAR, modelo LP-80, previamente calibrado. Las mediciones se hicieron entre las 12:00 m y 1:00 pm en la base de las 3 plantas marcadas, en ambos lados de la hilera. Se registró el promedio por subparcela y fue expresado como  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

### Masa Fresca del Follaje (MFF)

El follaje de cada planta fue seccionado y pesado en una balanza analítica marca Acculab, modelo VI-600 y se obtuvo el promedio para cada tratamiento, expresado en  $\text{g.planta}^{-1}$ .

### Análisis estadístico

Se realizó análisis de varianza y en las variables que presentaron diferencias significativas al 5% de probabilidad se aplicó la prueba de medias de Tukey.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Número de hojas

El NH durante el crecimiento del ajo criollo morado se presenta en el Cuadro 1. No se determinó interacción significativa entre los dos factores analizados, pero si hubo efecto individual para las densidades utilizadas.

En los datos presentados se puede observar que inicialmente el efecto de densidad no mostró una tendencia definida sobre el NH por planta porque en las primeras etapas del cultivo el crecimiento fue muy lento, pero a partir de los 60 DDS si exhibió una influencia significativa en esta variable. Las plantas crecidas en las parcelas con menor densidad (33 plantas.m<sup>-2</sup>) presentaron el mayor NH, lo cual está asociado

a la poca o ninguna competencia por luz, agua y nutrientes.

Al final de la evaluación la cantidad de hojas por planta decreció con el aumento de la población, registrándose el menor NH en las plantas crecidas en las parcelas de mayor densidad. Este efecto se atribuye a la influencia de la densidad sobre las características fenotípicas de las plantas de las parcelas densamente pobladas, que regulan la intercepción de radiación fotosintéticamente activa. La intensidad de luz absorbida determina la producción de área foliar al influir sobre la división y elongación celular (Rahim y Fordham, 1991).

Estos resultados están en concordancia con otros trabajos en los cuales se ha señalado que las plantas de *Allium* poco espaciadas, tienden a crecer menos vegetativamente y producir menor cantidad de hojas por planta. Al respecto, Hossain *et al.* (2003) en ajo y Saleem (2004) en cebolla, también reportaron una reducción en el NH, debido a los incrementos de las poblaciones de plantas. No obstante, Karaye y Yakubu (2006) encontraron que este parámetro se incrementó

Cuadro 1. Efecto de la densidad de siembra y la fertilización con KNO<sub>3</sub> sobre el número de hojas en ajo criollo morado.

Tratamientos	Número de Hojas (por planta)		
	DDS		
	30	60	90
Densidad (plantas.m <sup>-2</sup> )			
33	5,0 ab	8,0 a	11,5 a
50	4,5 b	7,4 ab	10,4 b
100	5,1 a	6,9 b	10,0 b
Dosis KNO <sub>3</sub> (kg.ha <sup>-1</sup> )			
25	5,0 a	7,5 a	10,4 a
50	4,8 a	7,3 a	10,8 a
100	4,8 a	7,5 a	10,7 a
Densidad*Dosis	ns	ns	ns
Xm	4,9	7,4	10,6
CV	12,22	5,9	4,3

Medias seguidas por letras distintas son significativamente diferentes según Tukey P<0,05

en ajo con distancias de 10 cm entre plantas, en comparación con 15 y 20 cm.

Por su parte, Karim *et al.* (2003) señalaron que en los primeros estadios del cultivo, el sombreado mutuo puede impedir el crecimiento en los espaciamientos más estrechos, y luego, a medida que las plantas se van desarrollando y tornando adultas, los efectos de la creciente competencia por el uso de nutrientes y agua, hacen que el crecimiento sea menor en las plantas con espaciamientos menores, comparados con distanciamientos más grandes.

Por otro lado, en esta investigación el NH no fue afectado por el aumento en la aplicación de  $\text{KNO}_3$  en el suelo. Datos similares fueron reportados por Ramírez (2001) en cebolla con un máximo de 7 hojas por planta. La disrupción de los flujos de K puede ser alterada con altas concentraciones de este elemento que rebasen la tolerancia fisiológica de la planta (Marschner, 2002). Además, la planta de ajo carece de pelos absorbentes, lo cual pudiera influir sobre la absorción del K desde la solución del suelo. Al respecto, Moritzuka y Matsumoto (2006) han señalado que la eficiencia externa de la raíz es el primer mecanismo responsable de las pequeñas diferencias observadas en la absorción de K.

Estos resultados difieren de otros obtenidos por Saleem (2004) en cebolla, quien reveló que el NH por planta (12,7) fue mayor con  $100 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$  de K, mientras que la menor cantidad de hojas por planta fue registrada en las plantas fertilizadas con la menor dosis de K ( $50 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ ). Asimismo, El-Desuki *et al.* (2006) reportaron un aumento en el NH de las plantas de cebolla con la aplicación de dosis adicionales de K, diferencias probablemente asociadas al tipo de cultivo, ya que el crecimiento en ajo está altamente afectado por variaciones en su constitución genética (Karklelienė *et al.* 2015), las técnicas agronómicas y las condiciones ambientales (Singh *et al.*, 2016).

### Índice relativo de clorofila

En el Cuadro 2 se presentan los datos del IRC durante el crecimiento del ajo criollo morado. No se determinó interacción significativa entre los dos factores analizados, pero si se observó efectos individuales en algunas fechas de muestreo.

Se puede notar que en las primeras etapas de crecimiento, tanto en la densidad como en las dosis, no se observó un efecto significativo sobre el IRC, porque en ese momento el crecimiento del cultivo es muy lento debido a un incipiente aparato fotosintético. Al final de la evaluación (90 DDS), ambos factores de forma individual si exhibieron una influencia significativa en el IRC. Asimismo, esta variable decreció con el aumento de la población y con la dosis media, registrándose el IRC más alto en las plantas crecidas en las parcelas de menor densidad y con mayores dosis de  $\text{KNO}_3$ . Este efecto se atribuye a la poca competencia por luz en las menores densidades y mayor aprovechamiento del  $\text{KNO}_3$  en esta fase del cultivo.

De acuerdo con Seversike *et al.* (2009), las plantas adultas se adaptan menos a diferentes condiciones de luminosidad que aquellas en desarrollo. En este ensayo, a los 90 DDS se observó una reducción en el contenido de clorofila en las plantas crecidas en las parcelas más pobladas ( $100 \text{ plantas} \cdot \text{m}^{-2}$ ); sin embargo, a los 30 y 60 DDS las 3 densidades resultaron con igual IRC, lo que pudiera explicar que al principio del crecimiento, las plantas de las parcelas con mayores densidades se adaptaron gradualmente a la competencia por luz.

Asimismo, a los 90 DDS las plantas de las parcelas con menor densidad de siembra ( $33 \text{ plantas} \cdot \text{m}^{-2}$ ) registraron el mayor IRC en comparación con aquellas crecidas en las parcelas más pobladas. Se ha reportado que las plantas que se desarrollan a mayores distanciamientos crecen más rápidamente en área foliar, y sus hojas presentan cloroplastos con más granas y mayor número de tilacoides que maximizan la absorción de luz; mientras que los cloroplastos de las hojas ubicadas bajo sombra se tornan de color naranja por fototaxia negativa (Blanke, 2009).

### Índice de área foliar

En el Cuadro 3 se muestran los datos del IAF durante el crecimiento del ajo criollo morado. A los 30, 60 y 90 DDS se determinaron interacciones significativas entre los dos factores analizados.

En los datos presentados se observa un incremento progresivo del IAF a medida que avanzó el ciclo vegetativo del cultivo.

Cuadro 2. Efecto de la densidad de siembra y la fertilización con KNO<sub>3</sub> sobre el índice relativo de clorofila en ajo criollo morado.

Tratamientos	Índice Relativo de Clorofila (Unidades Spad)		
	DDS		
	30	60	90
Densidad (plantas.m <sup>-2</sup> )			
33	68,09 a	68,80 a	77,70 a
50	65,34 a	68,33 a	77,43 a
100	66,09 a	68,79 a	71,30 b
Dosis KNO <sub>3</sub> (kg.ha <sup>-1</sup> )			
25	68,45 a	67,76 a	75,50 ab
50	64,21 b	69,15 a	74,05 b
100	66,85 ab	69,01 a	76,88 a
Densidad*Dosis	Ns	Ns	ns
Xm	66,5	68,6	75,4
CV	4,19	4,82	2,02

Medias seguidas por letras distintas son significativamente diferentes según Tukey P<0,05

Cuadro 3. Efecto de la densidad de siembra y la fertilización con KNO<sub>3</sub> sobre el índice de área foliar en ajo criollo morado.

Tratamientos		Índice de Área Foliar DDS		
Densidad (plantas.m <sup>-2</sup> )	Dosis (kg.ha <sup>-1</sup> )	30	60	90
100	100	0,40 a	0,51 b	0,89 f
50	25	0,39 a	0,52 b	0,94 de
50	100	0,38 a	0,47 b	1,01 bc
100	25	0,35 ab	0,47 b	0,87 f
100	50	0,34 ab	0,46 b	0,91 ef
50	50	0,34 ab	0,52 b	0,97 cd
33	25	0,30 bc	0,50 b	1,04 ab
33	50	0,26 c	0,61 a	1,05 ab
33	100	0,25 c	0,59 a	1,08 a
Densidad*Dosis		**	**	**
Xm		0,33	0,51	0,97
CV		9,26	5,23	2,11

Medias seguidas por letras distintas son significativamente diferentes según Tukey P<0,05

A los 30 DDS cuando las plantas estaban más desarrolladas y tenían mayor cantidad de hojas, se detectó un aumento significativo en el IAF con la reducción de la población de plantas y la aplicación de mayores dosis de  $\text{KNO}_3$ . Las plantas de las parcelas con bajas densidades de siembra (33 plantas. $\text{m}^{-2}$ ) registraron el mayor IAF en comparación con aquellas crecidas a mayores densidades. Esta respuesta se podría explicar por el incremento en la competencia por nutrientes, humedad y luz en las parcelas mayormente pobladas.

Se ha sugerido que aumentando la densidad de siembra se puede crear más espacio entre las plantas, lo cual minimiza la competencia y mantiene el ritmo de crecimiento del cultivo (Singh *et al.*, 2014). Las reducciones en el área foliar ocasionadas por el sombreado mutuo son, en la mayoría de los casos, resultantes de la poca expansión y división celular, lo cual ha sido demostrado en ajo (Rahim y Fordham, 1991; Castellanos *et al.*, 2004) y en cebolla (Saleem, 2004).

Por otro lado, la mayor disposición de  $\text{KNO}_3$  pudiera compensar la competencia por nutrientes y favorecer el alargamiento y la expansión lateral de las células en las plantas crecidas en las parcelas donde se aplicaron las mayores dosis. Esto es consistente con reportes previos de que K es el elemento osmótico dominante que contribuye con el alargamiento celular y consecuentemente con la expansión de las hojas (Shabala, 2003).

En este sentido, Wang (2007) reportó que *Phalaenopsis* sp. produjo hojas más anchas con incrementos de los niveles de K en la solución nutritiva. Sin embargo, Ramírez (2001) no encontró efecto significativo de la aplicación de potasio sobre el IAF en cebolla.

### **Radiación fotosintética activa**

En el Cuadro 4 se presentan los resultados de la RFA durante el crecimiento del ajo criollo morado. A los 30, 60 y 90 DDS no se determinaron interacciones significativas entre los dos factores analizados, pero si hubo efectos individuales.

Los valores resultantes de la determinación de la RFA evidencian que inicialmente el efecto de los factores no mostró una tendencia bien

definida, porque en las primeras etapas del cultivo el crecimiento fue muy lento y el aparato fotosintético limitado, por lo que la capacidad para captar luz fue baja. No obstante, al final de la evaluación, ambos factores exhibieron una influencia significativa en la RFA, ya que las hojas estaban más desarrolladas y había mayor cantidad de ellas. En esta etapa, los valores de RFA decrecieron con el aumento de la población, y con la reducción de las dosis de  $\text{KNO}_3$ , se notó una respuesta diferencial entre los tratamientos.

Se produjo una reducción significativa en la RFA con el aumento de la densidad, de manera que las plantas crecidas en las parcelas con bajas densidades (33 plantas. $\text{m}^{-2}$ ) registraron las mayores tasas de RFA. Los valores más bajos fueron encontrados en las plantas de las parcelas con mayor población. Esta respuesta se debe al autosombreado entre estas y la consecuente regulación en la capacidad para interceptar radiación solar efectiva provocando una reducción en la acumulación de biomasa (Juskeviciene *et al.*, 2016).

Asimismo, se observó una relación estrecha entre el IAF y la RFA; es decir, las plantas con mayor IAF tienen mayor capacidad para captar más energía que posibilita el uso de toda la cantidad de radiación luminosa que llega hasta sus hojas para producir fotosintatos (Seversike *et al.*, 2009). Este factor puede permitir la fijación de  $\text{CO}_2$  aún a bajos niveles de radiación neta con un costo mínimo de energía para producir y mantener el aparato fotosintético (Blanke, 2009).

Por lo tanto, con bajos niveles de radiación las plantas de ajo, igual que otras especies, pudieran desarrollar un mecanismo de compensación que les permita aumentar el IAF para interceptar mayor radiación. El IAF es considerado el componente morfológico del rendimiento en ajo, la arquitectura de la planta y el tipo de hoja permiten una mayor eficiencia del aparato fotosintético (Stahlschmidt *et al.*, 1997), lo cual puede ser aprovechado con un mejor arreglo en la plantación que permita el crecimiento de los brotes laterales (Singh, 2015).

Por otra parte, los resultados encontrados muestran que la mayor dosis de  $\text{KNO}_3$  estimuló una mayor captación de energía por un mejor desarrollo del aparato fotosintético, produciéndose el crecimiento de las plantas y la

acumulación de biomasa, debido al importante rol del K en la transformación de energía y otros procesos metabólicos de la planta (Singh, 2015). Esto confirma lo postulado por Arguello *et al.* (2006) de que en ajo la absorción de nutrientes está en función del crecimiento, ya que su incremento provoca una mayor producción de masa foliar.

### Masa fresca del follaje

La masa fresca del follaje durante el crecimiento del ajo criollo morado se presenta en el Cuadro 5. A los 30, 60 y 90 DDS no se determinaron interacciones significativas entre los dos factores analizados, pero si se encontraron efectos individuales para las densidades.

Cuadro 4. Efecto de la densidad de siembra y la fertilización con KNO<sub>3</sub> sobre la radiación fotosintéticamente activa en ajo criollo morado.

Tratamientos	Radiación Fotosintéticamente Activa ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )		
	DDS		
	30	60	90
Densidad ( $\text{plantas.m}^{-2}$ )			
33	1707,2 a	1638,8 a	1838,1 a
50	1471,2 ab	1536,7 a	1596,2 b
100	1269,7 b	1290,9 b	1345,1 c
Dosis KNO <sub>3</sub> ( $\text{kg.ha}^{-1}$ )			
25	1415,0 b	1479,3 ab	1490,8 b
50	1539,5 a	1424,0 b	1645,4 a
100	1493,5 ab	1563,1 a	1643,1 a
Densidad*Dosis	Ns	ns	ns
Xm	1482,7	1488,8	1593,1
CV	7,15	7,22	7,85

Medias seguidas por letras distintas son significativamente diferentes según Tukey  $P < 0,05$ .

Cuadro 5. Efecto de la densidad de siembra y la fertilización con KNO<sub>3</sub> sobre la masa fresca del follaje en ajo criollo morado.

Tratamientos	Masa fresca del follaje ( $\text{g.planta}^{-1}$ )		
	DDS		
	30	60	90
Densidad ( $\text{plantas.m}^{-2}$ )			
33	13,24 a	30,20 a	30,30 a
50	11,15 a	19,89 b	22,61 b
100	7,06 b	12,82 c	15,87 c
Dosis KNO <sub>3</sub> ( $\text{kg.ha}^{-1}$ )			
25	9,87 a	19,24 b	20,50 b
50	10,44 a	20,23 ab	21,29 b
100	11,14 a	23,44 a	27,00 a
Densidad*Dosis	ns	ns	ns
Xm	10,48	20,97	22,93
CV	19,79	15,10	14,98

Medias seguidas por letras distintas son significativamente diferentes según Tukey  $P < 0,05$ .

Los resultados evidencian que la MFF mantuvo un incremento progresivo a medida que avanzó el ciclo del cultivo. Sin embargo, durante los primeros 60 DDS la velocidad de acumulación de MFF fue más rápida lo cual coincide con la etapa de crecimiento vegetativo, mientras que a los 90 DDS este proceso fue menos pronunciado porque ya había comenzado la fase de formación de bulbo.

Las diferentes densidades y las dosis de  $\text{KNO}_3$  exhibieron un efecto significativo sobre la MFF, de manera que las plantas crecidas en las parcelas densamente pobladas y fertilizadas con menores dosis produjeron menor masa fresca de follaje comparadas con las parcelas escasamente pobladas y de mayores dosis de  $\text{KNO}_3$ , la respuesta varió entre los tratamientos. El efecto individual de los dos factores evaluados se corresponde con un aumento en el NH y en el IAF, en consecuencia se produce una mayor acumulación de masa fresca por la movilización de fotosintatos (Mengel y Kirkby, 2001).

El aumento en la MFF con reducciones en las poblaciones también fue observado en cebolla (Ramírez, 2001; Saleem, 2004) y con incrementos en las tasas de K por El-Desuki *et al.* (2006) en el mismo cultivo. La densidad de población tiene diferentes efectos sobre la acumulación de biomasa dependiendo de los genotipos propios de cada variedad (Singh *et al.*, 2016).

El ajo morado pudiera tener una tendencia favorable para variar fenotípicamente bajo condiciones ambientales específicas, y podría ser sembrado a altas densidades debido a que responde más eficientemente a la competencia por radiación solar, uso de agua y nutrientes, e intercambio gaseoso para los procesos metabólicos.

## CONCLUSIONES

La interacción entre la densidad y las dosis de  $\text{KNO}_3$  tuvo un efecto marcado sobre el IAF, provocando un incremento sostenido a medida que se desarrolló el ciclo vegetativo. Sin embargo, esa interacción no fue significativa para las otras variables de crecimiento evaluadas.

De manera general, la densidad y las dosis de  $\text{KNO}_3$  favorecieron el crecimiento vegetativo del

ajo morado. Las plantas crecidas en las parcelas menos densas y fertilizadas con las mayores dosis produjeron el mayor NH, IRC, RFA y MFF.

Para este material genético y bajo las condiciones de esta investigación se recomienda utilizar altas densidades y dosis intermedias de  $\text{KNO}_3$  para aprovechar al máximo la superficie y ahorrar costos en fertilización.

## LITERATURA CITADA

- Abdollah, M. 2009. Effect of planting dates and rows spacing on yield of dryland and irrigated cumin (*Cuminum cyminum* L.). Acta Hort. 826:301-308.
- Arguello, J. A., S. B. Núñez and A. Ledesma, C. Rodríguez y M. del C. Díaz. 2006. Vermicompost effects on bulbing dynamics, nonstructural carbohydrate content, yield, and quality of 'Rosado Paraguayo' garlic bulbs. HortScience. 41:589-592.
- Blanke, M. M. 2009. Regulatory mechanisms in source sink relationships in plant- a review. Acta Hort. 835:13-20.
- Brewster, J. 2011. Onions and other Alliums. 4<sup>th</sup> ed. Pretence Hill. UK. 210 p.
- Castellanos, J., P. Vargas, J. Ojodeagua, G. Hoyos, G. Alcántar, E. Álvarez and A. Gardea. 2004. Garlic productivity and profitability as affected by seed clove size, planting density and planting method. HortScience 39(6):1272-1277.
- Dale, K. and C. Schumann. 2005. Response of woodland-planted ramps to surface-applied calcium, planting density and bulb preparation. HortScience. 40(5):1516-1520.
- El-Desuki, A., M. Abdel-Mouty and A. Ali. 2006. Response of onion plants to additional dose of potassium application. J. Applied Sci. Research. 2(9):592-597.
- Gaviola, S. and V. M Lipinski. 2008. Effect of nitrogen fertilization on yield and color of red garlic (*Allium sativum* L.) cultivars. Cien. Inv. Agr. 35(1):57-64.
- Hossain, M., M. Ashrafuzzaman, M. S. Hoque and M. A. Hoque. 2003. Effect of seed clove

- size and spacing on growth performance of garlic. *Muarik Bulletin*. 6:123-128.
- Juškevičienė, D., R. Karklelienė, A. Radzevičius and A. Sasnauskas. 2016. Productivity and morphological features of garlic (*Allium sativum* L.) grown in Lithuania. *Agriculture & Forestry*. 62(4):109-116.
- Karaye, A. K. and A. I. Yakubu. 2006. Influence of intra-row spacing and mulching on leed growth and bulb yield of garlic (*Allium sativum* L.) in Sokoto, Nigeria. *Afr. J. Biotechnol.* 5(3):260-264.
- Karklelienė, R., E. Dambrauskienė, D. Juškevičienė, A. Radzevičius, M. Rubinskienė and P. Viškelis. 2015. Productivity and nutritional value of dill and parsley. *Horticultural Sciences* 41(3):131-137.
- Karim, A., H. Fukamachi and T. Hidaka. 2003. Photosynthetic performance of *Vigna radiate* L. leaves developed at different temperature and irradiance levels. *Plant Sci.* 164:451-458.
- Marschner, H. 2002. Mineral nutrition of higher plants. 4<sup>th</sup> ed. Academic Press, New York. 358 p.
- Mengel, K. and E. A. Kirkby. 2001. Principles of plant nutrition. Kluwer Academic Publishers. 5<sup>th</sup> ed. Dordrecht. Boston/London. 549 p.
- Moritzuka, N. and S. Matsumoto. 2006. An experimental approach to quantifying chemical and positional availability of soil potassium. *Soil Sci. and Plant Nutr.* 52:61-70.
- Ngouajio, M. 2008. Changes in onion (*Allium cepa* L.) yield and grade distribution in response to cover crop and plant population. *HortScience*. 43(4):1138.
- Rahim, M. A. and R. Fordham. 2001. Environmental manipulation for controlling bulbing in garlic. *Acta Hort.* 555:181-188.
- Rahim, M. A. and R. Fordham. 1991. Effect of shade on leaf and cell size and number of epidermal cells in garlic (*Allium sativum* L.). *Ann. of Botany*. 67:167-171.
- Ramírez, H. 2001. Growth and nutrient absorption of onion (*Allium cepa* L.) in the tropics in response to potassium nutrition. A thesis in partial requirements of the degree of Ph.D. Department of Agricultural Sciences. Imperial College at Wye, London University. 210 p.
- Rosen, C. and C. Tong. 2001. Yield, dry matter partitioning and storage quality of hardneck garlic as affected by soil amendments and scape removal. *HortScience*. 36(7):1235-1239.
- Saleem, J. M. 2004. Studies on the management strategies for bulb and seed production of different cultivars of onion (*Allium cepa* L.). A dissertation submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor Philosophy in Agriculture (Horticulture). Gomal University. Pakistán. 106 p.
- Seversike, T., L. Purcell, E. Gbur, P. Chen and R. Scott. 2009. Radiation interception and yield response to increased leaflet number in early-maturing soybean genotypes. *Crop Science*. 49:281-289.
- Singh, S. 2015. Planting row arrangement and nutrient management in geranium (*Pelargonium graveolens*) – garlic (*Allium sativum*) intercropping. *Indian J. Agric. Res.* 49(5):407-413.
- Singh, S., M. Ram and N. Yadav. 2014. Effect of phosphorus and zinc application on the growth and yield of geranium (*Pelargonium graveolens*) intercropped with garlic (*Allium sativum*). *Indian J. Agric. Res.* 48(1):1-8.
- Singh, S., B. K. Dubey and R. P. Gupta. 2016. Genotype x environment interaction and stability analysis for yield and its attributes in garlic (*Allium sativum* L.). *Journal of Spices and Aromatic Crops*. 25(2):175-181.
- Shabala, S. 2003. Regulation of potassium transport in leaves: From molecular to tissue level. *Ann. Bot.* 92:627-634.
- Shock, C., E. Feibert and L. Saunders. 2004. Plant population and nitrogen fertilization for subsurface drip-irrigated onion. *HortScience*. 39(7):1722-1727.

Stahlschmidt, O., J. Cavagnaro and R. Borgo. 1997. Growth analysis of three garlic (*Allium sativum* L.) cultivars with differences in yield. *Acta Hort.* 433:427-434.

Wang, Y. T. 2007. Potassium nutrition affects *Phalaenopsis* growth and flowering. *HortScience.* 42(7):1563-1567.



## Desarrollo de un alimento funcional tipo ponqué utilizando residuos del proceso de extracción de almidones nativos de yuca y cambur

### Development of a functional cupcake using an extraction process in wastes of cassava and banana native starches

Nora S. Techeira-De Soto\*; Yormelis A. Yépez-Palencia y Yasmín J. Román-Montilla

Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía (UCV-FAGRO), Maracay, Venezuela.

\*Correo electrónico: noratecheira@gmail.com

#### RESUMEN

Los subproductos agroindustriales que se generan de la cosecha, comercio y procesamiento de frutas y hortalizas, presentan una composición química rica en sustancias bioactivas. Esto hace factible su uso en la elaboración de alimentos funcionales y, en consecuencia, contribuyen en la disminución de desperdicios sino son aprovechados. Por tal razón, se planteó como objetivo formular ponqués reducidos en azúcar, sustituyendo la harina de trigo por residuos fibrosos, provenientes de la extracción de los almidones nativos de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) y cambur (*Musa* AAA subgrupo Cavendish). Se probaron nueve formulaciones, empleando 10 y 20% de sustitución, en un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial. Las formulaciones fueron caracterizadas fisicoquímica, nutricional y sensorialmente. Se determinó el efecto de la incorporación de los residuos sobre la textura y el contenido de almidón resistente mediante análisis de superficie de respuesta. Los ponqués obtenidos presentaron un alto contenido de carbohidratos (69,11-73,96%), humedad (29,79-37,49%) y fibra (22,26-29,35%), observándose disminución en la digestibilidad e incremento en la proporción de almidón resistente, conforme se aumentó la concentración de los residuos de yuca y cambur. Desde el punto de vista sensorial, los panelistas no detectaron diferencias de preferencia entre las muestras. En cuanto a la superficie de respuesta, ambos residuos ejercen un efecto significativo y positivo sobre el almidón resistente, y la interacción de los mismos ejerce un efecto positivo y significativo sobre la textura, concluyéndose que la incorporación de los residuos de yuca y cambur produce una mejora en la calidad nutricional y textural de los ponqués.

**Palabras clave:** *Manihot esculenta* Crantz, *Musa* AAA Cavendish, calidad nutricional, prueba sensorial.

#### ABSTRACT

The by-products generated in the harvest, distribution and processing of fruits and vegetables, have a chemical composition rich in bioactive substances; so their use in the preparation of functional foods is feasible, allowing to decrease the large quantities of the food waste generated. For this reason, the purpose of this research was to formulate reduced sugar cupcakes, replacing wheat flour with fibrous waste using an extraction process from cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and banana (*Musa* AAA Cavendish subgroup) native starches. Nine formulations were developed using 10 and 20% of substitution in a Completely Randomized Factorial Design. The formulations were characterized in a physicochemical, nutritional and sensorial way, in order to determine the effect of the by-product incorporation on the texture and resistant starch content, using the response surface analysis. The cupcakes obtained presented a high content of carbohydrates (69,11 to 73,96%), moisture (29,79 to 37,49%) and fiber (22,26 to 29,35%), with a decreased digestibility and an increase in the proportion of resistant starch, as the concentration of cassava and banana wastes were raised. Regarding a sensory point of view, the panelists did not detect any preference differences between samples. In reference to the response surface, both residues and their interaction have a significant and positive effect on resistant starch and the texture, respectfully; so, the incorporation of cassava and banana wastes produce an improvement in the quality of cupcakes as regards nutrition and texture.

**Key words:** *Manihot esculenta* Crantz, *Musa* AAA Cavendish subgroup, nutritional quality, sensorial test.

## INTRODUCCIÓN

Los nuevos y, algunas veces, poco saludables hábitos alimenticios de la población, junto con el sedentarismo y el estrés han inducido al incremento de enfermedades como diabetes, obesidad, hipertensión arterial y cáncer, entre otras (Guesry, 2005; Contento, 2012).

En respuesta a estos problemas de salud en los últimos años se ha fomentado el consumo de alimentos que además de aportar la nutrición básica, ofrezcan beneficios adicionales para la salud y el bienestar de la población (Aranceta y Serra, 2003; Calvo *et al.*, 2012).

Los alimentos funcionales, consumidos como parte de la dieta diaria, son útiles para el mantenimiento de una buena salud física y mental. Además de las semejanzas con los alimentos convencionales y sus cualidades nutricionales básicas, contienen componentes con actividad selectiva relacionada con una o varias funciones del organismo, siendo capaces de producir efectos metabólicos o fisiológicos positivos, lo que disminuye el riesgo de contraer enfermedades (Valencia y Román, 2004; Aranceta y Gil, 2010; Durán y Valenzuela, 2010; Lutz, 2012).

Por su parte, los subproductos agroindustriales son aquellos compuestos principalmente de las partes no comestibles como: cáscaras, semillas y follaje; generalmente son residuos sólidos orgánicos que se generan por medio de actividades como: cosecha, comercio, procesamiento, además del consumo directo de frutas y hortalizas, por lo que se producen grandes cantidades. En tal sentido, esto ocasiona una problemática ambiental, dado que se tiene que considerar la disposición final de este tipo de materiales, altamente susceptible al deterioro microbiano. Esta característica limita las posibilidades de su explotación pues generalmente se desechan y, solo en algunos casos, se emplean como alimento para ganado o fertilizantes (Kuan y Liong, 2008; Mamma *et al.*, 2009; Saval, 2012).

Investigaciones sobre los subproductos agroindustriales han evidenciado que presentan una composición química en la que destaca el contenido de oligosacáridos no digeribles, fibras, vitaminas, minerales y antioxidantes. Estos compuestos los posicionan como

fuentes potenciales de sustancias bioactivas, las cuales pueden considerarse materia prima de provecho para la elaboración o enriquecimiento de otros alimentos. El aprovechamiento de los subproductos puede contribuir como valor agregado a los productos, mejorando sus características sensoriales y equilibrando las necesidades nutritivas, favoreciendo la elaboración de alimentos funcionales (Aparicio, 2008; Kuan y Liong, 2008).

Ante la necesidad de darle utilidad a los se planteó el objetivo de formular un alimento funcional tipo ponqué, utilizando los residuos fibrosos provenientes de la extracción de los almidones nativos de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) y cambur (*Musa AAA* subgrupo Cavendish), para la obtención de un producto con las características físico-químicas, funcionales y sensoriales requeridas para la nutrición de la población, con propiedades organolépticas apetecibles al consumidor.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materia prima

La materia prima utilizada para sustituir parcialmente la proporción de harina de trigo en las formulaciones de los ponqués, fueron los residuos fibrosos provenientes de la extracción de los almidones nativos de yuca y cambur, previamente obtenidos y caracterizados por Román *et al.* (2015), en el Laboratorio de Bioquímica de Alimentos del Instituto de Química y Tecnología, Facultad de Agronomía, de la Universidad Central de Venezuela.

### Formulación y elaboración del producto alimenticio tipo ponqué, reducido en azúcares

En el desarrollo de un ponqué con buenas propiedades nutricionales y bajo en azúcares, se utilizó estevia, como reemplazante parcial de la sacarosa; adicionalmente, se incorporaron residuos del proceso de extracción del almidón nativo de yuca y cambur para la sustitución parcial de la harina de trigo en diferentes concentraciones, incrementando la fibra dietética y el almidón resistente.

Para establecer las formulaciones más apropiadas en la elaboración de los ponqués

se siguió el esquema tecnológico propuesto por Granito *et al.* (2010) y se efectuaron una serie de pruebas preliminares, modificando la concentración de cada ingrediente utilizado en la elaboración del producto.

En primer lugar se formuló la muestra testigo, luego se procedió a sustituir parcialmente la harina de trigo por los residuos fibrosos de yuca y cambur. Al iniciar el ensayo de las formulaciones preliminares, se eliminó completamente la sacarosa como ingrediente, sustituyéndola por estevia, incorporando 1,15% de este edulcorante natural. Sin embargo, los ponqués tenían una estructura quebradiza, textura desagradable y poco volumen. Con el fin de mejorar sus características texturales se procedió a incorporar goma xantan y goma guar (de 0,05 a 0,15%). Aunque se logró mayor aireado de la masa y aumento de volumen, éste no fue el esperado, presentando aún textura frágil e inestable.

Con base en lo anterior, se decidió realizar una mezcla con el 50% de la sacarosa que se utiliza en un ponqué comercial y el 1,30% de estevia, razón por la que no es factible agregar mayor cantidad de este edulcorante para reducir aún

más el contenido de azúcar, pues la ingesta diaria admisible (IDA) es de 4 mg por kg de peso corporal por día, según la Comisión Técnica de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, 2010).

Por otra parte, se eliminaron las gomas alimenticias, obteniéndose un producto reducido en azúcares, de calidad aceptable, con mejor sabor y volumen, aunque la textura no resultó ser la deseada. Posteriormente, se evaluó la incorporación de pulpa de manzana (*Pyrus malus* L.), con un alto contenido de pectina, lo cual contribuyó a la retención de agua durante la cocción, mejorando el comportamiento reológico de la masa y la textura del producto (Collar and Bollaín, 2005; Gómez *et al.*, 2007), dando como resultado un ponqué esponjoso y de agradable sabor.

Una vez establecida la formulación testigo definitiva (F1), se incorporaron porcentajes variables de los residuos de yuca y cambur, manteniendo constante la proporción en la que se adicionaron el resto de los ingredientes, obteniéndose nueve formulaciones experimentales (Cuadro 1).

Cuadro 1. Formulación para la elaboración de ponqués reducidos en azúcares con incorporación de los residuos de yuca y cambur.

Ingredientes (%)	Formulaciones								
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
Harina de trigo	22,98	20,68	18,38	20,68	18,38	18,38	13,79	16,08	16,08
Residuo de yuca	0,00	2,30	4,60	0,00	0,00	2,30	4,60	2,30	4,60
Residuo de cambur	0,00	0,00	0,00	2,30	4,60	2,30	4,60	4,60	2,30
Mantequilla	22,98	22,98	22,98	22,98	22,98	22,98	22,98	22,98	22,98
Huevo (unidad)	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Leche	18,39	18,39	18,39	18,39	18,39	18,39	18,39	18,39	18,39
Vainilla	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30
Polvo de hornear	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30
Azúcar	11,49	11,49	11,49	11,49	11,49	11,49	11,49	11,49	11,49
Estevia	1,17	1,17	1,17	1,17	1,17	1,17	1,17	1,17	1,17
Pulpa de manzana	18,39	18,39	18,39	18,39	18,39	18,39	18,39	18,39	18,39

F1 (testigo): 100% harina de trigo; F2: 10% residuo yuca; F3: 20% residuo yuca; F4: 10% residuo cambur; F5: 20% residuo cambur, F6: 10% residuo yuca + 10% residuo cambur, F7: 20% residuo yuca + 20% residuo cambur, F8: 10% residuo yuca + 20% residuo cambur, F9: 20% residuo yuca + 10% residuo cambur.

Las formulaciones establecidas para la elaboración de los ponqués fueron F1: el patrón, elaborado solo con los ingredientes base (harina de trigo, mantequilla, azúcar, estevia, huevos, leche completa, vainilla y polvo para hornear); F2 y F3: sustitución de la harina de trigo por residuo de yuca entre 10 y 20%, respectivamente; F4 y F5: sustituyendo la harina de trigo en un 10 y 20% por residuo de cambur, respectivamente; F6: sustituyendo la harina de trigo con 10% de residuo de yuca y 10% de cambur; F7: sustituyendo la harina de trigo 20% de residuo de yuca y 20% de cambur; F8: sustituyendo la harina de trigo con 10% de residuo de yuca y 20% de residuo de cambur; y por último F9: sustituyendo la harina de trigo con 20% de residuo de cambur y 10% de residuo de yuca (Cuadro 2).

### Composición química y propiedades nutricionales de los ponqués obtenidos

El contenido de humedad, cenizas, proteína cruda y grasa cruda se determinó de acuerdo a lo establecido por la Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2000). El contenido de almidón se evaluó según McCready *et al.* (1950), la fibra detergente neutra (FDN) y ácida (FDA) de acuerdo a Van Soest (1970),

los azúcares reductores y totales según AOAC (1995).

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado. Los resultados obtenidos en la composición química y nutricional de los ponqués, se estudiaron estadísticamente mediante un análisis de varianza de una sola vía a fin de determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre muestras, con nivel de confianza del 95%. Cuando existían diferencias se aplicó la prueba de medias de Tukey. Los datos fueron procesados empleando el programa "Minitab" para Windows, versión 15.0.

### Evaluación sensorial del producto alimenticio obtenido

Se aplicó una prueba sensorial en los ponqués elaborados para medir el nivel de agrado de cada formulación, utilizando un panel de 20 jueces de ambos sexos, quienes evaluaron cinco atributos (preferencia global, color, olor, textura y sabor). Se empleó una escala hedónica de 7 puntos: "me agrada mucho", "me agrada", "me agrada poco", "me es indiferente", "me desagrada poco", "me desagrada" y "me desagrada mucho". Se contó con una muestra patrón y tres formulaciones, seleccionadas por tener el mayor contenido de

Cuadro 2. Grado de sustitución de la harina de trigo en las formulaciones establecidas para la elaboración de los ponqués.

Formulaciones	Grado de sustitución de la harina de trigo	
	Residuo de yuca %	Residuo de cambur %
F1	0	0
F2	10	0
F3	20	0
F4	0	10
F5	0	20
F6	10	10
F7	20	20
F8	10	20
F9	20	10

almidón resistente, a las cuales se les colocaron tres dígitos al azar.

Para los resultados obtenidos de la evaluación sensorial se aplicó un análisis estadístico de Friedman con un nivel de confianza del 95%, a fin de detectar diferencias en la preferencia de los atributos sensoriales. Cuando hubo diferencias entre muestras, se aplicó la prueba de rangos múltiples de Duncan para detectar las preferencias. Los datos fueron procesados empleando el programa "Minitab" para Windows, versión 15.0.

### **Determinación del efecto de la incorporación de los residuos fibrosos sobre el contenido de almidón resistente y la textura del producto obtenido**

Para evaluar el efecto de la incorporación de los residuos de la extracción del almidón nativo de yuca y cambur sobre el almidón resistente y la textura, se estableció un diseño de superficie de respuesta con arreglo factorial, constituido por dos factores (subproducto de yuca y subproducto de cambur) con tres niveles (0, 10 y 20% de sustitución). Los datos fueron procesados empleando el programa "Minitab" para Windows, versión 15.0.

La metodología de superficie de respuesta (MSR) es un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas, utilizadas en el estudio de la relación entre una o más respuestas y un conjunto de variables independientes, siendo el objeto de la misma optimizar esta respuesta (Dreyer *et al.*, 2000; Figueroa, 2003).

Este método tiene la particularidad de determinar la influencia e importancia de los parámetros estudiados y las interacciones entre estos con un mínimo de ensayos (Dreyer *et al.*, 2000). Es por esto, que dicha metodología resultó útil para determinar el efecto de la incorporación de los residuos fibrosos de la extracción del almidón nativo de yuca y cambur, sobre el contenido de almidón resistente y la textura de los ponqués obtenidos.

La textura se determinó a través de un penetrómetro, según San Lucas (2012) y el contenido de almidón resistente según Goñi *et al.* (1996).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Composición química y propiedades nutricionales**

En el Cuadro 3, se presentan los resultados obtenidos del análisis proximal de los ponqués. El contenido de humedad reportó diferencias estadísticamente significativas entre las muestras, obteniéndose valores desde 29,79 hasta 37,49%. Estos resultados son comparables a los obtenidos por Herrera (2012) en tortas elaboradas con harinas de cambur (29,34%) y Techeira *et al.* (2009) en panes de queso con harina de yuca (35,54%), superiores a los presentados por Siso y Pérez (2010) en ponqués con harinas compuestas de trigo, yuca y salvado de arroz (*Oryza sativa* L.) en los que se determinó un 24,58% y por Granito *et al.* (2010) en ponqués incorporando harina de caraota blanca (*Phaseolus vulgaris* L.) con rango de 19,2 a 28%.

En general, los ponqués presentaron altos niveles de humedad, posiblemente porque las muestras fueron almacenadas durante un día para su posterior análisis. Herrera (2012) indica que la humedad de las tortas aumenta de forma leve a medida que transcurre el tiempo, y este comportamiento puede atribuirse al tipo de empaque o envase empleado. Por su parte, Fernández *et al.* (2006) afirman que los valores de humedad se corresponden con las características de frescura de este tipo de productos y se considera favorable, ya que un ponqué con baja humedad, menor a 20%, tiende a ser quebradizo y con apariencia envejecida.

En esta investigación se determinó que el contenido de proteína cruda de los ponqués elaborados con sustitución parcial de harina de trigo (F2 a F9), reportaron valores entre 2,21 y 3,04%, los cuales fueron significativamente inferiores al 8,14% de la muestra patrón (F1). La disminución en el contenido de proteínas, observada en todas las formulaciones (desde F2 hasta F9) respecto a F1, se debe a que solo una fracción de la proteína cuantificada procede de la harina de trigo.

Portanto, la sustitución con residuos provenientes del proceso de extracción del almidón redujo el contenido de proteína de la formulación original, ya que de acuerdo a lo establecido por Román

Cuadro 3. Composición química en base seca (g/100 g. producto seco) de los ponqués.

Fórmula	Componentes (%)				
	Humedad	Proteína Cruda	Grasa Cruda	Cenizas	Carbohidratos Totales
F1	31,12±0,04 <sup>a</sup>	8,14±0,00 <sup>b</sup>	21,59±0,00 <sup>a</sup>	1,16±0,05 <sup>a</sup>	69,11±0,00 <sup>a</sup>
F2	34,71±0,17 <sup>ab</sup>	2,43±0,00 <sup>a</sup>	22,25±0,00 <sup>a</sup>	1,36±0,02 <sup>a</sup>	73,96±0,00 <sup>a</sup>
F3	29,79±0,03 <sup>a</sup>	2,21±0,00 <sup>a</sup>	25,64±0,00 <sup>b</sup>	1,29±0,08 <sup>a</sup>	70,86±0,00 <sup>a</sup>
F4	34,50±0,00 <sup>ab</sup>	2,99±0,00 <sup>a</sup>	23,65±0,00 <sup>a</sup>	1,25±0,00 <sup>a</sup>	72,11±0,00 <sup>a</sup>
F5	33,91±0,05 <sup>a</sup>	3,04±0,50 <sup>a</sup>	23,83±0,00 <sup>a</sup>	1,40±0,02 <sup>a</sup>	71,73±0,00 <sup>a</sup>
F6	33,14±0,28 <sup>a</sup>	2,36±0,20 <sup>a</sup>	24,01±0,00 <sup>a</sup>	1,42±0,00 <sup>a</sup>	72,21±0,00 <sup>a</sup>
F7	32,78±0,05 <sup>a</sup>	2,96±0,00 <sup>a</sup>	22,47±0,00 <sup>a</sup>	1,45±0,05 <sup>a</sup>	73,12±0,00 <sup>a</sup>
F8	37,49±2,44 <sup>b</sup>	2,52±0,00 <sup>a</sup>	25,53±0,00 <sup>b</sup>	1,36±0,00 <sup>a</sup>	70,59±0,00 <sup>a</sup>
F9	36,19±0,21 <sup>b</sup>	2,53±0,00 <sup>a</sup>	25,57±0,00 <sup>b</sup>	1,50±0,15 <sup>a</sup>	70,40±0,00 <sup>a</sup>

\*Letras iguales en la misma columna indican que no existen diferencias estadísticamente significativas entre muestras, a un 95% de confianza. Análisis de Varianza (promedio ± ds). F1: 100% harina de trigo; F2: 10% residuo yuca; F3: 20% residuo yuca; F4: 10% residuo cambur; F5: 20% residuo cambur; F6: 10% residuo yuca y 10% residuo cambur; F7: 20% residuo yuca y 20% residuo cambur; F8: 10% residuo yuca y 20% residuo cambur; F9: 20% residuo yuca y 10% residuo cambur.

*et al.* (2015) la proporción de proteínas en el residuo de yuca es de 1,33%, mientras que el residuo de cambur es de 3,95%; valores muy bajos en comparación al contenido de proteínas de la harina de trigo, que se ubica en 12% (Benítez *et al.*, 2008).

Este comportamiento también se observó en la pasta tipo espagueti, cuando se realizó la sustitución completa de la harina de trigo por harina de plátano verde (*Musa* ABB), disminuyendo el contenido de proteína de 12,53 a 4,56% (Ovando, 2008); mientras que en galletas preparadas con almidón resistente de plátano, se encontró un bajo valor de proteínas (5,1%), según lo reportan Aparicio *et al.* (2007). Benítez *et al.* (2008) aseguran que algunas raíces y tubérculos tienen un bajo contenido de proteínas, por lo que las harinas y subproductos obtenidos de estos rubros presentarían deficiencias, las cuales podrían ser mejoradas con la incorporación de fuentes proteicas alternativas, como suero de leche.

Con respecto a la grasa cruda, se observó un leve incremento de este parámetro en comparación al ponqué control, presentándose los valores más

altos en las muestras F3 (25,64%), F8 (25,53%) y F9 (25,57%); este aumento pudiera atribuirse a la disponibilidad de grasa proveniente de la margarina, adicionada antes de la determinación analítica, ya que los valores de grasa cruda determinados por Román *et al.* (2015) en los residuos de yuca y cambur empleados en la formulación, no sobrepasan el 0,50%.

Los resultados obtenidos en la presente investigación se aproximan a los reportados por Siso y Pérez (2010) para ponqués elaborados con harinas compuestas de trigo, yuca y salvado de arroz estabilizado (21,62%), y a los de Pérez *et al.* (2013) en ponqués con sustitución parcial de harina de yuca (21,6%); siendo superior al determinado por Granito *et al.* (2010) en ponqués obtenidos a partir de sustitución parcial con harina de leguminosas (19,6%).

En cuanto a la fracción de cenizas, a pesar de no reportar diferencias estadísticamente significativas, se evidenció un ligero incremento en todas las formulaciones que contenían los residuos de yuca y cambur (desde la F2 hasta la F9), en comparación con el ponqué control. Se presume que esta tendencia se debe a que los

residuos de la extracción del almidón de yuca y cambur presentan una proporción de cenizas equivalente a 1,50 y 1,20%, respectivamente (Román *et al.* 2015); lo que indica valores superiores al determinado por Delgado y Albarracín (2012) para la harina de trigo (0,80%). La mayor proporción de cenizas resulta positiva para el producto final, ya que Fennema (2000) reporta que el contenido de cenizas genera una idea aproximada del contenido de minerales presente en el alimento; por lo tanto, los postres elaborados revisten interés por la importancia de los minerales en la dieta.

Estos resultados fueron inferiores a los descritos por Granito *et al.* (2010) en ponqués con sustitución parcial de harina de leguminosas (1,60%); a los reportados por Del Castillo y Lescano (2009) en panes formulados con almidón de yuca, harina de arroz y quinoa (*Chenopodium chinosa* Willd), correspondiente al 1,77%; y a los de Siso y Pérez (2010) en ponqués elaborados con harinas compuestas de trigo, yuca y salvado de arroz estabilizado (2,56%).

En relación a los carbohidratos totales, se observó que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre muestras, siendo el componente que se encuentra en mayor cantidad, con valores desde 69,11 hasta 73,96%. Estos resultados se asemejan a los obtenidos por Ruíz y Urbáez (2010) en panes elaborados con harinas compuestas por 40% de yuca (74,33%), y por Paz (1984) en panes elaborados con 42% de harina de cambur (72,86%).

La composición química en carbohidratos de los ponqués se presenta en el Cuadro 4, encontrándose que la fracción de fibra es la de mayor proporción, con diferencias significativas entre muestras. La fibra detergente neutra (FDN) fue superior en las formulaciones con sustitución de residuos de yuca y cambur (F2 a F9), mientras que la fibra detergente ácida (FDA) disminuyó, quedando en evidencia que estos subproductos presentan un alto contenido de fibra dietaria insoluble.

Los ponqués elaborados con residuo de cambur (F4 a F9) reportaron valores de FDN superiores a los obtenidos a partir de residuo de yuca (F2, F3), siendo la formulación F7 (20% residuo yuca + 20% residuo cambur) con el mayor porcentaje

de sustitución, la que mostró el mayor valor (29,35%); por tanto, el residuo de cambur, aparentemente, aporta más fibra insoluble que el residuo de yuca, aunque Román *et al.* (2015) indican que para el contenido de fibra dietética, no existen diferencias estadísticamente significativas entre estas materias primas.

El mayor y menor valor de FDN fue de 29,35% (F7) y 22,26% (F1), respectivamente, lo cual representa la fracción de fibra detergente ácida, más la hemicelulosa, mientras que para la FDA fueron de 5,43% (F1) y 1,21% (F9). Esta tendencia se evidenció en el estudio realizado por Siso y Pérez (2010) en ponqués elaborados con harinas compuestas de trigo, yuca y salvado de arroz estabilizado (7,52%).

Igualmente, Islas *et al.* (2010) lo determinaron en galletas adicionadas con harina de cambur verde en un 15, 30 y 50% de incorporación, obteniendo valores de fibra de 9,6; 9,8 y 9,9 respectivamente. Por su parte, Maldonado y Pacheco (2000) en galletas elaboradas con una mezcla de harina de trigo y de plátano verde, con 7% de sustitución, determinaron que el contenido de fibra fue de 5,40%.

La determinación del almidón total resulta importante, debido a que es la principal fuente de glucosa que se libera durante la digestión de los alimentos amiláceos. Se encontró para cada una de las formulaciones en estudio (F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8 y F9) una ligera disminución del contenido de almidón en comparación con la muestra patrón (F1), debido posiblemente a que la harina de trigo posee un alto porcentaje del mismo (alrededor de 70%), en comparación con los residuos fibrosos de yuca y cambur que está en un rango entre 61,22% y 62,59% (Román *et al.*, 2015). Las muestras evaluadas presentaron valores de contenido de almidón inferiores a 26,28%, determinados por Techeira *et al.* (2009) en panes de queso con harina de ñame (*Dioscorea alata*) y de 54,9%, encontrados por Hernández *et al.* (2010) en galletas adicionadas con harina de plátano verde.

Para el contenido de azúcares totales y reductores, se pudo apreciar que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las formulaciones, obteniéndose valores comprendidos entre 4,12 y 5,67% en azúcares totales y de 2,21 y 3,08% en azúcares reductores;

es decir, que la incorporación de residuos de yuca y cambur en diferentes proporciones no modifica la cantidad de azúcares presentes. Este contenido de azúcares totales, se considera bajo en comparación con investigaciones realizadas en productos similares. Tal es el caso de Maldonado y Pacheco (2000), quienes elaboraron galletas con una mezcla de harina de trigo y plátano verde, obteniendo un valor de 25,36% para los azúcares totales, mientras que Techeira *et al.* (2009) determinaron que el contenido de azúcares totales fue de 26,28%, al obtener panes mediante sustitución parcial con harina de ñame.

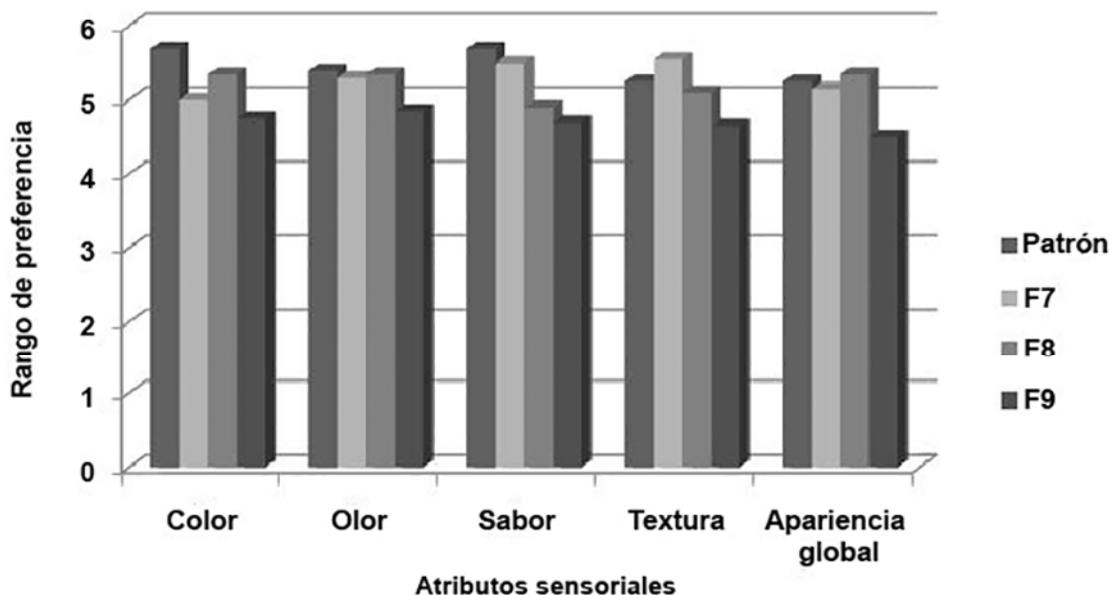
### Evaluación sensorial del producto alimenticio obtenido

Según la prueba de rangos múltiples de Duncan, para cada uno de los atributos estudiados (color, olor, sabor, textura y apariencia global), no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores promedio obtenidos en la evaluación sensorial del ponqué patrón (F1) y de las tres formulaciones de ponqués seleccionadas en base a su mayor contenido en almidón resistente (F7, F8 y F9).

Los resultados indican que aunque se haya incorporado a la harina patrón residuos de yuca y cambur, no se vio afectada la preferencia de los panelistas, pues no detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los ponqués. Por lo tanto, la incorporación de residuos de yuca y cambur en la elaboración de este tipo de productos, no modifica en forma negativa las características sensoriales, por el contrario parece favorecerlas.

En la Figura 1 se observa que la formulación F7 fue la preferida, en cuanto a textura y sabor, siendo únicamente superada por la muestra patrón; mientras que para la apariencia global, color y olor, la F8 fue la preferida después de la muestra patrón. Además, se puede apreciar que la formulación con menor preferencia fue la F9, la cual contiene 20% de residuos de yuca y 10% de residuos de cambur.

Cueto y Pérez (2007) evaluaron sensorialmente seis atributos (apariencia global, color, olor, sabor, textura y aceptabilidad global) en tortas elaboradas a base de harina de trigo y yuca, con una sustitución parcial de 30% de harina de trigo, donde observaron que la formulación óptima



Patrón: 100% harina de trigo; F7: 20% residuo yuca + 20% residuo cambur, F8: 10% residuo yuca + 20% residuo cambur, F9: 20% residuo yuca + 10% residuo cambur.

Figura 1. Grado de preferencia de los ponqués reducidos en azúcares, con incorporación de residuos de yuca y cambur.

harina compuesta trigo: yuca en proporción 70:30, superaba al testigo en cuanto a apariencia global, color, olor y textura. Por su parte, Siso y Pérez (2010) evaluaron sensorialmente un ponqué con incorporación de yuca y salvado de arroz estabilizado, en un 30 y 20% de sustitución respectivamente, donde el único atributo que pudo superar al testigo fue la textura.

### Efecto de la incorporación de los residuos fibrosos sobre el contenido de almidón resistente y la textura del producto obtenido

Se realizó la estimación de los efectos para las variables respuesta: almidón resistente y textura, (Figura 2) donde se observó que para el almidón resistente, tanto el residuo de yuca como el de cambur, ejercen un efecto significativo y positivo, siendo positiva la interacción entre ambos, lo que indica que a medida que se incrementa el porcentaje de sustitución con los subproductos en estudio, aumenta la proporción de almidón resistente. En contraste, la textura del residuo de yuca por sí solo tiene un efecto negativo, aunque la interacción de segundo orden tiene un efecto positivo pero no es significativo; contrariamente el residuo de cambur tiene un efecto positivo sobre la textura, aunque no es significativo, y la

interacción de segundo orden resulta negativa aunque tampoco es significativa. Sin embargo, el efecto de la interacción entre los residuos de yuca y cambur es positivo y significativo para la textura.

Para comprobar la significancia estadística de los efectos, se seleccionó la tabla ANOVA obteniendo como resultado un buen nivel de ajuste ( $R^2$  ajustado= 99,20% para almidón resistente;  $R^2$  ajustado= 80,07% para textura), lo que significa que el modelo describió satisfactoriamente, y a un nivel de confianza del 95%, la optimización de las variables respuesta.

Las ecuaciones del modelo ajustado (1) y (2) permitieron predecir la superficie de respuesta para el almidón resistente (AR) y la textura (T) con los porcentajes de residuo de yuca (RY) y cambur (RC) incorporados, e incluso predecir valores del mismo con distintos porcentajes de sustitución de los residuos, tal como se observa en las Figuras 3A y 3B.

Además, el modelo permitió optimizar la respuesta de la variable, donde el valor óptimo puede ser una mayor o menor cantidad de la variable en estudio. En el caso del almidón resistente, se desea maximizar su contenido en

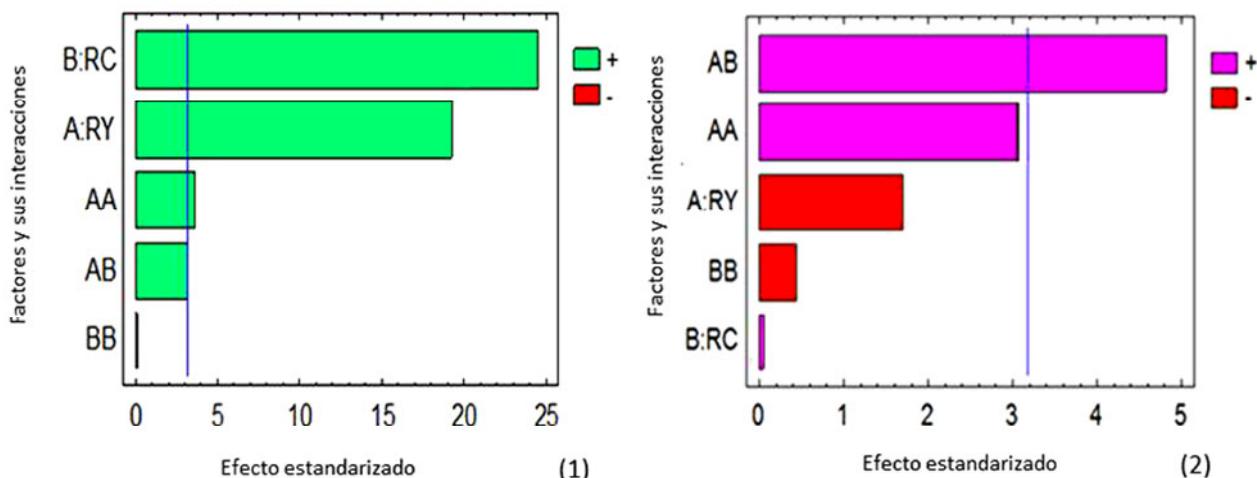
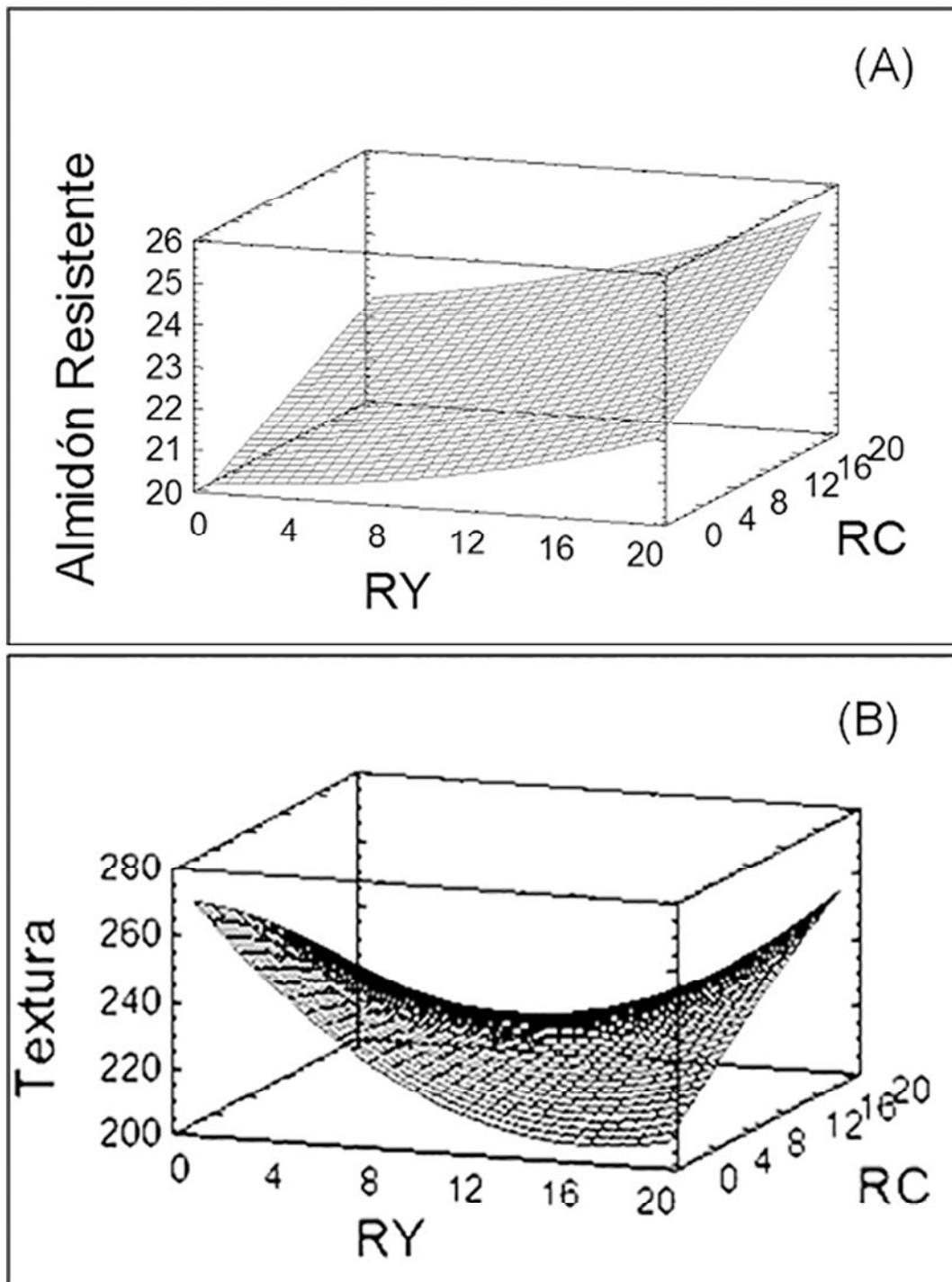


Figura 2. Diagrama de pareto estandarizado acerca del efecto de los factores sobre el contenido de almidón resistente (1) y la textura (2).A: efecto principal de la variable residuo de yuca (RY); B: efecto principal de la variable residuo de cambur (RC); AA: efecto de la interacción de segundo orden de la variable A (residuo de yuca: RY); AB: efecto de la interacción de las variables A:RY (residuo de yuca) y B:RC (residuo de cambur); BB: efecto de la interacción de segundo orden de la variable B (residuo de cambur: RC).



**Figura 3.** Superficie de respuesta estimada para el almidón resistente (A) y la textura (B), en función a la concentración de los residuos de yuca (RY) y cambur (RC).

los ponqués, siendo 25,31% el máximo valor que predice la superficie de respuesta, el cual se logra incorporando 20% de residuo de yuca y 20% de residuo de cambur.

En cuanto a la textura, los resultados predichos indican que al aumentar el contenido de residuos de yuca y disminuir el contenido de residuos de cambur, la textura va descendiendo, lo cual no es favorable. Para maximizar la textura, el modelo describe como óptimo 0% de residuos de yuca y 0% de residuos de cambur, eso significa que el área experimental evaluada (los niveles 0, 10 y 20%) en los factores (RY y RC), no mejora la textura según el diseño.

### CONCLUSIONES

Se desarrollaron nueve formulaciones de un alimento funcional tipo ponqué reducido en azúcares, sustituidos parcialmente mediante la incorporación de residuos fibrosos del proceso de extracción de los almidones nativos de yuca y cambur. Los ponqués obtenidos presentaron un mayor contenido de carbohidratos, cenizas, fibra detergente y almidón resistente que el tradicional, convirtiéndolos en un alimento con capacidad de otorgar beneficios para el consumo humano.

En la evaluación sensorial de los ponqués, con una mayor proporción de almidón resistente, los panelistas no detectaron diferencias significativas en la preferencia para los atributos color, olor, sabor, textura y apariencia global.

La metodología de superficie de respuesta determinó que el efecto de la incorporación de los residuos de yuca y cambur sobre la variable respuesta almidón resistente, es significativo y positivo; mientras que para la variable respuesta textura, se obtuvo que la interacción simultánea de ambos residuos tiene un efecto positivo y significativo, puesto que el residuo de yuca por sí solo tiene un efecto negativo.

### AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Consejo para el Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela (CDCH-UCV), por el financiamiento de este trabajo, enmarcado en el Proyecto N° PG-01-8144-2011/2.

### LITERATURA CITADA

- Aparicio, A., S. Sayago, A. Vargas, J. Tovar, T. Ascencio and L. Bello. 2007. Slowly digestible cookies prepared from resistant starch-rich lintnerized banana starch. *Journal Food Company Analytical*. 20:175-181.
- Aparicio, I. 2008. Aprovechamiento de subproductos de leguminosas para la obtención de productos funcionales. Comparación de metodologías para la caracterización de la fibra alimentaria. Tesis Doctoral. Madrid, España. Universidad Complutense de Madrid. 217 p.
- Aranceta, J. y L. Serra. 2003. Guía de alimentos funcionales. Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC). Madrid, España. 14 p.
- Aranceta, J. y A. Gil. 2010. Alimentos funcionales y salud en las etapas infantil y juvenil. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España. 187 p.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1995. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, USA.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2000. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, USA.
- Benítez, B., A. Archile, L. Rangel, K. Ferrer, Y. Barbosa y E. Márquez. 2008. Composición proximal, evaluación microbiológica y sensorial de una galleta formulada a base de harina de yuca y plasma de bovino. *Interciencia*. 33(1):61-65.
- Calvo, S., C. Gómez, M. Royo, M. y C. López. 2012. Nutrición, salud y alimentos funcionales. Fondo Editorial UNED. Madrid, España. 631 p.
- Collar, C. and C. Bollain. 2005. Relationships between dough functional indicators during breadmaking steps in formulated samples. *European Food Research and Technology*. 220(3-4):372-379.

- Contento, B. 2012. Hábitos no saludables relacionados son enfermedades crónicas degenerativas en pacientes que ingresan al servicio de clínica del Hospital Isidro Ayora. Trabajo de grado. Loja, Ecuador. Universidad Nacional de Loja. 63 p.
- Cueto, D. y E. Pérez. 2007. Formulación, caracterización y estabilidad de una mezcla lista para tortas a base de harina de trigo y yuca. V Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica. 1:1-14.
- Del Castillo, V. y M. Lescano. 2009. Formulación de alimentos para celíacos con base en mezclas de harinas de quínoa, cereales y almidones. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 59(3):332-335.
- Delgado, N. y W. Albarracín. 2012. Microestructura y propiedades funcionales de harinas de quinua (*Chenopodium quinoa* W.) y chachafruto (*Erythrina edulis*): potenciales extensores cárnicos. Vitae. 19(1):430-432.
- Dreyer, A., N. Coello y E. Montiel. 2000. Utilización de la metodología de superficie de respuesta de la optimización de un medio de cultivo para la producción de l-lisina por *Corynebacterium glutamicum*. Agronomía Tropical. 50(2):167-188.
- Durán, R. y A. Valenzuela. 2010. La experiencia japonesa con los alimentos foshu ¿Los verdaderos alimentos funcionales? Revista Chilena de Nutrición. 37(2):224-233.
- EFSA (European Food Safety Authority). 2010. Scientific Opinion on the safety of esteviol glycosides for the proposed uses as a food additive. EFSA Journal. 8(4):1537.
- Fennema, O. 2000. Química de alimentos. Acribia. 2da Edición. Zaragoza, España.
- Fernández, S., G. Ramos y L. Vázquez. 2006. Características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de ponqués de chocolate adicionados con proteínas de suero porcino. Revista Científica LUZ. 16(4):420-427.
- Figueroa, G. 2003. Optimización de una superficie de respuesta utilizando JMP IN. Mosaicos Matemáticos. 11:17-23.
- Gómez, M., F. Ronda, P. Caballero, C. Blanco and C. Rosell. 2007. Functionality of different hydrocolloids on the quality and shelf-life of yellow layer cakes. Food Hydrocolloids. 2:167-173.
- Goñi, I., L. García, E. Mañas and F. Saura. 1996. Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. Food Chemistry. 56(4):445-449.
- Granito, M., Y. Valero y R. Zambrano. 2010. Desarrollo de productos horneados a base de leguminosas fermentadas y cereales destinados a la merienda escolar. Revista Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 60(1):85-92.
- Guesry, P. 2005. Impact of 'functional food'. Forum of Nutrition. 57:73-83.
- Herrera, M. 2012. Evaluación fisicoquímica y propiedades funcionales de la harina y almidón nativo de cambur variedad *Musa* AAA subgrupo Cavendish para su uso en alimentos. Tesis de Pregrado. Caracas, Venezuela. Universidad Central de Venezuela. 106 p.
- Hernández, J., E. Agama, P. Osorio y G. Pacheco. 2010. Digestibilidad del almidón en galletas elaboradas con una formulación simple y adicionada con harina de plátano verde. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Guanajuato, México.
- Islas, E., E. Agama, P. Osorio y G. Pacheco. 2010. Digestibilidad del almidón en galletas elaboradas con una formulación simple y adicionada con harina de cambur verde. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Guanajuato, México.
- Kuan, Y. and T. Liang. 2008. Chemical and physicochemical characterization of agro waste fibrous materials and residues. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56:9252-9257.
- Lutz, M. 2012. ¿Podemos hablar de alimentos funcionales en Chile? Revista Chilena de Nutrición. 39(2):211-216.
- Maldonado, R. y E. Pacheco. 2000. Elaboración de galletas con una mezcla de harina

- de trigo y de plátano verde. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 50(4):387-393.
- Mamma, D., E. Topankas, C. Vafiadi and P. Christakopoulos. 2009. Biotechnological potential of fruit processing industry residues. **In:** Biotechnology for agro-industrial residues. Singh-nee Nigam P. and Pandey A. (eds). Springer: UK. 286 p.
- McCready, R., J. Guggolz, V. Silveira and H. Owens. 1950. Determination of starch and amylose in vegetables: application to peas. Annals of Chemistry. 22:1156-1158.
- Ovando, M. 2008. Pasta adicionada con harina de plátano: Digestibilidad y capacidad antioxidante. Tesis de Pregrado. Yautepec, México. Instituto Politécnico Nacional. 87 p.
- Paz, R. 1984. Harina de banano fortificada y panificable para sustituir importaciones de trigo. Ciencia y Tecnología. 1(4):75.
- Pérez, E., A. Mahfoud, C. Domínguez and R. Guzmán. 2013. Roots, tubers, grains and bananas; flours and starches. Utilization in the development of foods for conventional, celiac and phenylketonuric consumers. Journal of FoodProcess and Technology. Caracas, Venezuela. 4(3):2-6.
- Román, Y., N. Techeira, J. Yamarte, Y. Ibarra y M. Fasendo. 2015. Caracterización físico-química y funcional de los subproductos obtenidos durante la extracción del almidón de musáceas, raíces y tubérculos. Interiencia. 40(5):1-9.
- San Lucas, C. 2012. Uso de natamicina en pan de molde sin corteza para aumentar el tiempo de vida útil. Tesis de Grado. Guayaquil, Ecuador. Escuela Superior Politécnica del Litoral. 67 p.
- Saval, S. 2012. Aprovechamiento de residuos agroindustriales: pasado, presente y futuro. Biotecnología. 16(2):14-46.
- Siso, K. y E. Pérez. 2010. Composición proximal, características físicas, físico-químicas y sensoriales de panqués elaborados con harinas compuestas trigo: yuca: salvado de arroz estabilizado. Tesis de Maestría. Caracas, Venezuela. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 86 p.
- Techeira, N., A. Bolívar y S. Panqueva. 2009. Elaboración y evaluación de panes de queso con harina de ñame (*Dioscoreaalata*). Memorias VII Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos (CIBIA). Bogotá, Colombia. pp. 15-16.
- Van Soest, P. 1970. Forraje Fiber Analyses (Apparatus, Reagents, Procedures and Some Applications). Agriculture Handbook N° 379. Agricultural Research Service, United States Department of Agricultural.
- Valencia, F. y M. Román. 2004. La fibra dietaria como alimento funcional. Revista Vitae. 11(2):12-17.



## Malezas asociadas al cultivo de arroz bajo riego con pivote central en bancos de San Pedro, Calabozo estado Guárico, Venezuela

### Weeds present in rice cultivated under a center pivot irrigation system in Bancos de San Pedro in Calabozo, Guárico state, Venezuela

Doricsa Meneses Pérez, Luis M. Sánchez García y Luis Vivas

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), estado Guárico, Venezuela. Correo electrónico: doricsameneses@gmail.com

#### RESUMEN

En el arroz, *Oryza sativa* L., se conocen las principales malezas en los sistemas de riego tradicionales en Venezuela, pero existe escaso conocimiento de las malas hierbas que se desarrollan en un sistema de riego por pivote central (SRPC). Con la finalidad de identificar las arvenses asociadas al cultivo de arroz, bajo un SRPC, para la producción de semilla, se realizó un inventario en la Estación Experimental del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas del estado Guárico (INIA-Guárico). Se usó un marco de 0,25 m<sup>2</sup> para los muestreos. Se cuantificó la densidad, frecuencia, dominancia y el índice de valor de importancia (IVI) para las especies evaluadas. En el lapso de realización de los muestreos, se registró un total de 34 malezas correspondientes a 11 familias, en las cuales haciendo mención a su ciclo de vida, el 58,82% pertenece a especies anuales y un 41,18% a especies perennes. Las familias de la clase monocotiledónea (Liliopsida) fueron: Poaceae y Cyperaceae, mientras que la clase dicotiledónea (Magnoliopsida) se encontró representada por las familias: Boraginaceae, Convolvulácea, Compositae, Leguminoseae, Malvaceae, Esterculiciae, Cesalpinaceae, Euphorbiacea, Solanaceae. Las especies *Eleusine indica* (L.) Gaertn, *Digitaria sanguinalis* (L.) e *Ischaemum rugosum*, sobresalieron dentro de los parámetros poblacionales ejecutados. Este inventario de malezas, se puede utilizar como referencia para futuras siembras de arroz de semilla en la zona, con el propósito de definir planes de manejo de las mismas y mejorar los rendimientos de arroz bajo el manejo de riego con pivote central.

**Palabras clave:** *Oryza sativa* L., densidad, frecuencia, dominancia, arvenses.

#### ABSTRACT

The main weeds present in rice culture (*Oryza sativa* L.) under a traditional irrigation system are commonly known in Venezuela, but less is known when it refers to weeds present under a center pivot irrigation system (CPIS). So, an inventory was made in order to identify the weeds associated to rice under this irrigation system for seed production, at The Experimental Station in National Institute of Agricultural Investigation, Guárico state, Venezuela (INIA-Guárico). A frame of 0.25 m<sup>2</sup> was used for sampling. The variables density, frequency, dominance and importance value index (IVI) were quantified. In the sampling, a total of 34 weeds corresponding to 11 families were registered, and according to their life cycle, 58,82% were annuals and 41,18% perennials. Monocotyledonous class (Liliopsida) was represented by Poaceae and Cyperaceae families; whereas the dicotyledonous class presented the following families: Boraginaceae, Convolvulacea, Compositae, Leguminoseae, Malvaceae, Esterculiciae, Cesalpinaceae, Euphorbiacea, Solanaceae. The species *Eleusine indica* (L.) Gaertn, *Digitaria sanguinalis* (L.) and *Ischaemum rugosum*, stood out within the population parameters performed. This weed inventory can be used as reference for seed production in future rice culture in the region, in order to define management plans and to improve crop yield under a center pivot irrigation system.

**Key words:** *Oryza sativa* L., density, dominance, frequency, weeds.

## INTRODUCCIÓN

El arroz, *Oryza sativa* L., después del trigo, es el cereal más producido en el mundo (Guimaraes y Ospina, 1997), considerándose fuente básica de alimento para más de la mitad de la población mundial.

En Asia, más de dos mil millones de personas obtienen del 60 al 70% de la energía mediante el consumo de este cereal y sus derivados. Es la fuente alimentaria más importante en África y en muchos países de escasos ingresos con déficit alimentario (Ramírez, 2014).

Se conoce que los sistemas agrícolas de cultivo de arroz son esenciales para la seguridad alimentaria y la mitigación de la pobreza. El arroz se siembra en 113 países, en todos los continentes excepto la Antártida. Se cultiva en una amplia variedad de condiciones climáticas y edáficas, desde predios sujetos a inundación, hasta zonas con marcado déficit de disponibilidad hídrica (Ramírez, 2014).

La producción mundial de arroz está distribuida de la siguiente forma: Asia 90,45% (China: 27,73%, India 21,7%); Europa y Australia 0,6%; Latinoamérica 3,52%; África 4,09% y E.E.U.U. 1,36% (FAO, 2017). El consumo per cápita mundial ha ido de 40 kg a 60 kg por habitante en los últimos 40 años, y se prevé que este ritmo se mantenga (Alemán, 2008; García, 2008).

En Venezuela, el arroz y el maíz (*Zea mays* L) son los principales cereales cultivados. La producción se localiza en dos regiones: Llanos centrales (estado Guárico) y Llanos occidentales (estados Cojedes, Portuguesa y Barinas). La siembra se realiza en dos ciclos por año, una en el período norte-verano (noviembre a abril) y otra en el período de lluvia (mayo a octubre), predominando los sistemas de producción bajo riego por inundación (Vivas, 2008; Vivas y Clavijo, 2000; Vivas y Notz, 2009).

En el año 2012, la producción de arroz en el país fue de 924 mil 686 toneladas y una superficie sembrada de 212,930 ha (Fedeaagro, 2012). Los estados Portuguesa, Guárico, Cojedes, Barinas y Apure figuran como las regiones donde se produce la mayor cantidad de arroz. Según Méndez (2010), el consumo per cápita se ha incrementado en un 65% desde los años 90, mientras que Fedeaagro (2012) reporta que

el consumo de arroz en Venezuela para el año 2010 aumentó de 12,3 Kg/per/año en 1990 a 31,03 Kg/per/año.

Para dar sustentabilidad a la producción en el sector agrícola, es necesario utilizar el agua de forma eficiente, esto únicamente puede realizarse a través del riego, haciendo un uso racional del suelo y mejorar en general todas las técnicas de manejo de los cultivos; para esto es necesario un apoyo planificado del uso eficiente del riego tecnificado, como es el caso del pivote central, por medio del cual se pueden minimizar las pérdidas de agua e incrementar la rentabilidad.

El riego tecnificado incluye al riego por gravedad mejorado, por aspersión y localizado (goteo); caracterizándose por una alta eficiencia de aplicación de agua (más del 90%), inversión inicial alta recomendable para cultivos de alto valor comercial. Los cultivos bajo riego tecnificado generan el 54% del volumen de la producción agrícola nacional y el 70% de los productos agrícolas exportados son producidos bajo algún sistema de riego (Palacios, 1998).

Los sistemas de pivote central riegan superficies de grandes dimensiones de forma circular (>45 Ha). Se emplean en sitios donde el agua es un factor fuertemente limitante, así también en campos donde se desea aumentar la eficiencia del riego, aprovechando mejor el recurso hídrico e incrementar los rendimientos del cultivo. La eficiencia en el riego por pivote es de un 85% a 90% (Cezar de Lima *et al.*, 2008; López *et al.*, 2017).

La condición hídrica donde se desarrolla el arroz, actúa como un seleccionador de especies de malezas asociadas al mismo, disminuyendo la diversidad y dejando en los lotes aquellas especies que tengan la capacidad de tolerar la condición de humedad. Esta situación le confiere ventajas para el desarrollo a las plantas del cultivo y, en general, podría funcionar como un método de control. A pesar de esto, se reportan pérdidas en el rendimiento debido a competencia por malezas bajo las diferentes condiciones de riego en que se desarrolla el cultivo (Juraimi *et al.*, 2009).

La presencia de malezas en lotes arroceros es un problema generalizado en todos los campos de cultivo del mundo, por lo que las aplicaciones

de prácticas de manejo integrado son la alternativa para propender a controles eficaces y ambientalmente amigables (Fedearroz, 2003).

El cultivo de arroz tiene asociadas poblaciones de malezas que inciden de manera negativa en el rendimiento y en el desarrollo de las labores; el monocultivo y las condiciones propias del agro-ecosistema, son situaciones que de alguna manera determinan la diversidad de las especies presentes en los predios arroceros (Ramírez, 2014).

Una de las familias con mayor presencia de malezas en el cultivo de arroz, es la familia Poaceae; dentro de las monocotiledóneas es una de las más numerosas, contando con 700 géneros aproximadamente y unas 12000 especies. Se calcula que las gramíneas ocupan un 20% de la superficie vegetal del mundo y se estima como la cuarta familia en importancia por el número de especies, debido a su interés económico (Medrano *et al.*, 2007; Pacheco *et al.*, 2006).

Del mismo modo, Fuentes *et al.* (2006a) registraron 125 especies de malezas asociadas al cultivo del arroz en el Tolima. La riqueza y diversidad de la flora de malezas cambia de acuerdo con la zona, debido a las características propias de los cultivos en cada una. De lo anterior se puede deducir que existe una mejor adaptación de algunas especies a determinadas condiciones arroceras del país (Hernández, 2011; Puentes, 2003). En Venezuela, Ortiz (2005) menciona que la especie *Eleusine indica* L.; es una de las malezas con mayor frecuencia e importancia económica en el cultivo de maíz y de arroz.

El objetivo de este trabajo fue identificar las principales malezas monocotiledóneas y dicotiledóneas asociadas al cultivo de arroz bajo un sistema de riego con pivote central para la producción de semilla y conocer los diferentes parámetros poblacionales con respecto a las malezas presentes en el cultivo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área experimental y toma de muestras

El estudio se realizó en el Campo Experimental del INIA Guárico, específicamente en el potrero

1, sector Bancos de San Pedro (coordenadas 8° 44' LN y 67° 32' LO), parroquia Francisco de Miranda, Calabozo, estado Guárico. La zona pertenece a un bosque seco de sabana; altura 72 m.s.n.m., con precipitación y temperatura promedio anual de 1133,3 mm y 26,3 °C, respectivamente.

La unidad de producción tiene un área bajo cultivo de arroz de 10 ha; el mismo es representativo de las unidades de producción de arroz de semilla bajo riego de la zona. El lote fue sembrado el 24 de septiembre en el ciclo norte-verano 2013-2014, con la variedad Soberana FL, y se aplicó riego presurizado por pivote central, con una lámina de 14 mm interdiario.

Para el muestreo, se tomaron 10 puntos al azar en el área total de la unidad de producción, con una cuadrícula de (0,5 m x 0,5 m) para un área de 0,25 m<sup>2</sup>. En cada uno se determinó el número de malezas presentes, tomándose la ubicación de toda el área: norte-este, este-oeste, oeste-sur y sur-norte y centro del terreno. Se creó una base de datos con la información de las evaluaciones y se determinó la mayor frecuencia de malezas presente en el lote.

Adicionalmente, se realizó una evaluación de la población de malezas alrededor del lote de arroz sembrado, para verificar las especies encontradas y compararlas con las obtenidas en el lote evaluado.

Para la identificación de las especies, se usaron los manuales de reconocimiento de plantas por: Jiménez (2004); Fotos-malezas (2014); Muiiaz y Pitty (1994); Rodríguez (1998); Toval y Rueda (2009).

### Variables determinadas

Densidad (De): N° de plantas por especie / unidad de área (m<sup>2</sup>)

Densidad Relativa (Dr): Densidad por especies / Densidad total.

Frecuencia (F): N° de muestras en la que aparece la especie x 100/ N° total de muestras.

Frecuencia Relativa (Fr): Frecuencia por especie / Frecuencia total.

Dominancia (Do): N° de individuos de una especie x 100 / N° total de individuos de todas las especies.

Dominancia Relativa (dr): Dominancia por especie / Dominancia total.

Frecuencia relativa (Fr): frecuencia por especie / Frecuencia total X 100

Índice de valor de importancia (IVI): Dr + Fr + dr.

La importancia relativa se determinó por la división del IVI de una población por la sumatoria de los IVI de todas las poblaciones que componen la comunidad de malezas; Pitelli (2000) y Páez (2001) citan que el IVI es un formato numérico que permite asignarle a cada especie su categoría de importancia con base en su condición fitosociológica o su relación con las otras especies presentes en un área determinada.

Estos dos últimos índices fitosociológicos indican las especies más importantes en términos de nivel de infestación en un agroecosistema.

En el Cuadro 1, se presenta la escala de abundancia de Ochoa *et al.* 2012; como referencia para realizar las comparaciones del parámetro.

Los cálculos de los parámetros poblacionales, se realizaron a través del programa Microsoft® Excel 2003.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el muestreo se encontró un total de 34 especies pertenecientes a 11 familias (Cuadro 2). Por su ciclo de vida, el 58,82% está

representado por especies anuales y el 41,18% por especies perennes.

De acuerdo a lo evaluado en la clase monocotiledónea (Liliopsida), las familias presentes fueron: Poaceae y Cyperaceae, y la clase dicotiledónea (*Magnoliopsida*), estuvo representada por las familias: Boraginaceae, Compositae, Leguminosae o Fabaceae, Malvaceae, Esterculiciae, Cesalpinaceae, Concorvulaceae, Euforbiáceae y Solanaceae.

Las familias con más especies fueron: Poaceae con 13, seguida de Cyperaceae con 9 especies, las Leguminosae y Malvaceae ambas con 2 especies. Las familias restantes con una especie.

La familia Poaceae presentó el mayor número de especies asociadas al arroz; esto resulta lógico, puesto que el cultivo pertenece a la misma familia. Es por eso, que Puentes (2003) y Fuentes *et al.* (2006a) mencionan que en los sistemas agrícolas, las malezas más frecuentes son aquellas que pertenecen a la misma familia de la planta de interés, ya que tienen similitudes en sus necesidades de recursos al ser plantas filogenéticamente emparentadas.

Fuentes *et al.* (2006a) reporta un total de 125 especies de plantas adventicias asociadas al cultivo de arroz en el Tolima, agrupadas en 36 familias botánicas. En este trabajo, ellos señalan que las familias que más aportan especies como malezas en el cultivo de arroz son: Asteraceae (11 especies), Cyperaceae (9 especies) y Poaceae (27 especies); mientras que

Cuadro 1. Escala cuantitativa de abundancia.

Grado	Abundancia	Densidad (pl*m <sup>-2</sup> )
0	Ninguna (N)	0
1	Pocas (P)	1 – 10
2	Regular (R)	11 – 25
3	Mediana Frecuente (MeF)	26 - 50
4	Mediana Abundante MeA)	51 – 75
5	Abundante (A)	76 – 90
6	Muy Abundante (MA)	> 100

Fuente: Ochoa *et al.* 2012.

**Cuadro 2.** Clase, familia, especie, nombre común y ciclo de vida de 34 especies de malezas encontradas en la unidad de producción del INIA Guárico-Calabozo. Ciclo 2013-2014.

Clase	Familia	Especie	Nombre común	Ciclo de vida
Liliopsida (Monocotiledónea)	Poaceae = (Gramineae)	<i>Brachiaria fasciculatum</i> (sw) <i>parodi</i>	Paja morada	Anual
		<i>Chloris virgata</i> swartz	Cloris criollo	Anual
		<i>Cynodon dactylon</i> L. pers	Gramma dulce	Perenne
		<i>Dichanthium aristatum</i> .j.p.g	Pasto angleton	Anual
		<i>Digitaria sanguinalis</i>	Falsa pata de gallina	Anual
		<i>Echinochloa colona</i>	Paja americana	Anual
		<i>Eleusine indica</i> L. Gaertn	Pata de gallina	Anual
		<i>Ischaemum rugosum</i>	Paja rugosa	Anual
		<i>Leptochloa vigata</i>	Paja cola de zorro	Anual
		<i>Paspalum conjugatum</i>	Pasto orqueta	Perenne
	<i>Paspalum distichum</i>	Gramma de agua	Perenne	
	<i>Paspalum Virgatum</i> L.	Remolina cabezona	Perenne	
	<i>Rottboelia conchinchinensis</i> . Lour.w.D Dayton	Caminadora	Anual	
	<i>Cyperus iría</i> L.	Corocillo	Perenne	
	<i>Cyperus rotundus</i> L.	Pimientilla	Perenne	
	<i>Cyperus difformis</i> L.	Juncia de agua	Perenne	
	<i>Cyperus esculents</i> L.	Coquito	Perenne	
	<i>Cyperus odonatus</i> . L.	Cortadera	Perenne	
	<i>Cyperus alternifolius</i> L.	Coyollillo	Perenne	
	<i>Cyperus suridamensis</i> . L.	coqui	Perenne	
<i>Cyperus eraglotis</i>	Cortadera	Perenne		
<i>Scleria Pterota</i>	Lagrimas de San pedro	Perenne		
Magnoliopsida (Dicotiledónea)	Boraginaceae	<i>Heliotropum indicum</i> L.	Rabo de alacran	Anual
	Compositae	<i>Eclipta alba</i> .L.hassk	Boton blanco	Anual
	Leguminoseae	<i>Mimosa Pudica</i>	Dormidera	Anual
		<i>Cassia tora</i> L.	Frejolillo	Anual
	Malvaceae	<i>Malachra alceifolia</i>	Malva	Anual
		<i>Sida Acuta</i> Burm	Escobilla	Perenne
	Esterculiciae	<i>Melochia parviflora</i>	Escoba blanca	Anual
	Cesalpinaceae	<i>Senna obtusifolia</i> L.	Brusca	Anual
	Concorvulaceae	<i>Ipomea trifida</i>	Campanita	Anual
	Euphorbiaceae	<i>Euphorbia hirta</i> L.	Hierba de paloma L	Anual
<i>Euphorbia hyperficifolia</i>		Euforbia blanca	Anual	
Solanaceae	<i>Phisalis angulata</i>	Topotopo	Anual	

Fuentes (2010) y Fuentes *et al.* (2006b), encontraron que a nivel de Latinoamérica las principales especies de malezas asociadas a cultivos de arroz son 25 y se agrupan en 14 familias botánicas. Las malezas presentes en arroz, empleando un riego con pivote, son diferentes a las que se presentan en un cultivo inundado. En el pivote, abundan las de hoja ancha y las Poaceas; mientras que en el arroz inundado, comúnmente se encuentran malezas Poaceas, dicotiledóneas y, adicionalmente, plantas acuáticas.

Ramírez (2014) reporta que la problemática de malezas en cultivos de zonas tropicales, es quizá más complicada que la presentada en zonas templadas, ya que las características climáticas permiten a las plantas crecer y reproducirse durante todo el año, tornándose más competitivas, rústicas y difíciles de controlar.

Por otra parte, las condiciones ambientales erráticas y variables dificultan las labores de labranza y manejo de malezas, por lo que se requiere mayor inversión en su control.

Para Rodríguez (1988) y Gámez *et al.* (2012) muchas de las malezas de importancia económica en el cultivo de maíz pertenecen a la familia Poaceae; seguidas de Euphorbiaceae y Malvaceae.

En la zona arrocera del Ariari (Meta) de los llanos orientales de Colombia, se determinó que la especie predominante es *Ischaemum rugosum*, por encima de especies como *Echinochloa colona* y las pertenecientes a los complejos *Digitaria* (73,4%) y *Leptochloa* (53,2%), de la familia Poaceae (Hernández, 2011).

En el cuadro 3, se observó que de la evaluación de las malezas, solo 10 especies, poseen de

Cuadro 3. Principales parámetros evaluados en malezas de arroz bajo manejo con pivote central.

Nombre Científico	De	F	Fr	DO	IVI	Grado	Densidad (pl.m <sup>-2</sup> )	Abundancia
<i>Eleusine indica</i>	170,40	38,00	20,00	35,71	31,50	6	> 100	MA
<i>Digitaria sanguinalis</i>	92,80	32,00	16,84	19,45	24,29	5	76 – 90	A
<i>Ischaemum rugosum</i>	68,40	14,00	7,37	3,19	14,21	4	26 - 50	MeA
<i>Echinochloa colona</i>	28,00	14,00	7,37	6,37	12,81	3	26 - 50	MeF
<i>Brachiaria fasciculata</i>	25,60	16,00	8,42	9,39	9,87	3	26 - 50	MeF
<i>Paspalum distichum</i>	25,60	8,00	4,21	3,19	9,51	3	26 - 50	MeF
<i>Cyperus iria</i>	15,20	6,00	3,16	0,50	6,50	2	11 – 25	R
<i>Sida acuta</i>	15,20	10,00	2,11	14,33	3,91	2	11 – 25	R
<i>Leptochloa virgata</i>	14,80	12,00	6,32	0,34	7,38	2	11 – 25	R
Hojas acorazonadas (sin clasificar)	8,40	8,00	4,21	0,08	4,73	1	1 – 10	P
<i>Ipomea trifida</i>	2,80	12,00	6,32	0,84	6,41	1	1 – 10	P
<i>Mimosa púdica</i>	2,40	2,00	1,05	5,37	1,56		1 – 10	P
<i>Rocbohelia conchinchinensis</i>	2,40	2,00	1,05	0,50	1,56	1	1 – 10	P
Malvacea	1,60	6,00	5,26	0,25	5,52	1	1 – 10	P
<i>Phisalis onaulata</i>	1,20	6,00	3,16	4,11	3,41	1	1 – 10	P
Lágrimas de San Pedro	0,40	2,00	1,05	0,75	1,13	1	1 – 10	P

De: densidad; F: frecuencia; Fr: frecuencia relativa; Do: dominancia; IVI: índice de valor de importancia. Grado, densidad y abundancia de la escala tomada de Ochoa *et al.*, 2012 (Cuadro 1).

regular a baja densidad y 6 presentaron de muy abundante a medianamente frecuentes, según la escala citada por Ochoa et al. (2012); donde destacan *Eleusine indica* y *Digitaria sanguinalis*, connotadas como muy abundante y abundante, respectivamente. Por su parte, 13 malezas tienen baja dominancia, con respecto al resto de las especies, tales como: *Cyperus iria*, *Leptochloa virgata*, hojas acorazonadas, *Ipomea trifida*, *Mimosa púdica*, *Rocbohelia conchinchinensis*, Malvaceae, *Phisalis onaulata*, Lagrimas de San Pedro, *Ischaemum rugosum*, *Paspalum distichum*, *Brachiaria fasciculata* y *Echinochloa colona*.

En el Cuadro 3, se observan los parámetros poblacionales: densidad (m<sup>2</sup>), frecuencia (%), dominancia (%) y el IVI de las 16 malezas presentes en las evaluaciones, donde *Eleusine indica*, obtuvo la mayor dominancia (35,7%) y frecuencia (38%) de las malezas aparecidas y *Digitaria sanguinalis* en segundo lugar, con 19,45% en dominancia y una frecuencia de 32%.

De acuerdo al IVI de las especies muestreadas, se obtuvieron 10 especies asociadas al cultivo, como son: *Eleusine indica*, *Digitaria sanguinalis*, *Ischaemum rugosum*, *Echinochloa colona*, *Bracharia fasciculata*, *Paspalum distichum*, *Cyperus iria*, *Sida acuta*, *Leptochloa virgata* y Hojas acorazonadas (sin clasificar).

Las más resaltantes fueron: *Eleusine indica*, *Digitaria sanguinalis* e *Ischaemum rugosum*, con la más alta infestación en la zona bajo cultivo, y de las malezas escasamente presentes en el cultivo, se tienen: *Ipomea trifida*, *Mimosa púdica*, *Rocbohelia conchinchinensis*, Malvacea, *Phisalis Onaculata* y *Scleria pterota*.

La presencia de malezas anuales (58%) fue más importante que las perennes (41%); esto puede deberse al uso frecuente de controles químicos y a su capacidad de adaptación a dichos controles. Las malezas anuales poseen más adaptación y sobrevivencia por el monocultivo establecido en el lote, lo cual dificulta su control eficiente (Martínez y Alfonso, 2003).

Muchas de la especies citadas en este trabajo de investigación coinciden con lo registrado por Gámez et al. (2012) y Rodríguez et al. (2007), en similares condiciones en el cultivo maíz.

Estas especies causan dificultad al cultivo de arroz, cuando éste es regado a través de pivote, ya que el terreno no tiene lámina, solo mantiene humedad al cultivo, lo que favorece la emergencia con facilidad de las malezas típicas de la zona.

Las especies de malezas: *Eleusine indica*, *Digitaria sanguinalis*, *Ischaemum rugosum*, *Cyperus iria*, *Brachiaria fasciculata*, *Echinochloa colona*, *Leptochloa virgata*, *Ipomea trifida*, presentaron la mayor infestación en las áreas estudiadas, en relación a frecuencia y densidad; así mismo, exhibieron la mayor dificultad en su control.

## CONCLUSIONES

Se registraron un total de 34 malezas correspondientes a 11 familias, de las cuales, el 58,82% pertenecen a especies anuales y 41,18% a especies perennes.

La clase monocotiledónea (Liliopsida) estuvo representada por las familias Poaceae y Cyperaceae, mientras que la clase dicotiledónea (Magnoliopsida), por las familias Boraginaceae, Convolvulaceae, Compositae, Leguminoseae, Malvaceae, Esterculiciae, Cesalpinaceae, Euphorbiaceae y Solanaceae.

Las familias con más especies fueron Poaceae con 13, Cyperaceae con 9 Leguminoseae con 2 especies y las Malvaceae con 2.

Las especies con mayor dominancia (70%) y frecuencia (55,2%) de las malezas estudiadas fueron: *Eleusine indica* y *Digitaria sanguinalis*.

Las malezas con el mayor grado de infestación en frecuencia, densidad, agresividad, daños causados y dificultad en control, fueron respectivamente: *Eleusine indica*, *Digitaria sanguinalis*, *Ischaemum rugosum*, *Cyperus iria*, *Brachiaria fasciculata*, *Echinochloa colona*, *Leptochloa virgata* e *Ipomea trifida*.

Este estudio permite orientar sobre el manejo de las malezas en lotes de producción de arroz bajo el sistema de riego con pivote central.

## LITERATURA CITADA

Alemán, L. 2008. Reunión Nacional de Instructivos Técnicos, Ministerio de la

- Agricultura, Instituto de Investigaciones del Arroz, La Habana, Cuba. 50 p.
- Cezar de Lima, A., S. Camargo-Guimarães Jr., C. R. Fietz y J. R. Camacho. 2008. Flujo energético e indicadores de eficiencia en pivotes centrales de riego. *Agrociencia* 42:869-880.
- FAO (Organización para las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2017. Seguimiento del mercado del arroz de la FAO. Volumen XX Edición No. 1. Abril de 2017. 10 p.
- Fedeagro (Confederación de Asociaciones de Productores Agropecuarios de Venezuela). 2012. Información estadística del cultivo de arroz. Disponible en línea: <http://www.fedeagro.org/produccion/Rubros.asp> [Abr.15, 2014].
- FEDEARROZ (Federación Nacional de Arroceros). 2003. Manejo integrado de malezas. Bogotá. Fedearroz. 53 p.
- Fuentes, C. 2010. Manejo de las malezas del arroz en América Latina: Problemas y soluciones. In: Degiovanni, Martínez y Motta (eds.). *Producción Eco-eficiente del Arroz en América Latina*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. 391-412 6 p.
- Fuentes, C. L., A. Osorio., J. Granados y W. Piedrahita. 2006a. Flora arvense asociada con el cultivo del arroz en el departamento del Tolima-Colombia. Primera Edición. Bayer Cropscience y Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 256 p.
- Fuentes, C. L., S. C. Pinto., E. M. Perdomo y A. Fúquene. 2006b. Plántulas de especies arvenses frecuentes en la zona centro de Colombia Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 248 p.
- Gámez, A., M. Hernández, R. Díaz y J. Vargas. 2012. Caracterización de la flora arvense asociada a un cultivo de maíz bajo riego para la producción de jojoto, *Agronomía Trop.* 61(2):133-139.
- García, Y. 2008. La flora arvense y su manejo en el cultivo integrado del arroz en Cuba. En: IV Seminario Nacional para Directivos y Productores del Programa de Arroz Popular, Ministerio de la Agricultura, Instituto de Investigaciones del Arroz, Guantánamo, Cuba. 12 p.
- Guimaraes, E. y Y. Ospina. 1997. Mejoramiento Genético de arroz; mimeografiado Curso de arroz en Calabozo, estado Guárico; realizado del 08 al 12 de septiembre. 68 p.
- Hernández, F. A. 2011. Evaluación de la resistencia de poblaciones de *Ischaemum rugosum* Salisb. a bispiribac sodio en lotes arroceros de la zona del Ariari-Meta. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Tesis de maestría en Ciencias Agrarias. 94 p.
- Jiménez, C. 2004. Herbario Interactivo plantas forrajeras y malezas. Editorial de la Universidad de Costa Rica. Disponible en línea: [Acurpasto.ucr.ac/herbario.htm](http://Acurpasto.ucr.ac/herbario.htm) [Ene.18, 2015].
- Juraimi A. S., M. Najib, M. Begum, A. Anuar, M. Azmi and A. Puteh A. 2009. Critical period of weed competition in direct seeded rice under saturated and flood-ed conditions. *Pertanika. J. Trop. Agric. Sci.* 32:305-316.
- López S. C. M, C. A. M. Mujica y R. C. P. Paneque. 2017. Nuevo criterio para el diseño hidráulico del sistema de riego de pivote central. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias.* 26(3):12-21.
- Martínez, M. y P. Alfonso. 2003. Especies de malezas más importantes en siembras hortícolas del valle de Quibor, estado Lara, Venezuela. *Bioagro.* 15(2):91-96.
- Medrano, C., W. Gutiérrez, B. Medina y Villalobos. 2007. Composición florística de malezas más importantes en suelos de playas Marinas. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas. Universidad del Zulia. Venezuela.* 41(3):363-375.
- Méndez del Villar, P. 2010. XV Conferencia Internacional de Arroz para America Latina y el Caribe, Cirad, Cáliz-Colombia. 21-24 de septiembre 2010. 15 p.
- Muiiaz, R. y A. Pitty. 1994. Guía fotográfica para la identificación de malezas parte 1. Escuela Agrícola Panamericana Zamora.

- DPV-EAP# 516. Disponible en línea: <https://es.slideshare.net/NathyRos/guia-para-la-identificacion-de-malezas> [Nov. 20, 2014].
- Ochoa, M. C., M. T. Sobrero y Ch. Salvador. 2012. Integración de conocimientos teóricos y prácticos mediante métodos de relevamiento y evaluación de malezas en una práctica a campo. Facultad de Agronomía y Agroindustrias UNSE, 10 p. Tomado del IV Congreso Nacional y III Congreso Internacional de Enseñanza de las Ciencias Agropecuarias. Argentina.
- Ortiz, A. 2005. Malezas de importancia en el cultivo de maíz en Venezuela. El malezologo, volumen 1. Órgano informativo de la sociedad Venezolana para el Combate de malezas. 16 p.
- Pacheco, D., J. Zambrano y G. Sthorme. 2006. Las gramíneas (Poaceae) del estado Zulia, Venezuela. Lista de los géneros presentes. Rev. Fac. Agron. (Luz). 23(2)255-233.
- Palacios V., E. 1998. ¿Por qué? ¿Cuándo?, ¿Cuánto? y ¿Cómo Regar? para lograr mejores cosechas. Manual para Usuarios y Técnicos del Agua. Colegio de Postgrado, Instituto de Investigaciones de Granos, Artemisa, Cuba. Universidad Agraria de La Habana-CEMA. pp. 12-13.
- Páez, C. 2001. Algunos aspectos fitosociológicos y anatómicos de las principales gramíneas malezas en campos de arroz en el sistema de riego Río Guárico. Tesis de grado para optar al título de *Magíster Scientiarum* en Botánica Agrícola. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Maracay, Venezuela. 86 p.
- Pitelli, R. A. 2000. Estudios fitosociológicos em comunidades infestantes de agroecosistemas. J. Conserb. 1(2):1-7.
- Puentes, B. M. 2003. Flora arvense asociada al cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Tesis de maestría en Ciencias Agrarias. 118 p.
- Ramírez, J. 2014. Dinámica poblacional de malezas del cultivo de arroz en las zonas centro, meseta y norte del departamento del Tolima. Universidad nacional de Colombia. Facultad de ciencias agrarias. Bogota, Colombia. 9 p.
- Rodríguez, T., J. Mejía y J. Caripe. 2007. Manejo Integrado de las especies de maleza en maíz. XIII Curso sobre producción de maíz. Portuguesa - Venezuela.
- Rodríguez, E. 1988. Inventario de malezas y su problemática en siembras de maíz (*Zea maíz* L.) en seis localidades del estado Aragua. Trabajo de ascenso. 33 p.
- Rodríguez, P. 1998. Aspectos fisiológicos y morfológicos de malezas. Disponible en línea: <http://academic.uprm.edu/rodriguezp/HTMLObj-95/aspectosfisio logicosymorfologicosdemalezas.pdf> [Feb.15, 2015].
- Toval, N. H. y R. M. Rueda. 2009. Malezas comunes de león, Nicaragua. Instituto Nacional de Biodiversidad, INBIO. 1era edición Santo Domingo de Heredia, Costa rica. Disponible en línea: <https://web.archive.org/web/20141021034020/https://www.inbio.ac.cr/web-ca/biodiversidad/nicaragua/Malezas-comunes-Leon-Nicaragua.pdf> [May. 11, 2015].
- Vivas, L. E. 2008. Muestreo secuencial del chinche vaneador del arroz, *Oebalus insularis* Stal (Hemiptera: Pentatomidae) sobre arroz (*Oryza sativa* L.) en Calabozo estado Guárico. Tesis de Doctorado. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay. 139 p.
- Vivas, L. E. y S. Clavijo. 2000. Fluctuación poblacional de *Tagosodes orizicolus* (Muir) 1926 (Homoptera: Delphacidae) en el sistema de riego Río Guárico, Calabozo, estado Guárico, Venezuela. Bol. Entomol. Venez. 15(2):217-227.
- Vivas, L. E. y A. Notz. 2009. Plan de muestreo secuencial de *Oebalus insularis* Stal (Hemiptera: Pentatomidae) en el cultivo de arroz en Calabozo estado Guárico, Venezuela. Revista UDO. Agrícola 9(4):857-872.



## Caracterización morfológica de semilla de accesiones locales del género *Vigna* conservadas en el Banco de Germoplasma del INIA-CENIAP

### Morphological characterization of cowpea local accessions seed of *Vigna* genero conserved at INIA-CENIAP Germplasm Bank

Marlene Griffin<sup>1</sup>, Delis Pérez<sup>2</sup>, Nayiri Camacaro<sup>2\*</sup>, Carlos Marín<sup>2</sup> y Oralys León-Brito<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Central de Venezuela (UCV), Facultad de Agronomía (FAGRO), Maracay, Venezuela <sup>2</sup> Instituto de Investigaciones Agrícolas (INIA) - Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP), Maracay, Venezuela. \*Correo electrónico: nayiric@gmail.com

#### RESUMEN

Las accesiones de *Vigna* son base para el desarrollo de cultivares mejorados, destinados a la producción de alimentos y otros usos. El objetivo de este trabajo fue caracterizar morfológicamente 314 accesiones locales del género *Vigna*: 299 de la especie *Vigna unguiculata* (L.) Walp, 9 de *V. radiata* y 6 de *V. umbellata*, preservadas en la Unidad de Conservación de Recursos Fitogenéticos del INIA-CENIAP, utilizando descriptores morfológicos para semilla de frijol. De cada accesión fueron seleccionadas al azar tres submuestras de 100 semillas para estimar el peso promedio y una de cada 10 semillas para la caracterización. Se realizaron análisis descriptivos en los caracteres cualitativos y cuantitativos. Para clasificar las accesiones se utilizó análisis multivariado de agrupamiento Clúster y distancia Euclidiana, basado en caracteres cualitativos y cuantitativos de las semillas. Predominaron semillas con forma romboide (47%) y ovoide (44%), con textura lisa (69%) y brillo intermedio (51%). El color de las semillas, evidenció mayor proporción de accesiones con tonos naranja-grisáceo (5) que incluye frijoles bayos. El patrón del ojo con el mismo color de la semilla caracterizó al 91%, siendo de mayor representatividad ojo bronceado 69% (frijoles bayos). Las accesiones presentaron semillas: muy pequeñas, pequeñas, intermedias, grandes y muy grandes, predominando las intermedias, entre 15,1 y 20 g del peso de 100 semillas. Las accesiones se distribuyeron en nueve grupos, con el mayor número (72) en el grupo 5 y el menor (09) en el grupo 2. Se encontró diversidad que puede aprovecharse en programas de mejoramiento genético y otros usos.

**Palabras clave:** *Vigna unguiculata* (L.) Walp., *V. radiata*, *V. umbellata*, descriptores, cultivares locales.

#### ABSTRACT

The *Vigna* accessions are basis for the development of improved cultivars intended for the production of food and other uses. The objective of this work was to morphologically characterize 314 local accessions of the genus *Vigna* preserved in the Unit of Conservation of Plant Genetic Resources of INIA-CENIAP, for a total of 299 accessions of *Vigna unguiculata* (L.) Walp, 9 of *V. radiata* and 6 of *V. umbellata*, using morphological descriptors for cowpea seeds. From each accession, three subsamples of 100 seeds and one out of 10 seeds were randomly selected to estimate the average weight and characterization, respectively. Descriptive analyzes were performed on the qualitative and quantitative characteristics. In order to classify the accessions, Cluster analysis was made using Euclidean distance, based on qualitative and quantitative characteristics of the seeds. Predominant seeds with rhomboid (47%) and ovoid (44%) shape, smooth texture (69%) and intermediate brightness (51%). The color of the seeds, showed a greater proportion of orange-grayish tones (5) that include bay cowpeas. Seeds with the same color of the eye pattern characterized 91% of the accessions, with predominance of tan color (69%) in bay cowpeas. The accessions had very small, small, intermediate, large and very large seeds, but the predominating size was the intermediate with the weight of 100 seeds in a range of 15.1 to 20 g. The accessions were distributed in nine groups, with the largest (72) number in group 5 and the lowest (09) in group 2. Diversity was found that can be used in genetic improvement programs and other uses.

**Key words:** *Vigna unguiculata* (L.) Walp., *V. radiata*, *V. umbellata*, descriptors, landraces.

## INTRODUCCIÓN

El género *Vigna* pertenece a la familia Fabaceae (Papilionaceae), subfamilia Faboideae y comprende unas 150 especies, muy heterogéneas y poco relacionadas (Beyra y Reyes, 2004). Este incluye especies de importancia alimenticia, económica, social y ambiental, como el frijol o caupí [*Vigna unguiculata* (L.)Walp.], conocido también como poroto arroz, poroto tape, porotito del ojo en Argentina; feijao Macasar, feijao de corda en Brasil; cowpea, Black-eyed pea en Estados Unidos; frijol en Venezuela, Perú y Cuba.

El frijol se cultiva en el trópico y subtropico a lo largo de Asia, África, América Central y del Sur, así como en ciertas regiones de Europa y Estados Unidos. Existe controversia sobre el centro de origen del frijol; algunos autores señalan que procede de la India, con centros secundarios en China y Etiopía (Skerman *et al.*, 1991), mientras que otros lo consideran de origen africano por la diversidad genética y morfológica en ese continente (Padulosi y Ng, 1997).

En la agricultura venezolana las leguminosas de grano son especies producidas, fundamentalmente, por campesinos en conucos, en asociación con otros cultivos o en rotación generalmente con maíz, y ausencia casi total de insumos tecnológicos (Montilla, 1998; Pérez *et al.*, 2013). Las semillas criollas conservadas e intercambiadas entre los agricultores, son la base para su establecimiento en pequeñas unidades de producción, aunque en los sistemas tecnificados se utilizan semillas de variedades comerciales (Pérez *et al.*, 2013).

En Venezuela, además de la especie *V. unguiculata* (frijol), segunda leguminosa de mayor consumo en el país, se encuentran también *V. radiata* (frijol chino) utilizada como brotes verdes de semillas pregerminadas en la preparación de comidas y *V. umbellata* (frijol bucarito) consumida en guisos y sopas de las zonas rurales (Flores *et al.*, 2005; Gutiérrez *et al.*, 2008).

En el país, se encuentra una gran diversidad genética, principalmente de la especie *V. unguiculata*. Esta se refleja en los distintos cultivares criollos o locales, distribuidos en las diferentes zonas agroecológicas por su adaptación, aceptación culinaria, uso y manejo

por generaciones de agricultores, intercambio comercial e introducción de germoplasma de otros países (Pérez *et al.*, 2013). Una de las características distinguibles de las especies del género *Vigna*, principalmente de *V. unguiculata* es la diversidad de colores, formas, texturas, peso y tamaño de sus semillas.

La colección más amplia de recursos genéticos del género *Vigna*, en Venezuela, principalmente de la semilla (Russo *et al.*, 2015), se encuentra preservada en la Unidad de Conservación de Recursos Fitogenéticos ubicada en el Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP) del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). Esta fue enriquecida con colectas nacionales de variedades tradicionales, a través de un proyecto de la Agenda Biodiversidad del Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT) que inició en el año 1998, como continuación de las acciones de investigación del INIA (Gutiérrez *et al.*, 2008).

La conservación de los recursos fitogenéticos permite recuperar el cultivo de especies y variedades tradicionales, garantizar su uso en el mejoramiento genético y favorecer la seguridad alimentaria frente a las nuevas plagas o ante los cambios de las condiciones ambientales, con la finalidad de contribuir al desarrollo sostenible de las generaciones futuras.

Los recursos genéticos del género *Vigna* son la base para la obtención de nuevos cultivares, más productivos, adaptados a condiciones edafoclimáticas limitantes, tolerantes a plagas y de mayor aceptación sensorial; aportando a las comunidades agrícolas impactos, económicos, ecológicos y sociales. En este sentido, la caracterización y evaluación de los recursos fitogenéticos es fundamental para el desarrollo de programas de mejoramiento convencional, mejoramiento participativo y mejoramiento asistido con técnicas biotecnológicas.

La caracterización de la semilla, sobre todo en la superficie seminal, ha revelado su aporte a la taxonomía y contribución al conocimiento de la fisiología, anatomía, morfología y genética (Mariño *et al.*, 2007). Asimismo, el color de su cubierta influye en la aceptación del consumidor y en las preferencias locales evidenciadas por la regionalización. Por ejemplo, en los llanos

apureños se prefieren frijoles blancos, en el Zulia frijoles ojo negro y en la región central frijoles bayos.

El presente trabajo se realizó con el objetivo de caracterizar morfológicamente la semilla de accesiones locales del género *Vigna*, preservadas en la Unidad de Conservación de Recursos Fitogenéticos del INIA-CENIAP, para el aprovechamiento sustentable de la diversidad genética de las especies *V. unguiculata*, *V. radiata* y *V. umbellata*, presentes en el país.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación de la investigación

Este trabajo se llevó a cabo en la Unidad de Conservación de Recursos Fitogenéticos (UCRFG) del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) en el Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP) en Maracay, estado Aragua, Venezuela.

### Selección de las accesiones

La selección de las accesiones se basó en su procedencia, escogiendo materiales genéticos colectados en diferentes regiones del país, como parte de la diversidad biológica y genética conservada en el Banco de Germoplasma de Leguminosas Comestibles de la UCRFG del INIA-CENIAP. Se utilizaron muestras de semillas de 314 accesiones (Cuadro 1) del género *Vigna*, de las cuales 299 pertenecen a la especie *V. unguiculata* (L.) Walp, nueve a *V. radiata* (frijol chino) y seis a *V. umbellata* (frijol bucarito).

### Caracterización morfológica de las semillas

La caracterización se realizó utilizando 10 semillas por accesión, seleccionadas al azar, siguiendo los descriptores de frijol del International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR, 1983). En estas se describieron caracteres cualitativos y cuantitativos.

### Caracteres cualitativos

Las propiedades hortícolas de las semillas de frijol como forma, textura, color del ojo, patrón del color del ojo, fueron descritos después de un examen visual asignando los estados del descriptor del IBPGR (1983). Para el color se

utilizó como referencia la carta de colores de la Royal Horticulture Society (RHS), 1986.

**Forma de la semilla:** las formas presentadas en la Figura 1 se utilizaron para comparar y asignar la correspondencia de las semillas de cada accesión

**Textura de la semilla:** se determinó por visualización de la cubierta externa, considerando las características descritas según la escala de 5 grados, comprendida desde el número 1 al 9, en conteo impar: liso (1), suave a áspero (3), áspero (5), áspero y arrugado (7), y arrugado (9).

**Patrón del ojo:** se identificó por la apreciación óptica de la extensión, ancho e intensidad del ojo de la semilla, región alrededor de la cicatriz hilar y describiéndolo según los estados del descriptor.

**Color del ojo:** se determinó a través del examen visual de cada una de las muestras, caracterizándolas de acuerdo a los estados definidos en el descriptor.

### Caracteres cuantitativos

Para la determinación del tamaño de las semillas, se utilizó un vernier digital, registrando la longitud (mm), ancho (mm) y grosor (mm) de 10 semillas por accesión seleccionadas al azar. Según Rodiño (2000), la longitud de la semilla es la máxima dimensión de la semilla; el ancho de la semilla es la medida registrada desde el hilo de la semilla hasta su parte opuesta; y el grosor de la semilla es medido en la parte media de la semilla, con el hilo en posición frontal.

Para la determinación del peso de 100 semillas (g) fueron seleccionadas muestras de 100 semillas al azar, por triplicado. Se usó una balanza electrónica y los resultados se expresaron en gramos (g), ajustados a 12% de humedad.

Es importante acotar que la estimación del peso promedio de *V. radiata*, según las reglas internacionales para ensayos de semilla (ISTA, 1993), se hace con base a submuestras de 1000 semillas, repetidas 3 veces; sin embargo, en el presente trabajo, para realizar el análisis conjunto de los datos de *V. radiata* con *V. unguiculata*, el peso promedio se estimó sobre la base de 100 semillas en ambas especies, de acuerdo con el descriptor de Cowpea (IBPGR, 1983).

Cuadro 1. Procedencia geográfica y número de las accesiones del género *Vigna*, colectadas en diversas regiones de Venezuela.

Procedencia geográfica	Número de accesiones
Anzoátegui	3
Apure	23
Aragua	43
Barinas	11
Bolívar	4
Carabobo	28
Cojedes	19
Falcón	16
Guárico	25
Lara	13
Mérida	8
Miranda	5
Monagas	10
Nueva Esparta	1
Yaracuy	12
Portuguesa	15
Sucre	22
Táchira	2
Trujillo	5
Zulia	23
C.I.A (Centro de Investigación Agropecuaria-Antiguo MAT, actualmente CENIAP)	117
Otras procedencias locales	43
Sin registro de procedencia	6

Fuente: Datos extraídos de los pasaportes de las accesiones de frijol existentes en la Unidad de Conservación de Recursos Fitogenéticos (UCRFG) del INIA-CENIAP.



Figura 1. Formas características de la semilla de frijol (*Vigna* spp.), de acuerdo al descriptor de Cowpea (IBPGR, 1983).

## Análisis estadístico

Los datos fueron organizados en una matriz Excel y se analizó la consistencia de los mismos. Se realizaron análisis descriptivos en los caracteres cualitativos y cuantitativos. Para la clasificación de las accesiones se utilizó el análisis multivariado de agrupamiento Cluster y la distancia Euclidiana, considerando los caracteres ya mencionados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Descripción de los caracteres cualitativos

El análisis descriptivo de los caracteres forma, textura, patrón del ojo y color del ojo, evaluados en semillas de 314 accesiones del género *Vigna*, se presenta en la Figura 2. En el grupo de accesiones descritas, se evidenció que están representados todos los estados del descriptor para el carácter forma de la semilla, predominando las accesiones con semillas romboide (44,23%) y ovoide (40,52%); en baja

proporción se encontraron las arriñonadas (8,85%) y globosas (6,07%), mientras que la forma comprimida solo se observó en las accesiones I-530 e I-084 (0,32 %).

En el carácter textura predominan las semillas lisas en 84% de las accesiones, seguido de suave a áspera 8%, arrugada en 5% y el menor porcentaje corresponde a semillas con textura suave de reticulación fina 3%.

La textura de la cubierta de las semillas afecta las propiedades de cocción y de absorción de humedad. Según Seffa *et al.* (1978) los granos con textura lisa tienden a absorber menos agua que los de textura áspera. Este podría ser un índice de selección importante en el procesamiento de las semillas de frijol en harina, por la facilidad para el remojo y descortado en el proceso de obtención de una harina de color claro.

Del total de accesiones, 92% presentaron el estado del descriptor tipo S en el carácter patrón del ojo, región alrededor del hilo, lo que indica que el ojo y la cubierta de la testa de la semilla

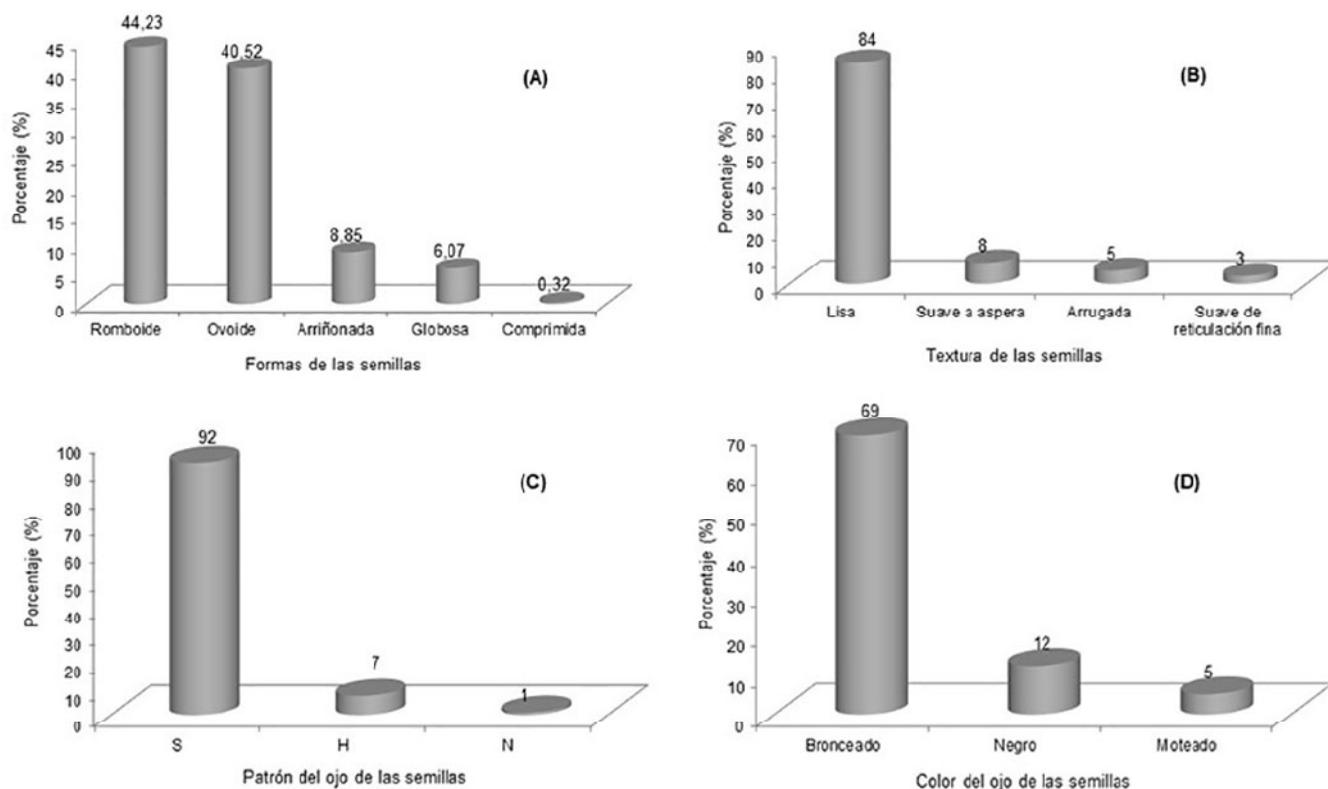


Figura 2. Distribución porcentual de los caracteres Forma (A), Textura (B), Patrón del ojo (C) y Color del ojo (D) en semillas de 314 accesiones del género *Vigna*.

son del mismo color; mientras que los estados N (ojo estrecho, 1%) y H (Holstein, 7%) tuvieron menor representatividad en las observaciones.

Con relación al carácter color del ojo de la semilla, se observó que en su mayoría presentaron color bronceado (69%), seguidos de negro (12%) y 5% de accesiones con ojo moteado o salpicado de marrón (Figura 2).

En el Cuadro 2 se presenta la correspondencia entre los colores resultantes de la caracterización del color de la testa de la semilla en accesiones de frijol con la tabla de colores de la RHS (1986) y los colores comunes mencionados en diversos trabajos para describir las semillas de frijol.

Para el carácter color de la semilla, el 57% de las accesiones mostraron color bayo (naranja grisáceo según la tabla RHS), mientras que el 43% restante se distribuyeron con porcentajes menores o igual a 13%, observándose variabilidad en los mismos. De estos, 13% estuvieron representadas por semillas de color crema o blanco, 13% semillas de color naranja blancuzco, 7% poseen semillas negras, 3% tienen semillas marrones, 2% amarillo grisáceo y 1% amarillo naranja.

Del total de accesiones caracterizadas, el frijol chino (3%), presentó semillas de color verde oliva y el frijol bucarito (2%) semillas de color ladrillo rojizo (Cuadro 2).

El color de la cubierta de la semilla en el frijol es uno de los caracteres más importantes para el consumo de este grano. Esto ha motivado investigaciones para determinar la herencia del color y aprovechar el germoplasma en programas de mejoramiento.

En este sentido, Egbadzor *et al.* (2013) a partir de seis cruzamientos en frijoles con testa de diferentes colores concluyeron que muchos genes podrían estar involucrados en el color de las semillas.

La pigmentación de las semillas, así como de otras partes de la planta del frijol [*V. unguiculata* (L.) Walp.], se debe a la síntesis de antocianinas y otros flavonoides. El tipo y cantidad de antocianinas presentes en la cubierta determina el color de la semilla del frijol.

Según Oluwatosin citado por Egbadzor *et al.* (2013) dos genes controlan el carácter del color

negro o marrón a crema de la testa; sin embargo, cuando analizan la descendencia de frijoles rojos cruzados con frijoles de color crema, infieren que está involucrado un solo gen. Esta información es de utilidad en los programas de mejoramiento genético para la selección de los progenitores, considerando el carácter color de la cubierta de semilla a fin de que los nuevos cultivares satisfagan las preferencias y usos de los consumidores.

Con relación al brillo de las semillas, 38% de las accesiones presentaron aspecto opaco, 51% intermedio y 11% lustrosas o brillantes. León *et al.* (2013) realizó evaluación agronómica y participativa de 15 cultivares locales de frijol y la variedad comercial Tuy, encontrando que en los caracteres aspecto del tegumento y forma de la semilla solo un cultivar presentó semillas brillantes y predominio de la forma ovoide.

### **Descripción de los caracteres cuantitativos**

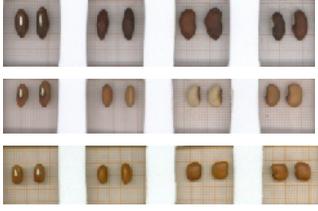
La clasificación del frijol, basada en el peso de 100 semillas (P100S), puede ser usada para determinar diferentes aptitudes en la industrialización del caupí (Henshaw, 2008). En las accesiones de la especie *V. radiata* (frijol chino), el peso de 100 semillas osciló entre 4,7 y 7,7 g; en *V. umbellata* (frijol bucarito) varió entre 8,2 y 9 g; mientras que la mayor variación se observó en las accesiones *V. unguiculata* (frijol), entre 9,6 y 25,3 g.

Del total de accesiones caracterizadas, con respecto al peso de 100 semillas (Figura 3), el 6% mostró peso menor a 10 g; 44% entre 10 y 15 g; 47% entre 15,1 y 20 g, y 3% entre 20 y 25 g. Las semillas de peso inferior a 10 g corresponden a la especie *V. radiata*. La mayoría de las accesiones que presentaron semillas con peso mayor a 20 g también mostraron patrón de ojo tipo Holstein.

En evaluación y selección participativa de 15 cultivares locales de *V. unguiculata* y la variedad comercial Tuy en Calabozo, estado Guárico, Venezuela, el peso de 100 semillas osciló entre 13,57 y 25,87 g (Torrealba *et al.*, 2014), valores similares a los encontrados en el presente estudio.

Las semillas de variedades de *Vigna* se pueden clasificar sobre la base del peso de 100 semillas según los criterios de Ogle *et al.* citado por

Cuadro 2. Determinación de los colores de la cubierta de la semilla de accesiones del genero *Vigna*.

Familia de colores de la Tabla RHS	Grupo de códigos de colores de la tabla RHS			Colores comunes en semillas de frijol	Ejemplos ilustrados	Especie	%
Yellow, White (blanco, amarillo o crema)	19B	19C	19D	Crema		<i>V. unguiculata</i> (L.) Walp.	13
Greyed yellow (amarillo grisáceo)	161D			Beige		<i>V. unguiculata</i> (L.) Walp.	2
Yellow orange (amarillo naranja)	18C	19B	19C 19D	Crema		<i>V. unguiculata</i> (L.) Walp.	1
Orange White (naranja claro)	158A 159B	158B 159C	159A 159B	Distintos tonos de crema		<i>V. unguiculata</i> (L.) Walp.	13
Greyed orange (naranja grisáceo)	165A	165B	176A	Ladrillo rojizo		<i>V. umbellata</i> L.	2
Greyed orange (naranja grisáceo)	164A 164D 165A 165B 166A 166B 167A 166C 166D 172B 171A 172A 174A 173A 173B 175B 174B 175A 176B 175C 176A 176C 176D 177B 178A			Bayo (mezcla de tonos cremas y marrón claro, ladrillo, ladrillo rojizo, marrón rojizo)		<i>V. unguiculata</i> (L.) Walp.	57
Black (negro))	202A			Negro		<i>V. unguiculata</i> (L.) Walp.	7
Brown (marrón)	202A	202B		Marrón		<i>V. unguiculata</i> (L.) Walp.	3
Yellow Green (verde amarillento)	146B	146C	152A	Verde oliva		<i>V. radiata</i> L.	3

Fuente: Grupo de códigos de colores según la tabla Royal Horticultural Society (RHS), 1986.

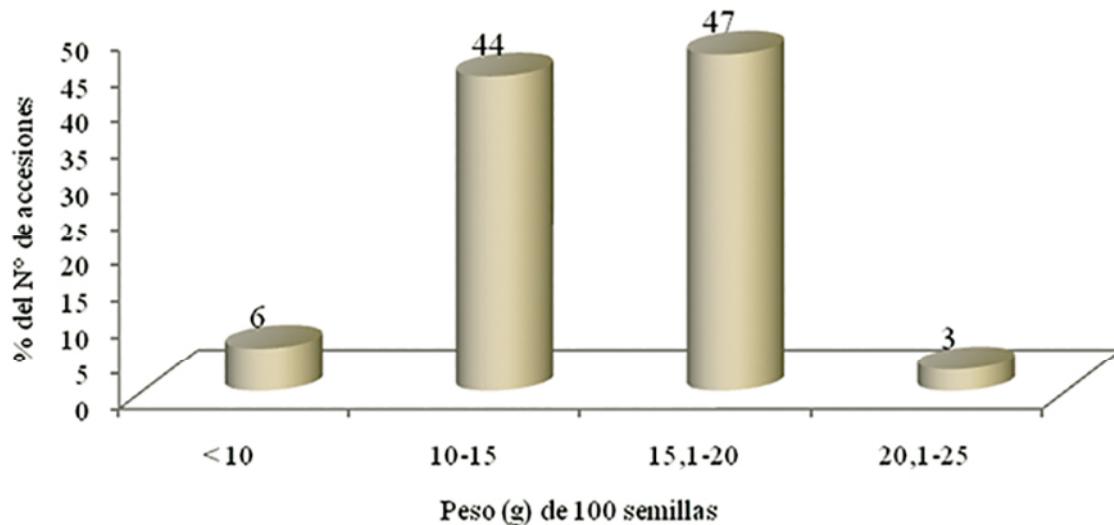


Figura 3. Distribución porcentual de 314 accesiones del género *Vigna* con base al peso de 100 semillas (g).

Henshaw (2008). Las semillas con pesos entre 10 y 15 g son descritas como pequeñas; entre 15,1 y 20 g medianas; entre 20,1 y 25 grandes; las semillas con peso mayor a 25 g consideradas muy grandes.

Del total de accesiones, 13 presentaron longitud de las semillas entre 9,7 y 10,9 mm siendo estas las más largas; 157 con longitud de semillas entre 7,1-8,3 mm; 72 entre 8,4-9,6 mm; 12 con longitud entre 4,4 y 5,7 mm, semillas consideradas muy pequeñas que incluyen las accesiones de las especies *V. radiata* (frijol chino) y *V. umbellata* (frijol bucarito). Con respecto al carácter ancho de la semilla se observó variación entre 3,7 y 7,9 mm. En cuanto al grosor de la semilla la variación fue de 5,5 a 7 mm.

En el Cuadro 3 se presenta el resumen de los valores mínimos, máximos, media y desviación estándar de los caracteres cuantitativos de cultivares locales del género *Vigna*. Los valores de desviación estándar para este grupo de caracteres mostraron la consistencia de los datos y evidencian que la longitud, ancho y grosor de la semilla son caracteres estables.

Los caracteres de las semillas del frijol como tamaño y rugosidad de la testa, se han utilizado para clasificar el germoplasma a nivel infraespecífico (Chevalier citado por Pasquet, 1998). El peso promedio de 100 semillas ha servido como herramienta para la clasificación

taxonómica en *V. unguiculata* (L.) Walp. (Pasquet, 1998). En este sentido, Henshaw (2008) caracterizó 28 variedades de frijol procedente de Nigeria y USA y observó que los caracteres longitud, ancho y grosor de la semilla, tuvieron valores de 6-10 mm, 4 - 7 mm, y 3 - 5 mm, respectivamente, y el peso de 100 semillas entre 11 y 26 g. Este estudio mostró que el peso de la semilla es la propiedad física más discriminante en variedades de frijol.

### Clasificación de las accesiones

Las técnicas estadísticas multivariadas son herramientas muy útiles para caracterizar germoplasma, debido a que básicamente permiten describir o agrupar un conjunto de accesiones, tomando en cuenta simultáneamente varias características, sin dejar de considerar la relación existente entre todos los caracteres en estudio (Franco e Hidalgo, 2003).

La clasificación de las 314 accesiones del género *Vigna* se realizó considerando los caracteres cualitativos y cuantitativos de las semillas, estableciéndose la distancia genética entre estas con el análisis Clúster. En la Figura 4 se presenta el dendrograma de las 314 accesiones del género *Vigna*, obtenido con base en las características morfológicas de las semillas. El análisis de agrupamiento permitió la formación de nueve grupos.

Cuadro 3. Resumen de los valores mínimos, máximos, media y desviación estándar de los caracteres cuantitativos de cultivares locales del género *Vigna*.

Estadísticos	Caracteres cuantitativos de las semillas de <i>Vigna</i>			
	Largo (mm)	Ancho (mm)	Grosor (mm)	P100S (g)
Valor mínimo	4,4	3,7	3,1	4,7
Valor máximo	10,9	7,9	6,2	25,3
Media	7,8	6,2	4,7	14,8
Desviación estándar	1,1	0,7	0,5	3,2

La constitución de cada grupo se observa en el Cuadro 4, donde el número de accesiones varía desde 9 (grupo 2) hasta 72 (grupo 5). En la descripción de los grupos que se presenta a continuación se mencionan los caracteres correspondientes a la moda, en el caso de los cualitativos o al promedio en los cuantitativos.

Grupo 1 constituido por 39 accesiones, de las cuales seis pertenecen a la especie *V. umbellata*, y 33 de *V. unguiculata*, estos materiales genéticos poseen semillas con predominio de los caracteres siguientes: forma tipo romboide (5), color de la testa tipo bayo (naranja grisáceo) [5], textura lisa (1), brillo intermedio (2), patrón de ojo del mismo color de la testa (7), color del ojo bronceado (2) y semillas pequeñas (11,2 g peso promedio de 100 semillas).

Grupo 2 representado en su totalidad por 9 accesiones de la especie *V. radiata*, la semilla tiene forma romboide (5), color de la testa de la semilla verde (verde amarillento) (8), textura lisa (1), brillo intermedio (2), patrón del ojo del mismo color que la testa de la semilla (7), color de ojo verde (4) y peso promedio de 100 semillas de 6,1 g, semillas muy pequeñas.

Grupo 3 descrito por 36 accesiones de *V. unguiculata*, con forma de la semilla predominantemente romboide (5), color de la testa de la semilla bayo, naranja grisáceo, (5), textura lisa (1), brillo opaco (1), patrón del ojo color igual al de la testa de la semilla (7), color bronceado (2), y 14,3 g peso promedio de 100 semillas pequeñas.

Grupo 4 representado por 65 accesiones de *V. unguiculata* posee semillas con forma tipo romboide (5), color de la testa de la semilla bayo, naranja grisáceo, (5), textura lisa (1), brillo

intermedio (2), patrón del ojo del mismo color de la testa (7), color bronceado (2), y 16,0 g peso promedio de 100 semillas consideradas medianas.

Grupo 5 representado por 72 accesiones, de *V. unguiculata* presenta forma tipo ovoide (2), color de la testa de la semilla bayo, naranja grisáceo, (5), textura lisa (1), brillo intermedio (1), patrón del ojo tipo mismo color de la semilla (7), color bronceado (2), y 16,5 g peso promedio de 100 semillas medianas.

El grupo 6 incluye 28 accesiones de *V. unguiculata* con semillas de forma ovoide (2), color de la testa de la semilla blanco o crema, blanco amarillento, (1), textura lisa (1), superficie opaca (1), patrón del ojo del mismo color que la testa de la semilla (7), es decir de color uniforme, color del ojo blanco-crema (1) y semillas pequeñas con 13,7 g de peso promedio de 100 semillas.

Grupo 7 representado por 33 accesiones de *V. unguiculata*, tiene semillas de forma ovoide (2), color de la testa bayo (naranja grisáceo) [5], textura lisa (1), sin brillo (1), patrón del ojo del mismo color que la testa de la semilla (7), color moteado o salpicado de marrón (7), y peso promedio de 100 semillas 15,3 g, medianas.

Grupo 8 que incluye 21 accesiones de *V. unguiculata*, la semilla tiene forma tipo ovoide (2), color bayo, naranja grisáceo, (5), textura arrugada con pliegues secundarios (4), opacas en cuanto al brillo de la testa (1), patrón del ojo tipo Holstein (5), color del ojo bronceado (2), y semillas pequeñas con peso promedio de 100 semillas de 14,6 g.

Grupo 9 representado por 11 accesiones, *V. unguiculata* tiene forma de la semilla tipo

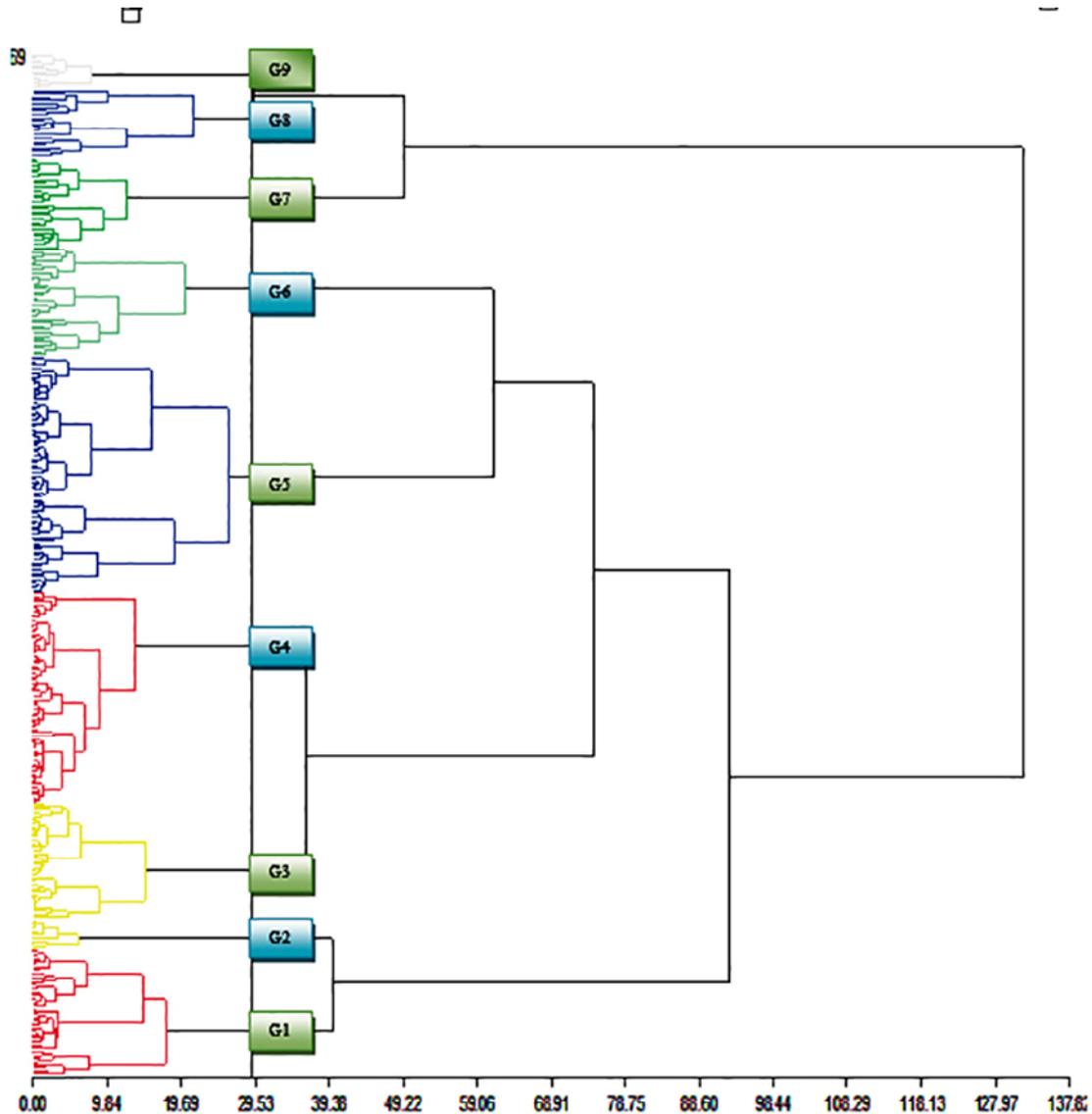


Figura 4. Dendrograma de 314 accesiones del género *Vigna*, basado en descriptores morfológicos de semillas.

arrifonada (1), color de la testa de la semilla blanco o crema (1), textura suave a áspero (2), sin brillo (1), patrón del ojo tipo Holstein (5), color del ojo negro (5), y semillas medianas con 20,0 g de peso promedio de 100 semillas.

Las accesiones de *V. unguiculata* (299) se caracterizaron por semillas de tamaño pequeño (con peso promedio de 100 semillas de 11,2 g) hasta medianas (con peso promedio de 100 semillas de 20,0 g), mientras que las

accesiones de *V. umbellata* solo presentaron semillas pequeñas y de *V. radiata* semillas muy pequeñas (con peso promedio de 100 semillas de 6 g).

## CONCLUSIONES

La caracterización morfológica de las semillas de cultivares locales del género *Vigna*, resguardadas en la Unidad de Recursos Fitogenéticos del INIA-CENIAP, evidenció

Cuadro 4. Agrupamiento de 314 accesiones del género *Vigna* según caracterización morfológica de las semillas.

Grupos	Nºaccesiones	Códigos de accesiones						Especies representadas
1	39	I-006	I-010	I-013	I-022	I-029	I-032	<i>V. unguiculata</i> , <i>V. umbellata</i>
		I-048	I-052	I-060	I-071	I-103	I-119	
		I-120	I-126	I-165	I-180	I-182	I-184	
		I-208	I-211	I-273	I-277	I-283	I-284	
		I-285	I-286	I-472	I-474	I-475	I-478	
		I-488	I-496	I-498	I-530	I-534	I-559	
		I-582	I-589	I-664				
2	9	I-473	I-492	I-505	I-532	I-538	I-542	<i>V. radiata</i>
		I-549	I-623	I-625				
3	36	I-008	I-009	I-020	I-056	I-063	I-065	<i>V. unguiculata</i>
		I-066	I-067	I-068	I-076	I-079	I-085	
		I-104	I-108	I-113	I-114	I-129	I-131	
		I-132	I-133	I-134	I-136	I-138	I-139	
		I-141	I-143	I-144	I-147	I-150	I-151	
		I-158	I-169	I-195	I-204	I-594	I-620	
4	65	I-030	I-031	I-033	I-035	I-036	I-037	<i>V. unguiculata</i>
		I-038	I-039	I-040	I-041	I-043	I-049	
		I-050	I-051	I-053	I-054	I-055	I-057	
		I-058	I-061	I-062	I-070	I-072	I-073	
		I-075	I-080	I-081	I-082	I-083	I-109	
		I-111	I-121	I-124	I-125	I-128	I-130	
		I-140	I-142	I-149	I-160	I-164	I-166	
		I-167	I-170	I-173	I-174	I-188	I-212	
		I-218	I-276	I-278	I-287	I-427	I-482	
		I-509	I-525	I-526	I-556	I-570	I-572	
I-573	I-574	I-575	I-582	I-636				

continúa Cuadro 4...

... continuación Cuadro 4

Grupos	N° accesiones	Códigos de accesiones						Especies representadas
5	72	I-034	I-042	I-077	I-078	I-084	I-118	<i>V. unguiculata</i>
		I-127	I-135	I-145	I-152	I-161	I-162	
		I-163	I-168	I-171	I-181	I-193	I-199	
		I-206	I-223	I-224	I-275	I-282	I-330	
		I-405	I-471	I-476	I-484	I-485	I-486	
		I-494	I-495	I-500	I-504	I-506	I-507	
		I-512	I-513	I-514	I-515	I-516	I-517	
		I-518	I-528	I-531	I-533	I-544	I-551	
		I-554	I-558	I-561	I-562	I-563	I-564	
		I-567	I-571	I-576	I-577	I-579	I-580	
		I-584	I-587	I-595	I-608	I-612	I-614	
6	28	I-619	I-632	I-633	I-637	I-665	I-678	<i>V. unguiculata</i>
		I-007	I-011	I-012	I-014	I-024	I-025	
		I-026	I-028	I-046	I-489	I-490	I-491	
		I-501	I-502	I-503	I-523	I-540	I-586	
		I-588	I-590	I-592	I-596	I-598	I-599	
7	33	I-602	I-605	I-606	I-609			<i>V. unguiculata</i>
		I-064	I-090	I-091	I-094	I-095	I-098	
		I-099	I-100	I-101	I-102	I-106	I-107	
		I-115	I-116	I-117	I-146	I-483	I-536	
		I-541	I-550	I-552	I-553	I-555	I-557	
		I-560	I-578	I-581	I-591	I-597	I-603	
8	21	I-617	I-622	I-630				<i>V. unguiculata</i>
		I-016	I-017	I-018	I-019	I-021	I-023	
		I-027	I-044	I-045	I-157	I-172	I-192	
		I-479	I-480	I-537	I-539	I-546	I-547	
9	11	I-548	I-613	I-621				<i>V. unguiculata</i>
		I-508	I-510	I-511	I-535	I-543	I-565	
		I-566	I-568	I-569	I-615	I-618		

una diversidad que puede ser aprovechada en los programas de mejoramiento genético, considerando los tipos de semillas y especies preferidas por las comunidades.

De acuerdo a los caracteres evaluados en las muestras de semillas de 314 accesiones del género *Vigna*, se conformaron nueve grupos mediante análisis de agrupamiento Clúster, integrando el grupo 5 el mayor número de accesiones (72) y el grupo 2, el menor número (09).

Las accesiones de la especie *V. unguiculata* se distribuyeron en todos los grupos a excepción del grupo 2, representado únicamente por *V. radiata*, mientras que *V. umbellata* solo se ubicó en el grupo 1.

### LITERATURA CITADA

- Beyra, A. y G. Reyes. 2004. Revisión taxonómica de los géneros *Phaseolus* y *Vigna* (Leguminosae-Papilionoideae) en Cuba. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*. 61(2):135-154.
- Egbadzor, K. F. 2013. Inheritance of seed coat colour in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). *International Journal of Plant Breeding and Genetics*. 25:202-212.
- Flores, M., C. M., P. M. Madriz I., R. Warnock de Parra y A. Trujillo de Leal. 2005. Evaluación de altura de plantas y componentes del rendimiento de seis genotipos del género *Vigna* en dos localidades de Venezuela. *Rev. Fac. Agron.* 22(4):354-368.
- Franco, T. L. y R. Hidalgo. (eds). 2003. Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. *Boletín Técnico N° 8*, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. 89 p.
- Gutiérrez, M. 2008. Segundo informe Nacional sobre el estado de los recursos fitogenéticos para la agricultura y la alimentación. Venezuela 2008. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícola (INIA)-FAO. Maracay, Venezuela. 171 p.
- Henshaw, F. O. 2008. Varietal differences in physical characteristics and proximate composition of cowpea (*Vigna unguiculata*). *World Journal of Agricultural Science*. 4(3):302-306.
- IBPGR (International Board for Plant Genetic Resources). 1983. *Descriptors for Cowpea (AGPG: IBPGR/81/82)*. Rome. 29 p.
- ISTA (International Seed Testing Association). 1993. *Rules International Seed Testing Association, Seed Sci. And Technol.* 21 Supplement *International Rules For Seed Testing. Rules*. Zurich, Switzerland. 287 p.
- León-Brito, O., G. Torrealba, A. Higuera Moros, Y. Reina y T. Sáez. 2013. Evaluación agronómica y participativa de cultivares de frijol [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] en Calabozo, estado Guárico, Venezuela. *Revista Científica UDO Agrícola*. 13(1):25-31.
- Mariño, N., M. Escala, M. de Miranda y C. Ramis. 2007. Características morfológicas cualitativas y cuantitativas en semillas de algunas especies del género *Canavalia*. Maracay, Venezuela. *Rev. Fac. Agron.* 33:55-76.
- Montilla, J. de J. 1998. Consideraciones generales sobre las leguminosas en la agricultura y la alimentación. **En:** Un Programa Integral de Investigación en Leguminosas (Memorias del Taller realizado en Sartanejas, abril de 1998). Universidad Central de Venezuela, Vicerectorado Académico. Editado por Viera Díaz, Julio y Marín Chirinos, Douglas. pp. 11-18.
- Padulosi, S. and S. Q. Ng. 1997. Origin, taxonomy and morphology of *Vigna unguiculata* Walp. **In:** *Advances in cowpea research*. Sing, B.B.; Mohan, Raj, D.R.; Dashiell, K. E. y L.E.N. Jackay (Eds). International Institute of Tropical Agriculture (IITA). Japan International Research Center for Agricultural Sciences (JIRCAS). pp. 1-12.
- Pasquet, R. 1998. Morphological studies of cultivated cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Importance of ovule number and definition of cv gr *Melanophthalmus*. *Agronomie*. 18:61-70.

- Pérez, D., N. Camacaro, M. E. Morros y A. Higuera. 2013. Leguminosas de grano comestible en Venezuela. Caraota, frijol y quinchoncho. Agricultura en Venezuela N° 1. José Luis Berroterán (Editor). Ediciones ONCTI. Caracas, Venezuela. 157 p.
- Rodiño, A. 2000. Caracterización morfoagronómica y bioquímica de germoplasma de judía común (*Phaseolus vulgaris* L.) de España. Tesis Doctoral. Pontevedra, España; Facultad de Biología, Universidad de Santiago de Compostela. 251 p.
- RHS (Royal Horticulture Society). 1986. Colour chart. Royal Horticulture Society, Londres.
- Russo A., E. Salazar, A. Higuera, L. Castro y S. Vásquez. 2015. Caracterización molecular de germoplasma de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) con marcadores RAPD. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 32:419-442.
- Sefa Dedhe, S., D. W. Stanley and P. W. Voisey. 1978. Effects of soaking time and cooking conditions on texture and microstructure of cowpeas. Journal of food science. 43(6):1832-1838.
- Skerman, P. J., D. G. Cameron y F. Riveros. 1991. Leguminosas forrajeras Tropicales. Colección FAO: Producción y Protección vegetal. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. 707 p.
- Torrealba-Nuñez, G., Y. Reina, O. León-Brito, G. Martínez Zapata, A. Higuera Moros y T. Sáez. 2014. Evaluación y selección participativa de cultivares de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Agron. Trop. 64(1-2):73-81.

## NOTA TÉCNICA

### Efecto de siete periodos de trasplante del patrón 'Taiwanica' sobre variables morfológicas en vivero con malla sombra

### Effect of seven periods of transplantation of the pattern 'Taiwanica' on morphological variables in nursery with mesh shade

Petra M. García y Maribel J. Clemente

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), estado Miranda, Venezuela. Correo electrónico: gpetra@inia.gob.ve

#### RESUMEN

Un patrón de buena calidad garantiza el establecimiento o renovación de una plantación de cítricos. Como una alternativa para diversificar los portainjertos en mandarina (*Citrus reticulata* var. Dancy) en Venezuela, se evaluó el efecto del tiempo de trasplante en bolsa del patrón 'Taiwanica' (*Citrus taiwanica* Tan. y Shim.) en condiciones de vivero con malla sombra al 60% sobre diferentes variables. El ensayo se ejecutó en la Estación Experimental del INIA-Miranda, desde marzo 2011 hasta agosto 2012. El diseño experimental fue completamente al azar con 7 tratamientos (tiempos de trasplante) desde la germinación hasta lograr el diámetro óptimo de injertación y 10 repeticiones. La unidad experimental fue de una planta. Se evaluaron las siguientes variables: diámetro de injertación; número de días transcurridos desde el trasplante hasta el diámetro de injertación; materia fresca, seca y contenido de humedad en hojas+tallo y raíz; altura total de planta y longitud de la raíz principal. Los resultados demostraron que las variables estudiadas fueron afectadas significativamente por el tiempo de trasplante. El diámetro óptimo de injertación dependió del tiempo de trasplante, por lo que se recomienda realizar entre 52 y 72 días luego de la germinación, aunque se considera poco tiempo para lograr el diámetro adecuado de injertación y menor permanencia de los patrones en vivero; sin embargo, se logra una reducción en los costos de producción, sin afectar el vigor y calidad de la planta.

**Palabras clave:** *Citrus taiwanica*, propagación, cultivos protegidos, cítricos, portainjerto.

#### ABSTRACT

The pattern is one of the most important inputs for the establishment or renovation of a citrus plantation. The time of transplanting into bags of 'Taiwanica' pattern (*Citrus taiwanica* Tan. and Shim.) was evaluated under nursery conditions with 60% shadow as an alternative to diversify the rootstocks for mandarin (*Citrus reticulata* var. Dancy) in Venezuela. The experiment was carried out at the Experimental Station of INIA-Miranda, Venezuela, from March (2011) to August (2012). A completely randomized design was used with 7 treatments (transplanting time) and 10 repetitions per treatment, using one plant as experimental unit. Plant height, stem diameter, main root length, moisture content, fresh and dry matter distribution into different plant parts (main root, and stem + leaf biomass) were recorded. The results show that the variables studied were significantly affected by the time of grafting. A grafting time between 52 and 72 days after germination is recommended since the optimum pattern diameter for grafting is dependent on the transplant time. Even though it is a considerable short time to achieve an adequate graft diameter, a low reduction in cost and less time in nursery is achieved, without affecting the vigor and quality of the plant.

**Key words:** *Citrus taiwanica*, plant propagation, protected crops, citrus, rootstock.

## INTRODUCCIÓN

El patrón es uno de los insumos más importantes para el establecimiento o renovación de una plantación de cítricos, ya que estos son cultivos perennes, presentando su máximo potencial de producción y calidad de frutos entre los 6 u 8 años después de plantadas; así mismo, su longevidad se expresa en un intervalo de tiempo mayor. Por tanto, un patrón de baja calidad genética y sin el adecuado manejo agronómico en vivero, puede provocar una plantación improductiva, pues de este factor depende, en gran medida, la productividad del rubro, tolerancia a plagas y tiempo de vida útil de la planta adulta.

Dibbern (2010) indica que, en Brasil, hasta el año 1994, la propagación de patrones en vivero representaba un factor de producción poco relevante y su adquisición se basaba exclusivamente en su costo. Por tal motivo, los viveristas limitaban sus actividades a la producción de patrones de bajo costo, no considerando el manejo en vivero y la calidad genética del material para injertación (Valle, 2002 citado por Dibbern, 2010; Rodríguez, 2013).

El tiempo que tarda el patrón en lograr el diámetro óptimo de injertación para su comercialización, es otro de los factores importantes a considerar en la propagación de cítricos en vivero, pues está influenciado por condiciones climáticas; en Cuba, por ejemplo, se reportan tiempos entre 12 y 15 meses, según su vigor (Valle, 1985; Jiménez, 1991; Rodríguez, 2013). En países del mediterráneo se requieren 48 meses, mientras que en países tropicales secos se precisan de 30 a 36 meses, y en climas tropicales húmedos de 18 a 29 meses (Praloram, 1974).

Arrieta (2010) indica que, independientemente del patrón, 40 semanas es tiempo óptimo para realizar la injertación. Dibbern (2010) reporta que el ciclo de producción de plantas cítricas en vivero protegido en Brasil, desde la etapa de semillero hasta el momento de la comercialización, es de aproximadamente 10 a 14 meses y está influenciado por las variaciones climáticas y el portainjerto utilizado.

En Venezuela, hacia los años 80, la citricultura se vio fuertemente amenazada con la aparición del virus de la tristeza de los cítricos, siendo la utilización de patrones tolerantes o resistentes a esta enfermedad una de las medidas de control

(Legislación Fitosanitaria de Venezuela, 1993). Sin embargo, se posee poca información acerca de algunos aspectos del comportamiento y manejo en vivero de patrones. Esto evidencia la necesidad de realizar evaluaciones de vigor, hábito de crecimiento, sustratos, fertilización, tamaño de bolsa, días al trasplante y días totales en vivero, entre otros, para su caracterización, con la finalidad de establecer un programa de producción de patrones de alta calidad, a bajo costo y en menos tiempo.

Por otra parte, la diversificación de los patrones es una garantía de sobrevivencia de las plantas, en caso de aparición de nuevas enfermedades (Fochesato *et al.*, 2006). En tal sentido, la tolerancia a enfermedades como la tristeza de los cítricos, psorosis, exocortis, xyloporosis y resistencia media a *Phytophthora* del patrón 'Taiwanica' (Monteverde, 1982; Reyes y Ruiz, 1984; Montilla y Gallardo 1994a; Del Valle *et al.*, 2004) representa una alternativa para el estado Miranda, mayor productor en volumen y calidad de mandarina 'Dancy' en Venezuela. Trabajos realizados por Solórzano (1997) evidencian la adaptabilidad de este patrón a las condiciones agroclimáticas del estado Miranda, presentando buena producción y calidad de la fruta de mandarina 'Dancy'.

Montilla y Gallardo (1994b), en evaluaciones del comportamiento del naranjo 'Valencia' sobre 13 patrones en el estado Lara, encontraron que este cultivar sobre 'Taiwanica' indujo una producción intermedia, con tendencia a mejorar el contenido de sólidos solubles totales (SST) de sus frutos al avanzar en los ciclos productivos, catalogándolo como uno de los patrones más eficientes. Asimismo, Villaume *et al.* (1981) lo señalan como inductor de buena producción.

Por tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del tiempo de trasplante en bolsa de plantas del patrón 'Taiwanica', bajo condiciones de vivero y malla sombra al 60%, sobre variables morfológicas en siete períodos de trasplante, desde la germinación y hasta lograr el diámetro óptimo de injertación.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en el vivero de la Estación Experimental de INIA-Miranda, municipio Acevedo del estado Miranda,

Venezuela, con una altitud de 41 m.s.n.m. y coordenadas UTM latitud N 10°13'23" y longitud O 66°18'30", entre los meses de marzo de 2011 hasta agosto de 2012, para un total de 522 días de experimentación.

### Establecimiento del ensayo

Se cosecharon frutos maduros y sanos del portainjerto 'Taiwanica' en el Banco de germoplasma del INIA-CENIAP en el estado Aragua; seguidamente se lavaron con agua y jabón. Para obtener la semilla se realizó un corte en la sección meridional exterior del fruto (sin atravesar el área central), se giraron las dos mitades en sentido opuesto, se extrajeron las semillas y se eliminó el mucílago de la cubierta seminal con agua potable. Luego, durante un minuto fueron lavadas en agua tibia (45 °C).

Posteriormente fue realizada una selección de la semilla, eliminando aquellas germinadas, vanas, pequeñas o con daño mecánico. Las semillas sanas se secaron durante 72 horas a la sombra y fueron sembradas en cantero a plena exposición solar, en sustrato elaborado con una mezcla de arena, cáscara de cacao compostada y abono de vacuno en proporción de 1:1:1, respectivamente. La semilla fue colocada a 5 cm entre hileras y 2 cm entre semillas. Los riegos fueron realizados con regadera de agujeros finos, para evitar que las semillas fueran desplazadas por la presión del agua.

Una vez germinadas, las semillas fueron trasplantadas, sin hacer corte de la raíz principal, a bolsas de polietileno de 2,40 L (25 cm alto x

21 cm ancho con fuelle), cuyo sustrato consistió en tierra, arena y cáscara de cacao compostada en una proporción de 3:1:1, respectivamente.

Se regó diariamente con manguera y, por su parte, la fertilización consistió en la aplicación de una dosis de 15 g.planta<sup>-1</sup> de 10-20-20 CP, fraccionada en cinco aplicaciones hasta lograr el diámetro óptimo de injertación. Se realizó tutorado y poda cada 15 días a las ramas laterales. El control de malezas fue manual. Tanto en semillero como en trasplante, el sustrato fue desinfectado con *Trichoderma* a dosis de 1 g por cada 5 L de agua.

Al momento del trasplante los patrones fueron llevados a vivero con 60% malla-sombra, donde se realizaron las evaluaciones hasta alcanzar el diámetro de injertación de 5 a 6 mm. En el Cuadro 1 se presentan los tratamientos correspondientes a diferentes periodos de trasplante o días de la germinación al trasplante en vivero con malla sombra al 60%.

Se utilizó un diseño experimental totalmente aleatorizado con siete tratamientos (período de trasplante). Cada uno estuvo representado por 30 plantas, evaluadas hasta que el 50% de estas alcanzaran el diámetro de injertación. De allí, se seleccionaron al azar 10 plantas por tratamiento para determinar las variables: longitud de la raíz principal, peso de materia fresca y seca de la raíz, peso de materia fresca y seca de hojas+tallo, contenido de humedad de la raíz y contenido de humedad de hojas+tallo. La unidad experimental fue de una planta, para un total de 70 plantas.

Cuadro 1. Tratamientos correspondientes a diferentes periodos de trasplante o días de la germinación al trasplante en vivero con malla sombra al 60%.

Tratamiento	Período de trasplante	Días desde la germinación al trasplante	Repeticiones
1	02/06/2011	52	10
2	06/06/2011	56	10
3	10/06/2011	60	10
4	17/06/2011	67	10
5	20/06/2011	70	10
6	22/06/2011	72	10
7	12/07/2011	92	10

## VARIABLES EVALUADAS

**Diámetro de injertación y días al trasplante a diámetro de injertación.** Al iniciarse el ensayo se estableció una distinción con tinta blanca en la base del tallo (cuello de la raíz) y otra, a partir de la primera, a una altura de 30 cm, siendo esta última el punto de medición del diámetro cada 15 días durante el desarrollo del experimento, hasta alcanzar 5-6 mm, considerado valor óptimo para realizar la injertación. Esta variable fue evaluada con un vernier manual de precisión, marca Calipers, con una escala quincuagésimal de 0,02 mm. Los resultados fueron expresados en milímetros (mm) y el periodo de tiempo en alcanzar el diámetro de injertación en días.

**Materia fresca, seca y contenido de humedad en hojas+tallo y raíz.** Cuando se alcanzó el diámetro de injertación, se cosechó la planta y se seccionó en: raíz, tallo y hojas. Se colocaron en bolsas de papel hojas+tallo y aparte la raíz, identificadas por repetición y tratamiento. Se pesaron individualmente en una balanza, marca OHAUS con una sensibilidad de 0,1 g. Se mantuvieron de 1 a 2 semanas en estufa, marca Felisa, con circulación de aire forzado a 70°C, dependiendo de la edad de la planta y, de acuerdo a mediciones diarias, hasta lograr peso constante, ocasión en que se procedió a tomar el peso seco.

El contenido de humedad se obtuvo a través de la siguiente fórmula:

$$\text{Contenido de humedad} = \frac{(\text{peso fresco} - \text{peso seco})}{\text{peso fresco}} * 100$$

Los pesos seco y fresco fueron expresados en gramos (g) y el contenido de humedad en porcentaje (%).

**Altura total de planta.** Se midió desde la base del tallo (cuello de la raíz) hasta el meristemo apical del tallo principal. Al inicio del ensayo, como punto de referencia, se estableció una distinción con tinta blanca en la base del tallo y cada 15 días, a partir de esa marca, se midió la variable hasta culminar el ensayo. Los resultados fueron expresados en centímetros (cm).

**Longitud de la raíz principal.** Se midió con cinta métrica desde el cuello hasta el ápice de la raíz principal, una vez que el patrón alcanzó el diámetro de injertación. Los resultados fueron expresados en centímetros (cm).

## ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Se realizó análisis de varianza y pruebas de separación de medias de Duncan a un nivel de  $P < 0,05$  a las variables que resultaron estadísticamente significativas. Para el análisis se utilizó el programa estadístico InfoStat/libre versión 2012.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las semillas germinaron a los 21 días después de la siembra, siendo su porcentaje de germinación de 98%. Diversos autores señalan que el trasplante de las plántulas de cítricos a bolsas se debe realizar entre la semana 8 y 12 después de la siembra; es decir, de 34 a 60 días después de la germinación, tomando en cuenta que esta ocurre a los 21 días luego de la siembra (Praloram, 1974; Loussert, 1990; Agustí, 2003). Algunos autores no consideran los días desde la germinación al trasplante como un factor que afecta la producción de patrones en vivero (Jiménez, 1991; Armadans, 2000; Arango, 2007; Russián y Oropeza, 2008; Dibbern, 2010).

Por otra parte, Forner (1979) y Reyes y Ruiz (1984) evaluaron el comportamiento del patrón 'Taiwanica' en vivero y no consideraron el tiempo óptimo para el trasplante a bolsas. Forner (1979) comparó 18 patrones en semilleros y viveros estableciendo tres categorías de vigor: lento, bueno y muy bueno, ubicando a *Citrus taiwanica* dentro de la categoría de bueno. Similares resultados fueron obtenidos por Reyes y Ruiz (1984) al realizar el trasplante de *Citrus taiwanica* a los 71 días luego de la germinación y colocarlas en vivero, a plena exposición solar.

### Relación entre las variables: peso fresco, peso seco, contenido de humedad en hojas+tallo y raíz, y peso total de planta con los días de trasplante a diámetro de injertación

Se encontró que el peso fresco, peso seco, contenido de humedad en hojas+tallo y raíz, y el peso total de planta, fueron afectados por el número de días desde la germinación al trasplante y por el tiempo que tarda la planta en vivero hasta alcanzar su diámetro de injertación, donde el mayor peso fresco de hojas+tallo y raíz se obtuvo cuando el trasplante se realizó a los 52 días luego de la germinación (Cuadro 2), ya que estas plantas alcanzaron el

Cuadro 2. Peso de materia fresca y seca (g) y contenido de humedad (%) en hoja+tallo, raíz y peso total de planta (g) por tratamiento, al alcanzar el diámetro de injertación.

Tratamiento	Tiempo de trasplante	Peso materia fresca (g)				Peso materia seca (g)				Contenido de humedad (%)		
		Hojas+tallo	Raíz	Peso total	Hoja + Tallo	Raíz	Hoja + Tallo	Peso total	Hoja + Tallo	Raíz	Raíz	
1	52	26,65 ± 3,04 d	10,14 ± 1,32 d	36,69 ± 2,37 d	10,59 ± 3,18 ab	4,01 ± 0,58 b	15,31 ± 1,84 b	59,14 ± 2,34 e	61,76 ± 7,85 d			
2	56	26,89 ± 4,07 d	7,63 ± 1,39 b	34,93 ± 4,62 cd	10,18 ± 1,25 a	3,40 ± 0,43 a	13,50 ± 1,12 a	57,52 ± 3,29 e	46,20 ± 4,66 c			
3	60	18,09 ± 2,60 a	4,92 ± 0,62 a	23,30 ± 2,87 a	11,40 ± 1,57 ab	4,11 ± 0,86 b	16,21 ± 1,83 b	45,21 ± 2,47 a	32,66 ± 3,43 a			
4	67	25,46 ± 3,98 cd	7,50 ± 0,97 b	31,15 ± 4,13 b	11,89 ± 1,80 b	4,47 ± 0,61 bc	15,03 ± 2,08 ab	54,97 ± 1,99 d	48,44 ± 4,45 c			
5	70	23,16 ± 2,01 bc	9,05 ± 0,78 c	32,18 ± 1,71 bc	10,93 ± 1,12 ab	4,84 ± 0,52 c	15,18 ± 1,29 ab	52,79 ± 1,29 cd	46,34 ± 3,68 c			
6	72	20,93 ± 3,65 ab	7,80 ± 0,84 b	30,82 ± 3,65b	11,17 ± 1,72 ab	4,63 ± 0,51 bc	16,70 ± 1,88 b	49,46 ± 2,70 b	40,35 ± 2,85 b			
7	92	26,18 ± 3,00 cd	7,46 ± 1,18 b	34,19 ± 1,63 bcd	12,09 ± 0,95 b	4,34 ± 0,58 bc	16,15 ± 0,92 b	51,85 ± 2,79 bc	41,43 ± 3,30 b			
	CV	13,45	13,53	9,88	12,41	14,40	10,31	5,05	9,97			

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $P > 0,05$ ).  
CV: Coeficiente de variación.

diámetro de injertación a los 301 días luego del trasplante (Cuadro 3).

Al realizar el trasplante a los 60 días, se obtuvo un efecto significativo en el peso fresco de hojas+tallo y raíz, pero no en el tiempo de la planta en vivero, pues estas alcanzaron su diámetro de injertación a los 307 días (Cuadro 3).

Por su parte, cuando el trasplante se realizó a los 92 días luego de la germinación, las plantas alcanzaron su diámetro de injertación a los 407 días (Cuadro 3) y las raíces presentaron menor peso fresco que las trasplantadas a los 52 y 70 días luego de la germinación, lo que implica más días en vivero y un mayor costo de producción del patrón. Cabe destacar que, en esta experimentación, el efecto del 60% de sombreado de la malla podría haber influido en el mayor tiempo de las plantas en vivero para alcanzar el diámetro óptimo de injertación.

En Cuba, Arango (2007) considera que en la producción de plantas cítricas en ambiente protegido, el diámetro de injertación de 6-8 mm a una altura de 20-25 cm, desde la base de la planta, se alcanza entre 120 a 150 días luego del trasplante. Asimismo, indica que el ciclo normal de una planta en vivero desde la siembra de las semillas hasta la comercialización, debe oscilar entre los 12 a 15 meses, tomando en cuenta bloques o secciones completas y no plantas aisladas.

En relación al peso en materia seca de tallo+hoja y raíz (Cuadro 2), se encontró que

las plantas trasplantadas a los 92 días luego de la germinación presentaron el mayor peso de materia seca en hojas+tallo; mientras que, a los 67, 70 y 72 días después de la germinación presentaron mayor peso de materia seca en raíz. El contenido de agua en los órganos estudiados fue superior a los 52 días después de la germinación, siendo mayor en raíces que en hojas+tallo. Esto evidencia que el patrón 'Taiwanica', bajo las condiciones estudiadas, acumula más agua en hojas+tallo que en la raíz y las plantas que permanecen menos tiempo en vivero acumulan más agua en las raíces que en hojas+tallo.

### **Relación entre la altura de planta y longitud de la raíz principal al alcanzar el diámetro de injertación**

En el Cuadro 4, se aprecian diferencias significativas en las variables evaluadas, donde la mayor altura de planta se encontró a los 56 días luego del trasplante con 297 días en vivero y la mayor longitud de la raíz principal a los 72 días luego del trasplante con un tiempo en vivero de 323 días (Cuadro 3).

En trabajos similares no se reporta la influencia del tiempo en vivero y días de la germinación al trasplante como factores que influyen en la altura y longitud de las raíces (Jiménez, 1991; Armadans, 2000; Arango, 2007; Arrieta, 2010). Además, Kenneth y Castle (1985) mencionan que el crecimiento de las raíces de cítricos en vivero, está más influenciada por la temperatura del suelo, que por el sustrato utilizado; y que la

Cuadro 3. Tiempo en vivero desde el trasplante al diámetro de injertación por tratamiento.

Tratamiento	Fecha de trasplante	Tiempo desde la germinación al trasplante (días)	Tiempo desde el trasplante al diámetro de injertación (días)	Tiempo desde el trasplante al diámetro de injertación (semanas)
1	02/06/11	52	301	43
2	06/06/11	56	297	42,43
3	10/06/11	60	307	43,86
4	17/06/11	67	328	46,86
5	20/06/11	70	360	51,43
6	22/06/11	72	323	46,14
7	12/07/11	92	407	58,14

Cuadro 4. Altura de planta y longitud de la raíz principal por tratamiento al alcanzar el diámetro de injertación.

Tratamiento	Tiempo desde la germinación al trasplante (días)	Altura (cm)	Longitud de la Raíz (cm)
1	52	93,23 ± 6,83ab	14,38±2,08a
2	56	106,70±12,44c	15,28±2,12a
3	60	95,07±10,93ab	19,14±3,34b
4	67	97,73±5,63b	20,56±3,14b
5	70	93,03±8,55ab	21,25±1,11bc
6	72	86,89±7,41a	23,37±3,37c
7	92	92,16±7,69ab	15,04±2,16a
CV		9,34	14,03

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $P>0,05$ ).

CV: Coeficiente de variación.

elongación de las raíces está correlacionada positivamente con la temperatura del suelo, siendo la óptima por encima de los 27 °C; considerando que ésta crece de manera alterna con periodos de desarrollo de brotes.

Por su parte, Malamy y Ryan (2001) señalan que el desarrollo radical es afectado por todos los factores ambientales que influyen en la capacidad de los brotes para proveer a las raíces los carbohidratos necesarios para su desarrollo. Sin embargo, estos autores estiman que son los factores edáficos los que tienen mayor influencia, debido a que las plantas responden morfológicamente para ajustarse a las condiciones de crecimiento.

También, Avilán *et al.* (1986) señalan que el portainjerto afecta la longitud de las raíces. Estos autores registran que el limón 'Volkameriana' presentó mayor longitud de raíces y superó a *Citrumelo swingle* y a *Citrango carrizo*; asimismo, relacionaron que los portainjertos más vigorosos presentan mayor desarrollo radical, debido a que existe relación entre el desarrollo de la raíz y la parte aérea; según Hsiao (2000) estas se complementan para la utilización de asimilados.

## CONCLUSIONES

Las variables altura de planta, diámetro del tallo, longitud de la raíz principal, peso de materia fresca, seca y contenido de humedad de la raíz

principal y de hojas+tallo, medidas en el patrón 'Taiwanica' bajo condiciones de vivero con malla sombra 60%, fueron afectadas por el tiempo transcurrido desde la germinación al trasplante.

El patrón 'Taiwanica' acumula más agua en hojas+tallo que en la raíz, y las plantas que permanecen menos tiempo en vivero acumulan más agua en las raíces que en hojas+tallo.

Mientras más tiempo se espera, desde la germinación hasta el trasplante, las plantas del patrón 'Taiwanica' alcanzarán el diámetro óptimo de injertación. Por tanto, el tiempo óptimo de trasplante para la propagación en vivero bajo las condiciones estudiadas se ubica entre los 52 y 72 días después de la germinación. De esta forma los patrones lograrán el diámetro de injertación adecuado en menor tiempo y permanecerán menos tiempo en vivero, obteniéndose una reducción en los costos de producción, sin afectar el vigor y calidad de la planta.

## RECOMENDACIONES

Se recomienda continuar con estas evaluaciones donde se tomen en cuenta factores como la fertilización y el tamaño de bolsa, ya que los portainjertos responden con diferentes niveles de crecimiento a los mismos, pudiendo influir en el tiempo de obtención de la planta.

## AGRADECIMIENTO

A Jesús Arais, ayudante agropecuario del Campo Experimental del INIA-Miranda, por su valiosa colaboración en la recolección de la información y al Dr. Pedro Sánchez, personal de investigación jubilado del INIA-Miranda, por sus apreciadas sugerencias en la redacción del artículo.

## LITERATURA CITADA

- Agustí, M. 2003. Citricultura. 2da edición. Editorial Mundi-Prensa. México. 422 p.
- Arango, E. 2007. Viveros protegidos de cítricos. A nuevos retos fitosanitarios, nuevas técnicas de manejo. *Citrifrut*. 24(1):54-55.
- Arrieta, B. 2010. Malformación de raíz en vivero de portainjertos de cítricos tolerantes a VTC. Aspectos anatómicos y fisiológicos. Tesis doctoral en Ciencias. Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. México. 117 p.
- Armadans, A. 2000. Comportamiento de seis especies de portainjertos de cítricos en vivero bajo cobertura plástica. *Revista de ciencia y tecnología. Dirección de Investigaciones-UNA*. 1(2):9-14.
- Avilán, L., C. Velarde y L. Meneses. 1986. Distribución del sistema radical de los patrones de cítricos naranjo agrio (*Citrus aurantium* L.) Cleopatra (*C. reshni* Hort. Ex Tan) y Volkameriana (*C. volkameriana* Pasq). *Agronomía Trop*. 36(4-6):97-113.
- Del Valle, N., R. Rodríguez y K. Rodríguez. 2004. Comportamiento del tangelo Orlando injertado sobre patrones tolerantes a la tristeza de los cítricos. UCTB Jagüey Grande. Matanzas, Cuba. Año 31, N° 3-4. pp. 38-42.
- Dibbern, C. 2010. Los viveros de cítricos en Brasil. Taller viveros de cítricos en el contexto fitosanitario actual. Edición Instituto de Fruticultura Tropical. La Habana, Cuba. pp. 55-66.
- Fochesato, L., P. Dutra, G. Schäfer e H. Schmatz. 2006. Produção de mudas cítricas em diferentes porta-enxertos e substratos comerciais. *Ciência Rural*. 36(5):1397-1403.
- Forner, J. 1979. Los patrones agrios en España. *Levante Agrícola*. 209:27-32.
- Hsiao, C. 2000. Leaf and root growth in relation to water status. *HortScience*. 35:1051-1058.
- Jiménez, R. 1991. Comportamiento de seis patrones de cítricos injertados con cuatro cultivares en la etapa de propagación en vivero. Tesis de doctorado en Ciencias Agrícolas. Instituto Superior de Ciencias Agrícolas. La Habana, Cuba. 120 p.
- Kenneth, B. B. and W. S. Castle. 1985. Annual root growth pattern of young citrus trees in relation to shoot growth, soil temperature and soil water content. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 110:840-845.
- Legislación Fitosanitaria de Venezuela. 1993. Servicio Autónomo de Sanidad Agropecuaria (SASA). Ministerio de Agricultura y Cría.
- Loussert, R. 1990. Los Agrios. Editorial Mundi-Prensa. España. 319 p.
- Malamy, J. E. and K. S. Ryan. 2001. Environmental regulation of lateral root initiation in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*. 127:899-909.
- Monteverde, E. 1982. La tristeza de los cítricos en Venezuela. Sugerencia para su control. *Fonaiap Divulga*. 1(6):8-11.
- Montilla De Bravo, I. y E. Gallardo. 1994a. Comportamiento del naranjo 'Valencia' sobre trece patrones en Lara Venezuela. I Crecimiento. *Agronomía Trop*. 44(4):619-628.
- Montilla De Bravo, I. y E. Gallardo. 1994b. Comportamiento del naranjo 'Valencia' sobre trece patrones en Lara Venezuela. II Producción y calidad de la fruta. *Agronomía Trop*. 44(4):629-643.
- Praloram, J. 1974. Los portainjertos. Los Agrios. Ediciones Blume. Madrid. pp. 87-89.

- Reyes, F. y J. Ruiz. 1984. Comportamiento en vivero de patrones cítricos tolerantes a la tristeza. *Agronomía Trop.* 34(4-6):35-41.
- Rodríguez, C. 2013. Efecto de la fecha de siembra y tamaño de contenedor en el crecimiento de dos especies de pino en vivero. Tesis de maestría en Ciencias. Colegio de Posgraduados. Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. Campus Montecillo. México. 66 p.
- Russián, T. y J. Oropeza. 2008. Evaluación en vivero de tres patrones para el desarrollo de la naranja "criolla" en el sector Macanillas-Curimagua. *Agronomía Trop.* 58(4):345-350.
- Solórzano, E. 1997. Caracterización de la calidad y determinación del período óptimo de cosecha de la mandarina 'Dancy' (*Citrus reticulata*. Blanco) en Aaira, Salmeron y Macanilla. Estado Miranda. Tesis de grado. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Venezuela. 86 p.
- Valle, N. 1985. Patrones para cítricos en Jagüey grande, Matanzas. Tesis de doctorado en Ciencias Agrícolas. MINAG, Cuba. 126 p.
- Villaume, C., B. Moreau et B. Aubert. 1981. Resultats preliminaires d'un essai portegreffe d'agrumes a' la reunion. *Fruits.* 36(5):285-294.



## NOTA TÉCNICA

### Evaluación agronómica de tres híbridos de pepino en condiciones de casa de cultivo en Cuba

#### Agronomic evaluation of three cucumber hybrids under house of culture in Cuba

Armando del Busto Concepción<sup>1\*</sup>, Yoerlandy Santana Baños<sup>1</sup>, Rubén Guaraco Benavente<sup>2</sup>, Pedro L. Páez Fernández<sup>1</sup> y Francisco González Breijo<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidad de Pinar del Río “Hermandos Saíz Montes de Oca”, Cuba. <sup>2</sup> Instituto Nacional de Tierras (INTI), Venezuela. \*Correo electrónico: armando@upr.edu.cu

#### RESUMEN

La producción de hortalizas en casas de cultivo requiere niveles de rendimiento que garanticen la eficiencia económica, por esto resulta necesario el empleo de cultivares que brinden la mejor respuesta agronómica a las condiciones de producción. Con el objetivo de evaluar tres nuevos híbridos de pepino, se estableció una investigación en casa de cultivo de la empresa Cítricos “Enrique Troncoso”, ubicada en Pinar del Río, Cuba. Se evaluaron indicadores productivos en los tres nuevos híbridos de pepino de origen español (‘HS-001’, ‘HS-002’ y ‘HS-011’), comparados con un testigo híbrido (‘HA-436’), de origen israelita utilizado comúnmente en los ciclos productivos del cultivo en la entidad. La siembra se realizó de forma directa con semillas pre-germinadas, en una casa de cultivo Tropical A-12 de 900 m<sup>2</sup>, garantizando 50 plantas de cada híbrido y una densidad de 2 plantas.m<sup>-2</sup>. Las evaluaciones se realizaron en 20 plantas de cada híbrido seleccionadas al azar. Los resultados arrojaron diferencias significativas entre los híbridos evaluados para el número de frutos por planta, peso y longitud del fruto y rendimiento, constatándose que la producción de los híbridos HS no superó el 56,4% de la obtenida con el híbrido ‘HA-436’. A pesar del resultado no favorable de los híbridos HS respecto al ‘HA-436’, se destacó el ‘HS-001’, con diferencias significativas en las variables peso y longitud de los frutos, así como valores superiores en los resultados productivos.

**Palabras clave:** *Cucumis sativus*, ciclos productivos, rendimiento.

#### ABSTRACT

Vegetable production in growing houses requires production levels that contribute to economic efficiency of the production process, so it is necessary the use of cultivars that provide the best agronomic response to the production conditions. In order to evaluate three new cucumber hybrids, a research was conducted in greenhouses belonging to The Citric Company “Enrique Troncoso”, Pinar del Río, Cuba. Productive indicators of three new hybrid cucumber of Spanish origin (‘HS-001’, ‘HS-002’ and ‘HS-011’) were evaluated using a hybrid from Israeli (‘HA-436’) as control, commonly used in productive cycles of cultivation in the entity. Direct seeding was performed using pre-germinated seeds in a 900m<sup>2</sup> A12 Tropical greenhouse using 50 plants per hybrid and a density of 2,0 plants m<sup>-2</sup>. Productive indicators were assessed in 20 randomly selected plants of each hybrid. The results showed significant differences for variables number of fruit per plant, fruit length, fruit weight and yield, confirming that the production of hybrid HS does not exceed 56,4% of that obtained with the hybrid ‘HA-436’. Although unfavorable results were obtained for the HS hybrids in comparison to ‘HA-436’, the ‘HS-001’ hybrid stood out among HS hybrids, with significant differences in fruit weight and fruit length, and higher productive values.

**Key words:** *Cucumis sativus*, production cycles, yield.

## INTRODUCCIÓN

Una tecnología hortícola muy difundida en el mundo, consiste en la producción bajo condiciones de cultivo protegido. En Cuba, el pepino (*Cucumis sativus* L.) constituye una de las hortalizas cultivadas en esas condiciones (Quezada *et al.*, 2002; MINAG, 2003).

El pepino es una hortaliza de alto potencial económico por ser un producto de exportación que se cultiva y consume en muchas regiones del mundo; además, se cuenta con variedades de alto rendimiento y con prácticas de manejo que permiten maximizar su producción bajo invernadero (Vasco, 2003; Gálvez, 2004).

Dentro de la producción hortícola nacional, el pepino destaca como un rubro de importancia por su gran demanda en el consumo diario y por rendir mayores y más sustanciales servicios a la economía (Medrano *et al.*, 1996).

La producción de pepino, en condiciones protegidas en Cuba, está destinada a cubrir la creciente demanda generada por el turismo; sin embargo, en la medida que el país pueda desarrollar esta costosa técnica, estará en condiciones de ampliar su oferta de manera permanente (Cuesta, 2003).

En este contexto, resulta necesario garantizar que los cultivares empleados en casas de cultivo generen niveles de producción que permitan una eficiencia económica, pues en ocasiones en el ciclo productivo se utilizan híbridos que solo expresan alrededor del 50% del rendimiento que se obtiene cuando se emplean otros con mejor respuesta agronómica a las mismas condiciones de producción.

Teniendo en cuenta lo anterior, en el presente trabajo se planteó como objetivo evaluar la respuesta productiva de tres híbridos de pepino en casas de cultivo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se desarrolló en una casa de cultivo tropical A-12 de 900 m<sup>2</sup> de la empresa Cítricos "Enrique Troncoso", situada en el km 8 de la carretera a la Coloma a 22°21'25" N y 83°39'17" O, municipio Pinar del Río, Cuba. El suelo característico de las casas de cultivo se correspondió con un Ferralítico Amarillento

Lixiviado Típico Cuarcítico, según la nueva versión de clasificación genética de suelos de Cuba (Hernández *et al.*, 1999).

Se evaluaron indicadores productivos en los tres nuevos híbridos de pepino de origen español 'HS-001', 'HS-002' y 'HS-011', en comparación con un testigo (híbrido 'HA-436'), de origen israelita utilizado comúnmente en los ciclos productivos del cultivo en la entidad. La siembra de los cuatro híbridos evaluados se realizó de forma directa, con semillas pre-germinadas, siguiendo un diseño experimental completamente al azar, garantizando 50 plantas de cada híbrido, a una densidad de 2 plantas.m<sup>-2</sup>.

La preparación de suelo en la casa de cultivo se realizó con arado de vertedera y tracción animal. También se llevaron a cabo labores de resiembra, aporque, fertilización y riego, deshije, deshierbe manual, siguiendo las normas establecidas en el manual de producción protegida de hortalizas en condiciones de Cuba (MINAG, 2003). Durante la floración y fructificación fue necesaria la aplicación de los productos FitoMas-E® (mezcla de aminoácidos y sacáridos) y Mudra® (mezcla de extracto de algas, macro y micro elementos).

En 20 plantas de cada híbrido, seleccionadas al azar, se evaluaron las variables: días a floración, días a inicio de la cosecha, número de frutos por planta, longitud de los frutos (cm), peso promedio de los frutos (g) y rendimiento (t.ha<sup>-1</sup>).

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza simple y al método de comparación de rangos múltiples de Duncan, aceptando diferencias significativas para P≤0,05. Se empleó el programa estadístico SPSS versión 21.0 para Windows.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización de los indicadores productivos en los híbridos evaluados

Cabe destacar que a los 18 días después de la siembra (DDS) ya se había iniciado la floración en todos los híbridos; sin embargo, fue apreciable la presencia de flores masculinas solo en el híbrido 'HS-011', en valores que no superaban el 5%. Los híbridos 'HS-001' y 'HS-002' manifestaron una elevada producción de flores, aunque el segundo presentó

dificultades con la formación de frutos. Los resultados responden a las características del cultivo, pues la segunda etapa de desarrollo, que llega hasta el inicio de la floración, se concibe de 11 a 25 DDS. Además, se constató el inicio de cosecha acorde con lo establecido para el cultivo (Cuadro 1).

Según referencia del MINAG (2003), el inicio de cosecha del híbrido 'HA-436' oscila entre 32 y 35 DDS, lo que se corresponde con el resultado obtenido en esta investigación. También se observó respuesta favorable de los híbridos HS a las condiciones experimentales, independientemente de las diferencias significativas entre las medias con el híbrido HA-436 (testigo), que oscilaron en el rango de 32 y 42 DDS.

La Figura 1 muestra la dinámica de la producción por cada cosecha para los híbridos evaluados. Se pudo evidenciar que el híbrido 'HA-436' fue más precoz, como se observó en el Cuadro 1, manteniendo los valores superiores de producción promedio por cosecha, de 3,8 kg y 22,4 frutos. El valor más bajo del peso promedio de los frutos (1,9 kg) y el número de frutos por cosecha (10,5) correspondió al híbrido 'HS-002'. Sin embargo, el menor volumen de producción se obtuvo con el híbrido 'HS-011', pues resultó menos precoz y permitió menos cosechas en el ciclo productivo, respecto al resto.

En el Cuadro 2 se observan los valores promedios para las variables frutos por planta, peso del fruto y longitud de los frutos, así como rendimiento. El híbrido 'HA-436' arrojó un valor promedio de 29,9 frutos por planta, que difiere estadísticamente de los valores restantes. El valor más bajo (12,7) fue obtenido con el híbrido 'HS-002'.

En este sentido Cardoso (2007) obtuvo entre 11,9 y 20,0 frutos promedio por planta, en evaluación experimental de 18 híbridos de pepino en condiciones protegidas. Asimismo, Cabrera *et al.* (2007) reportan valores medios de 12,0 frutos por planta en investigaciones realizadas con el híbrido 'HA-454' en casas de cultivo en condiciones de Cuba.

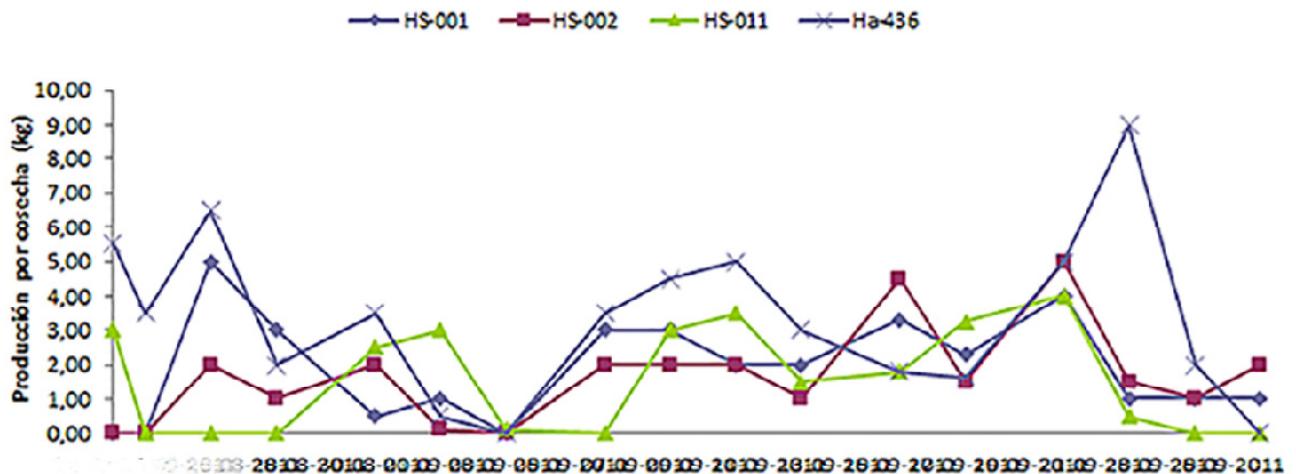
En cuanto al peso de los frutos, los mejores resultados se obtuvieron en los híbridos 'HS-001' y 'HA-436', con valores de 284,4 y 262,5 g, respectivamente, sin diferencias significativas entre estos; mientras que, el híbrido HS-011 arrojó el menor resultado (210,2 g). Otros autores obtuvieron valores de peso del fruto entre 176,0 y 192,1 g en casa de cultivo para las condiciones de Cuba empleando el híbrido 'HA-454' (Cabrera *et al.*, 2007; Rodríguez y Castillo, 2010). Ortiz *et al.* (2009) encontraron diferencias para la variable frutos por planta en evaluaciones a híbridos de pepino en invernadero, aunque con valores promedios inferiores a los reportados en esta investigación, sin diferencias en la variable peso del fruto.

Con respecto a la longitud del fruto, el híbrido 'HS-001' arrojó un valor medio superior de 22,5 cm, mostrando diferencias significativas con los restantes híbridos (Cuadro 2). Los frutos más cortos correspondieron al híbrido 'HS-002', aunque mantenían un adecuado diámetro ecuatorial, superior al del 'HS-001', lo que favorece sus valores de peso. Estos resultados corroboran los criterios de MINAG (2003) con relación a esta variable en el híbrido 'HA-436'; sin embargo, López *et al.* (2011), acotan que no encontraron diferencias significativas para esta variable en evaluaciones realizadas sobre los híbridos americanos Camán, Esparón y Modán.

Cuadro 1. Inicio de cosecha en los híbridos evaluados en casa de cultivo, en Cuba.

Híbridos	'HS-001'	'HS-002'	'HS-011'	'HA-436'
Inicio de la cosecha* (DDS)	37,4 b	36,4 b	36,2 b	32,7 a
Mínimo	35	35	32	32
Máximo	40	40	42	35
CV (%)	6,33	5,67	12,34	3,24

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



Cuadro 2. Valores de número de frutos por planta, peso y longitud promedio del fruto y rendimiento, para los híbridos evaluados en casa de cultivo.

Híbridos	Frutos por planta	Peso del fruto (g)	Longitud del fruto (cm)	Rendimiento (t.ha <sup>-1</sup> )
'HS-001'	13,41 bc	284,40 a	22,48 a	64,24 b
'HS-002'	12,72 c	238,62 bc	15,10 c	55,21 b
'HS-011'	15,78 b	210,21 c	17,25 b	52,30 b
'HA-436'	29,87 a	262,53 ab	18,60 b	113,88 a
EE	0,28	7,48	0,56	2,31

EE: Error experimental. Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ).

Una vez concluida la cosecha, se realizó el análisis del rendimiento de cada híbrido evaluado, obteniéndose 113,9 t.ha<sup>-1</sup> con el híbrido 'HA-436', mostrando diferencias estadísticas con los restantes híbridos, los cuales arrojaron valores de 64,2; 55,2 y 52,3 t.ha<sup>-1</sup> para 'HS-001', 'HS-002' y 'HS-011', respectivamente, sin diferencias significativas entre estos (Cuadro 2).

Los resultados discrepan de Hochmuth *et al.* (1996) y Té (2008), quienes no encontraron diferencias significativas en cultivares de pepino en invernadero. Sin embargo, en condiciones de casa de cultivo en Cuba el híbrido 'HA-436' no superó las 87,5 t.ha<sup>-1</sup> (Quiala *et al.*, 2011); por otro lado, Cabrera *et al.* (2007) y Rodríguez y

Castillo (2010) empleando el híbrido de pepino 'HA-454' solo llegaron a obtener rendimientos de 60,8 y 50,6 t.ha<sup>-1</sup>, respectivamente, en casas de cultivo de diferentes regiones del país.

Los resultados evidencian que los híbridos HS expresan niveles de producción inferiores a los obtenidos con el híbrido 'HA-436', lo que pudiera estar relacionado con el efecto de las altas temperaturas en las casas de cultivo y su influencia sobre la floración y fructificación.

## CONCLUSIONES

Los híbridos evaluados muestran diferencias significativas para el número de frutos por planta, peso y longitud del fruto y rendimiento,

constatándose que la producción de los híbridos HS solo alcanzan el 56,4% de la obtenida con el híbrido 'HA-436'.

A pesar del resultado no favorable de los nuevos híbridos HS respecto al 'HA-436', se destaca entre estos el 'HS-001', arrojando diferencias significativas con sus similares en las variables peso y longitud de los frutos.

## LITERATURA CITADA

- Cabrera, A., J. Arzuaga, M. Mojena. 2007. Desbalance nutrimental del suelo y efecto sobre el rendimiento de tomate (*Lycopersicon solanum* L.) y pepino (*Cucumis sativus* L.) en condiciones de cultivo protegido. *Cultivos Tropicales*. 28(3):91-97.
- Cardoso, A. I. I. 2007. Avaliação de linhagens e híbridos experimentais de pepino do grupo varietal japonês sob ambiente protegido. *Bragantia Campinas*. 3(66):469-475.
- Cuesta, A. 2003. Verde frente al sol. El habanero digital. Disponible en línea: <http://www.elhabanero.cubaweb.cu> [Ago. 19,2015].
- Gálvez, H. F. 2004. El cultivo de pepino en invernadero. In: *Manual de Producción Hortícola en Invernadero*, 2a ed. R J Castellanos. (Ed.). INTAGRI. Celaya, Gto. México. pp. 282-293.
- Hernández, A., J. M. Pérez, D. Bosch y L. Rivero. 1999. Nueva Versión de Clasificación Genética de los Suelos de Cuba. AGRINFOR, La Habana. 64 p.
- Hochmuth, R. C., L. L. C. Leon and G. J. Hochmuth. 1996. Evaluation of twelve greenhouse cucumber cultivars and two training systems over two seasons in Florida. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 109:174-177.
- López, J., J. C. Rodríguez, M. A. Huez, S. Garza, J. Jiménez y E. I. Leyva. 2011. Producción y calidad de pepino (*Cucumis sativus* L.) bajo condiciones de invernadero usando dos sistemas de poda. *IDESIA*. 29(2):21-27.
- Medrano, C., W. Gutiérrez, D. Esparza, N. Bríñez y R. Medina. 1996. Métodos de Control de Malezas y Sistema de Siembra de Pepino (*Cucumis sativus* L.). *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 13(2):153-100.
- MINAG (Ministerio de la Agricultura). 2003. Manual para la producción protegida de hortalizas. Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova". La Habana, Cuba. pp. 55-61.
- Ortiz, J., F. Sánchez del Castillo, M. C. Mendoza y A. Torres. 2009. Características deseables de plantas de pepino crecidas en invernadero e hidroponía en altas densidades de población. *Rev. Fitotecnia Mexicana*. 4(32):289-294.
- Quezada, M. R., M. de la Rosa, J. Murguía, E. Samaniego, L. Ibarra y B. Cedeño. 2002. Análisis de crecimiento en plántulas de chile pimiento bajo cubiertas térmicas para invernadero. **En:** Congreso CIDAPA (Oct. 4 2002, 21-25, Varadero). Memorias. CD-ROM.
- Quiala, R. A., E. Isaac, F. A. Simón, I. Regueiferos y G. Montero. 2011. Efecto del agua tratada con campo magnético estático sobre *Meloidogyne* spp. en *Cucumis sativus* en condiciones de cultivo protegido. *Centro Agrícola*. 38(4):83-87.
- Rodríguez, P. y J. Castillo. 2010. Producción local de pepino (*C. sativus*) Híbrido SARIG 454 y su impacto sobre el crecimiento y productividad del cultivo en dependencia de la biofertilización foliar en un agroecosistema santiaguero. *Rev. Ciencia en su PC*. 2:114-124.
- Té, E. 2008. Producción orgánica de tres variedades de pepino bajo condiciones de invernadero. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Ingeniería. México. pp. 56-62
- Vasco, M. R. 2003. El cultivo del pepino bajo invernadero. In: *Técnicas de Producción en Cultivos Protegidos*. F. F. Camacho (ed). Caja Rural Intermediterránea, Cajamar. Almería, España. pp. 691-722.



## NOTA TÉCNICA

# Resistencia varietal en cultivares de caña de azúcar a la inoculación con *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson

## Varietal resistance to *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson in sugarcane cultivars

Emma Elizabeth Ramírez Poletto

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), estado Táchira, Venezuela. Correo: eramirez@inia.gob.ve

### RESUMEN

Se realizó una prueba de resistencia varietal para evaluar la resistencia a *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson, en 19 cultivares venezolanos de caña de azúcar, más dos testigos, bajo la técnica de presión de inóculo. El proceso de inoculación fue por inyección de suspensión bacteriana ( $2 \times 10^5$  UFC) a nivel de tallo, en cada uno de los materiales genéticos. A los 20 días después de la inoculación las plantas fueron transplantadas al campo y se efectuaron tres (03) evaluaciones a intervalos de seis meses. Por medio de la técnica inmunoenzimática, se realizó análisis de laboratorio para comprobar la presencia de la bacteria en los cultivares estudiados. Los cultivares V99-236, V98-62, V98-120, V98-147, V91-15 y V99-203 fueron los que presentaron mayor número de tallos afectados por la enfermedad. Del análisis de laboratorio se evidenció que la bacteria permaneció en los cultivares inoculados, corroborando que los síntomas presentes fueron causados por *X. albilineans* y que la técnica de extracción del inóculo fue válida.

**Palabras clave:** Dot blot, escaldadura de la hoja, resistencia, susceptibilidad.

### ABSTRACT

A research was made in order to evaluate the resistance of 19 Venezuelan sugarcane cultivars to *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson, under the influence of inoculum pressure; two control treatments were included. The bacterial suspension was inoculated by injection in the stem ( $2 \times 10^5$  UFC) in each genetic material, then the plants were transplanted to the field 20 days after inoculation and three evaluations were performed at six-month intervals. Laboratory tests were carried out to verify the presence of the bacteria by means of immunoenzymatic technique. Cultivars V99-236, V98-62, V98-120, V98-147, V91-15 and V99-203 presented the highest number of stems affected by the disease. According to laboratory test, the bacteria remained in the inoculated materials, corroborating that symptoms presented were caused by *X. albilineans* and the inoculum extraction technique was valid.

**Key words:** Dot blot, leaf scald, resistant, susceptible.

## INTRODUCCIÓN

La escaldadura de la hoja es una de las principales enfermedades de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) causada por la bacteria *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson, presente en 57 países productores de caña de azúcar. Entre estos países se pueden mencionar a Puerto Rico, donde en el año 1966 resultaron afectadas las variedades 'Q93' y 'B49119'; en 1968 se observaron síntomas de la escaldadura en variedades de la colección mundial de Canal Point, Florida, Estados Unidos. En ese mismo año, la enfermedad fue reportada en Barbados en las variedades 'B49119' y 'B4362', consideradas como altamente susceptibles. En Trinidad en 1970, encontraron la enfermedad en plántulas de la serie 'BT66'. En 1975, así mismo se detectó en Panamá en campos comerciales de caña de azúcar, observándose que las variedades 'Cristal', 'B4362', 'B34104', 'B42231' y 'POJ2714' eran muy susceptibles a esta enfermedad (Ordosgoiti *et al.*, 1977 y 1988). En Veracruz, México se detectó por primera vez en 1992, afectando al cultivar MEX64-1487 (Huerta *et al.*, 2003a y b).

En Venezuela, para el año 1968, se detectaron síntomas de la escaldadura en la etapa experimental de la variedad 'B60321', introducida al país desde la Estación Experimental de Barbados. A partir de 1973, se observaron en parcelas experimentales, ubicadas en el Sistema de Riego Las Majaguas del estado Portuguesa, plantas aisladas en las que se evidenciaron síntomas en las hojas, como estrías discontinuas y blanquecinas, por lo que Ordosgoiti *et al.* (1977) dedujeron que se trataba de esta enfermedad bacteriana, identificando a *X. albilineans* (Ashby) Dowson como el agente causal de la sintomatología presente en los cañaverales del país.

La enfermedad evidencia dos cuadros típicos de síntomas: la fase crónica, que se caracteriza por presentar una fina raya blanca paralela a la nervadura principal; y la fase aguda, en la cual la raya se extiende hasta el borde de la hoja, provocando marchitez y necrosis. También presenta un periodo de latencia, donde las plantas infectadas no exhiben síntoma alguno (Rott *et al.*, 1995; Flores, 1997; Rott *et al.*, 1997).

En Australia y Guadalupe (Francia) se observó una disminución de la enfermedad con el uso de cultivares resistentes (Rott *et al.*, 1995), presentándose como el mejor método de control.

Considerando los argumentos antes señalados, se planteó el presente trabajo con el objetivo de evaluar la resistencia varietal en cultivares de caña de azúcar, de la última etapa de selección o ensayo regional grupo 13, a la incidencia de la bacteria *X. albilineans* (Ashby) Dowson, bajo presión de inóculo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Extracción del inóculo

Se colectaron muestras de plantas de caña de azúcar, en lotes comerciales ubicados en Carora estado Lara, que presentaban síntomas característicos de la enfermedad de escaldadura de la hoja. Para realizar la extracción del inóculo se tomaron secciones de hoja y tallo, que fueron lavadas con agua de chorro y desinfectadas con hipoclorito de sodio a concentración comercial. Las secciones fueron maceradas y ubicadas a temperaturas entre -10 y -20 °C por un lapso de 24 hrs. Luego se procedió a macerar nuevamente y colocar en tubos eppendorf contentivos de 0,5 cc de TBA. Los tubos fueron puestos en microcentrifuga a 14.000 RPM, 30 °C por un tiempo de 30 min.

### Identificación del patógeno

Se utilizó el método de Sánchez *et al.* (2009), aplicando estriado del inóculo extraído, en caja de Petri contentiva de medio Wilbrink's selectivo para *X. albilineans* (Ashby) Dowson. Seguidamente, al observar el crecimiento bacteriano se procedió a identificar la presencia de la bacteria con las pruebas bioquímicas tales como oxidasa, catalasa, anaerobiosis, reducción de nitratos, arginina hidrólasa.

Como prueba determinante de la presencia del patógeno en la suspensión se usó la técnica de DOT BLOT (Guzmán y Victoria, 2001), comparándose con controles negativos (agua destilada estéril) y controles positivos (diluciones desde  $10^3$  hasta  $10^7$  de *X. albilineans* (Ashby) Dowson, previamente aislada e identificada en el Laboratorio).

**Proceso de inoculación**

Una vez identificado el patógeno como *X. albilineans* (Ashby) Dowson y corroborada la no presencia de la bacteria en los cultivares bajo estudio, se procedió a la inoculación. Con este fin, se realizó la siembra de cinco mini esquejes, de cada material genético proveniente del Programa de mejoramiento genético de caña de azúcar del INIA Yaracuy, ubicado en la Estación Local Yaritagua, municipio Peña del estado Yaracuy. En este proceso se incluyeron dos testigos susceptibles a la bacteria:

C86-503 (medianamente susceptible: MS) y CC85-92 (altamente susceptible: AS), provenientes de Carora estado Lara (Cuadro 1).

Para la inoculación se utilizó el método de la inyección de 0,5 cc de suspensión bacteriana  $2 \times 10^5$  UFC (Huerta *et al.*, 2003b), en la yema de cada mini esqueje. Adicionalmente, se colocó algodón impregnado con solución bacteriana y se selló con papel envoplast durante el periodo de emergencia de las plantas (Jiménez *et al.*, 2004).

Cuadro 1. Cultivares de caña de azúcar utilizados en la reacción a *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson.

N°	Cultivares	Procedencia	Tipo de material genético
1	V91-1		Cultivar
2	V91-2		Cultivar
3	V91-6		Cultivar
4	V91-8		Cultivar
5	V91-15		Cultivar
6	V98-62		Cultivar
7	V98-86		Cultivar
8	V98-120		Cultivar
9	V98-147		Cultivar
10	V98-158	Programa de Mejoramiento Genético Caña de Azúcar del INIA Yaracuy	Cultivar
11	V99-113		Cultivar
12	V99-117		Cultivar
13	V99-190		Cultivar
14	V99-203		Cultivar
15	V99-208		Cultivar
16	V99-217		Cultivar
17	V99-236		Cultivar
18	V99-245		Cultivar
19	V00-50		Cultivar
20	CC85-92	Lote Comercial Carora estado Lara	Testigo altamente susceptible
21	C86-503	Lote Comercial Carora estado Lara	Testigo medianamente susceptible

## Ensayo de campo

A los 20 días después del proceso de inoculación las plantas fueron transplantadas al campo, previa poda por decapitación con tijera impregnada de solución bacteriana (Flores, 1997), para asegurar el proceso de infección. De cada uno de los cultivares se sembró un testigo sin inocular.

El ensayo de campo se estableció en lote experimental ubicado en la Estación Local Yaritagua (ELY) en el municipio Peña del estado Yaracuy, cuyos suelos son tipo Alfisol serie Uribeque y poseen un predominio de texturas medias a finas, con alta cantidad de partículas finas de limo y arcilla (Nass *et al.*, 2006; Latieque, 2009).

Se realizaron tres podas, en periodos de seis meses cada una, desinfectando el implemento de corte con solución a base de iodo al pasar de un material genético a otro. En cada poda, se realizaron observaciones de síntomas para evidenciar la permanencia de la bacteria inoculada en los diferentes cultivares. Se utilizó la escala definida por Ordosgoitti *et al.* (1988), quienes describen los diferentes criterios (síntomas) observados durante la infección con la bacteria y los relacionan con el grado de severidad y la reacción de la planta; en cuanto a susceptibilidad o resistencia adicionando a la evaluación criterios utilizados en las evaluaciones del área de fitopatología del Programa de Mejoramiento Genético del INIA Yaracuy.

Los criterios evaluados fueron: presencia o ausencia de estrías o rayas cloróticas en la lámina foliar, proliferación prematura de brotes laterales exhibiendo fajas cloróticas en la lámina foliar, presencia de coloración rojiza en la región nodal y en el meristema apical al realizar corte longitudinal al tallo de caña de azúcar, entrenudos cortos, hojas en penacho y tallos afectados por ser síntomas evidentes y relacionados con la presencia de la bacteria.

Para corroborar la presencia de la bacteria, muestras de tallos de cada cultivar fueron trasladadas al laboratorio de fitopatología de la ELY. Estas fueron procesadas y analizadas siguiendo el mismo procedimiento descrito en la obtención del inóculo e identificación del patógeno, ya descrito, con el fin de realizar el análisis inmunoenzimático a través de la técnica

de DOT BLOT (impresión por punto), como prueba determinante de la presencia o ausencia de la bacteria *X. albilineans* (Ashby) Dowson.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los cultivares de caña de azúcar en estudio, a los 20 días después de la inoculación, presentaron en campo síntomas asociados con la enfermedad escaldadura de la hoja coincidiendo el tiempo de expresión de síntomas con los reflejados por Jiménez *et al.*, 2004.

De los resultados obtenidos en campo (Cuadro 2) se puede evidenciar que todos los cultivares fueron susceptibles al ataque de la bacteria *X. albilineans* (Ashby) Dowson, bajo presión de inóculo; aunque solo siete (07) cultivares más los dos testigos presentaron la totalidad de la sintomatología característica de la enfermedad de escaldadura, como son entrenudos cortos, proliferación de brotes laterales, rayas blancas paralelas a la nervadura de la hoja y hojas en penacho.

El número de tallos afectados en los cultivares (V99-113, V99-203, V91-15, V98-147, V98-120, V98-62 y V99-236) que presentaron todos los síntomas evaluados (Cuadro 2) estuvo comprendido entre 6 y 34; sin embargo, estos no superaron los valores de tallos afectados de los testigos susceptibles y medianamente susceptible (38 y 35, respectivamente). De todos los cultivares considerados en el estudio el V99-217 no se pudo evaluar porque no se desarrolló después de la siembra en campo, perdiéndose en su totalidad.

Todo eso indica que el mecanismo de extracción del inóculo fue efectivo y puede ser recomendado en otras pruebas de resistencia futuras para el descarte o no de materiales genéticos de caña de azúcar.

En referencia a la pérdida total del cultivar V99-217 luego de sembrado en campo, pudiera estar influenciada por los hechos que se mencionan a continuación: se conoce que la bacteria *X. albilineans* es sistémica y causa oclusión de vasos del xilema (Roth *et al.*, 1994). Esto pudo deberse a la obstrucción de metaxilema y protoxilema por masas bacterianas, polifenoles y polisacáridos como lo reporta Huerta-Lara *et al.* (2009) en su trabajo de inoculación de

Cuadro 2. Síntomas asociados a escaldadura de la hoja presentados en los cultivares estudiados.

N°	Cultivares	Entrenudos cortos	Brotos laterales	Raya blanca	Hojas en penacho	N° de tallos afectados
1	V91-1	X	No	X	X	11
2	V91-2	X	No	X	X	7
3	V91-6	X	No	X	X	9
4	V91-8	X	No	X	No	6
5	V91-15	X	X	X	X	16
6	V98-62	X	X	X	X	30
7	V98-86	X	No	X	X	7
8	V98-120	X	X	X	X	21
9	V98-147	X	X	X	X	20
10	V98-158	X	No	X	X	7
11	V99-113	X	X	X	X	6
12	V99-117	X	No	X	X	3
13	V99-190	X	No	X	X	9
14	V99-203	X	X	X	X	11
15	V99-208	X	No	X	X	10
16	V99-217	P	P	P	P	P
17	V99-236	X	X	X	X	34
18	V99-245	X	No	X	X	4
19	V00-50	X	No	X	X	11
20	CC85-92	X	X	X	X	38
21	C86-503	X	X	X	X	35

X: Síntomas presentes; No: Síntomas ausentes; P: Cultivar perdido.

plantas de caña para evaluar la resistencia a *X. albilineans* a través de la oclusión de haces y lo expresado por Pérez Pérez *et al.* (2017) en “*Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson: susceptibilidad de los cultivares e impactos en el rendimiento azucarero”.

Del análisis de laboratorio se obtuvo que en los tres periodos de evaluación, la bacteria permaneció presente en los cultivares inoculados

corroborando que los síntomas presentes fueron causados por *X. albilineans* (Ashby) Dowson (Figura 1).

## CONCLUSIÓN

Todos los cultivares en estudio mostraron síntomas de escaldadura, sin embargo los cultivares V99-113, V99-203, V91-15, V98-147, V98-120, V98-62 y V99-236, incluyendo los

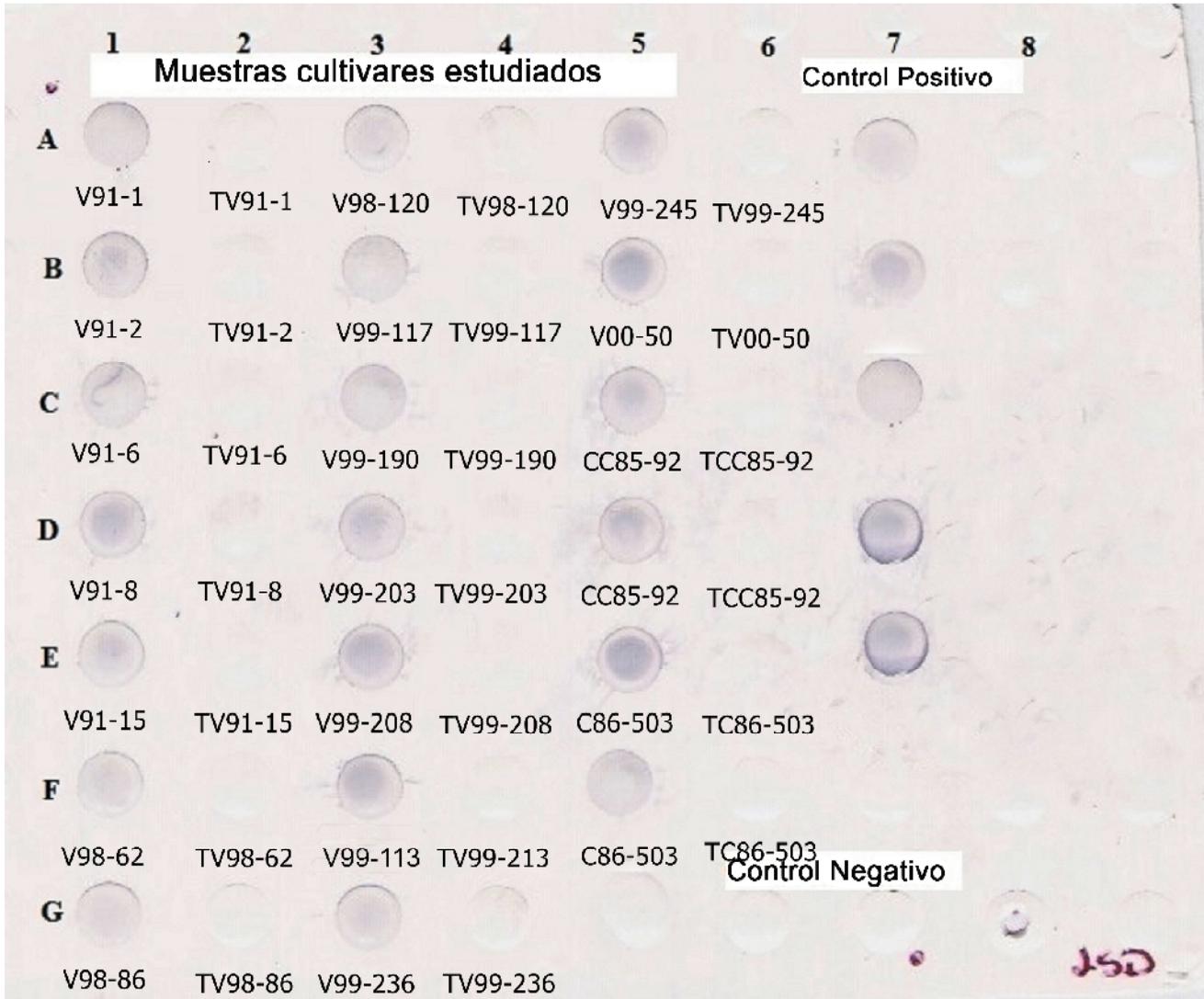


Figura 1. Membrana DOT BLOT realizada a los materiales inoculados con *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson

testigos, presentaron toda la sintomatología evaluada, variando en el número de tallos afectados, con un rango de 6 a 34 para esos cultivares y de 35 a 38 para los testigos; por lo que, se puede inferir que fueron altamente susceptibles considerando la escala de evaluación utilizada.

De los análisis de laboratorio se evidenció que la bacteria permaneció presente en los cultivares inoculados corroborando que los síntomas presentes fueron causados por *X. albilineans* (Ashby) Dowson.

## LITERATURA CITADA

- Flores, C. 1997. Las enfermedades de la Caña de Azúcar en México. Silverio Flores Cáceres. México, D.F. 285 p.
- Guzmán, R. M. L. y K. J. I. Victoria. 2001. Evaluación de cinco enfermedades de la caña de azúcar mediante las técnicas de "dot-blot" y "tissue-blot" a partir de la misma muestra de tejido. Fitopatol. Colomb. 25(2):103-110.

- Huerta, L. M., A. L. D. Ortega, S. C. Landeros, Z. L. Fucikovsky y G. M. Marín. 2003a. Respuesta de 10 variedades de caña de azúcar a la escaldadura de la hoja [*Xantomonas albilineans* (Ashby) Dowson] en la región central costera de Veracruz. *Agrociencia* 37(5):511-519.
- Huerta, M., J. Sandoval, E. Cárdena, R. Rojas, S. Flores y M. Marín. 2003b. Evaluación de resistencia de Caña de Azúcar (*Saccharum officinarum* L.) Co 997 y MEX 64-1487, analizando colonización y dinámica poblacional de *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson en tallos. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21(3):316-322.
- Huerta-Lara, M., E. Cárdenas-Soriano, R. Rojas-Martínez, J. López-Olguín, D. Reyes-López, J. Bautista-Calles y O. Romero-Arenas. 2009. Oclusión de haces vasculares para evaluar resistencia de caña de azúcar a *Xanthomonas albilineans*. *Interciencia* 34(4):247-251.
- Jiménez, O., N. Contreras y H. Nass. 2004. *Xanthomonas albilineans* agente causal de la escaldadura foliar de la Caña de Azúcar (*Saccharum* sp.) en los estados Lara y Yaracuy. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 21(3):233-245.
- Latiegue R. 2009. La fertilidad de los suelos de la Estación Local Yaritagua del INIA Yaracuy y su uso para el cultivo de la caña de azúcar. *INIA Hoy*. 4:79-83.
- Nass, H., M. Ramón, M. Niño y J. George. 2006. Aspectos epidemiológicos de la peca amarilla de la Caña de Azúcar (*Passalora koepkei*) en Yaritagua, Venezuela. *Revista Facultad de Agronomía LUZ*. 23:181-187.
- Ordosgoitti, A., A. Manzano y A. Piñero. 1977. La escaldadura de la caña de azúcar en Venezuela (a). *Agronomía Tropical*. 27(2):235-249.
- Ordosgoitti, A., A. Aponte y R. Ventura. 1988. Reacción de variedades cubanas de caña de azúcar a *Puccinia melanocephala* H. Sydow et P. Sydow y *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson en Venezuela. *Agronomía Tropical*. 38:29-41.
- Pérez Pérez, Y., J. Pérez Milán, M. Echevarría, R. González Hernández y Y. Pellón Guzmán. 2017. *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson: susceptibilidad de los cultivares e impactos en el rendimiento azucarero. *Revista Centro Agrícola*. 44(1):23-27.
- Rott, P., M. Abel, D. Soupa, P. Feldmann and P. Letourmy. 1994. Population dynamics of *Xanthomonas albilineans* in sugarcane plants as determined with an antibiotic-resistant mutant. *Plant Dis*. 78:241-247.
- Rott, P., D. Soupa, Y. Brunet, P. Feldmann and P. Letourmy. 1995. Leaf scald (*Xanthomonas albilineans*) incidence and its effect on yield in seven sugarcane cultivar in Guadeloupe. *Plant Pathology*. 44:1075-1084.
- Rott, P., I. S. Mohamed, P. Klett, D. Soupa, A. de Saint-Albin, P. Feldmann and P. Letourmy. 1997. Resistance to leaf scald disease is associated with limited colonization of sugarcane and wild relatives by *Xanthomonas albilineans*. *Phytopathology*. 87:1202-1213.
- Sánchez, Y., O. Pino, T. Correa, E. Naranjo y A. Iglesia. 2009. Estudio químico y microbiológico del aceite esencial de *Piper auritum* KUNTH (Caisimón de anís). *Rev. Protección Veg*. 24(1):39-46.